

## تأثیر تمرین هوازی و هوای آلوده به ذرات کربن سیاه بر بیان ژن IL-6 در بافت‌های هیپوکمپ و قشر قدامی مغز موش‌های صحرایی نر و بیستار

### اکرم کریمی اصل<sup>۱</sup>، حمید آقاعلی نژاد<sup>۲</sup>، رضا قراخانو<sup>۳</sup>، بتول رضایی<sup>۴</sup>

۱. استادیار فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه زنجان

۲. دانشیار فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه تربیت مدرس\*

۳. استاد فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه تربیت مدرس

۴. دکتری فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه تربیت مدرس

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۰۶/۰۱

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۰۵/۰۴

#### چکیده

هدف از پژوهش حاضر بررسی تأثیر تمرین هوازی و هوای آلوده به ذرات کربن سیاه بر بیان ژن اینترلوکین-شش در هیپوکمپ و قشر قدامی مغز موش‌های صحرایی نر بود. ۲۴ سر موش نر نژاد بیستار هشت تا ده هفته‌ای به‌طور تصادفی در چهار گروه (الف) کنترل، (ب) آلودگی، (ج) تمرین و (د) تمرین-آلودگی قرار گرفتند. از دستگاه تزریق ذرات و اتاقک (فالونک) به‌منظور قرارگیری حیوانات در معرض ذرات کربن سیاه با قطر کمتر از ده میکرون استفاده شد. موش‌های گروه‌های آلودگی و تمرین-آلودگی به مدت چهار هفته (پنج روز در هفته، دو ساعت در روز) در معرض هوای آلوده به ذرات کربن سیاه قرار گرفتند. پس از هر جلسه آلودگی، گروه تمرین-آلودگی به همراه گروه تمرین به اجرای برنامه تمرین هوازی با ۵۰ درصد سرعت بیشینه خود (۶۰ دقیقه در هر جلسه) پرداخته و ۲۴ ساعت پس از آخرین جلسه حیوانات قربانی شدند. با استفاده از روش ریل تایم-PCR، بیان ژن اینترلوکین-شش بافت‌های هیپوکمپ و قشر قدامی مغز موش‌ها مورد ارزیابی قرار گرفت. جهت تعیین معنادار بودن تأثیر تمرین و آلودگی از تحلیل واریانس دوطرفه استفاده گردید. هوای آلوده به ذرات کربن سیاه منجر به افزایش معنی‌داری در بیان ژن اینترلوکین-شش بافت‌های هیپوکمپ ( $P=0.007$ ) و قشر قدامی مغز ( $P=0.010$ ) گردید، با این‌وجود تمرین هوازی تأثیر معنی‌داری بر بیان این ژن نداشت. با وجود عدم معنی‌داری تأثیر تمرین هوازی بر بیان ژن اینترلوکین-شش نتایج این تحقیق نشان داد که میزان بیان این ژن در گروه‌های تمرین و آلودگی-تمرین کمتر از گروه آلودگی بود. بنابراین به نظر می‌رسد تمرین می‌تواند با کاهش اینترلوکین-شش در مغز اثرات التهاب عصبی ناشی از آلودگی را تعدیل کند.

**واژگان کلیدی:** تمرین هوازی، هوای آلوده، ذرات کربن سیاه، IL-6، هیپوکمپ، قشر قدامی مغز

## مقدمه

امروزه آلودگی هوا به عنوان یکی از مهم‌ترین عوامل اثرگذار بر سلامت عمومی جامعه بوده و در شهرهای بزرگ و صنعتی به یک نگرانی تبدیل شده است. آلودگی هوا در شهرهای بزرگ بیشتر ناشی از دود اتومبیل، کارخانه‌ها و غیره است که مهم‌ترین اجزای آن را مونواکسید کربن (CO)، دی‌اکسید نیتروژن (NO<sub>2</sub>) ذرات معلق (PM-10,2.5) دی‌اکسید گوگرد (SO<sub>2</sub>) و اوزون (O<sub>3</sub>) و اجزای ارگانیک فرار (VOCs) تشکیل می‌دهد. از بین مواد آلاینده، ذرات معلق توجه ویژه‌ای را به خود جلب کرده است. ذرات معلق با قطر آئرو دینامیکی کمتر از ده میکرومتر به دلیل راه‌یابی به سیستم تنفسی تحتانی به عنوان شاخص اصلی مواد معلق در هوا معرفی می‌شوند. بر اساس مطالعات اپیدمیولوژیکی، ذرات معلق با PM<sub>10</sub> در تشدید بیماری‌های قلبی-ریوی، کاهش مقاومت سیستم ایمنی بدن در مقابل بیماری‌ها، از بین رفتن بافت ریه، آسم، مرگ‌ومیر زودرس و سرطان، بیماری‌های پیش‌رونده عصبی مانند آلزایمر، پارکینسون، ام‌اس، اختلالات شناختی و اوتیسم نقش عمده‌ای دارد (۵-۱). به نظر می‌رسد یکی از عوامل اصلی در بروز این بیماری‌ها، التهاب است که به وسیله سایتوکاین‌های التهابی میانجی‌گری می‌شود. قرار گرفتن افراد سالم در معرض آلودگی هوا نیز باعث گسترش التهاب از راه افزایش عوامل التهابی و تغییر در بیان سایتوکاین‌هایی مانند IL-6 و TNF- $\alpha$  می‌شود (۶،۷). از طرف دیگر بیان سایتوکاین‌های ضدالتهابی در هوای آلوده کاهش می‌یابد که خود زمینه‌ساز ابتلا به بسیاری از بیماری‌ها است (۸،۹).

در مجموع، التهاب یکی از عوامل سببی در پاتولوژی بیماری‌های مزمن دستگاه عصبی مرکزی (CNS) می‌باشد. از سوی دیگر، مطالعات اپیدمیولوژیکی و مشاهده‌ای نشان داده‌اند که آلودگی هوا می‌تواند از شایع‌ترین منابع محیطی ایجاد التهاب و استرس اکسایشی باشد که می‌تواند از طریق انواعی از مسیرهای سلولی، مولکولی و التهابی بر سیستم عصبی اثرگذار باشد و سبب آسیب ساختاری مغز شود و یا منجر به زمینه‌ای برای ایجاد بیماری‌های نورولوژیکی گردد (۱۲-۱۰، ۵). بر اساس یک سری از تحقیقات انجام‌گرفته، در پاسخ به آلودگی هوا تغییرات پیچیده‌ای در سایتوکاین‌ها و کموکاین‌ها صورت می‌گیرد که حجم و ساختار CNS را تحت تأثیر قرار می‌دهد، به طوری که این بیومارکرها، ارتباط‌دهنده التهاب CNS و سیستمیک به اختلالات رشد مغزی و شناختی در کوتاه‌مدت و آسیب عصبی در طولانی‌مدت هستند (۱۶-۱۲). مطالعات مختلف نشان داده‌اند که مواد آلوده‌کننده هوا از طریق مسیرهای مستقیم و غیرمستقیم بر CNS اثر می‌گذارند. ذرات معلق بسیار کوچک که حاوی

فلزات هستند می‌توانند در پیاز بویایی و فضای زیر قشری رسوب کنند و با فعال‌سازی میکروگلیاها و آستروسیت‌ها سبب افزایش بیان پاسخ‌های التهابی شوند. سلول‌های اندوتلیال، میکروگلیا و آستروسیت‌های فعال‌شده در مغز سایتوکاین‌های پیش‌التهابی IL-6، IL-1 و TNF- ترشح می‌کنند، که این سایتوکاین‌ها به گیرنده‌شان در مغز متصل می‌شوند و به دنبال آن مسیرهای ثانویه فعال می‌گردند که در نهایت بر تنظیم ژن‌ها تأثیرگذارند. اگرچه میکروگلیا برای عملکرد نرمال مغز ضروری است، اما فعالیت طولانی‌مدت و اضافی آن‌ها منجر به نروتوکسیستی می‌گردد. همچنین PM های کوچک و ذرات با اندازه نانو (NPs) می‌توانند به سرعت جذب سیستم گردش خون شده که به صورت بالقوه بر عروق اثرگذارند. NPs از غشاء مویرگی آلوئول ریه عبور می‌کند و به راحتی وارد گردش خون می‌شود که توانایی ایجاد استرس اکسیداتیو در غشاء مویرگ‌ها را داراست و یا اثرات پیش‌التهابی دارد. سایتوکاین‌های پیش‌التهابی تولیدشده از جمله TNF-، IL-6 به سد خونی مغز آسیب می‌رسانند و یا چاشنی ایجاد مسیرهای سیگنالینگ هستند که منجر به فعال‌سازی MAPkinase و مسیرهای نسخه‌برداری فاکتور هسته‌ای NF- B می‌گردند. فعال‌سازی این فاکتور باعث تولید سایتوکاین‌های پیش‌التهابی مانند TNF-، IL-6 و IL-1 می‌شود. از طرفی سایتوکاین‌های موجود در گردش خون که در نتیجه التهاب سیستمیک ایجادشده ناشی از آلودگی هوا، در دیگر ارگان‌ها از جمله ریه افزایش می‌یابند، سلول‌های سیستم ایمنی ذاتی محیطی را تحریک کرده، نرون‌های آوران محیطی را فعال کرده و یا از طریق انتشار و انتقال فعال وارد مغز می‌شوند. التهاب مزمن ریه سبب التهاب مغز نیز می‌شود زیرا در این شرایط افزایش سایتوکاین‌های در گردش مثل TNF-، IL-6 و IL-1 رخ می‌دهد. این سایتوکاین‌ها سبب افزایش بیان سیکلو اکسیژناز 2 (COX2)، یک میانجی گر التهابی، در عروق اندوتلیوم مغز می‌شوند (۲۱-۱۷، ۱۱، ۷).

IL-6 از جمله سایتوکاین‌هایی است که در مواجهه طولانی‌مدت با هوای آلوده، در بافت مغزی و سرم انسان‌ها و حیوانات افزایش می‌یابد (۲۲-۲۴) و نقش مهمی را در پاتوژنز التهاب عصبی و التهاب سیستمیک، که با قرار گرفتن طولانی‌مدت در معرض هوای آلوده ارتباط دارند، ایفا می‌کند (۱۵، ۱۲). نتایج تحقیق لیوسکو<sup>۱</sup> و همکاران (۲۰۱۱) نشان داد که همراه با افزایش یکسری از سایتوکاین‌ها التهابی همچون TNF-، میزان IL-6 در مغز میانی، قشر و پیاز بویایی مغز رت‌هایی که به مدت چهار هفته در معرض سوخت دیزلی بودند، افزایش معنی‌داری داشت (۶). اورتیگسن<sup>۲</sup> و همکاران

---

1. Levesque  
2. Oortgiesen

(۲۰۰۰) گزارش کردند که در مواجهه با آلودگی هوا، IL-6 به عنوان یک مارکر پیش التهابی از سلول‌های اندوتلیال برونش‌ها رها می‌شود (۲۵). IL-6 سایتوکاینی است که هر دو ویژگی حفاظت عصبی<sup>۱</sup> و تخریب عصبی<sup>۲</sup> را نشان داده است (۲۶).

بر اساس تحقیقات صورت گرفته بین غلظت بالای IL-6 و کاهش حجم هیپوکمپ و اختلالات افسردگی (۲۹-۲۷)، ابتلا به آلزایمر، نقصان شناختی (۱۵،۳۰،۳۱) و شرایط التهابی سیستمیک مزمن با افزایش خطر سکتته (۳۲) رابطه وجود دارد. بررسی‌های تحقیقات نشان داده است که IL-6 در سرم، هیپوکمپ و قشر قدامی مغز و مایع مغزی نخاعی افراد اوتیسمی افزایش داشت (۳۳،۳۴). با این وجود، برخی تحقیقات نیز از نقش ضد التهابی IL-6 حمایت می‌کنند. به طوری که شواهد اخیر حاکی از نقش مهم و حیاتی IL-6 در سیستم عصبی مرکزی است. این شواهد نشان داده اند که IL-6 به عنوان یک فاکتور رشد عصبی عمل کرده و تمایز آستروسیت‌ها، اعصاب گانگلیون نخستین، اعصاب هیپوکمپ و سلول‌های شوان را تحریک می‌کند. سامونلسون و همکارانش نشان دادند که مواجهه با IL-6 در دوران جنینی برای عملکرد مغز ضروری است، اما ممکن است در سیر تکامل عصبی و بیماری‌های تخریب عصبی نقش داشته باشد. مشخص شده است که IL-6 بسته به غلظت، ناحیه مغز و نوع سلول، رشد عصبی را افزایش می‌دهد همان طوری که منجر به مرگ سلول عصبی نیز شود (۳۳،۳۵). به طور کلی نتایج تحقیقات قبلی پیشنهاد می‌کند که افزایش سطوح IL-6 ممکن است نقش دوگانه، با هر دو عملکرد بیولوژیکی محافظت عصبی و تخریب عصبی، ایفا کند.

در مقابل آلودگی هوا که منجر به افزایش عوامل التهابی در مغز می‌گردد، یکسری از تحقیقات اظهار داشتند که فعالیت ورزشی منظم باعث کاهش بیان مارکرهای التهابی در مغز شده و در نتیجه منجر به کاهش التهاب و استرس اکسیداتیو در مغز می‌شود (۳۶-۳۸). اثرات مفید ورزش منظم بر مغز در برخی مطالعات سنجیده شده است که شامل نروژنز از راه عوامل نروتروفیک، محافظت عصبی، افزایش مویرگ سازی، کاهش استرس اکسایشی و افزایش تجزیه پروتئولیتیک از راه پروتئوزوم و نپرولیزین می‌باشد (۳۹-۴۱). نتایج برخی از تحقیقات حاکی از افزایش IL-6 طی ورزش طولانی مدت در مغز به خصوص هیپوکمپ بوده که در بیشتر موارد این افزایش همراه با کاهش سایتوکاین‌های ضد التهابی

- 
1. Neuro Protective
  2. Neuro Degenerative

و افزایش عامل نورون زایی مشتق شده از مغز (BDNF) همراه است. با توجه به این مطالعات، به نظر می‌رسد که ورزش اثرات ضد التهابی و نروژنزی خود را با میانجیگری IL-6 اعمال می‌کند (۳۷،۴۲). بنابراین با در نظر گرفتن اثرات التهابی و نوروکسیتی ناشی از مواجهه با هوای آلوده به ذرات ریز بر سیستم عصبی مرکزی، به نظر می‌رسد فعالیت ورزشی منظم بتواند با توجه به اثرات ضد التهابی که بر جا می‌گذارد، منجر به کاهش عوارض مواجهه با ریز ذرات شود. با این وجود در مورد ورزش در هوای آلوده نتایج متناقضی وجود دارد. پاره‌ای از پژوهش‌ها انجام تمرین ورزشی در هوای آلوده را به دلیل افزایش میزان تنفس و تبادلات ریوی و نهایتاً تنفس آلاینده‌های سمی بیشتر، زیان‌بار می‌دانند (۴۳،۴۴). و این در حالی است که پژوهش‌های دیگر آن را رویکرد مناسبی برای تعدیل اثرات زیان‌بار آلودگی هوا دانسته‌اند (۸،۴۵). به نظر می‌رسد که این تناقض چالش جالبی از تعادل بین اثرات مفید ورزش همراه تأثیرات مضر آلودگی هوا بر سلامت ارائه می‌کند.

با این وجود تحقیقات صورت گرفته در این زمینه بسیار اندک است و همین تحقیقات نیز بیشتر در زمینه تأثیرات مضر ورزش در هوای آلوده بر سیستم قلبی-تنفسی است و مطالعه‌ای یافت نشد که تأثیر ورزش هوازی طولانی مدت و قرارگیری در معرض هوای آلوده را بر عوامل التهابی در مغز بررسی کند. بنابراین از یک سو با توجه به افزایش سایتوکاین‌های پیش التهابی از جمله IL-6 در مواجهه با هوای آلوده در قسمت‌های مختلف مغز از جمله هیپوکمپ، قشر قدامی و پیاز بویایی مغز و التهاب و تخریب عصبی مرتبط با آن (۶) و از سوی دیگر اثرات ضد التهابی و نروژنزی فعالیت ورزش منظم در مغز به‌ویژه مناطق هیپوکمپ و قشر مغز که به نظر می‌رسد با میانجیگری IL-6 صورت می‌گیرد (۳۷،۴۲)، تحقیق حاضر با فرض اثرگذاری تمرین هوازی و قرارگیری در معرض هوای آلوده و تعامل این دو عامل، به بررسی تأثیر ۴ هفته تمرین هوازی بر بیان ژن IL-6 در بافت‌های هیپوکمپ و قشر قدامی مغز موش‌های صحرایی نر در معرض هوای آلوده به ذرات کربن سیاه پرداخت.

## روش پژوهش

۲۴ سر موش نر نژاد ویستار هشت تا ده هفته‌ای با میانگین وزن  $279/29 \pm 26/97$  گرم از موسسه پاستور خریداری شدند. حیوانات در گروه‌های سه‌تایی در قفس‌های مخصوص در دمای اتاق ( $3/6 \pm$  ۲۲ درجه سلسیوس) و طبق چرخه ۱۲ ساعت خواب و بیداری و با دسترسی آزاد به آب و غذا نگهداری

شدند. تمام آزمایش‌های صورت گرفته بر اساس دستورالعمل کار با حیوانات دانشگاه تربیت مدرس انجام گرفت. موش‌ها پس از ۱۴ روز نگهداری و یک هفته آشنایی با تریدمیل و پروتکل تمرینی به صورت تصادفی به چهار گروه؛ الف) کنترل (بدون تمرین و بدون قرار گرفتن در معرض هوای آلوده به ذرات کربن سیاه)، ب) آلودگی (بدون تمرین و با قرار گرفتن در معرض هوای آلوده به ذرات کربن سیاه)، پ) تمرین (تمرین هوازی و بدون قرار گرفتن در معرض هوای آلوده به ذرات کربن سیاه)، ت) تمرین-آلودگی (تمرین هوازی همراه با قرار گرفتن در معرض هوای آلوده به ذرات کربن سیاه) تقسیم شدند.

به منظور قرارگیری حیوانات در معرض ذرات کربن سیاه از دستگاه تزریق ذرات و اتاقک (فالونک)<sup>۱</sup> استفاده شد. دستگاه تزریق و اتاقک به گونه‌ای بود که هر یک دقیقه یکبار هوای اتاقک عوض می‌شد و با ایجاد یک فشار منفی در اتاقک از خروج ذرات به فضای آزمایشگاه جلوگیری می‌شد. ذرات آلاینده با غلظت حدود ۵ میلی گرم در مترمکعب، دمای ۲۲ درجه سانتی‌گراد و رطوبت ۲۹ درصد (اندازه‌گیری با بادسنج هات وایر دیتا لاگر مدل TES-1341) در اتاقک در جهت شبیه‌سازی با هوای آلوده به ذرات کربن سیاه صورت گرفت. موش‌های گروه‌های آلودگی و تمرین-آلودگی به مدت دو ساعت در روز (بین ساعات ۱۰ تا ۱۴)، پنج روز در هفته و به مدت چهار هفته در معرض هوای آلوده به ذرات کربن سیاه قرار گرفتند. ذره آلاینده به کار رفته در پژوهش، کربن سیاه (N660) با قطر کمتر از ده میکرون بود که از شرکت دوده کربن ایران تهیه شد. شکل و قطر ذرات به ترتیب با روش تصویربرداری با استفاده از میکروسکوپ نوری<sup>۲</sup> و داست کانتر<sup>۳</sup> بررسی و تأیید شد.

در مرحله آشناسازی، موش‌ها سه روز در هفته، ۱۵ دقیقه در روز و با سرعت ۶ متر بر دقیقه به مدت یک هفته روی چرخ گردان تمرین کردند. پس از آن، برای تعیین بار کار بیشینه حیوانات، آزمون فزاینده به شکل زیر انجام شد:

آزمون با سرعت شش متر بر دقیقه شروع شده و هر سه دقیقه سه متر بر دقیقه بر سرعت دستگاه افزوده می‌شد تا حیوان قادر به دویدن نباشد (سه بار جا ماندن و افتادن از دستگاه). با استفاده از این آزمون، بار کار بیشینه برای هر موش مشخص شد. از میانگین بار کار بیشینه هر گروه برای تعیین

۱. اتاقک آلودگی هوا - مخترع: فشی و همکاران. دانشگاه تربیت مدرس

1. Acc.V- Spot magn. 25.0 KV 3.4. 5000x.  
2. Grimm Aerosol Technique GmbH & Co. KG .Dorfstraße 9 -83404 Ainring  
(Germany)

شدت تمرین گروه استفاده شد. برنامه تمرین اصلی با گرم کردن ده دقیقه‌ای با سرعت شش متر بر دقیقه شروع شده و سپس تمرین اصلی با ویژگی‌های زیر اجرا شد: "دویدن با ۵۰ درصد بار کار بیشینه هر گروه (۹ متر بر دقیقه)، ۶۰ دقیقه در روز، پنج روز در هفته و به مدت چهار هفته" (۴۶). موش‌های صحرایی ۲۴ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین و قرارگیری در معرض ذرات آلاینده با ترکیبی از کتامین (۳۰ تا ۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) و زایلازین (سه تا پنج میلی‌گرم در کیلوگرم) به صورت زیر صفایی بی‌هوش شدند. پس از شکافتن جمجمه و جداسازی بافت مغز از آن، تحت شرایط استریل و در کمترین زمان ممکن قسمت‌های هیپوکمپ و قشر قدامی مغز بلافاصله روی یخ جدا شده و در نیتروژن مایع منجمد شد. نمونه‌های بافتی تا زمان اندازه‌گیری در فریزر ۸۰- درجه سلسیوس نگهداری شدند.

حدود ۵۰ میلی‌گرم بافت هیپوکمپ و قشر قدامی مغز به صورت جداگانه، جهت استخراج RNA تام به نسبت یک به ده در بافر لیز QIAzol Lysis Reagent هموزن شدند. به منظور برداشتن اجزاء پروتئینی، محصول حاصل در ۴ درجه سانتی‌گراد، ۱۰ دقیقه، ۱۲۰۰۰g سانتریفوژ شد. سپس با نسبت ۱ به ۵/۰ با ایزول اولیه با کلروفورم مخلوط و به مدت ۱۵ ثانیه به شدت تکان داده شد. محصول در ۴ درجه سانتی‌گراد، ۱۵ دقیقه، ۱۲۰۰۰g سانتریفوژ و بخش معدنی و آبی از هم جدا شد، بخش محتوی RNA برداشته شده و با نسبت ۱ به ۵/۰ با ایزوپروپانول مخلوط و به مدت ده دقیقه در دمای اتاق رها و سپس در ۴ درجه سانتی‌گراد، ۱۰ دقیقه، ۱۲۰۰۰g سانتریفوژ شد. پلت حاوی RNA در اتانول شستشو و در ۲۰ میکرو لیتر آب RNase-Free حل شد. غلظت RNA با استفاده از دستگاه نانو دراپ<sup>۱</sup> مورد سنجش واقع شد و نسبت ۲۶۰ به ۲۸۰ بین ۱/۸ تا ۲ به عنوان تخلیص مطلوب تعریف شد (۴۷). برای بررسی اینتگریتی، RNA استخراج شده در ۱/۵ درصد آگاروز الکتروفورز گردید. سنتز cDNA با استفاده از یک میکرو لیتر از RNA و Random hexamer primer و آنزیم نسخه برداری معکوس انجام گرفت.

برای اندازه‌گیری سطوح بیان از روش کمی ریل تایم-PCR با استفاده از کیت Primix eva green II انجام شد<sup>۲</sup>. مخلوط واکنش در حجم نهایی ۲۰ میکرو لیتر و هر واکنش به صورت تکراری انجام پذیرفت. طراحی پرایمرها بر اساس اطلاعات ژن IL-6 و GAPDH در بانک ژنی NCI و توسط شرکت

1. Eppendorff, Germany  
2. USA Applied Biosystems,

ماکروژن<sup>۱</sup> انجام شد. توالی پرایمرهای مورد استفاده در جدول یک گزارش شده است، ضمن اینکه از GAPDH به عنوان ژن کنترل استفاده گردید. کارایی پرایمرهای تحقیق در قیاس با پرایمر ژن کنترل با انجام Real time RT-PCR با غلظت‌های سریالی از cDNA هر ژن به صورت جداگانه سنجیده شد (۴۷). برای بررسی اختصاصیت PCR، پرایمرهای طراحی شده را BLAST کردیم. نتیجه BLAST نشان داد که پرایمرهای طراحی شده مختص همان گونه از موش‌های نژاد ویستار بوده و توالی‌های دیگری را شناسایی نمی‌کنند. برنامه مورد استفاده در ریل تایم-PCR شامل: ۹۵ به مدت ده دقیقه- ۹۵ به مدت ۱۵ ثانیه، ۶۰ به مدت یک دقیقه (تکرار ۴۰ سیکل) بود. میزان تغییرات بیان ژن‌های مورد نظر نسبت به گروه کنترل با روش  $2^{-CT}$  اندازه‌گیری شد (۴۸).

جدول ۱- توالی پرایمرهای مورد استفاده در پژوهش حاضر

Genes	Primer sequence
IL-6	For: 5 - CGAGCCCACCAGGAACGAAAGTC -3 Rev: 5 - CTGGCTGGAAGTCTCTTGCGGAG -3
GAPDH	For: 5 - GACATGCCGCCTGGAGAAAC -3 Rev: 5 - AGCCCAGGATGCCCTTTAGT -3

تمامی داده‌ها بر اساس میانگین  $\pm$  انحراف استاندارد توصیف شده‌اند. جهت تعیین نرمال بودن توزیع داده‌ها از آزمون کولموگروف اسمیرنوف، همسان بودن واریانس‌ها از آزمون لون<sup>۲</sup> و تعیین معناداری اثر تمرین و آلودگی بر بیان ژن IL-6 از تحلیل واریانس دوطرفه<sup>۳</sup> استفاده شد. سطح معناداری نیز  $P < 0.05$  در نظر گرفته شد. کلیه بررسی‌های آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۰ انجام گرفت.

## نتایج

تمام حیوانات در گروه‌های تمرینی و آلودگی توانستند چهار هفته تمرین هوازی و قرارگیری در معرض ذرات کربن سیاه کمتر از ده میکرون را به‌طور مداوم انجام داده و به اتمام برسانند. پس از مداخله، اختلاف معنی‌داری در توده بدن موش‌های گروه آلودگی مشاهده شد ( $P=0.045$ ) (جدول ۲).

---

1. Macrogen Inc, Seoul, Korea  
1. Leven  
2. Two Way ANOVA

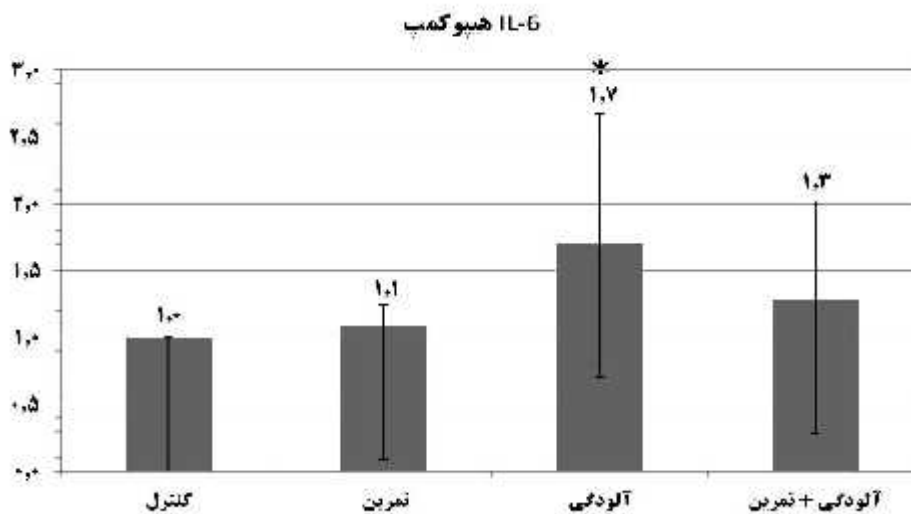


جدول ۲- توده بدن حیوانات گروه‌های تحقیق قبل و پس از مداخله

گروه	پیش از مداخله (گرم) (میانگین±انحراف معیار)	پس از مداخله (گرم) (میانگین±انحراف معیار)	سطح معناداری (P 0.05)
کنترل	۲۷۰/۲۷±۵۰/۱۲	۳۱۱/۳۶±۱۷/۶۶	* ۰/۰۲۳
آلودگی	۲۸۵/۲۵±۸۳/۵۵	۳۲۴/۲۷±۳۳/۱۲	* ۰/۰۴۵
تمرین	۲۷۹/۳۲±۱۷/۵	۳۰۴/۴۳±۳۳/۳۱	۰/۰۹۰
آلودگی+تمرین	۲۸۱/۲۲±۶۷/۷۳	۳۱۵/۳۳±۶۷/۲۳	۰/۱۰۱

\*معنی‌داری تفاوت‌ها در P 0.05

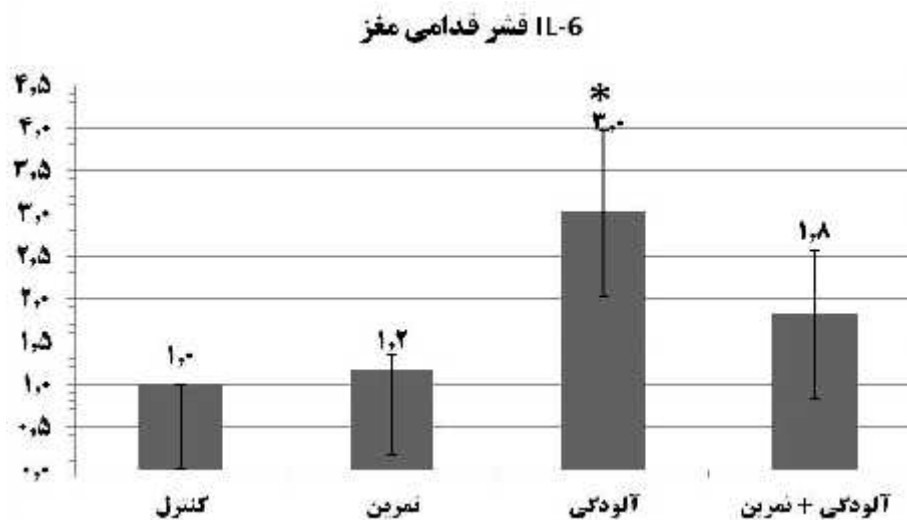
نتایج حاصله در مورد بیان ژن IL-6 بافت هیپوکمپ، حاکی از افزایش معنی‌دار آن در اثر استنشاق هوای آلوده به ذرات کربن سیاه در گروه آلودگی (P=0.007) بود. درحالی‌که تأثیر تمرین (P=0.291) و اثر تعاملی آلودگی و تمرین (P=0.125) بر این فاکتور معنی‌دار نبود، هرچند میزان بیان این سایتوکاین در گروه تمرین نسبت به سایر گروه‌ها کمتر بود و میانگین گروه آلودگی- تمرین نسبت به گروه آلودگی کاهش داشت (شکل ۱).



شکل ۱- مقادیر بیان ژن IL-6 هیپوکمپ در گروه‌های مورد مطالعه (در هر گروه n=6)

\*معنی‌داری تفاوت‌ها در P 0.05

نتایج نشان داد، هوای آلوده به ذرات کربن سیاه منجر به افزایش معنی داری ( $P=0.010$ ) در بیان ژن IL-6 قشر قدامی مغز شد در حالی که تأثیر تمرین بر این فاکتور معنی دار نبود ( $P=0.228$ ). اثر تعاملی آلودگی و تمرین نیز علی‌رغم کاهش میانگین بیان ژن IL-6 نسبت به گروه آلودگی، از نظر آماری معنی دار نبود ( $P=0.159$ ). بیشترین میزان افزایش در بیان IL-6 قشر قدامی مغز در گروه آلودگی و کمترین مقدار آن در گروه تمرین ثبت شد (شکل ۲).



شکل ۲- مقادیر بیان ژن IL-6 قشر قدامی مغز در گروه‌های مورد مطالعه (در هر گروه  $n=6$ )

\*معنی داری تفاوت‌ها در  $P < 0.05$

### بحث و نتیجه‌گیری

در پژوهش حاضر، تأثیر چهار هفته تمرین هوازی و هوای آلوده به ذرات کربن سیاه بر بیان ژن IL-6 در بافت هیپوکمپ و قشر قدامی مغز موش‌های صحرایی نر مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد چهار هفته تمرین هوازی باعث تعدیل سایتوکاین پیش التهابی IL-6 در هوای آلوده به ذرات می‌شود. تحقیقات صورت گرفته در انسان و حیوان حاکی از آن است که آلودگی هوا منجر به التهاب عصبی، استرس اکسیداتیو، آسیب DNA و افزایش مارکرهای بیماری‌های عصبی همچون آلزایمر، پارکینسون، نقصان شناختی و اوتیسم می‌گردد (۴۹، ۱۶-۱۲).

همان‌طور که پیش‌تر گفته شد ذرات ریزی (PM) که وارد گردش خون می‌شوند توانایی ایجاد استرس اکسیداتیو در غشاء مویرگ‌ها را دارا هستند و یا اثرات پیش‌التهابی دارند. سایتوکاین‌های پیش‌التهابی تولید شده همچون TNF- $\alpha$ ، IL-6 و IL-1 با فعال‌سازی سلول‌های اندوتلیال و رهایش نیتریک اکساید، یکپارچگی سد خونی-مغزی را مختل کرده و به آن آسیب می‌رسانند و یا چاشنی ایجاد مسیرهای سیگنالینگ هستند که منجر به فعال‌سازی MAPkinase و مسیرهای نسخه‌برداری فاکتور هسته‌ای NF- $\kappa$ B می‌گردند. از طرفی سایتوکاین‌های موجود در گردش خون همچون IL-6 و TNF- $\alpha$  که در نتیجه التهاب سیستمیک ایجاد شده ناشی از آلودگی هوا در دیگر ارگان‌ها از جمله ریه افزایش می‌یابند، سلول‌های سیستم ایمنی ذاتی محیطی را تحریک کرده، نرون‌های آوران محیطی را فعال کرده و یا از طریق انتشار و انتقال فعال وارد مغز می‌شوند. این سایتوکاین‌ها سبب افزایش بیان سیکلو اکسیژناز 2 (COX2)، یک میانجی‌گر التهابی، در عروق اندوتلیوم مغز می‌شوند. از سوی دیگر برخی از آلاینده‌ها با رسوب در پیاز بویایی و قشر مغز، منجر به تحریک میکروگلیاها و آستروسیت‌ها گردند. میکروگلیاها و آستروسیت‌های فعال سایتوکاین‌هایی همچون IL-1، IL-6 و TNF- $\alpha$  را تولید می‌کنند. این سلول‌ها در وضعیت‌های پاتولوژیکی و التهاب عصبی فعالیت خود را از یک سلول حامی به یک سلول ایمنی تغییر می‌دهند و نقش عمده‌ای در پاسخ التهاب عصبی دارند (۵۱، ۵۰، ۱۹-۱۷، ۷۱۱).

در مطالعه حاضر بیان IL-6 به‌طور قابل‌توجهی در بافت هیپوکمپ و قشر قدامی موش‌های در معرض ریز ذرات کربن سیاه افزایش یافت که نشان‌دهنده پیشبرد التهاب مغزی موش‌های در معرض ذرات آلاینده است. هم‌راستا با تحقیق حاضر، نتایج تحقیق لیوسکو و همکاران (۲۰۱۱) نشان داد که همراه با افزایش یکسری از سایتوکاین‌ها التهابی همچون TNF- $\alpha$ ، میزان IL-6 در مغز میانی، قشر و پیاز بویایی مغز رت‌هایی که به مدت چهار هفته در معرض سوخت دیزلی (DE) بودند، افزایش معنی‌داری داشت (۶). سای<sup>۱</sup> و همکاران (۲۰۱۲) در پژوهشی روی جمعیت لوزان سوئیس که در معرض ذرات آلاینده هوا بودند، افزایش قابل‌توجه سایتوکاین‌های پیش‌التهابی IL-1، IL-6 و TNF- $\alpha$  را در سرم گزارش کردند (۵۲). کالدران<sup>۲</sup> و همکاران (۲۰۱۳) گزارش کردند که سطوح IL-6 در مایع مغزی-نخاعی کودکانی که بیشتر در معرض آلاینده‌های هوا بودند و علائم اختلالات شناختی را بروز می‌دادند، افزایش یافت (۲۲). تحقیق کل و همکاران (۲۰۱۵) نشان داد که مواجهه ۶ ساعته موش‌های بالغ با

1. Tsai D-H

1. Calderón-Garcidueñas L

۲۵۰-۳۰۰ میکروگرم بر متر مکعب سوخت دیزلی، منجر به افزایش TNF- $\alpha$ ، IL-1 و IL-6 در پیاز بویایی و هیپوکمپ موش‌ها شد (۵۳).

بنابراین، با توجه به این‌که IL-6 نقش مهمی را در پاتوژنز التهاب عصبی و التهاب سیستمیک، که با قرار گرفتن طولانی‌مدت در معرض هوای آلوده ارتباط دارند، ایفا می‌کند (۱۲،۲۰) و همچنین رابطه بین غلظت بالای IL-6، کاهش حجم هیپوکمپ و اختلالات افسردگی (۲۹)، نقصان شناختی، آلزایمر و اوتیسم (۳۱،۳۳،۳۰،۱۵)، به نظر می‌رسد افزایش IL-6 در هیپوکمپ و قشر مغز موش‌های در معرض ذرات کربن سیاه نقش به‌سزایی در ایجاد التهاب سیستمیک و التهاب عصبی و اختلالات و بیماری‌های متعاقب آن داشته باشد. تحقیق حاضر در راستای کاهش این مضرات مواجه با آلاینده‌های هوا، رویکرد ورزش را در نظر گرفت.

مطالعات کمی تأثیر ذرات آلاینده بر پاسخ‌های ایمنی ورزش را مورد بررسی قرار داده‌اند. تأثیر ورزش هوازی و هوای آلوده به ذرات کربن سیاه بر IL-6 بافت هیپوکمپ و قشر قدامی مغز برای اولین بار در پژوهش حاضر مورد بررسی قرار گرفت. نتایج تحقیق حاضر نشان داد میزان بیان IL-6 mRNA در گروه موش‌های تمرین کرده و در معرض هوای آلوده کمتر از گروه آلودگی بود. به نظر می‌رسد تعدیل IL-6 ناشی از اثرات ضدالتهابی تمرین باشد (۵۵،۵۴). ویم و همکاران (۲۰۱۳) نشان داد که فعالیت ورزشی ۹۰ دقیقه‌ای در هوای آلوده به ریز ذرات، در موش‌ها، با افزایش IL-6 در هیپوکمپ همراه بود درحالی‌که در این گروه میزان TNF- $\alpha$  و IL-1 در هیپوکمپ کاهش معنی‌داری داشت. هم‌راستا با IL-6 میزان BDNF هیپوکمپ در گروه غیرفعال در معرض ریز ذرات کاهش داشت. با این حال ورزش منجر به افزایش معنی‌دار آن در گروه فعال در معرض هوای آلوده شد (۴۱). تناقض در نتایج این تحقیق با تحقیق حاضر احتمالاً در نوع و مدت زمان پروتکل تمرینی و مدت زمان مواجهه با هوای آلوده می‌باشد. در تحقیق حاضر افزایش وزن در گروه آلودگی - تمرین کمتر از گروه آلودگی بود. این درحالی است که میزان بیان IL-6 نیز هم‌راستا با وزن موش‌ها در گروه آلودگی - تمرین نسبت به گروه آلودگی کاهش یافت. با توجه به تعامل معنادار تمرین - آلودگی، احتمالاً تمرین می‌تواند با کاهش توده بدن در هوای آلوده اثرات ضدالتهابی را القا کند. پاره‌ای از مطالعات نیز اثر اصلی ورزش بر کاهش عوامل التهابی و القای عوامل ضدالتهابی را به کاهش وزن ناشی از ورزش نسبت داده‌اند (۵۷،۵۶).

از آنجایی‌که بررسی تحقیقات صورت گرفته در زمینه اثرات آلاینده‌های هوا بر مغز حاکی از آن است که افزایش IL-6 در این شرایط همراه با افزایش التهاب سیستمیک، التهاب عصبی و آسیب سد خونی - مغزی و افزایش دیگر سایتوکاین‌های التهابی همچون TNF- $\alpha$  می‌باشد (۵۸، ۳۰) بنابراین به نظر

می‌رسد که افزایش IL-6 در مواجهه با ذرات کربن سیاه اثرات التهابی بر مغز اعمال می‌کند و در نتیجه کاهش آن طی تمرینات ورزشی در موش‌های در معرض هوای آلوده به ذرات کربن سیاه می‌تواند تا حدودی در کاهش التهاب عصبی تأثیرگذار باشد.

در تحقیق حاضر میزان بیان ژن IL-6 هر دو گروه تمرینی نسبت به گروه کنترل بیشتر بود. یکسری از تحقیقات افزایش IL-6 در پلاسما و مغز طی ورزش و زمان ریکاوری را گزارش کرده (۴۲،۵۹) و حتی نتایج بعضی از مطالعات حاکی از اثرات ضدالتهابی این سایتوکاین طی ورزش می‌باشد (۶۰،۶۱). بررسی تحقیقات حاکی از آن است که افزایش IL-6 ناشی از ورزش می‌تواند زمینه کنترل TNF-را فراهم آورد. اگرچه بیشتر مطالعات سطوح IL-6 و TNF-را در گردش خون- نه در مغز - مورد بررسی قرار می‌دهد. تحقیق راسموسن و همکاران (۲۰۱۱) بر روی موش‌ها نشان می‌دهد که ورزش مستمر باعث افزایش انتخابی IL-6 در هیپوکمپ می‌شود. این یافته نشان می‌دهد محافظت از سلول‌های عصبی طی ورزش که به وسیله سیگنال دهی IL-6 میانجیگری می‌شود، ممکن است تا حد زیادی در بیماری‌های التهاب عصبی مخصوصاً آن‌هایی که بر هیپوکمپ تأثیر می‌گذارند، بسیار مفید باشد (۴۲).

در مطالعه حاضر وزن بدن موش‌های گروه آلودگی-تمرین نسبت به گروه تمرین افزایش بیشتری داشت. همچنین در گروه آلودگی نیز افزایش وزن معنی‌داری در وزن موش‌ها مشاهده گردید که با نتایج تحقیق برخی از مطالعات همسو بود. این محققان بالا بودن ذرات آلاینده را عامل خطر برای توسعه مقاومت انسولین، چاقی و التهاب گزارش کردند (۶۲،۶۳). التهاب مزمن ناشی از قرار گرفتن در معرض آلاینده‌های هوا همراه با افزایش بلند مدت برخی از سایتوکاین‌های پیش التهابی همچون TNF- و IL-6 در گردش خون است (۷،۲۲). تحقیقات نشان دادند که افزایش سطح سرمی این سایتوکاین‌ها به خصوص IL-6 که ویژگی پیش التهابی در سلول‌های چربی و کبد دارد، با مقاومت انسولینی همراه است. افزایش مقاومت انسولینی منجر به رهایش بیشتر آن و در نهایت افزایش وزن می‌گردد (۶۲،۶۳). بین افزایش وزن و چاقی و افزایش عوامل التهابی ارتباط وجود دارد، این در حالی است که کاهش وزن می‌تواند حتی مستقل از ورزش باعث کاهش نشانگرهای التهابی شود (۶۴). در تحقیق حاضر افزایش وزن در گروه آلودگی - تمرین کمتر از گروه آلودگی بود. این در حالی است که میزان بیان IL-6 نیز هم‌راستا با وزن موش‌ها در گروه آلودگی -تمرین نسبت به گروه آلودگی کاهش یافت. با توجه به تعامل معنادار تمرین - آلودگی، احتمالاً تمرین می‌تواند با کاهش توده بدن در هوای آلوده اثرات ضد التهابی را القا کند. پاره‌ای از مطالعات نیز اثر اصلی ورزش بر کاهش عوامل التهابی و

القای عوامل ضدالتهابی را به کاهش وزن ناشی از ورزش نسبت داده‌اند (۵۶،۵۷). همچنین در تحقیق حاضر افزایش معنی‌دار وزن در گروه آلودگی نسبت به گروه کنترل کمتر بود که با تحقیق رجیبی و همکاران (۱۳۸۱) همسو است. دلیل این تفاوت به‌درستی مشخص نیست. بعضی از تحقیقات نشان داده‌اند که آلودگی هوا می‌تواند متابولیسم پایه را بر اثر افزایش کاتکولامین‌های خون افزایش دهد. برخی تحقیقات نیز، کاهش اشتها همراه با آلودگی هوا را گزارش کرده‌اند (۶۵).

بر اساس یافته‌های پژوهش حاضر، به نظر می‌رسد که نقش تمرینات ورزشی تنها کاهش و تعدیل عوامل التهابی و زیان‌بار بوده و نمی‌تواند اثرات زیان‌بار زندگی در معرض آلاینده‌ها را به‌طور کامل حذف کند. بنابراین، ارزش نتایج موجود را می‌توان به لحاظ بالینی قابل توجه دانست، زیرا زندگی در هوای آلوده در مقایسه با زندگی در هوای سالم تأثیرات منفی بسیاری را بر جای می‌گذارد که داشتن سبک زندگی فعال در شهرهای آلوده شاید بتواند اثرات تعدیلی را بر عوامل التهابی نسبت به داشتن سبک زندگی غیرفعال ایفا کند. به‌طور خلاصه، یافته‌های تحقیق نشان داد چهار هفته تمرین هوازی و مواجه به هوای آلوده به ذرات کربن سیاه باعث تعدیل عامل التهاب IL-6 در مغز می‌شود. باین‌وجود، پژوهش‌های بیشتری برای آشکار شدن سازوکارهای دقیق در این مداخلات موردنیاز است.

## منابع

1. Zanobetti A, Schwartz J. The effect of fine and coarse particulate air pollution on mortality: a national analysis. *Environmental Health Perspectives*. 2009;117(6):898.
2. Guo Y, Barnett AG, Zhang Y, Tong S, Yu W, Pan X. The short-term effect of air pollution on cardiovascular mortality in Tianjin, China: Comparison of time series and case-crossover analyses. *Science of the Total Environment*. 2010;409(2):300-6.
3. Jerrett M, Finkelstein MM, Brook JR, Arain MA, Kanaroglou P, Stieb DM, et al. A cohort study of traffic-related air pollution and mortality in Toronto, Ontario, Canada. *Environmental Health Perspectives*. 2009;117(5):772.
4. Wilson WE, Suh HH. Fine particles and coarse particles: concentration relationships relevant to epidemiologic studies. *Journal of the Air & Waste Management Association*. 1997;47(12):1238-49.
5. Rossignol D, Genuis S, Frye R. Environmental toxicants and autism spectrum disorders: a systematic review. *Translational psychiatry*. 2014;4(2):e360.
6. Levesque S, Taetzsch T, Lull ME, Kodavanti U, Stadler K, Wagner A, et al. Diesel exhaust activates and primes microglia: air pollution, neuroinflammation, and regulation of dopaminergic neurotoxicity. *Environmental health perspectives*. 2011;119(8):1149.
7. Block ML, Calderón-Garcidueñas L. Air pollution: mechanisms of neuroinflammation and CNS disease. *Trends in neurosciences*. 2009;32(9):506-16.

8. Vieira RdP, Toledo AC, Silva LB, Almeida FM, Damaceno-Rodrigues NR, Caldini EG, et al. Anti-inflammatory effects of aerobic exercise in mice exposed to air pollution. *Med Sci Sports Exerc.* 2012;44(7):1227-34.
9. Plummer LE, Smiley-Jewell S, Pinkerton KE. Impact of air pollution on lung inflammation and the role of toll-like receptors. *International Journal of Interferon, Cytokine and Mediator Research.* 2012;4(1):43-57.
10. van Berlo D, Albrecht C, Knaapen AM, Cassee FR, Gerlofs-Nijland ME, Kooter IM, et al. Comparative evaluation of the effects of short-term inhalation exposure to diesel engine exhaust on rat lung and brain. *Archives of toxicology.* 2010;84(7):553-62.
11. Bihaqi SW, Singh AP, Tiwari M. Supplementation of *Convolvulus pluricaulis* attenuates scopolamine-induced increased tau and Amyloid precursor protein (A PP) expression in rat brain. *Indian journal of pharmacology.* 2012;44(5):593.
12. Calderon-Garciduenas L, Cross JV, Franco-Lira M, Aragon-Flores M, Kavanaugh M, Torres-Jardon R, et al. Brain immune interactions and air pollution: macrophage inhibitory factor (MIF), prion cellular protein (PrPC), Interleukin-6 (IL-6), interleukin 1 receptor antagonist (IL-1Ra), and interleukin-2 (IL-2) in cerebrospinal fluid and MIF in serum differentiate urban children exposed to severe vs. low air pollution. *Frontiers in Neuroscience.* 2013;7.
13. Calderón-Garcidueñas L, Engle R, Mora-Tiscareño A, Styner M, Gómez-Garza G, Zhu H, et al. Exposure to severe urban air pollution influences cognitive outcomes, brain volume and systemic inflammation in clinically healthy children. *Brain and cognition.* 2011;77(3):345-55.
14. Calderón-Garcidueñas L, D'Angiulli A, Kulesza RJ, Torres-Jardón R, Osnaya N, Romero L, et al. Air pollution is associated with brainstem auditory nuclei pathology and delayed brainstem auditory evoked potentials. *International Journal of Developmental Neuroscience.* 2011;29(4):365-75.
15. Calderón-Garcidueñas L, Solt AC, Henríquez-Roldán C, Torres-Jardón R, Nuse B, Herritt L, et al. Long-term air pollution exposure is associated with neuroinflammation, an altered innate immune response, disruption of the blood-brain barrier, ultrafine particulate deposition, and accumulation of amyloid  $\beta$ -42 and  $\beta$ -synuclein in children and young adults. *Toxicologic Pathology.* 2008;36(2):289-310.
16. Calderón-Garcidueñas L, Mora-Tiscareño A, Ontiveros E, Gómez-Garza G, Barragán-Mejía G, Broadway J, et al. Air pollution, cognitive deficits and brain abnormalities: a pilot study with children and dogs. *Brain and cognition.* 2008;68(2):117-27.
17. CALDERon-GARCIDUENas L, Reed W, Maronpot RR, Henriquez-Roldán C, Delgado-Chavez R, CALDERon-GARCIDUENas A, et al. Brain inflammation and Alzheimer's-like pathology in individuals exposed to severe air pollution. *Toxicologic Pathology.* 2004;32(6):650-8.
18. Calderón-Garcidueñas L, Mora-Tiscareño A, Gómez-Garza G, Carrasco-Portugal MDC, Pérez-Guillé B, Flores-Murrieta FJ, et al. Effects of a cyclooxygenase-2 preferential inhibitor in young healthy dogs exposed to air pollution: a pilot study. *Toxicologic pathology.* 2009;37(5):644-60.
19. Guxens M, Sunyer J. A review of epidemiological studies on neuropsychological effects of air pollution. *Swiss Med Wkly.* 2012;141:w13322.

20. McFarlin BK, Flynn MG, Campbell WW, Craig BA, Robinson JP, Stewart LK, et al. Physical activity status, but not age, influences inflammatory biomarkers and toll-like receptor 4. *The Journals of Gerontology Series A: Biological Sciences and Medical Sciences*. 2006;61(4):388-93.
21. Block ML, Zecca L, Hong J-S. Microglia-mediated neurotoxicity: uncovering the molecular mechanisms. *Nature Reviews Neuroscience*. 2007;8(1):57-69.
22. Calderón-Garcidueñas L, Cross JV, Franco-Lira M, Aragón-Flores M, Kavanaugh M, Torres-Jardón R, et al. Brain immune interactions and air pollution. *Frontiers in neuroscience*. 2013;7(183):1-13.
23. Sama P, Long TC, Hester S, Tajuba J, Parker J, Chen L-C, et al. The cellular and genomic response of an immortalized microglia cell line (BV2) to concentrated ambient particulate matter. *Inhalation toxicology*. 2007;19(13):1079-87.
24. Araneda S, Commin L, Atlagich M, Kitahama K, Parraguez VH, Pequignot J-M, et al. VEGF overexpression in the astroglial cells of rat brainstem following ozone exposure. *Neurotoxicology*. 2008;29(6):920-7.
25. Oortgiesen M, Veronesi B, Eichenbaum G, Kiser PF, Simon SA. Residual oil fly ash and charged polymers activate epithelial cells and nociceptive sensory neurons. *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology*. 2000;278(4):L683-L95.
26. Baune BT, Konrad C, Grotegerd D, Suslow T, Birosova E, Ohrmann P, et al. Interleukin-6 gene (IL-6): a possible role in brain morphology in the healthy adult brain. *Journal of neuroinflammation*. 2012;9(1):1.
27. Frodl T, Carballedo A, Hughes M, Saleh K, Fagan A, Skokauskas N, et al. Reduced expression of glucocorticoid-inducible genes GILZ and SGK-1: high IL-6 levels are associated with reduced hippocampal volumes in major depressive disorder. *Translational psychiatry*. 2012;2(3):e88.
28. Yang C, Hong T, Shen J, Ding J, Dai XW, Zhou ZQ, et al. Ketamine exerts antidepressant effects and reduces IL-1 and IL-6 levels in rat prefrontal cortex and hippocampus. *Experimental and therapeutic medicine*. 2013;5(4):1093-6.
29. Piletz JE, Halaris A, Iqbal O, Hoppensteadt D, Fareed J, Zhu H, et al. Pro-inflammatory biomarkers in depression: treatment with venlafaxine. *The World Journal of Biological Psychiatry*. 2009;10(4):313-23.
30. Costa LG, Cole TB, Coburn J, Chang Y-C, Dao K, Roque P. Neurotoxicants are in the air: convergence of human, animal, and in vitro studies on the effects of air pollution on the brain. *BioMed research international*. 2014;2014.
31. Calderón-Garcidueñas L, Torres-Jardón R, Kulesza RJ, Park S-B, D'Angiulli A. Air pollution and detrimental effects on children's brain. The need for a multidisciplinary approach to the issue complexity and challenges. *Frontiers in human neuroscience*. 2014;8.
32. Drake C, Boutin H, Jones MS, Denes A, McColl BW, Selvarajah JR, et al. Brain inflammation is induced by co-morbidities and risk factors for stroke. *Brain, behavior, and immunity*. 2011;25(6):1113-22.



33. Wei H, Chadman KK, McCloskey DP, Sheikh AM, Malik M, Brown WT, et al. Brain IL-6 elevation causes neuronal circuitry imbalances and mediates autism-like behaviors. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*. 2012;1822(6):831-42.
34. Vargas DL, Nascimbene C, Krishnan C, Zimmerman AW, Pardo CA. Neuroglial activation and neuroinflammation in the brain of patients with autism. *Annals of neurology*. 2005;57(1):67-81.
35. Oh J, McCloskey MA, Blong CC, Bendickson L, Nilsen-Hamilton M, Sakaguchi DS. Astrocyte-derived interleukin-6 promotes specific neuronal differentiation of neural progenitor cells from adult hippocampus. *Journal of neuroscience research*. 2010;88(13):2798-809.
36. Barrientos RM. Voluntary exercise as an anti-neuroinflammatory therapeutic. *Brain, behavior, and immunity*. 2011;25(6):1061-2.
37. Funk JA, Gohlke J, Kraft AD, McPherson CA, Collins JB, Harry GJ. Voluntary exercise protects hippocampal neurons from trimethyltin injury: possible role of interleukin-6 to modulate tumor necrosis factor receptor-mediated neurotoxicity. *Brain, behavior, and immunity*. 2011;25(6):1063-77.
38. Leem Y-H, Lee Y-I, Son H-J, Lee S-H. Chronic exercise ameliorates the neuroinflammation in mice carrying NSE/htau23. *Biochemical and biophysical research communications*. 2011;406(3):359-65.
39. Fonken L, Xu X, Weil ZM, Chen G, Sun Q, Rajagopalan S, et al. Air pollution impairs cognition, provokes depressive-like behaviors and alters hippocampal cytokine expression and morphology. *Molecular psychiatry*. 2011;16(10): 987-95.
40. Goto S, Naito H, Kaneko T, Chung HY, Radak Z. Hormetic effects of regular exercise in aging: correlation with oxidative stress. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism*. 2007;32(5):948-53.
41. Wim S, De Boever Patrick BI, Luc IP. Neuroinflammation Induced by Air Pollution: Gene Expression Analysis in Laboratory Animals. Paper submitted within the scope of the Master's Thesis Master of Industrial Sciences GROUP T – Leuven Engineering College. 2013.
42. Rasmussen P, Vedel JC, Olesen J, Adser H, Pedersen M, Hart E, et al. In humans IL-6 is released from the brain during and after exercise and paralleled by enhanced IL-6 mRNA expression in the hippocampus of mice. *Acta physiologica*. 2011;201(4):475-82.
43. Campbell ME, Li Q, Gingrich SE, Macfarlane RG, Cheng S. Should people be physically active outdoors on smog alert days? *Canadian Journal of Public Health/Revue Canadienne de Sante'e Publique*. 2005:24-8.
44. Sharman JE. Clinicians prescribing exercise: is air pollution a hazard? *Medical journal of Australia*. 2005;182(12):606-7.
45. Ji LL. Modulation of skeletal muscle antioxidant defense by exercise: role of redox signaling. *Free Radical Biology and Medicine*. 2008;44(2):142-52.
46. Vieira RP, de Toledo AC, Ferreira SC, dos Santos ÂBG, Medeiros MCR, Hage M, et al. Airway epithelium mediates the anti-inflammatory effects of exercise on asthma. *Respiratory physiology & neurobiology*. 2011;175(3):383-9.

47. Enoki T, Yoshida Y, Lally J, Hatta H, Bonen A. Testosterone increases lactate transport, monocarboxylate transporter (MCT) 1 and MCT4 in rat skeletal muscle. *The Journal of physiology*. 2006;577(1):433-43.
48. Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2<sup>-</sup>CT method. *methods*. 2001;25(4):402-8.
49. Calderón-Garcidueñas L, Mora-Tiscareño A, Styner M, Gómez-garza G, Zhu H, Torres-Jardón R, et al. White matter hyperintensities, systemic inflammation, brain growth, and cognitive functions in children exposed to air pollution. *Journal of Alzheimer's Disease*. 2012;31(1):183-91.
50. Block M, Wu X, Pei Z, Li G, Wang T, Qin L, et al. Nanometer size diesel exhaust particles are selectively toxic to dopaminergic neurons: the role of microglia, phagocytosis, and NADPH oxidase. *The FASEB journal*. 2004;18(13):1618-20.
51. Kumar H, Sharma A. Chronic Ill Effects of Air Pollution in Children: Neurological Derailment. *Global Journal of Human-Social Science Research*. 2012;12(6).
52. Tsai D-H, Amyai N, Marques-Vidal P, Wang J-L, Riediker M, Mooser V, et al. Effects of particulate matter on inflammatory markers in the general adult population. *Particle and fibre toxicology*. 2012;9(1):1.
53. Costa LG, Cole TB, Coburn J, Chang Y-C, Dao K, Roqué PJ. Neurotoxicity of traffic-related air pollution. *Neurotoxicology*. 2015.
54. Gleeson M, Bishop NC, Stensel DJ, Lindley MR, Mastana SS, Nimmo MA. The anti-inflammatory effects of exercise: mechanisms and implications for the prevention and treatment of disease. *Nature Reviews Immunology*. 2011;11(9):607-15.
55. Pedersen BK. The anti-inflammatory effect of exercise: its role in diabetes and cardiovascular disease control. *Essays in biochemistry*. 2006;42:105-17.
56. Pischon T, Hankinson SE, Hotamisligil GS, Rifai N, Rimm EB. Leisure-time physical activity and reduced plasma levels of obesity-related inflammatory markers. *Obesity research*. 2003;11(9):1055-64.
57. Ziccardi P, Nappo F, Giugliano G, Esposito K, Marfella R, Cioffi M, et al. Reduction of inflammatory cytokine concentrations and improvement of endothelial functions in obese women after weight loss over one year. *Circulation*. 2002;105(7):804-9.
58. Brockmeyer S, D'Angiulli A. How Air Pollution Alters Brain Development: The Role of Neuroinflammation. *Translational Neuroscience*. 2016;7(1):24-30.
59. Weigert C, Hennige AM, Brodbeck K, Häring HU, Schleicher ED. Interleukin-6 acts as insulin sensitizer on glycogen synthesis in human skeletal muscle cells by phosphorylation of Ser473 of Akt. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*. 2005;289(2):E251-E7.
60. Scheller J, Chalaris A, Schmidt-Arras D, Rose-John S. The pro-and anti-inflammatory properties of the cytokine interleukin-6. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research*. 2011;1813(5):878-88.
61. Wallberg L, Mattsson CM, Enqvist JK, Ekblom B. Plasma IL-6 concentration during ultra-endurance exercise. *European journal of applied physiology*. 2011;111(6):1081-8.
62. McConnell R, Gilliland F, Goran M, Allayee H, Hricko A, Mittelman S. Does near-roadway air pollution contribute to childhood obesity? *Pediatric obesity*. 2016;11(1):1.

63. Xu X, Yavar Z, Verdin M, Ying Z, Mihai G, Kampfrath T, et al. Effect of early particulate air pollution exposure on obesity in mice role of p47phox. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. 2010;30(12):2518-27.
64. Fisher G, Hyatt TC, Hunter GR, Oster RA, Desmond RA, Gower BA. Effect of diet with and without exercise training on markers of inflammation and fat distribution in overweight women. *Obesity*. 2011;19(6):1131-6.
65. Rajabi H. Effect of Aerobic Exercise in Infected Environment on CBC and Serum Lipid and Lipoproteins and Performance Time in Rats. *Research on Sport Sciences*. 2002;3: 1-25.

## ارجاع دهی

اکرم کریمی اصل، آقاعلی نژاد حمید، قراخانلو رضا، رضایی بتول.  
تأثیر تمرین هوازی و هوای آلوده به ذرات کربن سیاه بر بیان IL-6 mRNA در  
بافت‌های هیپوکمپ و قشر قدامی مغز موش‌های صحرایی نر ویستار.  
فیزیولوژی ورزشی. زمستان ۱۳۹۶؛ ۹(۳۶): ۲۸-۱۰۹.  
شناسه دیجیتال: 10.22089/spj.2017.2858.1386

Karimi Asl A, Agha Ali Nejad H, Gharakhanlou R, Rezaee B.  
Effects of Aerobic Exercise and Carbon Black Particulates  
Air Pollution on IL-6 mRNA Expression in the  
Hippocampus and Frontal Cortex of Male Wistar Rats.  
*Sport Physiology*. Winter 2018; 9(36): 109-28. (In Persian).  
DOI: 10.22089/spj.2017.2858.1386

## Effects of Aerobic Exercise and Carbon Black Particulates Air Pollution on IL-6 mRNA Expression in the Hippocampus and Frontal Cortex of Male Wistar Rats

A. Karimi Asl<sup>1</sup>, H. Agha Ali Nejad<sup>2</sup>, R. Gharakhanlou<sup>2</sup>, B. Rezaee<sup>1</sup>

1. Assistant Professor of Sport Physiology, University of Zanjan
2. Associate Professor of Sport Physiology, Tarbiat Modares University\*
3. Professor of Sport Physiology, Tarbiat Modares University
4. Ph.D. in Sport Physiology, Tarbiat Modares University

Received: 2016/07/25

Accepted: 2016/08/22

---

### Abstract

The propose of this study was to evaluate the effect of aerobic training and exposure to PM10 carbon black on IL-6 mRNA expression in the hippocampus and frontal cortex of male Wistar rats. Twenty-four adult male Wistar rats (8-10 weeks age) were randomly divided to 4 groups: A: Control (n=6), B: Aerobic training (n=6), C: Exposure to Carbon black (n=6), and D: Aerobic training plus exposure to Carbon black (n=6). In order to exposure the animals to carbon black particles with diameter less than 10 microns was used particle injection device and chamber (Falunak). The rats of air pollution and air pollution-aerobic training groups were exposed to PM10 carbon black for four weeks (five days per week, two hours per day). After that, the rats of air pollution-aerobic training and aerobic training groups were carried out aerobic training program with 50% of own maximum speed for 4 weeks (60 minutes per session). The animals were sacrificed 24 hours after the last session. The mRNA expression of IL-6 were analyzed in hippocampus and frontal cortex tissues by Real time – PCR. In order to determine the significant differences between groups two-way ANOVA test were used. Particulate air pollution resulted in significant increase in IL-6 gene expression in the hippocampus ( $p=0.007$ ) and frontal cortex of the brain tissue ( $p=0.010$ ), however, the training had no significant effect on the expression of this gene. Despite the lack of significant effect of training on gene expression of IL-6, the results showed that the expression of this gene in training and training-air pollution groups was lower than air pollution group. So, it seems that training can moderate the neuro-inflammatory effects of air pollution by reduction of IL-6.

**Keywords:** Aerobic Training, Air Pollution, Carbon Black, IL-6, Hippocampus, Frontal Cortex

---

---

\*Corresponding Author

Email: aghaalinejad@gmail.com