

تأثیر تمرین هوازی در هوای آلوده به ذرات کربن سیاه بر بیان ژن های TLR4 و IL-1 β در بافت قلب موش های صحرایی نر

بهزاد پاکراد^۱، حمید آقاعلی نژاد^۲، علیرضا زمانی^۳، محمد فشی^۴، بتول رضایی
سراجی^۵، زهرا رجبی^۶

۱. دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه تربیت مدرس

۲. دانشیار فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه تربیت مدرس *

۳. استاد ایمونولوژی، دانشگاه علوم پزشکی همدان

۴. استادیار فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه شهید بهشتی

۵. دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه تربیت مدرس

۶. کارشناس ارشد فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه تربیت مدرس

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۰۷/۲۹

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۰۶/۰۸

چکیده

پژوهش حاضر اثرات تمرین هوازی بر فاکتورهای التهابی قلب موش های در معرض ذرات کربن سیاه را مورد بررسی قرار داده است. در این پژوهش، ۲۴ سر موش نر بالغ نژاد ویستار ۱۰ هفته ای با میانگین وزنی ۲۷۹/۲۹±۲۶/۹۷ گرم به چهار گروه شش تایی تقسیم شدند که عبارت هستند از: گروه کنترل (بدون تمرین هوازی و قرارگیری در معرض PM10)، گروه تمرین هوازی (پنج جلسه در هفته و به مدت چهار هفته)، گروه قرارگیری در معرض PM10 کربن سیاه (پنج میلی گرم در متر مکعب) و گروه تمرین هوازی همراه با قرارگیری در معرض PM10 کربن سیاه. شایان ذکر است که بیان ژن های TLR4 و IL-1 β در بافت قلب با استفاده از روش Real-Time PCR سنجیده شد. همچنین، جهت تعیین اختلاف معنادار بین گروه ها از آزمون تحلیل واریانس دوسویه و آزمون تعقیبی LSD با سطح معناداری $P \leq 0.05$ استفاده گردید. یافته ها نشان می دهد که تمرین هوازی توانسته است افزایش بیان ژن IL-1 β ناشی از PM10 را در بافت قلب مهار کند، اما در مقایسه با گروه کنترل، بیان ژن IL-1 β تنها در گروه آلودگی به شکل معناداری بالاتر می باشد ($P=0.046$). نتایج به دست آمده حاکی از آن است که چهار هفته قرارگیری در معرض PM10 کربن سیاه، به شکل معناداری بیان ژن IL-1 β را در بافت قلب افزایش می دهد و این وضعیت با انجام تمرینات هوازی و خیم تر نمی گردد.

واژگان کلیدی: ورزش هوازی، PM10، التهاب، بافت قلب

مقدمه

ارزش حیاتی هوای تنفسی در انسان بر هیچ کس پوشیده نیست و حتی از نیاز انسان به غذا و آب نیز بالاتر می باشد و اهمیت زیادی که دارد باعث شده است نگرانی زیادی درمورد آلودگی آن به وجود آید (۱). از سوی دیگر، انجام فعالیت بدنی به صورت مرتب، مزایا و اثرات مثبت بسیار زیادی بر سلامت افراد در سنین مختلف دارد، اما باید توجه نمود که هرچه فعالیت بدنی فرد بیشتر باشد، میزان تنفس نیز بالاتر بوده و به تبع آن، میزان هوای دریافتی فرد نیز بالاتر می رود و این توجیهی است برای خطر بالاتر آلودگی هوا در ورزشکاران. علاوه بر این، عنوان شده است که حین فعالیت ورزشی، ظرفیت انتشار ریوی افزایش می یابد و بر همین اساس، چنین فرض شده است که فعالیت ورزشی موجب افزایش انتشار و جذب آلاینده ها می گردد (۲). در تأیید این نظر باید بیان کرد افرادی که به فعالیت بدنی می پردازند نسبت به افراد بی تحرک، ۱۰ تا ۱۵ برابر بیشتر تنفس می کنند. قابل ذکر است که افراد بی تحرک عادی حدود ۶۰۰ لیتر هوا را در هر ساعت استنشاق می کنند؛ درحالی که این رقم حین فعالیت شدید به ۷۰۰۰ لیتر می رسد (۳-۵).

در میان آلاینده های هوا، منشا بیشتر اثرات منفی و بیماری ها در انسان ذرات معلق^۱ (PM) می باشد (۶). PM اصطلاحی است که برای اشاره به ذرات بسیار ریز (مخلوطی از مواد جامد و مایع) موجود در هوای آلوده استفاده می شود. درحقیقت، ذرات جامد از هسته ای کربنی تشکیل شده اند و شامل: نیترات ها و سولفات ها، فلزها، هیدروکربن های آروماتیک چندحلقه ای، آلکان ها و اسیدهای آلیکانونیک و ترکیبات بیولوژیکی (اندوتوکسین، گرده، هاگ های قارچی، ویروس ها و باکتری ها) می باشند (۷-۹). مطالعاتی که از مدل حیوانی استفاده کرده اند و یا پژوهش هایی که در ارتباط با انسان هایی که در معرض آلودگی هوا قرار داشته اند انجام شده اند نشان می دهند که PM، دستگاه های قلبی - عروقی، تنفسی و عصبی را تحت تأثیر قرار می دهد (۷، ۹، ۱۰). اگرچه، این گونه به نظر می رسد که PM خطرات مرتبط با سلامتی را بیشتر در ریه ها ایجاد کند، اما مستندات نشان می دهند که عمده اثرات مضر ناشی از PM، بر سیستم قلبی - عروقی اعمال می گردد (۱۱، ۱۲، ۱۳). همچنین، این گونه آشکار شده است که آلاینده های هوا به ویژه PM موجب تحریک سلول ها در تولید سایتوکاین های پیش التهابی و کموکاین ها می گردند (۷-۹، ۱۳، ۱۴). سیستم ایمنی ذاتی به ویژه مسیریایی که از طریق گیرنده های شبیه گذرگاهی^۲ (TLR) دنبال می شوند، اولین خط دفاعی در برابر پاتوژن های میکروبی و آلاینده های مهاجم می باشند. این گیرنده ها نقشی اساسی را در ایمنی ذاتی و ایمنی اکتسابی ایفا می کنند (۱۵-۱۸) و تحریک آن ها

1. Particulate Matter

2. Toll like Receptors - TLR

از طریق مسیرهای سیگنالینگ درون سلولی خاصی منجر به فعال شدن فاکتورهای نسخه برداری پایین- دست مختلفی شده و در نهایت، سبب تولید سایتوکاین‌های التهابی در سلول‌های ایمنی بدن میزبان می‌گردد (۱۵). مطالعات حیوانی اشاره به این موضوع دارند که این گیرنده‌ها در شرایط پاتولوژیک، تا حدودی مسئول عدم عملکرد صحیح قلبی می‌باشند (۱۵). یکی از مهم‌ترین سایتوکاین‌های پیش- التهابی حاصل از مسیر ذکر شده در بافت قلبی، اینترلوکین-۱ می‌باشد. عملکرد اصلی IL-1 همانند TNF این است که به عنوان یک واسطه پاسخ التهابی میزبان در برابر عفونت‌ها و سایر محرک‌ها عمل کند. IL-1 به همراه TNF در ایمنی ذاتی و التهابی شرکت می‌کند (۱۹) و ممکن است در بیماری ترومبوتیک شریانی نقش داشته باشد. این نقش می‌تواند از طریق افزایش تشکیل آسیب‌های آترومایی، افزایش التهاب عروقی و شروع بی‌ثباتی پلاک اعمال گردد (۲۰-۲۲). همچنین، IL-1 پاسخ‌های التهابی را تنظیم کرده و در توسعه رمودلینگ مضر از طریق افزایش بیان متالوپروتئیناز ماتریکس دخیل می‌باشد. علاوه بر این، پیام‌رسانی آن می‌تواند میانجی‌گر اصلی در پاتوژنز نارسایی قلبی (از طریق سرکوب قابلیت انقباض پذیری قلبی)، هیپرتروفی قلبی و آپوپتوز کاردیومیوسیت‌ها باشد (۲۰، ۲۳، ۲۴). به نظر می‌رسد که تمرینات ورزشی، بیان گیرنده‌های TLR را در سطح مونوسیت‌ها و سلول کاهش می‌دهد. همچنین، نشان داده شده است که TLR، در پاسخ به آلودگی هوا، نقش‌های التهابی (از جمله در آلرژی) را ایفا می‌کند (۲۵). بکر^۱ و همکاران نشان دادند که ذرات آلودگی هوا، TLR2 و TLR4 را تحریک می‌کند و در ادامه، با تولید سایتوکاین‌های پیش‌التهابی همراه می‌شود (۲۶). یکی از اجزای ذرات معلق که اهمیت بسیاری دارد، کربن سیاه می‌باشد. کربن سیاه ناشی از احتراق ناقص هیدروکربن‌های مایع و گازی است و امروزه به دلیل استفاده در سوخت گازوئیل و موتورهای دیزلی، از آن به عنوان آلاینده موتورهای دیزلی یاد می‌شود. مطالعات نشان داده است که بین قرارگرفتن در معرض ذرات کربن سیاه و التهاب و خطر برخی بیماری‌ها رابطه وجود دارد (۲۷). جکسون^۲ و همکاران (۲۰۱۲) در پژوهشی در ارتباط با موش‌های باردار نشان دادند که قرارگرفتن در معرض ذرات کربن سیاه با افزایش التهاب و آسیب DNA همراه می‌شود (۲۸). افزایش استفاده از کربن سیاه در سوخت‌های دیزلی، صنعت تایر ماشین، پلاستیک و موارد دیگر، نگرانی‌های روزافزونی را در این باره به همراه داشته است.

علی‌رغم این که انجام تمرینات ورزشی در هوای آلوده با چالش‌های بسیاری روبه‌رو می‌باشد، پژوهش‌های اندکی به صورت عمقی به بررسی آن پرداخته‌اند (۲۹). پارهای از پژوهش‌ها انجام تمرینات ورزشی

1. Becker

2. Jackson

در هوای آلوده را مضر دانسته‌اند (۳۶-۳۰) و این درحالی است که پژوهش‌های دیگر آن را رویکرد مناسبی برای تعدیل تأثیرات مضر آلودگی هوا می‌دانند (۳۸، ۳۷، ۲۹). پژوهش‌هایی که تأثیر قرارگرفتن در معرض آلودگی هوا حین تمرینات ورزشی را مورد بررسی قرار داده‌اند بیان کرده‌اند افرادی که در هوای آلوده ورزش می‌کنند، در معرض افزایش خطر بیماری‌های قلبی - عروقی قرار دارند؛ زیرا همان‌گونه که گفته شد، تمرینات ورزشی، میزان تنفس، تبادلات ریوی و تنفس آلاینده‌های سمی را افزایش می‌دهد (۳۵-۳۰). با این وجود، این مطالعات سازوکارهای اثر تمرینات هوازی را که می‌تواند عوامل پیش‌التهابی ناشی از آلودگی هوا را تعدیل کند به صورت عمقی و مولکولی و در سطح گیرنده مورد بررسی قرار نداده‌اند و تعداد این مطالعات نیز بسیار اندک می‌باشد. به طور کلی، با توجه به اثرات مضر آلودگی هوا بر سلامتی و به ویژه بر سیستم ایمنی و این که زندگی شهری در کشورهای در حال توسعه، قرارگرفتن در برابر این آلاینده‌ها را ایجاب می‌کند و نیز با توجه اثرات مفید و مؤثر تمرینات هوازی مزمن بر سلامتی بدن و فاکتورهای سیستم ایمنی، این سؤال مطرح می‌شود که آیا انجام چهار هفته تمرینات هوازی می‌تواند اثرات مفیدی بر TLR4 و عوامل التهابی در بافت قلب موش‌های در معرض هوای آلوده به ذرات کربن سیاه با قطر کمتر از ۱۰ میکرون (PM10) داشته باشد؟

روش پژوهش

حیوانات به کارگرفته شده در این پژوهش عبارت بودند از: ۲۴ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار ۱۰ هفته‌ای با میانگین وزنی $279/29 \pm 26/97$ گرم که در گروه‌های سه‌تایی در قفس‌های مخصوص نگهداری می‌شدند. دمای اتاق آزمایشگاه $22 \pm 3/6$ درجه سانتی‌گراد بود و چرخه ۱۲ ساعت خواب و ۱۲ ساعت بیداری با دسترسی آزاد به آب و غذا رعایت گردید. شایان ذکر است که تمام آزمایش‌های صورت گرفته براساس دستورالعمل کار با حیوانات دانشگاه تربیت مدرس انجام گرفت. پیش از گروه بندی و اجرای پروتکل تمرینی، موش‌ها به مدت دو هفته در محیط آزمایشگاه نگهداری شدند و در ادامه، به مدت یک هفته با تردمیل و نوع تمرین آشنا شدند. سپس، به صورت تصادفی به چهار گروه بدون تمرین و بدون قرارگرفتن در معرض هوای آلوده به ذرات کربن سیاه، بدون تمرین و با قرارگرفتن در معرض هوای آلوده به ذرات کربن سیاه، تمرین هوازی و بدون قرارگرفتن در معرض هوای آلوده به ذرات کربن سیاه و تمرین هوازی همراه با قرارگرفتن در معرض هوای آلوده به ذرات کربن سیاه تقسیم شدند.

به منظور تزریق ذرات کربن سیاه در هوای تنفسی موش‌ها از دستگاه و اتاقک (فالونک) استفاده گردید. دستگاه تزریق و اتاقک به گونه‌ای بود که در هر دقیقه یک‌بار هوای اتاقک به صورت کامل عوض شده

و با ایجاد یک فشار منفی در اتاقک، از خروج ذرات به فضای آزمایشگاه جلوگیری می‌شد. ذرات آلاینده با غلظت حدود پنج میلی گرم در هر متر مکعب، دما برابر با ۲۲ درجه سانتی گراد و رطوبت^۱ معادل ۲۹ درصد شبیه سازی گردید (۲۹). علاوه بر این، موش‌های گروه "ب" و "د" طی چهار هفته، به شکل پنج روز در هفته و به مدت دو ساعت در روز در معرض هوای آلوده به ذرات کربن سیاه قرار گرفتند. ذره آلاینده به کاررفته در این پژوهش، کربن سیاه (N660) با قطر کمتر از ۱۰ میکرون بود که از شرکت دوده کربن ایران تهیه گردید. شکل و قطر ذرات به ترتیب با روش تصویربرداری و با استفاده از میکروسکوپ نوری^۲ و داست کانتر^۳ بررسی و تأیید گشت.

در مرحله آشناسازی، موش‌ها به مدت یک هفته به صورت سه روز در هفته، ۱۵ دقیقه در روز و با سرعت ۲۰ متر بر دقیقه تمرین کردند. سپس، به منظور تعیین بار کار بیشینه، آزمونی فزاینده به قرار زیر انجام گرفت:

آزمون با سرعت شش متر بر دقیقه شروع گشته و پس از گذشت هر سه دقیقه، سه متر بر دقیقه به سرعت دستگاه اضافه می گردید. این کار تا آن جا ادامه می یافت که حیوان دیگر قادر به دویدن نباشد (سه مرتبه جاماندن حیوان از تردمیل و افتادن). در این نقطه، بار کار بیشینه برای هر حیوان مشخص می گردید (سرعت نهایی دستگاه در لحظه واماندن حیوان). همچنین، جهت تعیین شدت تمرین هر گروه، میانگین بار کار بیشینه هر گروه مورد استفاده قرار گرفت. پروتکل اصلی تمرین پس از گرم کردن (۱۰ دقیقه با سرعت شش متر بر دقیقه) به قرار زیر بود: دویدن با ۵۰ درصد میانگین بار کار بیشینه هر گروه، ۶۰ دقیقه در روز، پنج روز در هفته و به مدت چهار هفته (۲۹، ۳۹).

۲۴ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین و قرار گرفتن در معرض هوای آلوده به ذرات، حیوانات با تزریق زیر صفاقی ترکیبی از کتامین (۳۰ تا ۵۰ میلی گرم در کیلوگرم) و زایلازین (سه تا پنج میلی گرم در کیلوگرم) بیهوش شدند و بافت قلبی آن‌ها بلافاصله جدا گشت و در مایع نیتروژن منجمد گردید. نمونه‌های بافتی تا زمان اندازه گیری در فریزر با دمای ۸۰- درجه سانتی گراد نگهداری شدند. در مرحله استخراج RNA و سنتز cDNA، حدود ۵۰ میلی گرم بافت قلب به صورت جداگانه و به منظور استخراج total RNA به نسبت یک به ۱۰ در کوآزول^۴ هموژن گردید. همچنین، جهت برداشتن اجزای پروتئینی، محصول به دست آمده در دمای چهار درجه سانتی گراد به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۱۲۰۰۰

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

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

3. Grimm Aerosol Technique GmbH & Co. KG. Dorfstraße9 -83404 Ainring (Germany)

4. QIAzol Lysis Reagent

(g) سانتریفوژ گردید. سپس، به نسبت یک به ۰/۵ با کلروفرم مخلوط گشت و به مدت ۱۵ ثانیه به شدت تکان داده شد. در ادامه، در دمای چهار درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۱۲۰۰۰ (g) سانتریفوژ شد و بخش معدنی و آبی از هم جدا گشت. بخش حاوی RNA با نسبت یک به ۰/۵ با ایزوپروپانول مخلوط گشت و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای اتاق رها شد. سپس، در دمای چهار درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۱۲۰۰۰ (g) سانتریفوژ گردید. Pellet حاوی RNA در اتانول شستشو داده شد و در $L_{\mu}20$ آب RNAS-Free حل گردید. علاوه بر این، غلظت RNA مورد سنجش قرار گرفت (اپندورف آلمان). نسبت ۲۶۰ به ۲۸۰ بین ۱/۸ تا دو به عنوان تخلیص مطلوب تعریف گردید. سنتز cDNA نیز با استفاده از $g\mu 1$ از RNA و توسط پرایمر هگزامر رندوم و آنزیم ترانس-کریپتاز معکوس^۱ انجام گرفت.

به منظور اندازه‌گیری سطوح بیان ژن‌ها، روش نیمه کمی Real-Time-PCR با استفاده از پرایمیکس سایبر ژن دو^۲ به کار رفت (ساخت آمریکا). مخلوط واکنش در حجم نهایی 20 μ L انجام شد و هر واکنش دوبار صورت گرفت. طراحی پرایمرها نیز براساس اطلاعات ژن‌های TLR4، IL-1 β و GAPDH در بانک ژنی ان‌بی‌سی، آی‌انجام شد و سنتز آن‌ها توسط شرکت ماکرو ژن (ساخت کره جنوبی) صورت گرفت. توالی پرایمرهای مورد استفاده در جدول شماره یک نشان داده شده است. شایان ذکر است که از GAPDH به عنوان ژن کنترل استفاده شد. برنامه دمایی مورد استفاده در Real-Time-PCR شامل: ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه، ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ ثانیه و ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت یک دقیقه (تکرار ۴۰ سیکل) بود. میزان بیان ژن‌های مورد نظر نیز با روش $2^{-\Delta\Delta CT}$ اندازه‌گیری گردید.

جدول ۱- توالی پرایمرهای مورد استفاده در پژوهش حاضر

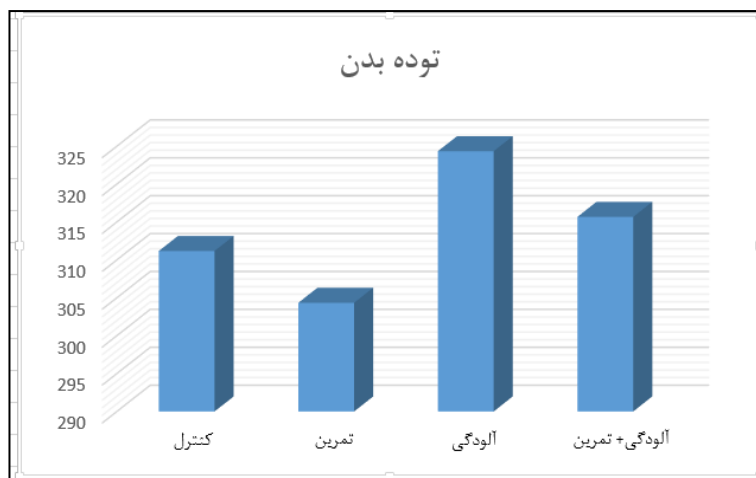
Genes	Primer sequence
TLR4	For: 5'- AATCCCTGCATAGAGGTA CTTCTAAT -3' Rev: 5'- CTCAGATCTAGGTTCTTG GTTGAATAA -3'
IL-1 β	For: 5'- CCCTGCAGCTGGAGAGTGTGG -3' Rev: 5'- TGTGCTCTGCTTGAGAGAGGTGCT -3'
GAPDH	For: 5'- GACATGCCGCCTGGAGAAACG -3' Rev: 5'- AGCCCAGGATGCCCTTTAGTT -3'

1. Reverse Transcriptase
2. Primix Syber Green II
3. NCI

تمامی داده‌ها براساس میانگین $\pm$ انحراف استاندارد توصیف شده‌اند. از آزمون تحلیل واریانس دوطرفه برای بررسی وجود تفاوت معنادار پس از مداخله در وزن بدن موش‌ها استفاده گردید. همچنین، جهت تعیین معناداربودن تفاوت بین گروه‌ها و نیز تعیین معناداربودن اثر تعاملی دو متغیر تمرین و آلودگی هوا، تحلیل واریانس دوطرفه و تست تعقیبی LSD مورد استفاده قرار گرفت. سطح معناداری نیز $P \leq 0.05$ در نظر گرفته شد. علاوه‌براین، کلیه بررسی‌های آماری با استفاده از نرم‌افزار اس. پی. اس. اس^۱ نسخه ۲۰ انجام گرفت.

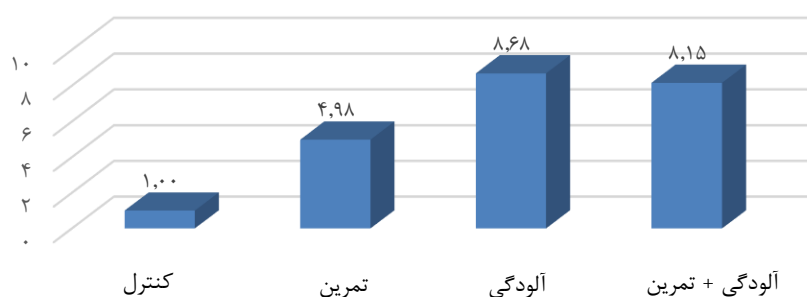
نتایج

یافته‌ها نشان می‌دهند که تمام موش‌ها در کلیه گروه‌ها توانسته‌اند پروتکل چهار هفته‌ای تمرین هوازی و قرارگرفتن در معرض هوای آلوده به ذرات را بدون هیچ مشکلی به اتمام برسانند. نتایج آزمون تحلیل واریانس دوطرفه در رابطه با توده بدنی موش‌ها نیز بیانگر این است که تفاوت معناداری بین گروه‌های موردپژوهش وجود ندارد ($F=0.444$)، اما اثر تعامل دو متغیر آلودگی و تمرین در این زمینه معنادار می‌باشد ($P=0.021$) (شکل شماره یک).



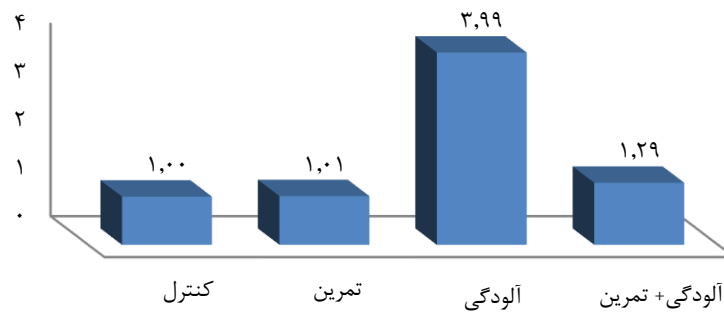
شکل ۱- تغییرات توده بدن حیوانات گروه‌های پژوهش پس از مداخله

در رابطه با مقادیر TLR-4، نتایج آزمون تحلیل واریانس دوطرفه نشان می‌دهد که هیچ تفاوت معناداری در مقادیر این گیرنده بین گروه‌ها وجود ندارد (جدول شماره دو). در شکل شماره دو که مربوط به TLR4 می‌باشد، محور y میزان بیان ژن را در مقایسه با گروه کنترلی که یک فرض شده است، نشان می‌دهد.



شکل ۲- میانگین ارزش‌های بیان ژن TLR4 در گروه‌های مورد مطالعه

علاوه بر این، در ارتباط با IL-1 β ، نتایج آزمون تحلیل واریانس دوطرفه همراه با آزمون تعقیبی LSD افزایش معناداری را در گروه آلودگی نسبت به گروه کنترل نشان می‌دهد ($P=0.046$). قابل ذکر است که در ارتباط با بیان IL-1 β ، تفاوت معناداری بین سایر گروه‌های مورد بررسی مشاهده نمی‌شود (جدول شماره دو). با وجود این، بیان این سایتوکاین در گروه آلودگی، بیشترین افزایش را داشته است و در گروه تمرین، کمترین افزایش را نشان می‌دهد (شکل شماره سه).



شکل ۳- میانگین ارزش‌های بیان ژن IL-1 β در گروه‌های مورد مطالعه

در پایان، شایان ذکر است که اثر تعاملی دو متغیر تمرین و آلودگی موجب تغییر معنادار در هیچ‌یک از متغیرهای TLR-4 و IL-1 β نگردیده است (جدول شماره دو).

جدول ۲- ارزش‌های مقادیر P در آزمون تحلیل واریانس دوطرفه بین گروه‌های مورد مطالعه

گروه‌ها	TLR4	IL-1 β
کنترل - تمرین	۰/۶۴۳	۰/۱۶۸
کنترل - آلودگی	۰/۳۹۷	۰/۰۴۶
کنترل - آلودگی + تمرین	۰/۴۰۸	۰/۱۵۴
تمرین * آلودگی	۰/۷۱۷	۰/۳۹۴

بحث و نتیجه‌گیری

در پژوهش حاضر، اثر چهار هفته تمرین هوازی سبک در هوای آلوده به ذرات کربن سیاه بر بیان ژن‌های TLR4 و IL-1 β در بافت قلب موش‌های صحرایی نر مورد بررسی قرار گرفت. یافته‌ها نشان داد که چهار هفته تمرین هوازی سبک منجر به تعدیل عوامل التهابی IL-1 β در هوای آلوده به ذرات کربن سیاه می‌شود.

مطالعات بسیاری با استفاده از مدل‌های حیوانی و نیز پژوهش‌های صورت گرفته بر روی انسان چنین گزارش کرده‌اند که قرارگرفتن در معرض آلودگی‌های هوای تنفسی، با ابتلا به بیماری‌های قلبی در ارتباطی تنگاتنگ می‌باشد (۴۴-۶،۴۰). در این میان، بیماری‌های التهابی بافت قلب، بسیار برجسته بوده و افزایش میزان IL-1 β در این زمینه نقشی کلیدی دارد (۲۰،۲۱،۲۳،۲۴). بکر و همکاران نشان دادند ذرات آلودگی هوا، تحریک TLR2 و TLR4 را در پی دارد و در نهایت، با تولید سایتوکاین‌های پیش‌التهابی همراه می‌باشد (۲۶). در پژوهش حاضر نیز قرارگرفتن در معرض هوای آلوده به ذرات کربن سیاه، با افزایش بیان ژن‌های TLR4 و IL-1 β همراه بود که از این لحاظ، با مطالعات یادشده هم‌خوانی دارد.

باید گفت مطالعاتی که به بررسی اثر تمرینات ورزشی در هوای آلوده بر پاسخ‌های دستگاه ایمنی پرداخته باشند بسیار اندک هستند و تنوع پاسخ‌های ایمنی، نتیجه‌گیری قاطع در این زمینه را بسیار سخت کرده است. پژوهش‌های بسیاری تمرینات ورزشی را به عنوان عاملی ضدالتهابی معرفی کرده‌اند. سازوکارهای پیشنهادی این اثرات ضدالتهابی عبارت هستند از: کاهش فشار اکسایشی، کاهش توده چربی احشایی، افزایش سایتوکاین‌های ضدالتهابی و کاهش بیان گیرنده‌های شبه‌گذرگاهی (۲۹، ۱۹). در این پژوهش نیز تمرین سبک هوازی به مدت چهار هفته، با کاهش نشانگرهای التهاب (TLR4 و IL-1 β) در بافت قلب موش‌های در معرض هوای آلوده به ذرات کربن سیاه همراه بود.

همچنین، الیویرا^۱ و همکاران در پژوهشی که روی نه دوچرخه‌سوار مرد تمرین کرده انجام دادند، کاهش معناداری را در TLR2 و TLR4 پس از یک ساعت ونیم دوچرخه‌سواری با شدت ۷۵ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی گزارش کردند و این امر را تا حدودی مسئول سرکوب ایمنی پس از ورزش در این ورزشکاران دانستند. در پژوهش حاضر، تمرین ورزشی منجر به افزایش TLR4 گردید که با یافته‌های پژوهش فوق در تناقض می‌باشد. از جمله دلایل این مغایرت را می‌توان به محیط و شدت فعالیت نسبت داد؛ زیرا در پژوهش حاضر، شدت فعالیت سبک‌تر می‌باشد.

شرمن^۲ و همکاران نیز در مطالعه خود (۲۰۰۴) این گونه نتیجه گرفتند که پرداختن به فعالیت ورزشی در هوای آلوده منجر به افزایش التهاب در بافت قلب می‌گردد که با پژوهش حاضر در تناقض می‌باشد (۳۴). از دلایل این تناقض می‌توان به زمان و شدت فعالیت ورزشی اشاره کرد. در پژوهش شرمن و همکاران، فعالیت ورزشی هم‌زمان با قرارگرفتن در معرض هوای آلوده انجام شده بود؛ در حالی که در مطالعه حاضر، تمرین هوازی ۱۵ دقیقه پس از قرارگرفتن حیوانات در برابر آلودگی اجرا گردید.

1. Oliveira
2. Sharman

درحقیقت، اختلاف بین این دو مطالعه، شبیه به ورزش کردن در محیط آزاد و خارج از ورزشگاه مانند دوچرخه‌سواری در اتوبان‌های شلوغ و ورزش در محیط سرپوشیده با هوای سالم می‌باشد. علاوه‌براین، در پژوهش حاضر، افزایش معناداری در تودهٔ بدنی موش‌های در معرض هوای آلوده به ذرات کربن سیاه مشاهده شد که هم‌سو با نتایج مطالعهٔ زو^۱ و همکاران (۲۰۱۰) می‌باشد. آن‌ها بالابودن ذرات آلاینده را عامل خطری برای توسعهٔ مقاومت انسولین، چاقی و التهاب دانستند (۴۵). همچنین، بیان کردند که بین افزایش وزن و چاقی و افزایش عوامل التهابی ارتباط وجود دارد و این درحالی است که کاهش وزن می‌تواند حتی مستقل از ورزش، منجر به کاهش نشانگرهای التهابی شود (۴۶). 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، ۴۸)؛ بنابراین، به نظر می‌رسد افزایش بیان TLR4 و IL-1 β در گروه آلودگی را می‌توان تا حدودی به افزایش وزن بدن حیوانات که ناشی از ذرات کربن سیاه می‌باشد نسبت داد و این درحالی است که این افزایش وزن در گروه آلودگی + تمرین کمتر می‌باشد.

به‌طور کلی، این یافته‌ها نشان می‌دهند که چهار هفته تمرین هوازی در هوای آلوده به ذرات کربن سیاه منجر به تعدیل عوامل التهابی TLR4 و IL-1 β و وزن بدن می‌شود. با این وجود، پژوهش‌های بیشتری به منظور آشکارشدن سازوکارهای دقیق این مداخلات مورد نیاز می‌باشد.

پیام مقاله: با توجه به داده‌های حاصل از این پژوهش، هوای آلوده منجر به افزایش عوامل التهابی در بافت قلب می‌گردد؛ لذا، افراد مستعد عوارض قلبی در مواجهه با چنین شرایطی نیاز به مراقبت بیشتری دارند. البته، شایان ذکر است که انجام فعالیت هوازی در هوای آلوده منجر به وخیم‌ترشدن عوامل التهابی نمی‌گردد.

منابع

۱. رجبی حمید. بررسی تأثیر تمرینات هوازی کوتاه‌مدت در محیط آلوده به CBC و مقدار لیپیدها و لیپوپروتئین‌های سرم و زمان اجرا در موش‌های آزمایشگاهی. نشریهٔ پژوهش در علوم ورزشی، ۱۳۸۱، ۱، (۳): ۱-۲۵.
2. Carlisle A, Sharp N. Exercise and outdoor ambient air pollution. British Journal of Sports Medicine. 2001; 35(4): 214-22.
3. El-Hadedy R, Zaiton H. Effect of air pollution on cardiac performance among active students in Zagazig University. World. 2012; 6(2): 107-13.

4. Braun-Fahrlander C, Ackermann-Liebrich U, Wanner H, Rutishauser M, Gnehm H, Minder C. Effects of air pollutants on the respiratory system in young children. *Schweizerische Medizinische Wochenschrift*. 1989; 119(41): 1424-33.
5. Chimenti L, Morici G, Paterno A, Bonanno A, Vultaggio M, Bellia V, et al. Environmental conditions, air pollutants, and airway cells in runners: A longitudinal field study. *Journal of Sports Sciences*. 2009; 27(9): 925-35.
6. Brook R. Cardiovascular effects of air pollution. *Clinical Science*. 2008; 115(6): 175-87.
7. Shoenfelt J, Mitkus R J, Zeisler R, Spatz R O, Powell J, Fenton M J, et al. Involvement of TLR2 and TLR4 in inflammatory immune responses induced by fine and coarse ambient air particulate matter. *Journal of Leukocyte Biology*. 2009; 86(2): 303-12.
8. Schwartz J. Air pollution and daily mortality: A review and meta analysis. *Environmental Research*. 1994; 64(1): 36-52.
9. Hopke P K, Rossner A. Exposure to airborne particulate matter in the ambient, indoor, and occupational environments. *Clinics in Occupational and Environmental Medicine*. 2005; 5(4): 747-71.
10. Brook R D, 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(21): 2655-71.
11. Pope III C A, Dockery D W. Health effects of fine particulate air pollution: Lines that connect. *Journal of the Air & Waste Management Association*. 2006; 56(6): 709-42.
12. Pope III CA, Burnett RT, Thun MJ, Calle EE, Krewski D, Ito K, Thurston GD. Lung cancer, cardiopulmonary mortality, and long-term exposure to fine particulate air pollution. *Jama*. 2002 Mar 6;287(9):1132-41.
13. Li N, Wang M, Oberley T D, Sempf J M, Nel A E. Comparison of the pro-oxidative and proinflammatory effects of organic diesel exhaust particle chemicals in bronchial epithelial cells and macrophages. *The Journal of Immunology*. 2002; 169(8): 4531-41.
14. Becker S, Soukup J M, Gilmour M I, Devlin R B. Stimulation of human and rat alveolar macrophages by urban air particulates: Effects on oxidant radical generation and cytokine production. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 1996; 141(2): 637-48.
15. Chao W. Toll-like receptor signaling: A critical modulator of cell survival and ischemic injury in the heart. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*. 2009; 296(1): 1-12.
16. Akira S, Uematsu S, Takeuchi O. Pathogen recognition and innate immunity. *Cell*. 2006; 124(4): 783-801.
17. Medzhitov R, Janeway Jr C. Innate immunity. *The New England Journal of Medicine*. 2000; 343(5): 338-44.
18. Takeda K, Kaisho T, Akira S. Toll-like receptors. *Annual Review of Immunology*. 2003; 21(1): 335-76.
19. Gleeson M, Bishop N C, Stensel D J, Lindley M R, Mastana S S, Nimmo M A. The anti-inflammatory effects of exercise: Mechanisms and implications for the prevention and treatment of disease. *Nature Reviews Immunology*. 2011; 11(9): 607-15.
20. Bujak M, Frangogiannis N G. The role of IL-1 in the pathogenesis of heart disease. *Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis*. 2009; 57(3): 165-76.

21. Apostolakis S, Vogiatzi K, Krambovitis E, Spandidos D A. IL-1 cytokines in cardiovascular disease: Diagnostic, prognostic and therapeutic implications. *Cardiovascular & Hematological Agents in Medicinal Chemistry (Formerly Current Medicinal Chemistry-Cardiovascular & Hematological Agents)*. 2008; 6(2): 150-8.
22. Kleemann R, Zadelaar S, Kooistra T. Cytokines and atherosclerosis: A comprehensive review of studies in mice. *Cardiovascular Research*. 2008; 79(3): 360-76.
23. Ing D J, Zang J, Dzau V J, Webster K A, Bishopric N H. Modulation of cytokine-induced cardiac myocyte apoptosis by nitric oxide, Bak, and Bcl-x. *Circulation Research*. 1999; 84(1): 21-33.
24. Palmer J N, Hartogensis W E, Patten M, Fortuin F D, Long C S. Interleukin-1 beta induces cardiac myocyte growth but inhibits cardiac fibroblast proliferation in culture. *Journal of Clinical Investigation*. 1995; 95(6): 2555.
25. Basu S, Fenton M J. Toll-like receptors: Function and roles in lung disease. *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology*. 2004; 286(5): 887-92.
26. 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. *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology*. 2002; 27(5): 611-8.
27. Niwa Y, Hiura Y, Sawamura H, Iwai N. Inhalation exposure to carbon black induces inflammatory response in rats. *Circulation Journal*. 2008; 72(1): 144-9.
28. Jackson P, Hougaard K S, Boisen A M Z, Jacobsen N R, Jensen K A, Møller P, 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*. 2012; 6(5): 486-500.
29. Vieira Rd P, Toledo A C, Silva L B, Almeida F M, Damaceno-Rodrigues N R, Caldini E G, et al. Anti-inflammatory effects of aerobic exercise in mice exposed to air pollution. *Med Sci Sports Exerc*. 2012; 44(7): 1227-34.
30. Campbell M E, Li Q, Gingrich S E, Macfarlane R G, Cheng S. Should people be physically active outdoors on smog alert days? *Canadian Journal of Public Health/ Revue Canadienne de Sante'e Publique*. 2005 Jan 1: 24-8.
31. Wilson W E, Suh H H. Fine particles and coarse particles: Concentration relationships relevant to epidemiologic studies. *Journal of the Air & Waste Management Association*. 1997; 47(12): 1238-49.
32. Patel H, Eo S, Kwon S. Effects of diesel particulate matters on inflammatory responses in static and dynamic culture of human alveolar epithelial cells. *Toxicology Letters*. 2011; 200(1): 124-31.
33. Sharman J E. Clinicians prescribing exercise: Is air pollution a hazard? *Medical Journal of Australia*. 2005; 182(12): 606-7.
34. Sharman J, Cockcroft J, Coombes J. Cardiovascular implications of exposure to traffic air pollution during exercise. *Qjm*. 2004; 97(10): 637-43.
35. Strak M, Boogaard H, Meliefste K, Oldenwening M, Zuurbier M, Brunekreef B, et al. Respiratory health effects of ultrafine and fine particle exposure in cyclists. *Occupational and Environmental Medicine*. 2010; 67(2): 118-24.

36. Kargarfard M, Poursafa P, Rezanejad S, Mousavinasab F. Effects of exercise in polluted air on the aerobic power, serum lactate level and cell blood count of active individuals. *International Journal of Preventive Medicine*. 2011; 2(3): 145.
37. Silbajoris R, Osornio-Vargas A R, Simmons S O, Reed W, Bromberg P A, Dailey L A, et al. Ambient particulate matter induces interleukin-8 expression through an alternative NF- κ B (nuclear factor-kappa B) mechanism in human airway epithelial cells. *Environmental Health Perspectives*. 2011; 119(10): 1379-83.
38. Ji L L. Modulation of skeletal muscle antioxidant defense by exercise: Role of redox signaling. *Free Radical Biology and Medicine*. 2008; 44(2): 142-52.
39. De Angelis K, Wichl R B, Jesus W, Moreira E D, Morris M, Krieger E M, et al. Exercise training changes autonomic cardiovascular balance in mice. *Journal of Applied Physiology*. 2004; 96(6): 2174-8.
40. Brook R D, Brook J R, Urch B, Vincent R, Rajagopalan S, Silverman F. Inhalation of fine particulate air pollution and ozone causes acute arterial vasoconstriction in healthy adults. *Circulation*. 2002; 105(13): 1534-6.
41. Brook R D, Rajagopalan S, Pope C A, Brook J R, Bhatnagar A, Diez-Roux A V, et al. Particulate matter air pollution and cardiovascular disease an update to the scientific statement from the American Heart Association. *Circulation*. 2010; 121(21): 2331-78.
42. Mills N L, Donaldson K, Hadoke P W, Boon N A, MacNee W, Cassee F R, et al. Adverse cardiovascular effects of air pollution. *Nature Clinical Practice Cardiovascular Medicine*. 2008; 6(1): 36-44.
43. Sun Q, Yue P, Ying Z, Cardounel A J, Brook R D, Devlin R, et al. Air pollution exposure potentiates hypertension through reactive oxygen species-mediated activation of Rho/ ROCK. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 2008; 28(10): 1760-6.
44. Törnqvist H K, Mills N L, Gonzalez M, Miller M R, Robinson S D, Megson I L, et al. Persistent endothelial dysfunction in humans after diesel exhaust inhalation. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 2007; 176(4): 395-400.
45. 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.
46. Fisher G, Hyatt T C, Hunter G R, Oster R A, Desmond R A, Gower B A. Effect of diet with and without exercise training on markers of inflammation and fat distribution in overweight women. *Obesity*. 2011; 19(6): 1131-6.
47. Pischon T, Hankinson S E, Hotamisligil G S, Rifai N, Rimm E B. Leisure-time physical activity and reduced plasma levels of obesity-related inflammatory markers. *Obesity Research*. 2003; 11(9): 1055-64.
48. 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.

شیوه استناد دهی

پاک‌راد بهزاد، آقاعلی‌نژاد حمید، زمانی علیرضا، فشی محمد، رضایی سراجی بتول، رجبی زهرا. تأثیر تمرین هوازی در هوای آلوده به ذرات کربن سیاه بر بیان ژن های TLR4 و IL-1 β در بافت قلب موش های صحرایی نر. فیزیولوژی ورزشی. پاییز ۱۳۹۵؛ ۸(۳۱): ۷۷-۹۲.

Pak-Rad B, Agha Alinejad H, Zamani A, Fashi M, Rezaei Seraji B, Rajabi Z. Study of Effect of Aerobic Exercise in Particulate Air Pollution TLR4 and IL-1 β Genes Expression in Male Wistar Rats' Heart Tissue. Fall 2016; 8 (31): 77-92.

Study of Effect of Aerobic Exercise in Particulate Air Pollution TLR4 and IL-1 β Genes Expression in Male Wistar Rats' Heart Tissue

B. Pak Rad¹, H. Agha Alinejad², A. Zamani³, M. Fashi⁴,
B. Rezaei Seraji⁵, Z. Rajabi⁶

1. Ph.D. Candidate at Tarbiat Modares University
2. Associate Professor at Tarbiat Modares University*
3. Professor at Hamadan University of Medical Sciences
4. Assistant Professor at Shahid Beheshti University
5. Ph.D. Candidate at Tarbiat Modares University
6. M.Sc. of Tarbiat Modares University

Received Date: 2014/12/01

Accepted Date: 2015/08/10

Abstract

Epidemiologic studies have linked exposure to fine Particulate matter air Pollution to broad cause-of-death mortality. In fact, there is no doubt that Regular Aerobic Exercise promotes a range of Physiological changes that Correlate with decreased Morbidity. However, the Effects of long-term Aerobic exercise on the heart Response to PM10 have not been investigated. The present study Evaluated the effect of aerobic Exercise on the heart Inflammatory status of rat Exposed to PM10 Carbon black. In this Research twenty-four adult male Wistar rats (Age: 8 weeks & Weight: 279.29 $\pm$ 26.97 g) were divided to 4 groups: A: control (without exposure PM10 and aerobic exercise; n=6), B: aerobic Exercise (five times per week for 4 weeks; n=6), C: exposure to PM10 carbon black (5 mg/m³; per rat; n=6), D: and aerobic Exercise Concomitantly with Exposure to PM10 carbon black (n=6). The gene Expression of TLR4 and IL-1 β were Analyzed in heart tissue by Real-Time PCR. In order to determine the significant Differences between groups, two-way ANOVA and LSD post hoc were used. It was found that aerobic Exercise inhibited the PM10 -induced increase in the gene expression of IL-1 β . But compared with control group, gene Expression of IL-1 β Significantly increased only in C group (P=0.046). We Conclude that four-week Exposure to PM10 carbon black Significantly increase IL-1 β in Heart tissue and this situation did not worsen by Aerobic Exercise. Our Results indicate a need for human studies that evaluate the heart responses to aerobic Exercise Chronically performed in Polluted areas.

Keywords: Aerobic Exercise, PM10, Inflammation, Heart Tissue

*Corresponding Author

E-mail: halinejad@modares.ac.ir