علوم زیستی ورزشی _ زمستان ۱۳۹۴
دورهٔ۷، شمارهٔ ۴، ص : ۶۰۵ – ۶۱۸
تاریخ دریافت : ۰۲ / ۱۱ / ۹۳
تاریخ پذیرش : ۲۵ / ۱۲ / ۹۳

تأثیر تمرین هوازی در هوای آلوده به ذرات کربن سیاه بر بیان ژن TLR4 و TNF-α بافت ریهٔ موش‌های صحرایی نر

محمد فشی[۱] – حمید آقاعلی‌نژاد*[۲] – حسن اصیلیان مهابادی[۳] – بتول رضایی[۴] – بهزاد پاک‌راد[۵]

۱.استادیار دانشکدهٔ تربیت بدنی و علوم ورزشی دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران ۲.دانشیار فیزیولوژی ورزشی گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی دانشگاه تربیت مدرس، ۳.دانشیار مهندسی بهداشت حرفه ای، گروه بهداشت حرفه ای و محیط، دانشکدهٔ علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران ۴.دکتری فیزیولوژی ورزشی گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی دانشگاه تربیت مدرس، تهران ، ایران ۵. دکتری فیزیولوژی ورزشی گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

چکیده

هدف از پژوهش حاضر بررسی تأثیر تمرین هوازی در هوای آلوده به ذرات کربن سیاه بر بیان ژن TLR4 و TNF-α در موش‌های صحرایی نر است. به این منظور ۲۴ سر موش صحرایی نر از نژاد ویستار با میانگین تودهٔ بدنی ۲۶/۹۷±۲۷۹/۲۹ گرم به‌طور تصادفی در چهار گروه الف) کنترل، ب) تمرین هوازی، ج) آلودگی و د) آلودگی+ تمرین قرار گرفتند. از دستگاه تزریق ذرات و اتاقک (فالونک) به‌منظور قرارگیری حیوانات در معرض ذرات کربن سیاه با قطر کمتر از ۱۰ میکرون استفاده شد. پروتکل تمرین هوازی با ۵۰ درصد بیشینهٔ سرعت هر گروه به مدت ۴ هفته انجام گرفت و ۲۴ ساعت پس از آخرین جلسهٔ تمرینی و قرارگیری در معرض ذرات کربن سیاه حیوانات قربانی شدند. با استفاده از تکنیک Real time-Pcr بیان ژن TLR4 و TNF-α در بافت ریهٔ موش‌ها ارزیابی شد. به‌منظور تعیین معنادار بودن تفاوت بین گروه‌ها از تحلیل واریانس چندسویه و آزمون تعقیبی LSD و آزمون ناپارامتریک فریدمن استفاده شد. تمرین هوازی، به کاهش بیان ژن TLR4 و TNF-α در موش‌های در معرض ذرات کربن سیاه منجر شد. همچنین، تمرین با کاهش معنادار تودهٔ بدن در گروه‌های در معرض ذرات کربن سیاه همراه شد. چهار هفته تمرین هوازی در هوای آلوده به ذرات کربن سیاه به تعدیل عوامل التهابی TLR4 و TNF-α و تودهٔ بدن منجر می‌شود. به‌نظر می‌رسد این تغییرات در بخشی با کاهش خطر ابتلا به بیماری‌های ریوی همراه باشد.

واژه‌های کلیدی

التهاب، بافت ریه، تمرین هوازی، بافت ریه،کربن سیاه.

---

* نویسندهٔ مسئول : تلفن : ۰۹۱۲۴۹۴۶۱۸۱ Email :halinejad@modares.ac.ir

مقدمه

امروزه آلودگی هوا در شهرهای بزرگ و صنعتی موجب نگرانی شده است. زندگی در هوای آلوده و انجام فعالیت‌های روزمره و فعالیت‌های ورزشی نگرانی‌های زیادی را برای افراد در معرض آلودگی هوا ایجاد کرده است. آلودگی هوا در شهرهای بزرگ بیشتر ناشی از دود اتومبیل‌ها، کارخانه‌ها و غیره است که مهم‌ترین اجزای آن را مونوکسید کربن (CO)، اکسید نیتروژن (NOX)، ازون (O_3)، ریز ذرات (PM_{10})، دی‌اکسید سولفور (SO_2) و اجزای ارگانیک فرار (VOCs) تشکیل می‌دهد (۵،۲۲، ۱). برخی مطالعات نشان داده‌اند طبیعت فیزیکی و شیمیایی آلودگی هوا که از عواملی مانند اندازهٔ ذرات، فصل و موقعیت جغرافیایی (۱۷، ۱۴، ۷ ،۵) ناشی می‌شود، در فعال کردن مسیرهای التهابی نقش دارد که در این بین لیگاندهای داخلی و خارجی – گیرنده‌های شبه‌تول[1] - نقش مهمی دارند (۴۰). گیرنده‌های TLR در سطح سلول و در غشاهای داخل‌سلولی یافت می‌شوند، بنابراین می‌توانند میکروب‌ها و عوامل خارجی را در نقاط مختلف سلول شناسایی کنند و با فعال کردن مسیرهای فرودست با توسعهٔ التهاب حاد و علائم تنفسی و تشدید شرایط التهاب مزمن، آسم و بیماری‌های قلبی- تنفسی را منجر شوند (۲۲ ،۱۰). بسیاری از میانجی‌های التهاب نقش مهمی در هر دو پاسخ‌های سلولی و فیزیولوژیکی به ذرات آلودگی هوا دارند که از آن جمله می‌توان به سایتوکاین‌ها و کموکاین‌ها اشاره کرد (۳). آلن و همکاران (۲۰۰۵) رابطهٔ بین قرارگیری در معرض اجزای آلودگی هوا و تغییرات معنادار عوامل التهابی و عملکرد ریه را در کودکان ارزیابی کردند. دو ساعت قرارگیری در معرض آلودگی هوا موجب کاهش عملکرد ریه (حجم بازدم اجباری در ۱ ثانیه و ظرفیت حیاتی اجباری) و افزایش التهاب نوتروفیل‌ها شد (۴). از بین مواد آلاینده، ذرات معلق توجه ویژه‌ای را به خود جلب کرده است. ذرات معلق با قطر آیرودینامیکی کمتر از ۱۰ میکرومتر(PM10) به‌دلیل راه‌یابی به سیستم تنفسی تحتانی، شاخص اصلی مواد معلق در هواست (۸). براساس مطالعات اپیدمیولوژیکی، ذرات معلق در مقایسه با اکسیدهای گوگرد و اکسیدهای ازت برای سلامت انسان مخاطره‌آمیزتر است و مقدار PM10 در تشدید بیماری‌های قلبی - ریوی، کاهش مقاومت سیستم ایمنی بدن در مقابل بیماری‌ها، از بین رفتن بافت ریه، آسم کودکان، مرگ‌ومیر زودرس و سرطان نقش عمده‌ای دارد. بکر و همکاران (۲۰۰۲)، نشان دادند ذرات آلودگی هوا موجب تحریک TLR2 و TLR4 و تولید سایتوکاین‌های پیش‌التهابی می‌شود (۶). یکی از اجزای ذرات معلق که اهمیت

1 . Toll like receptors - TLR

بسیاری دارد، کربن سیاه است. کربن سیاه ناشی از احتراق ناقص هیدروکربن‌های مایع و گازی است و امروزه به‌دلیل استفاده در سوخت گازوئیل و موتورهای دیزلی، از آن به‌عنوان آلایندهٔ موتورهای دیزلی یاد می‌شود. مطالعات نشان داده‌اند که بین قرارگیری در معرض ذرات کربن سیاه و التهاب و خطر برخی بیماری‌ها رابطه وجود دارد (۴۵). جکسون و همکاران (۲۰۱۲) در تحقیق روی موش‌های باردار نشان دادند که قرارگیری در معرض ذرات کربن سیاه با افزایش التهاب و آسیب DNA همراه است (۳۱). در همین زمینه، بوردن و همکاران نیز در تحقیقی روی موش‌ها نشان دادند که قرار دادن موش در معرض کربن سیاه (۰/۱۶۲ میلی‌گرم) به التهاب ریه و مایع پوشانندهٔ ریه و نیز در کبد منجر می‌شود (۲۰). افزایش استفاده از کربن سیاه در سوخت‌های دیزلی، صنعت تایر ماشین، پلاستیک و موارد دیگر نگرانی‌های روزافزونی را در این زمینه موجب شده است. انجام تمرینات ورزشی در هوای آلوده با چالش‌های بسیاری روبه‌روست و پژوهش‌های کمی به‌صورت عمقی به آن پرداخته‌اند (۴۱). پاره‌ای پژوهش‌ها تمرینات ورزشی در هوای آلوده را مضر دانسته‌اند (۳۹، ۳۸، ۳۷، ۳۰، ۲۳، ۹)، این در حالی است که پژوهش‌های دیگر آن را رویکرد مناسبی برای تعدیل تأثیرات مضر آلودگی هوا قلمداد کرده‌اند (۳۴، ۲۸، ۱۹). تمرینات هوازی منظم، فواید سلامتی بسیاری را در پی دارد که از جمله می‌توان بهبود آمادگی قلبی- عروقی (۲۸)، بهبود کیفیت زندگی، کاهش چاقی و فشار خون و افزایش طول عمر را نام برد. انجام تمرینات هوازی به‌صورت منظم و مداوم استرس اکسایشی را به‌صورت سیستماتیک (۱۹) در بیماری‌های مختلف مانند بیماری‌های قلبی، دیابت نوع -۲، آرتریت روماتوئید، آلزایمر و پارکینسون (۳۳) و در سلول‌های اپی‌تلیال مسیرهای هوایی حیوانات دارای آلرژی طولانی‌مدت و التهاب ریه کاهش می‌دهد (۴۲). علاوه‌بر آن، تمرینات منظم تأثیرات ضد التهابی در انواع مختلف بیماری‌های ریوی مانند آسم (۲۹)، سندروم زجر تنفسی حاد (۲۷) و بیماری‌های انسداد ریوی مزمن (۲۴) به‌همراه دارد . مطالعات انجام‌گرفته در زمینهٔ بررسی تأثیر قرارگیری در معرض آلودگی هوا به هنگام تمرینات ورزشی پیشنهاد کرده‌اند افرادی که در هوای آلوده ورزش می‌کنند، در معرض افزایش خطر بیماری‌های تنفسی و قلبی-عروقی قرار دارند، زیرا تمرینات ورزشی میزان تنفس و تبادلات ریوی و تنفس آلاینده‌های سمی را افزایش می‌دهد (۳۸، ۳۷، ۳۰، ۲۳، ۹). تهویهٔ دقیقه‌ای در حالت استراحت حدود ۶ لیتر بوده و این در حالی است که در فعالیت متوسط میزان آن ۱۲ است و در فعالیت شدید تا ۲۷ برابر افزایش می‌یابد (۴۶). از طرف دیگر، سطح تماس بین ذرات آلودگی هوا و مسیرهای تنفسی وسیع است و این مسئله می‌تواند مسیرهای تنفسی و ریه‌ها را بیشتر آسیب‌پذیر کند (۱۲). تمرینات ورزشی می‌تواند به‌وسیلهٔ

افزایش دوز تحویل آلاینده‌ها به ریه در نتیجهٔ افزایش تهویهٔ ناشی از تقاضای متابولیک، تأثیرات معکوس و مضری را ایجاد کند (۱۳). با وجود این، این مطالعات، سازوکارهای اثر تمرینات هوازی را که می‌تواند عوامل پیش‌التهابی ناشی از آلودگی هوا را تعدیل کند، به‌صورت عمقی و در سطح گیرنده و مولکولی بررسی نکرده‌اند یا تعداد این مطالعات نیز بسیار اندک است. بنابراین این سؤال پیش می‌آید که آیا انجام شش هفته تمرینات هوازی می‌تواند بیان گیرندهٔ شبه‌تول – ۴ و فاکتور نکروزدهندهٔ تومور را در ریهٔ موش‌های در معرض هوای آلوده به ذرات کربن سیاه با قطر کمتر از ۱۰ میکرون (PM10) تغییر دهد؟ بنابراین، هدف از مطالعهٔ حاضر بررسی تأثیر شش هفته تمرین هوازی در هوای آلوده به ذرات کربن سیاه با قطر کمتر از ۱۰ میکرون بر روی بیان TLR4[1] و TNF-α[2] در بافت ریه موش‌هایی صحرایی نر بود.

روش‌شناسی

حیوانات و شرایط نگهداری

۲۴ سر موش نر نژاد ویستار ۱۰ هفته‌ای از مؤسسهٔ پاستور خریداری شدند. حیوانات در گروه‌های سه‌تایی در قفس‌های مخصوص در دمای اتاق (۳/۶± ۲۲ درجهٔ سانتی‌گراد) و طبق چرخهٔ ۱۲ ساعت خواب و بیداری و با دسترسی آزاد به آب و غذا نگهداری شدند. تمام آزمایش‌های صورت‌گرفته براساس دستورالعمل کار با حیوانات دانشگاه تربیت مدرس انجام گرفت. موش‌ها پس از ۱۴ روز نگهداری و یک هفته آشنایی با تردمیل و پروتکل تمرینی به‌صورت تصادفی به چهار گروه؛ الف) کنترل ۱ (بدون تمرین و بدون قرار گرفتن در معرض هوای آلوده به ذرات کربن سیاه)، ب) کنترل ۲ (بدون تمرین و با قرار گرفتن در معرض هوای آلوده به ذرات کربن سیاه)، ج) تمرین (تمرین هوازی و بدون قرار گرفتن در معرض هوای آلوده به ذرات کربن سیاه)، د) آلودگی+ تمرین ۳ (تمرین هوازی همراه با قرار گرفتن در معرض هوای آلوده به ذرات کربن سیاه) تقسیم شدند.

پروتکل قرارگیری در معرض ذرات

به‌منظور اجرای پروتکل تزریق ذرات از دستگاه و اتاقک (فالونک)[3] استفاده شد. دستگاه تزریق و اتاقک به‌گونه‌ای بود که هر یک دقیقه یک بار هوای اتاقک عوض می‌شد و با ایجاد فشار منفی در اتاقک از

1 . toll like receptor-4
2. Tumor necrosis factor - α
۳. اتاقک آلودگی هوا – مخترع: فشی، محمد. آقا علی‌نژاد، حمید. اصیلیان، حسن. مفیدی، امیرعباس. دانشگاه تربیت مدرس

خروج ذرات به فضای آزمایشگاه جلوگیری به‌عمل می‌آمد. ذرات آلاینده با غلظت حدود ۵ میلی‌گرم در متر مکعب، دمای ۲۲ درجهٔ سانتی‌گراد و رطوبت[1] ۲۹ درصد شبیه‌سازی می‌شد. موش‌های گروه "ب و د" به مدت دو ساعت در روز ، ۵ روز در هفته و به مدت ۶ هفته در معرض هوای آلوده به ذرات کربن سیاه قرار گرفتند. ذرهٔ آلایندهٔ به‌کاررفته در این تحقیق کربن سیاه (N660) با قطر کمتر از ۱۰ میکرون بود که از شرکت دودهٔ کربن ایران تهیه شد. شکل و قطر ذرات به‌ترتیب با روش تصویربرداری استفاده از میکروسکوپ نوری[2] و داست کانتر [3] بررسی و تأیید شد.

پروتکل تمرینی

ابتدا در مرحلهٔ آشناسازی، موش‌ها ۳ روز در هفته، ۱۵ دقیقه در روز و با سرعت ۲۰ متر بر دقیقه به مدت یک هفته تمرین کردند. پس از آن، برای تعیین بار کار بیشینهٔ حیوانات، آزمونی فزاینده به قرار زیر انجام گرفت:

آزمون با سرعت ۶ متر بر دقیقه شروع و هر ۳ دقیقه ۳ متر بر دقیقه بر سرعت دستگاه افزوده می‌شد تا حیوان قادر به دویدن نباشد (سه بار جا ماندن و افتادن از سرعت تردمیل) و بار کار بیشینه برای هر موش مشخص شد. از میانگین بار کار بیشینهٔ هر گروه برای تعیین شدت تمرین گروه استفاده شد. برنامهٔ تمرین اصلی با گرم کردن ۱۰ دقیقه‌ای با سرعت ۶ متر بر دقیقه شروع و سپس تمرین اصلی با ویژگی‌های زیر اجرا شد: «دویدن با ۵۰ درصد بار کار بیشینه هر گروه، ۶۰ دقیقه در روز، ۵ روز در هفته و به مدت ۴ هفته».

آماده‌سازی بافت

موش‌های صحرایی ۲۴ ساعت پس از آخرین جلسهٔ تمرین و قرارگیری در معرض ذرات آلودگی با ترکیبی از کتامین (۳۰ تا ۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم به‌صورت زیر صفاقی) و زایلازین (۳-۵ میلی‌گرم در کیلوگرم) بی‌هوش شدند. بافت ریه بلافاصله جدا و در مایع نیتروژن منجمد شد. نمونه‌های بافتی تا زمان اندازه‌گیری در فریزر ۸۰- درجهٔ سانتی‌گراد نگهداری شدند.

استخراج RNA و سنتز cDNA

حدود ۵۰ میلی‌گرم بافت ریه به‌صورت جداگانه، جهت استخراج total RNA به نسبت ۱ به ۱۰ در

---

۱. بادسنج هات وایر دیتا لاگر مدل TES-1341 ساخت تایوان

2 .Acc.V- Spot magn. 25.0 KV 3.4. 5000x.

3 . Grimm Aerosol Technique GmbH & Co. KG .Dorfstraße 9 -83404 Ainring (Germany)

QIAzol Lysis Reagent هموژن شد. به‌منظور برداشتن اجزای پروتئینی، محصول حاصل در^{0}C ۴، ۱۰min، ۱۲۰۰۰g سانتریفیوژ شد. سپس به نسبت ۱ به ۰/۵ با کلروفرم مخلوط و به مدت ۱۵ ثانیه به‌شدت تکان داده شد. محصول در ^{0}C ۴، ۱۵min، ۱۲۰۰۰g سانتریفیوژ و بخش معدنی و آبی از هم جدا شدند، بخش محتوی RNA برداشته و با نسبت ۱ به ۰/۵ با ایزوپروپانول مخلوط و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای اتاق رها و سپس در^{0}C ۴، ۱۰min، ۱۲۰۰۰g سانتریفیوژ شد. Pellet حاوی RNA در اتانول شست‌وشو و در Lμ20 آب RNAS-Free حل گردید. غلظت RNA مورد سنجش واقع شد (Eppendorff, Germany) و نسبت ۲۶۰ به ۲۸۰ بین ۱/۸ تا ۲ به‌عنوان تخلیص مطلوب تعریف شد. سنتز cDNA با استفاده از gμ1 از RNA و با استفاده از Random hexamer primer و آنزیم Reverse transcriptase انجام گرفت.

Real time – PCR

به‌منظور اندازه‌گیری سطوح بیان از روش کمی Real time-PCR با استفاده از Primix syber green II انجام گرفت (Applied Biosystems, USA). مخلوط واکنش در حجم نهایی Lμ20 و هر واکنش به‌صورت duplicate صورت پذیرفت. طراحی پرایمرها براساس اطلاعات ژن‌های TLR4 و TNF-α و GAPDH در بانک ژنی NBCI و توسط شرکت ماکرو ژن (Macrogen Inc, Seoul, Korea) انجام گرفت. توالی پرایمرهای مورد استفاده در جدول ۱ گزارش شده است، ضمن اینکه از GAPDH به‌عنوان ژن کنترل استفاده شد. برنامهٔ دمایی مورد استفاده در Real time-PCR شامل: ۹۵ به مدت ۱۰ دقیقه- ۹۵ به مدت ۱۵ ثانیه، ۶۰ به مدت ۱ دقیقه (تکرار ۴۰ سیکل) بود. میزان بیان ژن‌های مورد نظر نیز با روش $2^{-\Delta\Delta CT}$ اندازه‌گیری شد.

جدول ۱. توالی پرایمرهای مورد استفاده در پژوهش حاضر

Genes	Primer sequence
TLR4	For: 5′- AATCCCTGCATAGAGGTACTTCCTAAT -3′ Rev: 5′- CTCAGATCTAGGTTCTTGGTTGAATAAG -3′
TNF-α	For: 5′- GACCCTCACACTCAGATCATCTTC -3′ Rev: 5′- TGCTACGACGTGGGCTACG -3′
GAPDH	For: 5′- GACATGCCGCCTGGAGAAAC -3′ Rev: 5′- AGCCCAGGATGCCCTTTAGT -3′

تجزیه‌وتحلیل آماری

تمامی داده‌ها براساس میانگین±انحراف استاندارد توصیف شده‌اند. از آزمون تحلیل واریانس یکطرفه پس از تحلیل نمره‌های پس‌آزمون از پیش‌آزمون برای بررسی وجود تفاوت معنادار وزن بدن موش‌ها استفاده شد. برای تعیین نرمال بودن توزیع داده‌ها از آزمون کولموگروف اسمیرنوف و به‌منظور تعیین معنادار بودن تفاوت بین گروه‌ها از تحلیل واریانس (ANOVA) چندسویه [1] و آزمون تعقیبی LSD [2] و نیز آزمون ناپارامتریک فریدمن [3] استفاده شد. سطح معناداری نیز P≤۰/۰۵ در نظر گرفته شد. کلیهٔ بررسی‌های آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخهٔ ۲۰ انجام گرفت.

یافته‌ها

تمام حیوانات در گروه‌های تمرینی و آلودگی توانستند چهار هفته تمرین هوازی و قرارگیری در معرض ذرات کربن سیاه کمتر از ۱۰ میکرون را به‌طور مداوم انجام دهند و به اتمام برسانند. اختلاف معناداری در تودهٔ بدن گروه‌ها، پس از مداخله مشاهده نشد (F=۰/۳۳۴) (P=۰/۹۳۷). با وجود این تمرین در هوای آلوده به ذرات کربن سیاه کاهش وزن بدن موش‌ها منجر شد (جدول ۲).

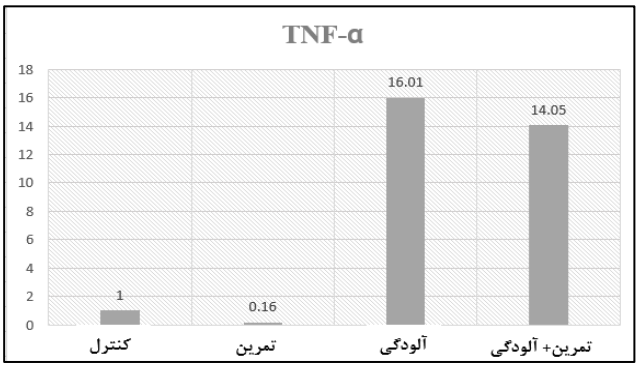
جدول ۲. تودهٔ بدن حیوانات گروه‌های تحقیق پس از مداخله بر حسب گرم

فرایند / گروه	میانگین±انحراف معیار (گرم)
کنترل	۳۱۱/۱۷±۳۶/۶۶
آلودگی	۳۲۴/۳۳±۲۷/۱۲
تمرین	۳۰۴/۳۳±۴۳/۳۱
آلودگی+تمرین	۳۱۵/۶۷±۳۳/۲۳

با توجه به طبیعی بودن توزیع داده‌های TNF-α (P=۰/۴۹۸)، از آزمون تحلیل واریانس چندسویه همراه با تست تعقیبی LSD استفاده شد. نتایج آنالیز واریانس چندسویه تفاوت معناداری را تنها بین

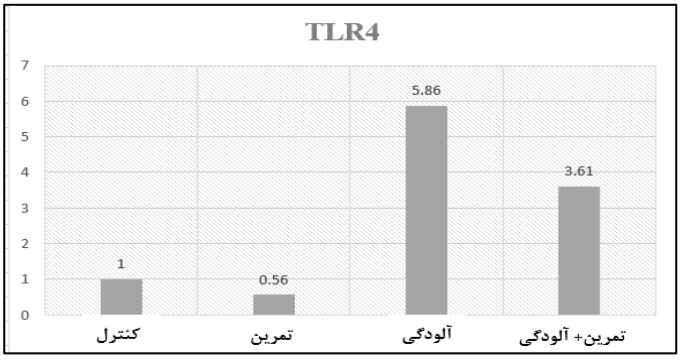
1. One Way ANOVA
2. Post Hoc LSD Test
3 . kruskal vallis

گروه تمرین و آلودگی در مقدار TNF-α (P=۰/۰۴۷) نشان داد. در مورد سایر گروه‌های مورد بررسی در مقدار TNF-α تفاوت معناداری مشاهده نشد. با وجود این بیان TNF-α در گروه آلودگی + تمرین کمتر از گروه آلودگی و بیشتر از گروه تمرین و کنترل بود. گروه تمرین همچنین بیان TNF-α کمتری را نسبت به گروه کنترل داشت (نمودار ۱).



نمودار ۱. میانگین ارزش‌های TNF-α در گروه‌های مورد مطالعه

با توجه به طبیعی نبودن توزیع داده‌های TLR4 (P=۰/۰۱) از آزمون ناپارامتریک فریدمن استفاده شد. نتایج آزمون تفاوت معناداری را در مورد گروه‌های مورد بررسی نشان نداد (P=۰/۳۱۵). با وجود این، بیان TLR4 در گروه آلودگی به میزان شایان توجهی بالاتر از گروه‌های کنترل و تمرین بود. بیان TLR4 در گروه آلودگی+ تمرین کمتر از گروه آلودگی و بیشتر از گروه کنترل و تمرین بود. در این مورد گروه تمرین کمترین بیان TLR4 را نشان داد (نمودار ۲).



نمودار ۲. میانگین ارزش‌های TLR4 در گروه‌های مورد مطالعه

بحث

در پژوهش حاضر، اثر چهار هفته تمرین هوازی در هوای آلوده به ذرات کربن سیاه بر بیان ژن‌های TLR4 و TNF-α در بافت ریه موش‌های صحرایی بررسی شد. نتایج نشان داد که چهار هفته تمرین هوازی به تعدیل عوامل التهابی TLR4 و TNF-α در هوای آلوده به ذرات منجر می‌شود. چندین مطالعه بر روی حیوانات و انسان گزارش کرده‌اند که قرارگیری در معرض ریز ذرات با افزایش خطر ابتلا به بیماری‌های مجاری تنفسی همراه می‌شود (۳۶،۲۵، ۱۳). در این زمینه به‌نظر می‌رسد القای میانجی‌های پیش‌التهابی به‌وسیلهٔ ماکروفاژهای حبابچه‌های در معرض ذرات آلودگی هوا، عاملی کلیدی در آسیب‌شناختی بیماری‌های التهابی و آلرژیک در ریه‌ها به‌شمار می‌رود. بکر و همکاران (۲۰۰۲)، نشان دادند ذرات آلودگی هوا تحریک TLR2 و TLR4 را در پی دارد و در ادامه با تولید سایتوکاین‌های پیش‌التهابی همراه می‌شود (۵). در مطالعهٔ ویرا و همکاران (۲۰۱۲)، تزریق درون نای آلایندهٔ دیزل با افزایش سایتوکاین‌های پیش‌التهابی IL-1β، IL-6، KC، TNF-α در سرم و مایع پوشانندهٔ ریهٔ موش‌ها همراه شد. در مطالعهٔ حاضر نیز قرارگیری در معرض ذرات کربن سیاه با افزایش بیان TLR4 و TNF-α همراه بود (۴۱). مطالعات کمی تأثیر هوای آلوده را بر روی پاسخ‌های ایمنی به ورزش بررسی کرده‌اند. این مطالعات پیشنهاد کرده‌اند ورزش کوتاه‌مدت (۲۰-۱۲ دقیقه) در هوای آلوده (ریز ذارت و مونوکسید کربن) به افزایش لکوسیت‌های در گردش به‌ویژه نوتروفیل‌ها منجر می‌شود (۲۳، ۱۸). محدودیت این مطالعات این است که نمونه‌های خونی را ارزیابی کرده‌اند که با مجاری هوایی فوقانی و ریه‌ها جایی که آلاینده‌ها در ابتدا با سیستم ایمنی مواجه می‌شوند، مرتبط نیست. در بسیاری مطالعات از ورزش به‌عنوان عاملی ضد التهابی یاد شده است. سه سازوکار پیشنهادی تأثیرات ضد التهابی ناشی از ورزش کاهش تودهٔ چربی احشایی، افزایش تولید و انتشار سایتوکاین‌های ضد التهابی و کاهش بیان گیرنده‌های شبه‌تول (TLRs) در مونوسیت‌ها و ماکروفاژها (با مهار پاسخ‌های پایین‌دست، مانند تولید سایتوکین‌های التهابی و بیان MHC ها و مولکول‌های محرک) را شامل می‌شود (۲۶). در مطالعهٔ الیویرا و همکاران (۲۰۱۱)، تمرین بیان TLR4 مونوسیت را ۳۲ و ۴۵ درصد بلافاصله و یک ساعت پس از تمرین به‌ترتیب نسبت به پیش از تمرین کاهش داد (۲). فرناندز و همکاران (۲۰۱۲) نشان دادند پاسخ مسیرهای پیام‌دهی TLR4 پس از یک برنامهٔ تمرین اکسنتریک از طریق مسیرهای وابسته و مستقل از عامل تمایز میلوئید- ۸۸ کاهش می‌یابد (۳۵). استی وارت و همکاران (۲۰۰۵)، کاهش معنادار TLR4، IL-6، را پس از دوازده هفته تمرین گزارش کردند. به‌نظر می‌رسد تمرینات ورزشی می‌تواند به‌عنوان یک عامل ضد

التهابی، در تعدیل عوامل التهابی نقش داشته باشد (۲۱). در مطالعهٔ حاضر، شش هفته تمرین هوازی با کاهش بیان ژن‌های TLR4 و TNF-α در بافت ریهٔ موش‌های در معرض هوای آلوده به ذرات کربن سیاه همراه بود. نوروکو و همکاران (۲۰۱۲)، در تحقیقی روی ۲۸ شهروند شهر لندن (دو گروه: ۱۴ نفر دوچرخه‌سواری تا محل کار و ۱۴ نفر غیر دوچرخه‌سوار) تأثیر استنشاق کربن سیاه حاصل از سوخت‌های فسیلی را بر روی پروفایل التهابی آزمودنی‌ها بررسی کردند. تحقیق آنها افزایش معنادار TNF-α و کربن سیاه در ماکروفاژهای گروه دوچرخه‌سواران را نشان داد (۱۱). از جمله دلایل تناقض در یافته‌های مطالعهٔ حاضر را می‌توان در زمان انجام تمرینات ورزشی دانست. در مطالعهٔ نوروکو ورزش دوچرخه‌سواری همزمان با قرارگیری در معرض کربن سیاه ناشی از سوخت‌های فسیلی انجام می‌گرفت، درحالی‌که در مطالعهٔ حاضر تمرین هوازی ۱۵ دقیقه پس از قرارگیری حیوانات در معرض کربن سیاه انجام می‌شد. از سوی دیگر در مطالعه نوروکو زنان نیز شرکت داشتند که به ذرات آلودگی هوا حساس‌ترند. ما همچنین افزایش معنادار وزن بدن را در موش‌های در معرض ذرات کربن سیاه گزارش کردیم که همسو با نتایج مطالعه زو و همکاران است. زو و همکاران (۲۰۱۰)، بالا بودن ذرات آلاینده را عامل خطر برای توسعهٔ مقاومت انسولین، چاقی و التهاب گزارش کردند (۴۴). بین افزایش وزن و چاقی و افزایش عوامل التهابی ارتباط وجود دارد و این در حالی است که کاهش وزن می‌تواند حتی مستقل از ورزش به کاهش نشانگرهای التهابی منجر شود (۱۶). پاره‌ای از مطالعات نیز اثر اصلی ورزش بر کاهش عوامل التهابی و القای فاکتورهای ضدالتهابی را به کاهش وزن ناشی از ورزش نسبت داده‌اند (۴۷، ۳۲). بنابراین، به‌نظر می‌رسد افزایش بیان TLR4 و TNF-α در گروه آلودگی را می‌توان در بخشی به افزایش وزن بدن حیوانات ناشی از ذرات کربن سیاه نسبت داد، این در حالی است که این افزایش وزن در گروه آلودگی + تمرین کمتر بود.

به‌طور خلاصه، این یافته‌ها نشان می‌دهد که چهار هفته تمرین هوازی در هوای آلوده به ذرات کربن سیاه به تعدیل عوامل التهابی TLR4 و TNF-α و وزن بدن منجر می‌شود. با وجود این، پژوهش‌های بیشتری برای آشکار شدن سازوکارهای دقیق در این مداخلات مورد نیاز است.

منابع و مآخذ

۱. احدی، سولماز؛ نجفی، محمدعلی؛ روشنی، محسن (۱۳۹۱)، «گزارش سالانهٔ کیفیت هوای تهران در سال ۱۳۹۰»، گزارش فنی شرکت کنترل کیفیت هوا، شمارهٔ /QM91/02/06(U).

2. Alexandre G. Oliveira et al. Physical Exercise Reduces Circulating Lipopolysaccharide and TLR4 Activation and Improves Insulin Signaling in Tissues of DIO Rats. Diabetes March 2011 vol. 60 no. 3 784-796.
3. Al-Hegelan M, Tighe RM, Castillo C, Hollingsworth JW. Ambient ozone and pulmonary innate immunity. Immunol Res. 2011; 49(1–3): 173–191.
4. Allen RW, Mar T, Koenig J, etal. Changes in lung function and airway inflammation among asthmatic children residing in a woodsmoke-impacted urban area. Inhal Toxicol. 2008; 20(4):423–433.
5. Becker S, Dailey LA, Soukup JM, Grambow SC, Devlin RB, Huang YC. Seasonal variations in air pollution particle induced inflammatory mediator release and oxidative stress. Environ Health Perspect. 2005; 113 (8):1032–1033.
6. Becker, S., Fenton, M.J., Soukup, J.M., Involvement of microbial components and toll-like receptors 2 and 4 in cytokine responses to air pollution particles. Am. J. Respir. Cell Mol. Biol. 2002, 27, 611 – 618.
7. Bell ML, Ebisu K, Peng RD, etal. Seasonal and regional short-term effects of fine particles on hospital admissions in 202 US counties, 1999–2005. Am J Epidemiol. 2008; 168(11):1301–1310.
8. Brook RD, Franklin B, Cascio W, Hong Y, Howard G, Lipsett M, et al. Air pollution and cardiovascular disease: A statement for healthcare professionals from the Expert Panel on Population and Prevention Science of the American Heart Association. Circulation 2004; 109: 2655– 2671.
9. Campbell ME, Li Q, Gingrich SE, Macfarlane RG, Cheng S. Should people be physically active outdoors on smog alert days? Can J Public Health. 2005; 96(1):24–8.
10. Cellular and molecular immunology. Abol K. Abbas and et al. Saunders Elsevier, 2010. Page 330.
11. Chinedu Nwokoro, Clare Ewin, Clare Harrison, Mubin Ibrahim, Isobel Dundas, Iain Dickson, Naseem Mushtaq and Jonathan Grigg. Cycling to work in London and inhaled dose of black carbon. Eur Respir J 2012; 40: 1091–1097.
12. Daigle CC, Chalupa DC, Gibb FR, et al. Ultrafine particle deposition in humans during rest and exercise. Inhal Toxicol. 2003, 15(6):539–52.
13. F. J. Kelly and J. C. Fussell. Air pollution and airway disease. Clinical & Experimental Allergy, 41, 2011, 1059–1071.
14. Farina F, Sancini G, Mantecca P, Gallinotti D, Camatini M, Palestini P. The acute toxic effects of particulate matter in mouse lung are related to size and season of collection. Toxicol Lett. 2011; 202(3):209–217.

15. Fundamental principle of exercise physiology for fitness, performance and health. Robert A. roberge – Scott O. Roberts. 2000, page 231.
16. Gordon Fisher and et al. Effect of Diet With and Without Exercise Training on Markers of Inflammation and Fat Distribution in Overweight Women. Obesity (2011) 19, 1131–1136.
17. Hetland RB, Cassee FR, Lag M, Refsnes M, Dybing E, Schwarze PE. Cytokine release from alveolar macrophages exposed to ambient particulate matter: heterogeneity in relation to size, city and season. Part Fibre Toxicol. 2005; 2:4.
18. Jacobs L, Nawrot TS, de Geus B, et al. Subclinical responses in healthy cyclists briefly exposed to traffic-related air pollution: an intervention study. Environ Health. 2010; 9:64.
19. Ji LL. Modulation of skeletal muscle antioxidant defense by exercise: role of redox signaling. Free Radic Biol Med. 2008; 44(2): 142–52.
20. Julie A Bourdon and et al. Carbon black nanoparticle instillation induces sustained inflammation and genotoxicity in mouse lung and liver. Particle and Fibre Toxicology 2012, 9:5.
21. Laura K. Stewart and et al. InXuence of exercise training and age on CD14+ cell-surface expression of toll-like receptor 2 and 4. Brain, Behavior, and Immunity, Volume 19, Issue 5, September 2005, Pages 389–397.
22. Laurel E Plummer and et al. Impact of air pollution on lung inflammation and the role of Toll-like receptors. International Journal of Interferon, Cytokine and Mediator Research 2012:4 43–57.
23. Mehdi Kargarfard and et al. Effects of Exercise in Polluted Air on the Aerobic Power, Serum Lactate Level and Cell Blood Count of Active Individuals. Int J Prev Med. 2011 Jul-Sep; 2(3): 145–150.
24. Menegali BT, Nesi RT, Souza PS, et al. The effects of physical exercise on the cigarette smoke–induced pulmonary oxidative response. Pulm Pharmacol Ther. 2009; 22(6):567–73.
25. Meng YY, Rull RP, Wilhelm M, Lombardi C, Balmes J, Ritz B. Outdoor air pollution and uncontrolled asthma in the San Joaquin Valley, California. J Epidemiol Community Health 2010; 64:142–7.
26. Michael Gleeson, Nicolette C. Bishop, David J. Stensel, Martin R. Lindley, Sarabjit S. Mastana and Myra A. Nimmo. The anti-inflammatory effects of exercise: mechanisms and implications for the prevention and treatment of disease. Inflammation, Exercise and Metabolism Research Group.2011, 1-10.
27. Mussi RK, Camargo EA, Ferreira T, et al. Exercise training reduces pulmonary ischaemia–reperfusion-induced inflammatory responses. Eur Respir J. 2008; 31(3):645–9.
28. Paffenbarger RS Jr, Hyde RT, Wing AL, Hsieh CC. Physical activity, all-cause mortality, and longevity of college alumni. N Engl J Med. 1986; 314(10):605–13.
29. Pastva A, Estell K, Schoeb TR, Atkinson TP, Schwiebert LM. Aerobic exercise attenuates airway inflammatory responses in a mouse model of atopic asthma. J Immunol. 2004; 172(7):4520–6.

30. Patel H, Eo S, Kwon S. Effects of diesel particulate matters on inflammatory responses in static and dynamic culture of human alveolar epithelial cells. Toxicol Lett. 2011; 200 (1–2):124–31.
31. Petra Jackson and et al. Pulmonary exposure to carbon black by inhalation or instillation in pregnant mice: Effects on liver DNA strand breaks in dams and offspring. Nanotoxicology, August 2012; 6(5): 486–500.
32. Pischon T, Hankinson SE, Hotamisligil GS, Rifai N, Rimm EB. Leisure-time physical activity and reduced plasma levels of obesity-related inflammatory markers. Obes Res 2003; 11:1055–1064.
33. Radak Z, Chung HY, Goto S. Systemic adaptation to oxidative challenge induced by regular exercise. Free Radic Biol Med. 2008; 44(2):153–9.
34. Robert Silbajoris and et al. Ambient Particulate Matter Induces Interleukin8 Expression through an Alternative NF-κB (Nuclear Factor-Kappa B) Mechanism in Human Airway Epithelial Cells. Environmental Health Perspectives. 2011, volume 119, (10), 1379-1383.
35. Rodrigo Fernandez and et al. Effects of eccentric exercise on toll-like receptor 4 signaling pathway in peripheral blood mononuclear cells. Journal of Applied Physiology June 15, 2012. 112. 2011-2018.
36. Rosenlund M, Forastiere F, Porta D, De Sario M, Badaloni C, Perucci CA. Traffic-related air pollution in relation to respiratory symptoms, allergic sensitization and lung function in schoolchildren.Thorax 2009; 64:573–80.
37. Sharman JE, Cockcroft JR, Coombes JS. Cardiovascular implications of exposure to traffic air pollution during exercise. QJM. 2004; 97(10):637–43.
38. Sharman JE. Clinicians prescribing exercise: is air pollution a hazard? Med J Aust. 2005; 182(12):606–7.
39. Strak M, Boogaard H, Meliefste K, et al. Respiratory health effects of ultrafine and fine particle exposure in cyclists. Occup Environ Med. 2010; 67(2):118–24.
40. Tsan M-F, Gao B. Endogenous ligands of Toll-like receptors. J Leukoc Biol. 2004; 76:514–519.
41. VIEIRA and et al. Anti-inflammatory Effects of Aerobic Exercise in Mice Exposed to Air Pollution. Official Journal of the American College of Sports Medicine. 2012. 7, pp. 1227–1234.
42. Vieira RP, Toledo AC, Ferreira SC, et al. Airway epithelium mediates the anti-inflammatory effects of exercise on asthma. Respir Physiol Neurobiol. 2011; 175(3):383–9.
43. Wilson WE, Suh HH. Fine particles and coarse particles: concentration relationships relevant to epidemiologic studies. J Air Waste Manag Assoc. 1997; 47(12):1238–1249.
44. Xiaohua Xu and et al. Effect of Early Particulate Air Pollution Exposure on Obesity in Mice. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2010; 30:2518-2527.
45. Yasuharu Niwa and et al. Inhalation Exposure to Carbon Black Induces Inflammatory Response in Rats. Circ J 2008; **72:** 144 –149.

46. Yungling Leo Lee and et al. Air Pollution and Health Effects in Children. Air Pollution - Monitoring, Modelling and Health. 2012. 978-953-51-0424-7.
47. Ziccardi P, Nappo F, Giugliano G et al. Reduction of inflammatory cytokine concentrations and improvement of endothelial functions in obese women after weight loss over one year. Circulation 2002; 105:804–809.