*Medical Journal*
*of*
*Tabriz University of Medical Sciences*

## Original Article

# Paroxetine effect on expression of *TLR2* and *TLR4* genes in PBMCs of mentally normal individuals

**Fatemeh Ganjalishahi[1], Anahid Hemmatpour[2], Mahdi Dehghan Manshadi[3], Hossein Hadi Nedoushan[3], Alireza Karimollah[1*]**

[1]Department of Pharmacology, Faculty of Pharmacy, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran
[2]Department of Clinical Biochemistry, Faculty of Medicine, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran
[3]Reproductive Immunology Research Center, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran
*Corresponding author; E-mail: karimollah@ssu.ac.ir

Received: 25 Nov 2019 Accepted: 4 Jan 2020 First Published online: 23 Jun 2021
Med J Tabriz Uni Med Sciences. 2021;43(3):246-253

## Abstract

**Background:** Paroxetine is one of the well-known antidepressants. Recent studies have focused on paroxetine's probable immuno-modulatory effects, since findings have indicated inflammation's role in the pathophysiology of depression. Therefore, in the present study, *TLR2* and *TLR4* mRNA genes expression was assessed in paroxetine-treated peripheral blood mononuclear cells (PBMCs).

**Methods:** Venous blood samples were drawn from five healthy men (20-40 years old). Peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) were isolated from samples and were cultured. After the first incubation for 24h, phytohemagglutinin plus lipopolysaccharide were added to the cells and then were incubated for 24h. Thereafter, cells were treated with different concentrations of paroxetine in the presence or absence of inhibitors of 5-HT2 and 5-HT7 receptors. After incubation for 48h, RNA was extracted and cDNA was synthesized. Using the real-Time PCR technique, *TLR2* and *TLR4* genes mRNA expression were evaluated. Statistical analysis of data were carried out using GraphPad Prism 7.

**Results:** *TLR2* and *TLR4* mRNA expression were significantly increased in response to paroxetine at all concentrations. Furthermore, the co-culture of cells with the drug and the 5-HT2R and 5HT7R inhibitor simultaneously revealed that paroxetine's immuno-modulatory effects via TLR2 are dependent on serotonin, while it is independent of serotonin in the case of TLR4.

**Conclusion:** Considering paroxetine's effect in modulating immune responses via increasing TLR2 and TLR4 expression, paroxetine could have therapeutic potentials in diseases with a deficiency in these receptors.

Keywords: Paroxetine, PBMC, TLR2, TLR4

**How to cite this article**: Ganjalishahi F, Hemmatpour A, Dehghan Manshadi M, Hadi Nedoushan H, Karimollah A. [Paroxetine effect on expression of TLR2 and TLR4 genes in PBMCs of mentally normal individuals]. Med J Tabriz Uni Med Sciences. 2021;43(3):246-253. Persian.

© 2021 The Author. This is an Open Access article published by Tabriz University of Medical Sciences under the terms of the Creative Commons Attribution License (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

مقاله پژوهشی

# اثر پاروکستین بر بیان ژن‌های TLR2 و TLR4 در سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی افراد با وضعیت روانی سالم

فاطمه گنجعلیشاهی[۱]، آناهید همت پور[۲]، مهدی دهقان منشادی[۳]، حسین هادی ندوشن[۳]، علیرضا کریم‌اله[۱*]

[۱]گروه فارماکولوژی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد، یزد، ایران
[۲]گروه بیوشیمی بالینی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد، یزد، ایران
[۳]مرکز تحقیقات ایمنولوژی تولید مثل، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد، یزد، ایران
[*]نویسنده مسؤول؛ ایمیل: karimollah@ssu.ac.ir

دریافت: ۱۳۹۸/۹/۴ پذیرش: ۱۳۹۸/۱۰/۱۴ انتشار برخط: ۱۴۰۰/۴/۲
مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تبریز. ۱۴۰۰؛ ۴۳(۳):۲۴۶-۲۵۳

## چکیده

**زمینه:** پاروکستین یکی از شناخته شده‌ترین داروها بین داروهای ضدافسردگی است. مطالعات اخیر بر اثرات احتمالی تعدیل کنندگی ایمنی پاروکستین تمرکز کرده‌اند چرا که یافته‌ها نقش التهاب را در پاتوفیزیولوژی افسردگی نشان دادند. لذا در مطالعه حاضر بیان ژن‌های TLR2 و TLR4 در سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی تحت تیمار با پاروکستین سنجیده شد.

**روش کار:** مطالعه حاضر از نوع بنیادی- کاربردی است. از ۵ مرد سالم (۲۰-۴۰ سال) خونگیری وریدی انجام گرفت و سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی (PBMC) از نمونه‌ها جداسازی و کشت داده شدند. پس از انکوباسیون اولیه به مدت ۲۴ ساعت، LPS+PHA به سلول‌ها افزوده شد و ۲۴ ساعت انکوبه شدند. سپس سلول‌ها تحت تیمار با غلظت‌های متفاوت از داروی پاروکستین در حضور یا عدم حضور مهار کننده HT2R-۵ و HT7R-۵ قرار گرفتند. بعد از انکوباسیون به مدت ۴۸ ساعت، RNA استخراج گردید و cDNA سنتز شد. با استفاده از تکنیک Real-time PCR، بیان ژن‌های TLR4 و TLR2 اندازه‌گیری شد. تحلیل آماری نتایج با استفاده از نرم‌افزار GraphPad Prism7 انجام شد.

**یافته‌ها:** بیان mRNA ژن‌های TLR2 و TLR4 به‌طور معنادار در پاسخ به تیمار با پاروکستین در همه غلظت‌ها افزایش یافت. علاوه بر این، تیمار همزمان سلول‌ها با دارو و مهارکننده گیرنده سروتونینی ۲ و ۷ نشان داد که اثر پاروکستین بر سلول‌های ایمنی بواسطه TLR2 به سیستم سروتونینی وابسته است. در حالی‌که در مورد اثر TLR4، مستقل از سروتونین است.

**نتیجه‌گیری:** با توجه به اثر داروی پاروکستین در تعدیل پاسخ‌های التهابی به واسطه افزایش بیان ژن‌های TLR2 و TLR4، این دارو دارای توانایی بالقوه در درمان بیماری‌های مرتبط با نقص در این گیرنده‌ها خواهد بود.

**کلید واژه‌ها:** پاروکستین، PBMC، TLR2، TLR4

**نحوه استناد به این مقاله:** گنجعلیشاهی ف، همت پور آ، دهقان منشادی م، هادی ندوشن ح ، کریم‌اله ع ر. اثر پاروکستین بر بیان ژن‌های TLR2 و TLR4 در سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی افراد با وضعیت روانی سالم. مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تبریز. ۱۴۰۰؛ ۴۳(۳):۲۴۶-۲۵۳

حق تالیف برای مولفان محفوظ است.
این مقاله با دسترسی آزاد توسط دانشگاه علوم پزشکی تبریز تحت مجوز کریتیو کامنز (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0) منتشر شده که طبق مفاد آن هرگونه استفاده تنها در صورتی مجاز است که به اثر اصلی به نحو مقتضی استناد و ارجاع داده شده باشد.

## مقدمه

با توجه به ارتباط تنگاتنگ سیستم عصبی، درون ریز و سیستم ایمنی، این سیستم‌ها بطور مداوم در حال کنترل و اثرگذاری بر یکدیگر هستند. علاوه بر این، شواهد اخیر نقش التهاب را در پاتوفیزیولوژی افسردگی اثبات کرده‌اند. با توجه به این اثرگذاری متقابل، اثرات داروهای ضدافسردگی بر سیستم ایمنی در سال‌های اخیر بسیار مورد توجه و بررسی قرار گرفته است.

داروهای مختلفی به صورت گسترده در درمان و کنترل افسردگی به کار می‌روند (۱). پاروکستین (Paroxetine) با نام تجاری PAXIL جزئی از خانواده داروهای ضدافسردگی SSRIs (Selective Serotonin Reuptake Inhibitors) است.

مکانیسم عملکرد این دسته از داروهای ضدافسردگی مهار بازبرداشت سروتونین (۵–HT) از فضای سیناپسی بوسیله مهار انتقال دهنده سروتونینی (SERT) موجود در سطح سلول‌های عصبی می‌باشد. مطالعات حیوانی و سلولی بسیاری اثر پاروکستین بر مارکرهای التهابی را بررسی کرده‌اند. با این وجود، محققان هنوز در مورد مکانیسم دقیق اثرگذاری این دارو بر سیستم ایمنی به اتفاق نظر نرسیده‌اند.

نتایج برخی مطالعات نشان می‌دهد پاروکستین با کاهش سنتز و ترشح سایتوکاین‌های پیش التهابی مانندTNF-α، NO، IL-1ß و IFN-γ پاسخ‌های ایمنی را تعدیل می‌کند (۲ و ۳)، در مقابل برخی مطالعات عکس این نتایج را گزارش کرده‌اند (۴ و ۵).

پاسخ ایمنی مناسب علیه ارگانیسم‌های بیگانه مستلزم وجود سیستم تشخیص اختصاصی این عوامل بیگانه است. بدین منظور سلول‌های سیستم ایمنی مجهز به گیرنده‌های تشخیص دهنده الگو PRRs (Pattern-Recognition Receptors) بوده و گیرنده‌های شبه تول (Toll-Like Receptors) از شناخته‌ترین این گیرنده‌ها هستند. این پذیرنده‌ها از اجزای حفاظت شده و کلیدی ایمنی ذاتی محسوب می‌شوند و با مولکول‌های مترشحه از باکتری‌ها و ویروس‌ها (PAMPs) و مولکول‌های مترشحه از سلول‌های آسیب دیده (DAMPs) و نکروتیک برهمکنش می‌کنند.

فعال شدن این پذیرنده‌ها موجب القاء کموکاین‌ها و سایتوکاین‌های پیش التهابی شده که منجر به فعالسازی هردو سیستم ایمنی ذاتی و اکتسابی می‌شود. خانواده گیرنده‌های شبه تول در انسان ۱۱ عضو دارد (TLR1-11). هر یک از این پذیرنده‌ها پروتئین‌های حفاظت شده خاص مشتق از میکروارگانیسم‌های مختلف شامل باکتری‌ها، ویروس‌ها، پروتوزوآ و قارچ‌ها را تشخیص می‌دهند. برای مثال TLR4 لیپوپلی‌ساکارید (LPS، از اجزا اصلی دیواره تمام باکتری‌های گرم منفی) را شناسایی می‌کند (۶). TLR2 تنها عضو از این خانواده می‌باشد که توانایی تشکیل هترومر عملکردی با بیش از دو نوع دیگر از TLRها را داراست.

## نکات کاربردی

- پاروکستین پاسخ‌های التهابی به واسطه افزایش بیان ژن TLR2 تعدیل می‌کند.
- پاروکستین پاسخ‌های التهابی به واسطه افزایش بیان ژن TLR4 تعدیل می‌کند.
- اثر پاروکستین بر سلول‌های ایمنی بواسطه TLR2 وابسته به سیستم سروتونینی است و در مورد TLR4 مستقل از سروتونین است.
- پاروکستین می‌تواند گزینه مناسبی در درمان ایمونوپاتی‌ها باشد.

TLR2 هم‌چنین قادر است با تعداد زیادی از مولکول‌ها به غیر از گیرنده‌های شبه تول برهمکنش کند. بنابراین قادر است طیف وسیعی از PAMPs را شناسایی کند (۷). در این رابطه بررسی‌ها نشان دادند که هترودیمر TLR2/TLR10 قادر به شناسایی و برهمکنش با اجزا باکتری‌های گرم منفی (LPS) می‌باشد (۸ و ۹). علاوه بر این، شواهد نشانگر ارتباط TLR2 و پاسخ‌های ضدالتهابی بویژه تولید IL-10، شناخته شده ترین سایتوکاین ضدالتهابی است (۱۰). علاوه بر گیرنده‌های شبه تول، سلول‌های سیستم ایمنی مجهز به گیرنده‌های ۵–HT (سروتونین) می‌باشند. بنابراین، با توجه به اثر مهاری بر روی بازبرداشت سروتونین توسط داروهای SSRIs، فرضیه وابستگی اثر ایمنولوژیک این داروها به سیستم سروتونینی موجود در سلول‌های ایمنی مطرح می‌شود. چرا که نقش سروتونین در القای پاسخ‌های ایمنی در مطالعات گذشته به اثبات رسیده است (۱۱). با این حال، نتایج مطالعات در مورد تداخل اثرات سروتونین و داروهای SSRI ضد و نقیض می‌باشد (۱۲). در این مطالعه برای آزمایش فرضیه‌ی فوق، از مهارکننده‌ی گیرنده‌های سروتونینی ۲ و ۷ (LY-215,840) استفاده شده است که از گیرنده‌های سروتونینی هستند و توسط طیف وسیعی از سلول‌های ایمنی بیان می‌شوند. مطالعات کمی بطور مستقیم اثر پاروکستین را بر بیان گیرنده‌های شبه تول در افراد سالم بدون سابقه افسردگی بررسی کرده‌اند. بنابراین، به منظور درک عمیق مکانیسم اثرگذاری این دارو بر سیستم ایمنی، مطالعه حاضر به بررسی سطوح بیان ژن‌های TLR2 و TLR4 در سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی فعال شده با LPS+PHA تحت تیمار با غلظت‌های متفاوت از پاروکستین و درحضور مهارکننده ۵–HT2R و ۵–HT7R می‌پردازد.

## روش‌کار

مطالعه به صورت تجربی انجام شد. جامعه مورد مطالعه سلول‌های تک هسته ای خون محیطی بود. از ۵ نفر از افراد سالم (۲۰ تا ۴۰ سال) مراجعه کننده به مرکز انتقال خون مرکزی یزد با جنسیت مذکر که به عفونت‌های ویروسی مانند انواع هپاتیت B و C و HIV مبتلا نبودند، ۲۰ سی‌سی خون وریدی گرفته شد. لازم

به ذکر است که تعیین حجم نمونه با توجه به مطالعات گذشته انجام گرفت (۱۳). سپس خون محیطی با استفاده از سرم فیزیولوژی به نسبت ۱ به ۱ رقیق شد و با فایکول (Inno-Train, Iran) به نسبت ۲ به ۱ با دور ۲۰۰۰ و به مدت ۳۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی (PBMC) جداسازی و سپس دو مرتبه با سرم فیزیولوژی و در آخر با محیط کشت شستشو داده شدند. سلول‌ها در فلاسک حاوی محیط کشت RPMI 1640 (BioIdea, Iran)) غنی شده با سرم گاوی جنینی ۱۰ درصد (Fetal Bovine Serum) FBS, Biochrom, Germany) رشد داده شدند. به منظور محاسبه نسبت سلول‌های مرده به سلول‌های زنده از تریپان بلو (Innoclon, Iran) استفاده شد و ۹۶–۹۸درصد سلول‌ها زنده بودند. سلول‌های جدا شده به پلیت‌های ۲۴ خانه با غلظت۱۰۶ × ۱ سلول در هر میلی‌لیتر اضافه شد و به مدت ۲۴ ساعت داخل انکوباتور Co2 دار و دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند. سپس PHA (۵ میکروگرم/ میلی‌لیتر) بعلاوه LPS (۲۵ میکروگرم/میلی‌لیتر) (Sigma, US) به کشت افزوده و تحت شرایط ذکر شده مجدداً انکوبه شدند (۱۳). پس از آن غلظت‌های مختلف از داروی پاروکستین هیدروکلراید (Sigma-Aldrich, US) با غلظت‌های (۱،۱۰،۲۵،۵۰ میکرومولار) در حضور یا عدم حضور مهارکننده (LY-215,840, Tocris Bioscience, UK) به کشت اضافه شد. غلظت‌ها با توجه به مطالعات گذشته انتخاب شدند (۱۴ و ۱۵). پس از گذشت ۴۸ ساعت از انکوباسیون، پلیت در دور 1700 rpm به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. پس از خارج کردن سوپ سلولی، از سلول‌های باقیمانده کف پلیت تحت شرایط استریل با استفاده از کیت RNA (Yektatajhiz, Iran) استخراج شد. بررسی کیفیت RNA توسط تکنیک اسپکتروفوتومتری صورت گرفت. با استفاده از کیت cDNA (Yektatajhiz, Iran) طبق دستورالعمل سنتز شد. در ادامه بیان ژن‌های گیرنده Toll-like2,4 با استفاده از پرایمرهای مربوطه و روش Real Time PCR با استفاده از مستر میکس سایبر گرین (ABI, UK) سنجش شد. پروتکل زمانی و دمایی مراحل واکنش Real Time PCR در جدول ۱ آورده شده است. بیان ژن بتا اکتین به عنوان کنترل داخلی در نظر گرفته شد. این نسبت با استفاده از روش $\Delta ct-2$برای هر نمونه محاسبه گردید. داده‌ها توسط نرم‌افزار GraphPad Prism نسخه ۷ و با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه (one-way ANOVA) و متعاقب آن مقایسه چندگانه توسط تست Tukey مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. اختلاف در سطح کمتر از ۰/۰۵ معنی‌دار تلقی گردید. توالی پرایمرهای مورد استفاده در جدول ۲ آورده شده است.

## یافته‌ها

سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی در غلظت‌های مختلف پاروکستین به مدت ۴۸ ساعت کشت داده شدند. میزان بیان mRNA ژن‌های TLR2 و TLR4 به روش Real-time PCR ارزیابی شد. میزان بیان ژن‌های هدف با ژن داخلی بتا اکتین مقایسه شدند. نتایج حاصل از آنالیز بیان ژن نشان داد، تیمار سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی با داروی پاروکستین موجب افزایش قابل توجه ژن‌های TLR2 و TLR4 بویژه در غلظت ۲۵ میکرومولار نسبت به گروه کنترل شده‌است (نمودار ۱).

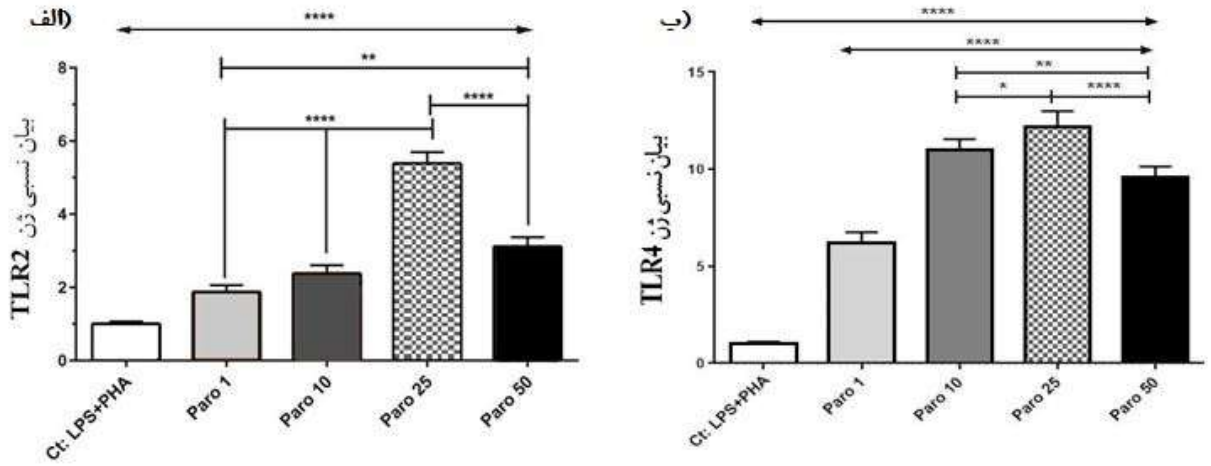
علاوه بر این، کشت سلول‌ها با دارو (۵۰،۲۵ میکرومولار) و مهار کننده گیرنده‌های سروتونینی ۲ و ۷ (LY-215,840) بطورهمزمان، اثر دارو را در هر دو غلظت بر بیان mRNA ژن TLR2 خنثی کرد. برخلاف TLR2، تغییرات بیان ژن TLR4 در حضور پاروکستین و مهارکننده همچنان سیر افزایشی نشان داد (نمودار ۲).

**جدول ۱:** پروتکل زمانی و دمایی مراحل واکنش Real Time PCR

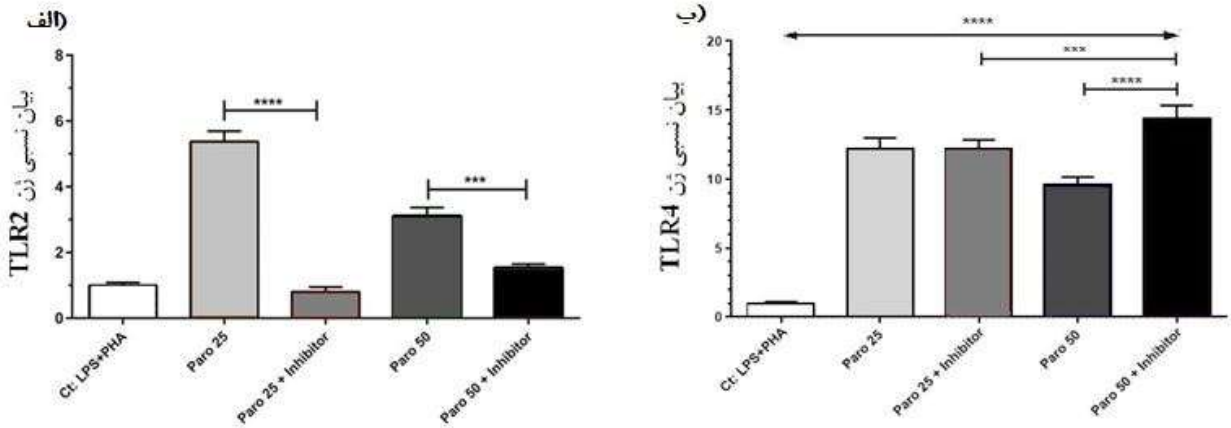
| مرحله | زمان | دما C° | | | سیکل |
|---|---|---|---|---|---|
| واسرشت اولیه | ۵ دقیقه | ۹۵ | | | ۱ |
| واسرشت الگو | ۱۵ ثانیه | ۹۵ | | | ۴۰ |
| اتصال پرایمر | ۱ دقیقه | *TLR2* | *TLR4* | *actin-β* | |
| | | ۵۶ | ۵۶ | ۵۶ | |
| بسط | ۱۵ ثانیه | | ۷۲ | | |
| بسط نهایی | ۵ دقیقه | | ۷۲ | | ۱ |

**جدول ۲:** توالی پرایمرهای مورد استفاده در Real- time PCR

| Gene | Forward | Reverse |
|---|---|---|
| ***TLR-4*** | ACCAGAACTGCTACAACAGATACT | TGGAAGTTGAACGAATGGAATGTG |
| ***TLR-2*** | TTCTTCCTTGGAGAGGCTGA | GGGTTGAAGCACTGGACAAT |
| ***β-actin*** | CTGGAACGGTGAAGGTGACA | AAGGGACTTCCTGTAACAATGCA |




**نمودار ۱:** نتایج Real-time PCR بیان mRNA الف) ژن TLR4 ب) TLR2 تحت تیمار غلظت‌های مختلف از پاروکستین. مقادیر به صورت میانگین ± انحراف معیار بیان شده است. * p>۰/۰۵، **p> ۰/۰۱، ****p> ۰/۰۰۰۱




**نمودار ۲:** نتایج Real-time PCR بیان mRNA ژن‌های الف) TLR2 و ب) TLR4 در حضور LY-215,840 مقادیر به صورت میانگین ± انحراف معیار بیان شده است. ***p>۰/۰۰۱، ****p> ۰/۰۰۰۱

## بحث

مطالعات بسیاری اثر داروهای ضد افسردگی SSRI را بر اجزای سیستم ایمنی بررسی کرده‌اند، با این وجود اطلاعات محدودی از اثر آن‌ها بر سیستم ایمنی افراد سالم با شرایط روانی طبیعی در دست است (۵). با توجه به اثرات جانبی کم و سمیت ضعیف، پاروکستین به‌وفور برای درمان افسردگی تجویز می‌شود (۱۶)، اما اثرات ایمونولوژیک آن نسبت به دیگر داروهای هم‌گروهش کمتر مورد توجه قرار گرفته‌است. مطالعه حاضر نشان داد که پاروکستین باعث افزایش چشمگیر گیرنده‌های شبه تول ۲ و ۴ در سطح سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی جدا شده از افراد سالم می‌شود. علاوه براین، اطلاعات حاصل از انکوباسیون همزمان سلول‌ها با پاروکستین و مهارکننده گیرنده‌های سروتونینی ۲و ۷ پیشنهاد می‌کند که اثرات ایمونولوژیک این دارو بواسطه TLR2 وابسته به و در مورد TLR4 مستقل از سیستم سروتونینی سلول‌های ایمنی می‌باشد. سروتونین (۵–HT) یک انتقال دهنده عصبی مهم با عملکرد کلیدی فراتر از سیستم عصبی است که سیستم ایمنی ازجمله آن‌ها است. سیستم سروتونینی سلول‌های ایمنی شامل خانواده گیرنده‌های سروتونینی با ۷ عضو (۵–HT1–7Rs) ، انتقال دهنده سروتونین (SERT) و آنزیم‌های مورد نیاز برای سنتز سروتونین می‌باشد. بنابراین، با توجه به مهار بازبرداشت سروتونین توسط داروهای SSRI احتمال تداخل عملکردی با این نوروترانسمیتر وجود دارد (۱۱). وابستگی اثرات ایمونولوژیک

داروهای SSRI به سروتونین در سال‌های اخیر مورد مطالعه قرار گرفته‌است و نتایج به‌دست آمده بسته به دارو و فاکتور ایمونولوژیک مورد سنجش متفاوت بوده است (۱۷ و ۱۸). برای مثال دورایراج و همکاران با مطالعه اثر پاروکستین بر کشت سلولی ماکروفاژ نشان دادند که اثر پاروکستین بر تولید TNF-α القایی توسط LPS وابسته به سروتونین و در مقابل در مورد IL-6 کاملا مستقل از HT-۵ است (۴). در بین اعضای خانواده داروهای SSRI، پاروکستین بیشترین میزان تمایل به انتقال دهنده سروتونینی را دارا می‌باشد (۱). بنابراین، احتمالا پاروکستین بخشی از اثرات ایمونولوژیک خود را مرهون افزایش میزان سرتونین در محیط بدنبال مهار انتقال دهنده سرتونینی و در ادامه تحریک گیرنده‌های سرتونینی موجود در سلول‌های ایمنی می‌باشد (۱۱). در مطالعه حاضر جهت مشخص کردن نقش تحریک این گیرنده‌ها بدنبال افزایش سرتونین در محیط کشت در پاسخ به پاروکستین، از آنتاگونیست‌های گیرنده استفاده شده است. با این حال تشریح مکانیسم‌های احتمالی مسئول، با توجه به عدم توافق بین اطلاعات موجود در مورد وابستگی اثر ایمونولوژیک پاروکستین به سروتونین بویژه به‌واسطه گیرنده‌های شبه تول نیازمند مطالعات وسیعتر در آینده می‌باشد.

به عنوان اولین گیرنده‌های فعال شده در جریان برهمکنش میزبان و پاتوژن در سطح سلول‌های ایمنی ذاتی، پذیرنده‌های شبه تول نقش مهمی در هماهنگی ایمنی ذاتی و اکتسابی ایفا می‌کنند. علی‌رغم وجود اطلاعات نامحدود در مورد نقش TLRs در میانجی‌گری پاسخ‌های التهابی، مطالعات اخیر به اطلاعات ارزشمندی در مورد عملکرد ضدالتهابی و تنظیمی این گیرنده‌ها در سلول‌های ایمنی دست یافته‌اند. زیرا همان‌طور که پاسخ التهابی به منظور دفاع در مقابل عامل بیگانه واقع می‌شود، در صورت عدم کنترل سبب برهم خوردن تعادل سیستم شده و خود زمینه‌ساز ایمونوپاتی‌های جدی خواهد شد. TLR4 شناخته‌شده‌ترین عضو از این خانواده می‌باشد. برمبنا مطالعات گذشته، القای پاسخ التهابی با اتصال لیگاند به TLR4 توسط سلول‌های دندریتیک، لنفوسیت‌ها و ماکروفاژها امری محتوم به نظر می‌رسد اما مطالعات اخیر نشان دادند فعالیت این گیرنده می‌تواند منجر به تعدیل التهاب و تولید سایتوکاین ضدالتهابی IL-10 شود (۱۹ و ۲۰). برای مثال حفظ تعادل بین پاسخ التهابی یا ضدالتهابی حاصل از اتصال لیگاند به این گیرنده در سلول‌های دندریتیک بسته به جاگیری سلولی صحیح آن (غشاء پلاسما یا درون سلول) و نوع پروتئین تطبیق دهنده فعال شده (TRAM/TRIF, TRAP/MyD88) می‌باشد (۲۱ و ۲۲). بطور مشابه، نقش TLR4 در تمایز ماکروفاژها به نوع کلاسیک و التهابی (M1) یا نوع ضدالتهابی (M2) نیز اثبات شده‌است. بر اساس این مطالعات، سرنوشت فنوتیپیک ماکروفاژهای فعال شده توسط LPS وابسته به نوع فاکتور رونویسی فعال شده در پایین دست پیام‌رسانی TLR4 می‌باشد (۲۳و۲۴).

فعالیت TLR2 نیز در تعدیل پاسخ‌های التهابی نقش کلیدی ایفا می‌کند. فعال شدن TLR2 در سطح سلول‌های لنفوسیت B، لنفوسیت‌های CD4+ T، ماکروفاژها و سلول‌های دندریتیک (DCs) می‌تواند تولید IL-10 و در نهایت سرکوب پاسخ‌های التهابی را میانجی‌گری کند (۱۰). برای مثال، فعال‌سازی TLR2 توسط باکتری‌های روده ترشح IL-10 را از لنفوسیت‌های B القا می‌کند. این مسئله برای حفظ هموستاز مخاط روده ضروری است و از ابتلا به بیماری‌های مضمن التهابی روده مثل کولیت اولسروز پیشگیری کرده و کولیت منتج از عمل لنفوسیت‌های T را تخفیف می‌دهد (۲۵). علاوه براین، یافته‌های جدید ارتباط TLR2 را با پروتئین‌های دخیل در تنظیم چرخه سلولی گزارش کرده‌اند. در این رابطه، هاری و همکاران نشان دادند تشکیل هترودیمر TLR2/TLR10 با القاء توقف در چرخه سلولی از طریق تنظیم پروتئین‌های سرکوب کننده تومور مثل p53 از پیشرفت سرطان تحت استرس اونکوژنیک در مدل موشی و سلولی جلوگیری می‌کند (۲۶). این در حالی است که مطالعات ماهیت عملکردی این هترومر را ضدالتهابی گزارش کرده‌اند.

طی تحقیق گسترده راجع به گیرنده‌های شبه تول، محققان حضور فرم محلول گیرنده‌های شبه تول را در پلاسما و مایعات بدن شناسایی کرده‌اند که در مورد TLR2 محصول تغییرات پس از ترجمه در فرم سلولی و در مورد TLR4 محصول پیرایش متناوب mRNA کد کننده این گیرنده می‌باشند. sTLR2,4 به‌واسطه رقابت با فرم سلولی برای اتصال به لیگاند نقش گیرنده طعمه را بازی کرده و به‌عنوان مسیر موازی برای کنترل التهاب حاصل از اجزا ویروسی و باکتریایی محسوب می‌شوند (۸، ۲۷ و ۲۸).

نتایج این مطالعات پتانسیل این گیرنده‌ها را به‌عنوان اهداف درمانی گوشزد می‌کند. بنابراین، ترکیب دارویی مانند پاروکستین که مورد تأیید FDA بوده و مدت زیادی در بالین مورد استفاده واقع شده است می‌تواند گزینه مناسبی در مطالعات آینده باشد.

اثر داروهای ضدافسردگی مختلف از جمله پاروکستین بر بیان mRNA گیرنده‌های شبه تول در مطالعات گذشته بررسی شده است. برای مثال، نتایج مطالعه آویزان و همکاران نشان داد تیمار کشت سلولی PBMC بیماران مبتلا به افسردگی حاد با پاروکستین بیان mRNA TLR4، TLR2، TLR1 و TLR6 را به میزان کمتر از سطوح نرمال کاهش می‌دهد (۲۹). در تأیید این مطالعه، هو و همکاران گزارش کردند که مصرف داروهای ضدافسردگی از جمله پاروکستین به مدت ۴ هفته در بیماران افسرده حاد موجب کاهش بیان پذیرنده‌های شبه تول از جمله TLR4,2 در خون این بیماران شد (۳۰). افزایش گیرنده‌های شبه تول ۲ و ۴ در افسردگی در مطالعات بسیاری شناسایی شده‌است و به‌عنوان عوامل اصلی در

پاتوفیزیولوژی افسردگی شاخته می‌شود. بنابراین، نتایج این مطالعات احتمال تفاوت در اثرگذاری این دارو بر بیان این گیرنده‌ها را در بیماران افسرده و افراد با شرایط روانی طبیعی مطرح می‌کند.

مطالعه حاضر جزمعدود مطالعاتی است که اثرات پاروکستین را در افراد با شرایط روانی طبیعی بررسی می‌کند. نتایج این مطالعه نشان داد تیمار کشت PBMC با پاروکستین میزان بیان ژن‌های TLR2 و TLR4 را به‌طور معناداری در افراد سالم افزایش می‌دهد.

## نتیجه‌گیری

طبق نتایج حاصل از تست Real Time PCR، در تحقیق حاضر، میزان بیان ژن‌های TLR4 و TLR2 در پاسخ به تیمار با پاروکستین سیر افزایشی نشان داد. از این قابلیت پاروکستین می‌توان در کنترل و تعدیل پاسخ‌های ایمنی در ایمونوپاتی‌ها استفاده کرد.


## قدردانی

از تمامی عزیزان در دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد که در انجام این پژوهش کمک نموده‌اند کمال تشکر را داریم. شماره پایان نامه: ۱۱۲


## ملاحظات اخلاقی

تحقیق حاضر با کد IR.SSU.MEDICINE.REC.1396.204 در کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد تایید شده است.


## منابع مالی

منابع مالی ندارد..


## منافع متقابل

مؤلفان اظهار می‌دارند که منافع متقابلی از تالیف یا انتشار این مقاله ندارد.

## مشارکت مولفان

ف گ، آ ه، م د، ح ه، ع ک طراحی، اجرا و تحلیل نتایج مطالعه را بر عهده داشته و همچنین مقاله را تالیف نموده و نسخه نهایی آن را خوانده و تایید کرده‌اند.

## References


1. Walker FR. A critical review of the mechanism of action for the selective serotonin reuptake inhibitors: do these drugs possess anti-inflammatory properties and how relevant is this in the treatment of depression? Neuropharmacology. 2013;(67):304-17. doi: 10.1016/j.neuropharm.2012.10.002
2. Chen C-Y, Yeh Y-W, Kuo S-C, Liang C-S, Ho P-S, Huang C-C, et al. Differences in immunomodulatory properties between venlafaxine and paroxetine in patients with major depressive disorder. Psychoneuroendocrinology. 2018;(87):108-18. doi: 10.1016/j.psyneuen.2017.10.009
3. Wang Q, Wang L, Wu L, Zhang M, Hu S, Wang R, et al. Paroxetine alleviates T lymphocyte activation and infiltration to joints of collagen-induced arthritis. Scientific Reports. 2017;(7):45364. doi: 10.1038/srep45364
4. Durairaj H, Steury MD, Parameswaran N. Paroxetine differentially modulates LPS-induced TNFα and IL-6 production in mouse macrophages. International immunopharmacology. 2015;25(2):485-92. doi: 10.1016/j.intimp.2015.02.029
5. Kopschina Feltes P, Doorduin J, Klein HC, Juárez-Orozco LE, Dierckx RA, Moriguchi-Jeckel CM, et al. Anti-inflammatory treatment for major depressive disorder: implications for patients with an elevated immune profile and non-responders to standard antidepressant therapy. Journal of Psychopharmacology. 2017;31(9):1149-65. doi: 10.1177/0269881117711708
6. Molteni M, Bosi A, Rossetti C. Natural products with toll-like receptor 4 antagonist activity. International journal of inflammation. 2018;2018. doi: 10.1155/2018/2859135
7. de Oliviera Nascimento L, Massari P, Wetzler LM. The role of TLR2 in infection and immunity. Frontiers in immunology. 2012;(3):79. doi: 10.3389/fimmu.2012.00079
8. Nemati M, Larussa T, Khorramdelazad H, Mahmoodi M, Jafarzadeh A. Toll-like receptor 2: An important immunomodulatory molecule during Helicobacter pylori infection. Life sciences. 2017;(178):17-29. doi: 10.1016/j.lfs.2017.04.006
9. Oosting M, Cheng S-C, Bolscher JM, Vestering-Stenger R, Plantinga TS, Verschueren IC, et al. Human TLR10 is an anti-inflammatory pattern-recognition receptor. Proceedings of the National Academy of Sciences. 2014;111(42):E4478-E84. doi: 10.1073/pnas.1410293111
10. Jun JC, Jones MB, Oswald DM, Sim ES, Jonnalagadda AR, Kreisman LS, et al. T cell-intrinsic TLR2 stimulation promotes IL-10 expression and suppressive activity by CD45RbHi T cells. PloS one. 2017;12(7):e0180688. doi: 10.1371/journal.pone.0180 688

11. Herr N, Bode C, Duerschmied D. The effects of serotonin in immune cells. Frontiers in cardiovascular medicine. 2017;4:48. doi: 10.3389/fcvm.2017.00048
12. Leonard BE. The concept of depression as a dysfunction of the immune system. Depression: From Psychopathology to Pharmacotherapy. 2010;27:53-71.
13. De Groote D, Zangerlé P-F, Gevaert Y, Fassotte M-F, Beguin Y, Noizat-Pirenne F, et al. Direct stimulation of cytokines (IL-1β ,TNF-α, IL-6, IL-2, IFN-γ and GM-CSF) in whole blood. I. Comparison with isolated PBMC stimulation. Cytokine. 1992;4(3):239-48. doi: 10.1016/1043-4666(92)90062-v
14. Thal DM, Homan KT, Chen J, Wu EK, Hinkle PM, Huang ZM, et al. Paroxetine is a direct inhibitor of g protein-coupled receptor kinase 2 and increases myocardial contractility. ACS chemical biology. 2012;7(11):1830-9. doi: 10.1021/cb3003013
15. Tynan RJ, Weidenhofer J, Hinwood M, Cairns MJ, Day TA, Walker FR. A comparative examination of the anti-inflammatory effects of SSRI and SNRI antidepressants on LPS stimulated microglia. Brain, behavior, and immunity. 2012;26(3):469-79. doi: 10.1016/j.bbi.2011.12.011
16. Bourin M, Chue P, Guillon Y. Paroxetine: a review. CNS drug reviews. 2001;7(1):25-47. doi: 10.1111/j.1527-3458.2001.tb00189.x
17. Arreola R, Becerril-Villanueva E, Cruz-Fuentes C, Velasco-Velázquez MA, Garcés-Alvarez ME, Hurtado-Alvarado G, et al. Immunomodulatory effects mediated by serotonin. Journal of Immunology Research. 2015;2015. doi: 10.1155/2015/354957
18. Gobin V, Van Steendam K, Denys D, Deforce D. Selective serotonin reuptake inhibitors as a novel class of immunosuppressants. International immunopharmacology. 2014;20(1):148-56. doi: 10.1016/j.intimp.2014.02.030
19. Horvatinovich JM, Grogan EW, Norris M, Steinkasserer A, Lemos H, Mellor AL, et al. Soluble CD83 inhibits T cell activation by binding to the TLR4/MD-2 complex on CD14+ monocytes. The Journal of Immunology. 2017;198(6):2286-301. doi: 10.4049/jimmunol.1600802
20. Pace E, Di Sano C, Ferraro M, Bruno A, Caputo V, Gallina S, et al. Budesonide increases TLR4 and TLR2 expression in Treg lymphocytes of allergic asthmatics. Pulmonary Pharmacology & Therapeutics. 2015; 32:93-100 .doi: 10.1016/j.pupt.2015.02.003
21. Aksoy E, Taboubi S, Torres D, Delbauve S, Hachani A, Whitehead MA, et al. The p110δ isoform of the kinase PI (3) K controls the subcellular compartmentalization of TLR4 signaling and protects from endotoxic shock. Nature Immunology. 2012;13(11):1045. doi: 10.1038/ni.2426
22. Siegemund S, Sauer K. Balancing pro-and anti-inflammatory TLR4 signaling. Nature Immunology. 2012;13(11):1031. doi: 10.1038/ni.2452
23. Lawrence T, Natoli G. Transcriptional regulation of macrophage polarization: enabling diversity with identity. Nature Reviews Immunology. 2011;(11):750. doi: 10.1038/nri3088
24. Srivastava M, Saqib U, Naim A, Roy A, Liu D, Bhatnagar D, et al. The TLR4–NOS1–AP1 signaling axis regulates macrophage polarization. Inflammation Research. 2017;66(4):323-34. doi: 10.1007/s00011-016-1017-z
25. Mishima Y, Oka A, Liu B, Herzog JW, Eun CS, Fan TJ, et al. Microbiota maintain colonic homeostasis by activating TLR2/MyD88/PI3K signaling in IL-10–producing regulatory B cells. The Journal of Clinical Investigation. 2019 Sep 3;129(9):3702-16. doi: 10.1172/jci93820.
26. Hari P, Millar FR, Tarrats N, Birch J, Quintanilla A, Rink CJ, et al. The innate immune sensor Toll-like receptor 2 controls the senescence-associated secretory phenotype. Science advances. 2019 Jun 1;5(6):eaaw0254. doi: 10.1126/sciadv.aaw0254
27. Hyakushima N, Mitsuzawa H, Nishitani C, Sano H, Kuronuma K, Konishi M, et al. Interaction of soluble form of recombinant extracellular TLR4 domain with MD-2 enables lipopolysaccharide binding and attenuates TLR4-mediated signaling. The Journal of Immunology. 2004;173(11):6949-54. doi: 10.4049/jimmunol.173.11.6949
28. Henrick BM, Yao X-D, Taha AY, German JB, Rosenthal KL. Insights into soluble Toll-like receptor 2 as a downregulator of virally induced inflammation. Frontiers in immunology. 2016;(7):291. doi: 10.3389/fimmu.2016.00291
29. Hung Y-Y, Huang K-W, Kang H-Y, Huang GY-L, Huang T-L. Antidepressants normalize elevated Toll-like receptor profile in major depressive disorder. Psychopharmacology. 2016;233(9):1707-14. doi: 10.1007/s00213-015-4087-7
30. Hou T-Y, Huang T-L, Lin C-C, Wu M-K, Hung Y-Y. Effects of Selective Serotonin Reuptake Inhibitors and Serotonin-Norepinephrine Reuptake Inhibitors on Toll-Like-Receptors Expression Profiles. Neuropsychiatry. 2018;8(1):24. doi: 10.4172/ neuropsychiatry.1000345