

## The effect of aerobic exercise after exposure to black carbon particulate matter 2.5 on expression of NF- $\kappa$ B and TNF- $\alpha$ genes in the lung tissue of male rats

Fashi M<sup>1\*</sup>, Agha Alinejad H<sup>2</sup>, Eskandari A<sup>3</sup>

1- Department of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education and Health Science, Shahid Beheshti University, Tehran, I. R. Iran.

2- Department of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education and Sport Science, Tarbiat Modares University, Tehran, I. R. Iran.

3- PhD Student of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education and Sport Science, Tehran University, Tehran, I. R. Iran.

Received: 2017/11/29 | Accepted: 2018/02/26

### Abstract:

**Background:** The aim of the present study was to investigate the effect of aerobic exercise after exposure to black carbon particulate matter 2.5 (PM 2.5) on expression of NF- $\kappa$ B, and TNF- $\alpha$  genes in the lung tissue of male rats.

**Materials and Methods:** Twenty-four male Wistar rats (mean weight, 279.29 $\pm$ 26.97 g) were randomly divided into four equal groups: 1) control (without any intervention), 2) without aerobic exercise and with exposure to PM2.5 black carbon, 3) aerobic exercise without exposure to black carbon, and 4) aerobic exercise after exposure to PM2.5 black carbon. The aerobic exercise protocol was performed at 50% the maximal speed of each group for 4 weeks 15 minutes after exposure to black carbon particles in the chamber. Animals were sacrificed 24 hours after the last training session and exposure to black carbon particles. The expression of NF- $\kappa$ B and TNF- $\alpha$  genes were analyzed in the lung tissue of rats by the real-time PCR.

**Results:** A significant difference was found in the NF- $\kappa$ B expression between the group 1 and other groups and also there was a significant difference in the TNF- $\alpha$  expression between the group 2 and group 3 after exposure to black carbon in the lung tissue of male rats.

**Conclusion:** The findings show that aerobic exercise after exposure to the black carbon particles (PM2.5) is associated with adjustment in lung inflammatory factors. It seems that these changes in part are associated with a lower risk of inflammatory pulmonary disease.

**Keywords:** Inflammation, Black carbon, Aerobic exercise, NF- $\kappa$ B, TNF- $\alpha$

\* Corresponding Author.

Email: m\_fashi@sbu.ac.ir

Tel: 0098 912 863 4907

Fax: 0098 21 226 31963

Conflict of Interests: *No*

*Feyz, Journal of Kashan University of Medical Sciences, June, 2018; Vol. 22, No 2, Pages 134-142*

Please cite this article as: Fashi M, Agha Alinejad H, Eskandari A. The effect of aerobic exercise after exposure to black carbon particulate matter 2.5 on expression of NF- $\kappa$ B and TNF- $\alpha$  genes in the lung tissue of male rats. *Feyz* 2018; 22(2): 134-42.

## تاثیر تمرین هوازی پس از قرارگیری در معرض هوای آلوده به ذرات کربن سیاه کمتر از ۲/۵ میکرون بر بیان ژن‌های NF-κB و TNF-α در بافت ریه موش‌های صحرایی نر

محمد فشی<sup>۱\*</sup>، حمید آقاعلی‌نژاد<sup>۲</sup>، آرزو اسکندری<sup>۳</sup>

### خلاصه:

**سابقه و هدف:** هدف از پژوهش حاضر بررسی تاثیر تمرین هوازی پس از قرارگیری در معرض هوای آلوده به ذرات کربن سیاه کمتر از ۲/۵ میکرون بر بیان ژن‌های NF-κB و TNF-α در بافت ریه موش‌های صحرایی نر بود.

**مواد و روش‌ها:** برای انجام مطالعه پژوهشی حاضر ۲۴ سر موش صحرایی نر و بیستار با میانگین وزن ۲۶/۹۷±۲۹/۲۷۹ گرم به‌طور تصادفی به چهار گروه تقسیم شدند: (۱) کنترل (بدون مداخله)؛ (۲) بدون تمرین و با قرار گرفتن در معرض ذرات کربن سیاه؛ (۳) تمرین هوازی و بدون قرار گرفتن در معرض ذرات کربن سیاه؛ و (۴) تمرین هوازی پس از قرار گرفتن در معرض ذرات کربن سیاه. پانزده دقیقه پس از قرارگیری در معرض ذرات کربن سیاه در اتاقک، تمرین هوازی با ۵۰ درصد بیشینه سرعت هر گروه به مدت ۴ هفته انجام شد و ۲۴ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی و قرارگیری در معرض ذرات کربن سیاه حیوانات تشریح شدند. با استفاده از تکنیک Real time-PCR بیان ژن‌های NF-κB و TNF-α در بافت ریه موش‌ها مورد ارزیابی قرار گرفت.

**نتایج:** تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های ۱ با بقیه گروه‌ها برای بیان NF-κB مشاهده گردید. همچنین تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های ۲ و ۳ برای بیان TNF-α در بافت ریه موش‌های در معرض ذرات کربن سیاه مشاهده شد.

**نتیجه‌گیری:** تمرینات هوازی پس از قرارگیری در معرض ذرات کربن سیاه کمتر از ۲/۵ میکرون با تعدیل عوامل التهابی ریه همراه می‌شود. به نظر می‌رسد این تغییرات در بخشی با کاهش خطر ابتلا به بیماری‌های ریوی ناشی از التهاب همراه باشد.

**واژگان کلیدی:** التهاب، کربن سیاه، تمرین هوازی، عامل رونویسی از هسته کاپا، عامل نکروزدهنده تومور آلفا

دو ماه‌نامه علمی-پژوهشی فیض، دوره بیست و دوم، شماره ۲، خرداد و تیر ۹۷، صفحات ۱۴۲-۱۳۴

### مقدمه

از بین مواد آلاینده، ذرات معلق توجه ویژه‌ای را به خود جلب کرده است. در سال ۲۰۱۳ گزارش شد که قرارگیری در معرض ذرات کمتر از ۲/۵ میکرون باعث مرگ ۲/۹ میلیون در سال می‌شود [۱]. اجزاء شیمیایی ذرات معلق (مانند عناصر کربن) ارتباط بالایی با خطر سلامتی افراد در معرض دارند [۲]. بر اساس مطالعات اپیدمیولوژیکی، ذرات معلق در تشدید بیماری‌های قلبی-ریوی [۳]، کاهش مقاومت سیستم ایمنی بدن [۴]، آسم [۵]، مرگ-ومیر [۶] و سرطان [۷] نقش عمده‌ای دارد. به نظر می‌رسد یکی از عوامل اصلی در این رابطه، التهاب باشد که به‌وسیله سایتوکاین‌های التهابی میانجی‌گری می‌شود.

نشان داده شده است قرار گرفتن افراد سالم در معرض آلودگی هوا باعث توسعه التهاب از طریق افزایش سلول‌های التهابی و تغییر در بیان سایتوکاین‌هایی مانند TNF-α می‌شود [۸]. از طرف دیگر، بیان سایتوکاین‌های ضدالتهابی در هوای آلوده کاهش می‌یابد که خود زمینه‌ساز ابتلا به بسیاری بیماری‌ها است [۹]. Inoue و همکاران نشان داده‌اند که پس از قرار گرفتن ریه در معرض نانوذرات کربن سیاه باعث افزایش ملکول‌های موضعی التهاب می‌شود [۱۰]. آلودگی هوا به‌وسیله عوامل تنظیم‌کننده بر بیان سایتوکاین‌های پیش‌التهابی مانند TNF-α و IL-6 تأثیر می‌گذارد و بیان آن‌ها را افزایش می‌دهد. عامل رونویسی NF-κB (Nuclear factor-κB) مهم‌ترین تنظیم‌کننده سایتوکاین‌های پیش‌التهابی در سلول‌های اپی‌تلیال مسیرهای هوایی به شمار می‌رود [۱۱]. اتصال TNF به برخی اعضای گیرنده‌اش مثل TNF-R1، TNF-R2 و CD40 باعث فراخوانی پروتئین‌هایی به‌نام TRAF (TNF receptor associated factors) می‌شود که NF-κB را فعال می‌کند و باعث تولید سایتوکاین‌های پیش‌التهابی می‌شود [۱۲]. Robert و همکاران نشان داده‌اند که ذرات آلودگی هوا (PM10) اتصال NF-κB به پیش‌برنده IL-8 در سلول‌های اپی‌تلیال مسیرهای هوایی را القا کرده و باعث پیش‌برد التهاب می‌گردد [۱۳]. یکی از اجزاء ذرات معلق که اهمیت زیادی دارد،

<sup>۱</sup> استادیار، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه شهید بهشتی تهران، تهران، ایران

<sup>۲</sup> دانشیار، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه تربیت مدرس تهران، تهران، ایران

<sup>۳</sup> دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

### \* نشانی نویسنده مسئول:

تهران، دانشگاه شهید بهشتی، دانشکده تربیت بدنی

تلفن: ۰۹۱۲۸۶۳۴۹۰۷ | دورنویس: ۰۲۱ ۲۳۶۳۱۹۶۳

پست الکترونیک: M\_fashi@sbu.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۹/۸ | تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۶/۱۲/۷

## مواد و روش‌ها

### حیوانات و شرایط نگهداری

برای انجام این مطالعه تجربی ۲۴ سر موش صحرانی نر نژاد ویستار ۱۰ هفته‌ای از موسسه پاستور خریداری شدند. حیوانات در گروه‌های سه‌تایی در قفس‌های مخصوص در دمای اتاق ( $22 \pm 3/6$  درجه سانتیگراد) و طبق چرخه ۱۲ ساعت خواب و بیداری و با دسترسی آزاد به آب و غذا نگهداری شدند. تمام آزمایش‌های صورت گرفته 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 به صورت تصادفی به چهار گروه زیر تقسیم شدند: ۱- بدون تمرین و بدون قرار گرفتن در معرض هوای آلوده به ذرات کربن سیاه؛ ۲- بدون تمرین و با قرار گرفتن در معرض هوای آلوده به ذرات کربن سیاه؛ ۳- تمرین (تمرین هوایی و بدون قرار گرفتن در معرض هوای آلوده به ذرات کربن سیاه)؛ ۴- تمرین هوایی همراه با قرار گرفتن در معرض هوای آلوده به ذرات کربن سیاه.

### پروتکل قرارگیری در معرض ذرات

به منظور اجرای پروتکل تزریق ذرات از دستگاه و اتاقک (فالونک) استفاده گردید. 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 ۲ میلی‌گرم در متر مکعب، دمای ۲۲ درجه سانتیگراد و رطوبت ۲۹ درصد شبیه‌سازی می‌شد. موش‌های گروه‌های ۱ و ۲ به مدت ۲ ساعت در روز، ۵ روز در هفته و به مدت ۴ هفته در معرض هوای آلوده به ذرات کربن سیاه قرار گرفتند. ذره آلاینده به کار رفته در این تحقیق کربن سیاه (N660) با قطر کمتر از ۲/۵ میکرون بود که از شرکت دوده کربن ایران تهیه شد. شکل و قطر ذرات به ترتیب با روش تصویربرداری با میکروسکوپ نوری و داست‌کاتر بررسی و تایید شد.

### پروتکل تمرینی

ابتدا در مرحله 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 بیشینه حیوانات آزمونی فزاینده به قرار زیر انجام شد: آزمون با سرعت ۶ متر بر دقیقه شروع شده 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

کربن سیاه است. کربن سیاه ناشی از احتراق ناقص هیدروکربن-های 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 داده‌اند که بین قرارگیری در معرض ذرات کربن سیاه و التهاب و خطر بروز برخی بیماری‌ها رابطه وجود دارد [۱۴]. در همین راستا، نشان داده‌اند که قرار دادن موش در معرض کربن سیاه (۰/۱۶۲ میلی‌گرم) منجر به التهاب ریه و مایع پوشاننده ریه و نیز کبد می‌شود [۱۵]. انجام تمرینات ورزشی در هوای آلوده با چالش‌هایی روبه‌رو است و پژوهش‌های اندکی به آن پرداخته‌اند. تمرینات هوایی منظم فواید سلامتی بسیاری را در پی دارد که از آن جمله می‌توان بهبود آمادگی قلبی-عروقی [۱۶]، بهبود کیفیت زندگی [۱۷]، کاهش چاقی [۱۸] و فشار خون [۱۹] و افزایش طول عمر [۲۰] را نام برد. انجام تمرینات هوایی به صورت منظم و مداوم استرس اکسایشی را به صورت سیستماتیک [۲۱، ۲۲] در بیماری‌های مختلف و در سلول‌های اپی-تلیال مسیرهای هوایی حیوانات دارای آلرژی و التهاب ریه کاهش می‌دهد [۲۳]. علاوه بر آن، تمرینات منظم تأثیرات ضدالتهابی را در انواع مختلف بیماری‌های ریوی مانند آسم [۲۳] و بیماری‌های انسداد ریوی [۲۴] به همراه دارد. مطالعاتی که تأثیر قرارگیری در معرض آلودگی هوا به هنگام تمرینات ورزشی را مورد بررسی قرار داده‌اند، 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 [۱۴-۱۰]. تهویه دقیقه‌ای در حالت استراحت حدود ۶ لیتر بوده و این در حالی است که در فعالیت متوسط میزان آن ۱۲ و در فعالیت شدید تا ۲۷ برابر افزایش می‌یابد [۲۵]. از طرف دیگر، سطح تماس بین ذرات آلودگی هوا و مسیرهای تنفسی وسیع بوده و این می‌تواند مسیرهای تنفسی و ریه‌ها را بیش‌تر آسیب‌پذیر کند. تمرینات ورزشی می‌تواند به وسیله افزایش دوز تحویل آلاینده‌ها به ریه در نتیجه افزایش تهویه ناشی از تقاضای متابولیک، تأثیرات معکوس و مضری را ایجاد کند [۲۶]. با این وجود، این مطالعات سازوکارهای اثر ضدالتهابی تمرینات هوایی که می‌تواند تأثیرات مضر ناشی از آلودگی هوا را تعدیل کند مورد بررسی قرار نداده و یا تعداد این مطالعات اندک است. بنابراین این سؤال پیش می‌آید که آیا انجام ۴ هفته تمرینات هوایی پس از قرارگیری در معرض هوای آلوده به ذرات کربن سیاه با قطر کمتر از ۲/۵ میکرون می‌تواند بیان ژن‌های NF- $\kappa$ B و TNF- $\alpha$  را در ریه موش‌ها تعدیل کند؟

به مدت ۱۰ دقیقه در دمای اتاق رها شده و سپس در ۴ درجه سانتی گراد با ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شد. پلت حاوی RNA در اتانول شستشو شده و در ۲۰ میکرولیتر آب RNase-Free حل گردید. غلظت RNA مورد سنجش واقع شد (Eppendorff, Germany) و نسبت ۲۶۰ به ۲۸۰ بین ۱/۸ تا ۲ به عنوان تخلیص مطلوب تعریف گردید. سنتز cDNA با استفاده از ۱ میکروگرم از RNA و با استفاده از Random hexamer primer و آنزیم Reverse transcriptase انجام گرفت.

#### Real time-PCR

پس از استخراج RNA و سنتز cDNA جهت اندازه گیری سطوح بیان از روش کمی Real time-PCR با استفاده از Applied biosystems, USA) Primix syber green II انجام شد. مخلوط واکنش در حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر و هر واکنش به صورت دوبار تکرار صورت پذیرفت. طراحی پرایمرها بر اساس اطلاعات ژنهای NF- $\kappa$ B, TNF- $\alpha$  و GAPDH در بانک ژنی NCBI و توسط Macrogen Inc, Seoul, Korea انجام شد. توالی پرایمرهای مورد استفاده در جدول شماره ۱ گزارش شده است. برنامه دمایی مورد استفاده در Real time-PCR شامل: ۹۵ درجه سانتی گراد به مدت ۱۰ دقیقه، ۹۵ درجه سانتی گراد به مدت ۱۵ ثانیه، و ۶۰ درجه سانتی گراد به مدت ۱ دقیقه (۴۰ سیکل) بود. میزان بیان ژنهای مورد نظر نیز با روش معادله پافل اندازه گیری شد.

میانگین بار کار بیشینه هر گروه برای تعیین شدت تمرین گروه استفاده شد. برنامه تمرین اصلی با گرم کردن ۱۰ دقیقه ای با سرعت ۶ متر بر دقیقه شروع شده و سپس تمرین اصلی با ویژگی های 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.

#### آماده سازی بافت

موش های صحرایی ۲۴ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین قرار گیری در معرض ذرات آلودگی با ترکیبی از کتامین (۳۰ تا ۵۰ میلی گرم در کیلوگرم به صورت زیر صفاقی) و زایلازین (۳-۵ میلی گرم در کیلوگرم) بیهوش شدند. بافت ریه بلافاصله جدا گردید و در مایع نیتروژن منجمد گردید. نمونه های بافتی تا زمان اندازه گیری در فریزر ۸۰- درجه سانتی گراد نگهداری شدند.

#### استخراج RNA و سنتز cDNA

حدود ۵۰ میلی گرم بافت ریه به صورت جداگانه، جهت استخراج total RNA به نسبت ۱ به ۱۰ در QIAzol Lysis Reagent هموزن گردید. به منظور برداشتن اجزاء پروتئینی، محصول حاصل در ۴ درجه سانتی گراد با ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شد. سپس، به نسبت ۱ به ۰/۵ با کلروفرم مخلوط شده و به مدت ۱۵ ثانیه به شدت تکان داده شد. محصول در ۴ درجه سانتی گراد با ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ شده و بخش معدنی و آبی از هم جدا شدند. بخش محتوی RNA با نسبت ۱ به ۰/۵ با ایزوپروپانول مخلوط گردید و

جدول شماره ۱- توالی پرایمرهای مورد استفاده در مطالعه حاضر

Gene	Primer sequence
NF- $\kappa$ B	Upstream: 5-AGCCCTATGCCTTTTCMCAT-3
	Downstream: 5-CACTCCTGGGTCTGTGTTGTT-3
TNF- $\alpha$	FOR: 5'- GACCCCTCACACTCAGATCATCTTC -3'
	REV: 5'- TGCTACGACGTGGGCTACG -3'
GAPDH	FOR: 5'- GACATGCCGCCTGGAGAAAC -3'
	REV: 5'- AGCCAGGATGCCCTTAGT -3'

$P \leq 0/05$  در نظر گرفته شد. کلیه بررسی های آماری با استفاده از نرم افزار SPSS و پرایش ۲۰ انجام گرفت.

#### نتایج

تمام حیوانات در گروه های تمرینی و آلودگی توانستند ۴ هفته تمرین هوازی و قرارگیری در معرض ذرات کربن سیاه کمتر از ۱۰ میکرون را به طور مداوم انجام داده و به اتمام برسانند.

#### تجزیه و تحلیل آماری

تمامی داده ها به صورت میانگین  $\pm$  انحراف استاندارد توصیف شده اند. از آزمون  $t$  زوجی برای بررسی وجود تفاوت معنی دار پیش و پس از مداخله وزن بدن موش ها استفاده گردید. جهت تعیین نرمال بودن توزیع داده ها از آزمون شاپیرو-ویلک استفاده شد. برای تعیین معنی دار بودن تفاوت بین گروه ها از تحلیل واریانس (ANOVA) یک طرفه و آزمون تعقیبی LSD استفاده شد. سطح معنی داری نیز

اختلاف معنی‌داری در وزن بدن حیوانات گروه‌های کنترل و آلودگی بین پیش و پس از مداخله مشاهده شد (جدول شماره ۲).

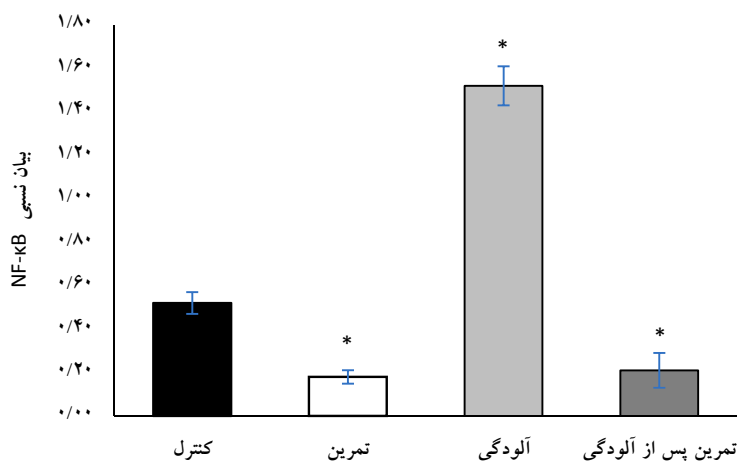
جدول شماره ۲- توده بدن حیوانات گروه‌های تحقیق پیش و پس از مداخله بر حسب گرم

گروه	فرایند	پیش از مداخله (گرم)	پس از مداخله (گرم)	تفاوت بین دو مداخله (گرم)	سطح معنی‌داری $P \leq 0.05$
کنترل		۲۸۵/۸۳±۲۵/۵۵	۳۲۴/۳۳±۲۷/۱۲	۳۸/۵۰	* ۰/۰۴۵
آلودگی		۲۷۰/۵۰±۲۷/۱۲	۳۱۱/۱۷±۳۶/۶۶	۴۰/۶۷	* ۰/۰۲۳
تمرین		۲۷۹/۱۷±۳۲/۵	۳۰۴/۳۳±۴۳/۳۱	۲۵/۱۶	۰/۰۹۰
آلودگی+تمرین		۲۸۱/۶۷±۲۲/۷۳	۳۱۵/۶۷±۲۳/۲۳	۳۴/۰۰	۰/۱۰۱

\* تفاوت معنی‌دار در سطح  $P \leq 0.05$

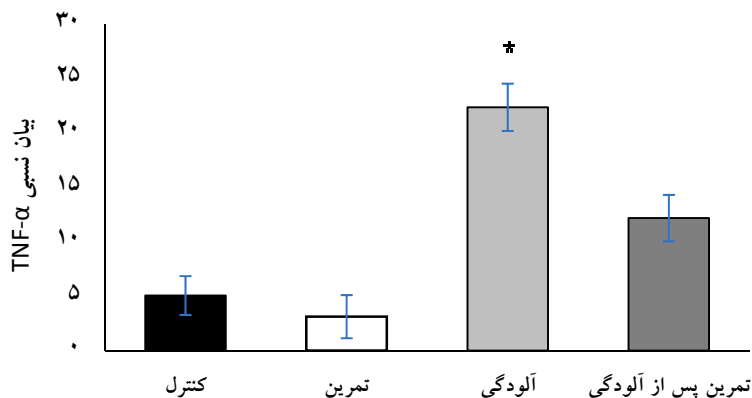
مقدار  $\text{TNF-}\alpha$  ( $P=0.023$ ) نشان داد. در مورد سایر گروه‌های مورد بررسی در مقدار  $\text{TNF-}\alpha$  تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد؛ با این وجود، بیان  $\text{NF-}\kappa\text{B}$  و  $\text{TNF-}\alpha$  در گروه آلودگی+تمرین کمتر از گروه آلودگی و بیشتر از گروه‌های تمرین و کنترل بود (نمودارهای شماره ۱ و ۲).

با توجه به طبیعی بودن توزیع داده‌های  $\text{NF-}\kappa\text{B}$  ( $P=0.246$ ) و  $\text{TNF-}\alpha$  ( $P=0.387$ )، از آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه همراه با تست تعقیبی LSD استفاده گردید. نتایج آنالیز تفاوت معنی‌داری را بین بین گروه‌های کنترل - تمرین ( $P=0.029$ )، کنترل - ریزذرات آلاینده ( $P=0.017$ ) و کنترل - تمرین پس از آلودگی ( $P=0.032$ ) برای  $\text{NF-}\kappa\text{B}$  و گروه کنترل - ریز ذرات آلاینده در



نمودار شماره ۱- میانگین بیان نسبی  $\text{NF-}\kappa\text{B}$  در گروه‌های مطالعه. بیان نسبی  $\text{NF-}\kappa\text{B}$  در گروه قرارگیری در معرض ریزذرات کربن سیاه بالاترین مقدار را نشان داد.

تاثیر مثبت تمرین هوازی پس از قرارگیری در معرض ریزذرات کربن سیاه در گروه تمرین پس از آلودگی ریزذرات قابل مشاهده است. \* نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل می‌باشد ( $P \leq 0.05$ ).



نمودار شماره ۲- میانگین بیان نسبی TNF-α در گروه‌های مطالعه. بیان نسبی TNF-α در گروه قرارگیری در معرض ریزذرات کربن سیاه بالاترین مقدار را نشان داد.

تأثیر مثبت تمرین هوازی پس از قرارگیری در معرض ریزذرات کربن سیاه در گروه تمرین پس از آلودگی قابل مشاهده است. \* نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل می‌باشد ( $P \leq 0/05$ ).

#### بحث

های در گردش می‌شود [۳۱]. برخی مطالعات پیشنهاد کرده‌اند که افزایش تعداد تنفس و حجم جاری حین ورزش شدید منجر به افزایش نفوذ ذرات آلاینده و افت عملکرد ریه می‌شود [۲۵]. از طرف دیگر، نقش فعالیت‌های ورزشی به‌عنوان عاملی ضدالتهابی در برخی مطالعات گزارش شده است [۳۲]. به‌نظر می‌رسد تمرینات ورزشی می‌تواند به‌عنوان یک عامل ضدالتهابی در تعدیل عوامل التهابی ناشی از ریزذرات آلاینده هوا نقش داشته باشد. نشان داده شده است که قرارگیری در معرض کربن سیاه اثرات مفید فعالیت بدنی بر عملکرد ریه را کاهش می‌دهد [۳۳]. Lovinsky (۲۰۱۶) نیز نشان داد قرارگیری در معرض کربن سیاه اثرات سودمند فعالیت بدنی در کودکان را کاهش می‌دهد [۳۴]. در یک مطالعه دیگر ورزش دوچرخه‌سواری هم‌زمان با قرارگیری در معرض کربن سیاه ناشی از سوخت‌های فسیلی انجام می‌شد [۳۵]. در حالی که در مطالعه حاضر تمرین هوازی ۱۵ دقیقه پس از قرارگیری حیوانات در معرض کربن سیاه و در محیط بدون ریزذرات آلاینده انجام می‌شد. از سوی دیگر، در مطالعه مذکور زنان نیز شرکت داشتند که به ذرات آلودگی هوا حساس‌تر می‌باشند. علاوه بر این، نمونه تحقیق حاضر را موش‌های صحرایی نر تشکیل می‌دادند که با ویژگی آزمودنی‌های انسان دارای تفاوت است. برخی تحقیقات انجام فعالیت ورزشی در محیط‌های سر بسته و محدود را پس از قرارگیری در معرض ریزذرات آلاینده مورد بررسی قرار داده‌اند [۳۴] و این در حالی است که بین غلظت ریزذرات در محیط بیرون و محیط‌های داخلی اختلاف چندانی وجود ندارد و بنابراین فعالیت ورزشی نیز در هوای آلوده به ریزذرات انجام شده است. در تحقیق حاضر انجام فعالیت هوازی در هوای پاک آزمایشگاهی انجام می-

در پژوهش حاضر اثر ۴ هفته تمرین هوازی در هوای آلوده به ذرات کربن سیاه بر بیان ژن‌های NF-κB و TNF-α در بافت ریه موش‌های صحرایی نر مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که ۴ هفته تمرین هوازی منجر به کاهش و تعدیل عوامل التهابی TNF-α و NF-κB پس از قرارگیری در معرض هوای آلوده به ذرات کربن سیاه با قطر ۲/۵ میکرون می‌شود. چندین مطالعه روی حیوانات و انسان‌ها گزارش کرده‌اند که قرارگیری در معرض ریزذرات با افزایش خطر ابتلا به بیماری‌های مجاری تنفسی همراه می‌شود [۲۷، ۲۸]. در این زمینه به‌نظر می‌رسد القای میانجی-های پیش‌التهابی به‌وسیله ماکروفاژهای حبابچه‌های در معرض ذرات آلودگی هوا، عاملی کلیدی در آسیب‌شناختی بیماری‌های التهابی و آلرژیک در ریه‌ها به‌شمار می‌رود. Ma و همکاران (۲۰۱۷) نشان داده‌اند قرارگیری در معرض ذرات آلاینده هوای کمتر از ۲/۵ میکرون التهاب ناشی از ماکروفاژها را به‌وسیله افزایش ترشح سایتوکاین‌های Th1/Th17 در بافت ریه القا می‌کند [۲۹]. در مطالعه Vieira و همکاران (۲۰۱۲) تزریق درون‌نای آلاینده دیزل با افزایش سایتوکاین‌های پیش‌التهابی IL-1β، IL-6، KC، و TNF-α در سرم و مایع پوشاننده ریه موش‌ها همراه شد [۳۰]. در مطالعه حاضر نیز قرارگیری در معرض ذرات کربن سیاه با قطر کمتر از ۲/۵ میکرون با افزایش معنی‌دار بیان NF-κB و TNF-α همراه بود که نشان‌دهنده القای التهاب در بافت ریه ناشی از ریزذرات می‌باشد. مطالعات کمی تأثیر ریزذرات آلاینده را روی پاسخ‌های ایمنی به ورزش مورد بررسی قرار داده‌اند. این مطالعات پیشنهاد کرده‌اند ورزش در هوای آلوده منجر به افزایش لکوسیت-

استفاده شد که برای تمرین موش‌های صحرایی ویژه به‌نظر می‌رسد. با این وجود، در تحقیق حاضر تنها بیان ژن عوامل التهابی مورد بررسی قرار گرفت که نشان‌دهنده میزان سنتز پروتئین محصول نمی‌باشد. به‌نظر می‌رسد ارزیابی‌های آزمایشگاهی دقیق‌تر و سنجش پروتئین‌های التهابی در تحقیقاتی آتی می‌تواند بر اطلاعات موجود در زمینه مطالعه حاضر بیفزاید. در تحقیق حاضر ذرات کربن سیاه مورد استفاده قرار گرفت که با قرار گیری واقعی در معرض هوای آلوده شهری با ترکیبی از آلاینده‌های مختلف دارای تفاوت است. با وجود اهمیت یافته‌های تحقیق حاضر، به نظر می‌رسد پژوهش‌های بیشتری برای آشکار شدن ساز و کارهای دقیق موضوع حاضر و سپس تعمیم به جوامع انسانی مورد نیاز است.

#### نتیجه‌گیری

این یافته‌ها نشان می‌دهد که ۴ هفته تمرین هوازی پس از قرارگیری در معرض هوای آلوده به ذرات کربن سیاه وضعیت التهابی بافت ریه را وخیم‌تر نمی‌کند و حتی تا حدودی منجر به تعدیل عوامل التهابی NF- $\kappa$ B و TNF- $\alpha$  و وزن بدن می‌شود. به نظر می‌رسد این تغییرات در عوامل التهابی بافت ریه با کاهش خطر احتمال ابتلا به بیماری‌های تنفسی می‌تواند همراه باشد.

#### تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله حاضر بر خود لازم می‌دانند تا مراتب سپاس خود را از زحمات گروه تحقیق به‌ویژه آقای دکتر عباس مفیدی برای کمک در ساخت تجهیزات مورد نیاز به‌عمل آورند. طرح حاضر بدون حمایت مالی و به‌وسیله هزینه‌های شخصی نویسندگان صورت گرفته است.

#### References:

- [1] Forouzanfar MH, Afshin A, Alexander LT, Anderson HR, Bhutta ZA, Biryukov S, et al. Global, regional, and national comparative risk assessment of 79 behavioural, environmental and occupational, and metabolic risks or clusters of risks, 1990-2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015. *Lancet* 2016; 388(10053): 1659-1724.
- [2] Norris C, Goldberg MS, Marshall JD, Valois M-F, Pradeep T, Narayanswamy M, et al. A panel study of the acute effects of personal exposure to household air pollution on ambulatory blood pressure in rural Indian women. *Environ Res* 2016; 147: 331-42.
- [3] Pope CA, Turner MC, Burnett R, Jerrett M,

شد که اثرگذاری تمرین هوازی را به‌صورت واضح‌تری نشان داد. در مطالعه Normando و همکاران (۲۰۱۳) تمرینات ورزشی منظم پاسخ‌های التهابی ریه به استنشاق ذرات آلومینیوم را در موش‌ها کاهش داد [۳۶] که موافق با نتایج مطالعه حاضر است. بر اساس نتایج مطالعه Fashi و همکاران (۲۰۱۵) می‌توان گفت ورزش عوامل التهابی بافت ریه را تعدیل می‌کند [۳۷] که نشان‌دهنده تاثیرات ضدالتهابی ورزش است. به‌نظر می‌رسد نتایج تحقیق حاضر را باید در بخش مهمی به اثر ضدالتهابی تمرینات ورزشی نسبت داد. تحقیق حاضر همچنین افزایش معنی‌دار توده بدن را در موش‌های در معرض ذرات کربن سیاه نشان داد که هم‌سو با نتایج مطالعات ذیل است: Xu و همکاران بالا بودن ذرات آلاینده را عامل خطر برای توسعه مقاومت انسولین، چاقی و التهاب گزارش می‌دانند [۳۸]. Jerrett و همکاران نیز آلودگی هوای ناشی از ترافیک را عاملی برای توسعه چاقی در کودکان گزارش کرده‌اند [۳۹]. بین افزایش وزن و چاقی و افزایش عوامل التهابی ارتباط وجود دارد و این در حالی است که کاهش توده بدن می‌تواند حتی مستقل از ورزش منجر به کاهش نشان‌گرهای التهابی شود [۳۲]. پاره‌ای از مطالعات نیز اثر اصلی ورزش بر کاهش عوامل التهابی و القای فاکتورهای ضدالتهابی را به کاهش توده بدن ناشی از ورزش نسبت داده‌اند [۴۰، ۴۱]. بنابراین، به نظر می‌رسد افزایش بیان NF- $\kappa$ B و TNF- $\alpha$  در گروه آلودگی را می‌توان تا حدی به افزایش توده بدن حیوانات ناشی از ذرات کربن سیاه نسبت داد و این در حالی است که این افزایش توده بدن در گروه آلودگی + تمرین کمتر بود. در تحقیق حاضر تزریق ذرات با اندازه کمتر از ۲/۵ میکرون برای اولین بار و به‌وسیله دستگاه‌های ساخته شده توسط محقق انجام گرفت که در جای خود بسیار دارای اهمیت است. علاوه بر این، از تردمیل چرخ گردان با قابلیت تنظیم سرعت

Gapstur SM, Diver WR, et al. Relationships between fine particulate air pollution, cardiometabolic disorders and cardiovascular mortality. *Circ Res* 2015; 116(1): 108-15.

[4] Leonardi G, Houthuijs D, Steerenberg P, Fletcher T, Armstrong B, Antova T, et al. Immune biomarkers in relation to exposure to particulate matter: a cross-sectional survey in 17 cities of Central Europe. *Inhalation Toxicol* 2000; 12(suppl 4): 1-14.

[5] Baldacci S, Maio S, Cerrai S, Sarno G, Baiz N, Simoni M, et al. Allergy and asthma: Effects of the exposure to particulate matter and biological allergens. *Respir Med* 2015; 109(9): 10, 89-104.

- [6] Weichenthal S, Villeneuve PJ, Burnett RT, van Donkelaar A, Martin RV, Jones RR, et al. Long-term exposure to fine particulate matter: association with nonaccidental and cardiovascular mortality in the agricultural health study cohort. *Environ Health Perspect* 2014; 122(6): 609.
- [7] Gharibvand L, Shavlik D, Ghamsary M, Beeson WL, Soret S, Knutsen R, et al. The association between ambient fine particulate air pollution and lung cancer incidence: results from the AHSMOG-2 study. *Environ Health Perspect* 2017; 125(3): 378.
- [8] Fashi M, Alinejad HA, Mahabadi HA. The Effect of Aerobic Exercise in Ambient Particulate Matter on Lung Tissue Inflammation and Lung Cancer. *Iran J Cancer Prevention* 2015; 8(3).
- [9] van EEDEN SF, Tan WC, Suwa T, Mukae H, Terashima T, Fujii T, et al. Cytokines involved in the systemic inflammatory response induced by exposure to particulate matter air pollutants (PM10). *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 164(5): 826-30.
- [10] Inoue Ki, Yanagisawa R, Koike E, Nakamura R, Ichinose T, Tasaka S, et al. Effects of Carbon Black Nanoparticles on Elastase-Induced Emphysematous Lung Injury in Mice. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 2011; 108(4): 234-40.
- [11] Hunter CJ, De Plaen IG. Inflammatory signaling in NEC: role of NF- $\kappa$ B, cytokines and other inflammatory mediators. *Pathophysiology* 2014; 21(1): 55-65.
- [12] Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. Cellular and Molecular Immunology E-Book: Elsevier Health Sciences; 2014.
- [13] Silbajoris R, Osornio-Vargas AR, Simmons SO, Reed W, Bromberg PA, Dailey LA, et al. Ambient particulate matter induces interleukin-8 expression through an alternative NF- $\kappa$ B (nuclear factor-kappa B) mechanism in human airway epithelial cells. *Environ Health Perspect* 2011; 119: 1379.
- [14] Niwa Y, Hiura Y, Sawamura H, Iwai N. Inhalation exposure to carbon black induces inflammatory response in rats. *Circulation J* 2008; 72(1): 144-9.
- [15] Bourdon JA, Saber AT, Jacobsen NR, Jensen KA, Madsen AM, Lamson JS, et al. Carbon black nanoparticle instillation induces sustained inflammation and genotoxicity in mouse lung and liver. *Part Fibre Toxicol* 2012; 9(1): 5.
- [16] Catai A, Chacon-Mikahil M, Martinelli F, Forti V, Silva E, Golfetti R, et al. Effects of aerobic exercise training on heart rate variability during wakefulness and sleep and cardiorespiratory responses of young and middle-aged healthy men. *Braz J Med Biol Res* 2002; 35(6): 741-52.
- [17] Dixit S, Maiya A, Shastry B. Effect of aerobic exercise on quality of life in population with diabetic peripheral neuropathy in type 2 diabetes: a single blind, randomized controlled trial. *Quality Life Res* 2014; 23(5): 1629-40.
- [18] Cai M, Zou Z. Effect of aerobic exercise on blood lipid and glucose in obese or overweight adults: a meta-analysis of randomised controlled trials. *Obes Res Clin Pract* 2016; 10: 589-602.
- [19] Whelton SP, Chin A, Xin X, He J. Effect of aerobic exercise on blood pressure: meta-analysis of randomized, controlled trials. *Ann Intern Med* 2002; 136(7): 493-503.
- [20] Gremeaux V, Gayda M, Lepers R, Sosner P, Juneau M, Nigam A. Exercise and longevity. *Maturitas* 2012; 73(4): 312-7.
- [21] Medlow PW. The effects of aerobic exercise on oxidative stress and cardiovascular risk factors in aging and type II diabetes mellitus: University of Ulster; 2013.
- [22] Radak Z, Chung HY, Goto S. Systemic adaptation to oxidative challenge induced by regular exercise. *Free Radical Biol Med* 2008; 44(2): 153-9.
- [23] 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.
- [24] Franssen FM, Broekhuizen R, Janssen PP, Wouters EF, Schols AM. Effects of whole-body exercise training on body composition and functional capacity in normal-weight patients with COPD. *Chest J* 2004; 125(6): 2021-8.
- [25] Daigle CC, Chalupa DC, Gibb FR, Morrow PE, Oberdörster G, Utell MJ, et al. Ultrafine particle deposition in humans during rest and exercise. *Inhal Toxicol* 2003; 15(6): 539-52.
- [26] Bigazzi AY, Figliozzi MA. Review of urban bicyclists' intake and uptake of traffic-related air pollution. *Transport Reviews* 2014; 34(2): 221-45.
- [27] Kelly FJ, Fussell JC. Air pollution and airway disease. *Clin Exp Allergy* 2011; 41(8): 1059-71.
- [28] Rosenlund M, Forastiere F, Porta D, De Sario M, Badaloni C, Perucci CA. Traffic-related air pollution in relation to respiratory symptoms, allergic sensitisation and lung function in school children. *Thorax* 2009; 64(7): 573-80.
- [29] Ma QY, Huang DY, Zhang HJ, Wang S, Chen XF. Exposure to particulate matter 2.5 (PM<sub>2.5</sub>) induced macrophage-dependent inflammation, characterized by increased Th1/Th17 cytokine secretion and cytotoxicity. *Int Immunopharmacol* 2017; 50: 139-45.
- [30] Vieira RD, Toledo AC, Silva LB, Almeida FM, Damasceno-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.
- [31] 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. *Int J Prev Med* 2011; 2: 145.
- [32] Gleeson M, Bishop NC, Stensel DJ, Lindley MR, Mastana SS, Nimmo MA. The anti-inflammatory effects of exercise: mechanisms and implica-



tions for the prevention and treatment of disease. *Nature Reviews Immunol* 2011; 11(9): 607.

[33] Laeremans M, Dons E, Avila-Palencia I, Carrasco-Turigas G, Orjuela-Mendoza JP, Anaya-Boig T, et al. Black Carbon Reduces the Beneficial Effect of Physical Activity on Lung Function. *Med Sci Sports Exerc* 2018 Apr 9.

[34] Lovinsky-Desir S, Jung KH, Rundle AG, Hoepner LA, Bautista JB, Perera FP, et al. Physical activity, black carbon exposure and airway inflammation in an urban adolescent cohort. *Environ Res* 2016; 151: 756-62.

[35] Weichenthal S, Kulka R, Dubeau A, Martin C, Wang D, Dales R. Traffic-related air pollution and acute changes in heart rate variability and respiratory function in urban cyclists. *Environ Health Perspect* 2011; 119(10):1373.

[36] Normando VMF, Mazzoli-Rocha F, Moreira DKM, Barcellos BC, Picanço-Diniz DW, Zin WA. Regular exercise training attenuates pulmonary inflammatory responses to inhaled alumina refinery dust in mice. *Respir Physiol Neurobiol* 2013; 186 (1): 53-60.

[37] Fashi M, Agha-Alinejad H, Mahabadi HA, Rezaei B, Pakrad BB, Rezaei S. The Effects of Aerobic Exercise on NF- $\kappa$ B and TNF- $\alpha$  in Lung Tissue of Male Rat. *Novelty Biomedicine* 2015; 3(3): 131-4.

[38] 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. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2010; 30(12): 2518-27.

[39] Jerrett M, McConnell R, Wolch J, Chang R, Lam C, Dunton G, et al. Traffic-related air pollution and obesity formation in children: a longitudinal, multilevel analysis. *Environ Health* 2014; 13(1): 49.

[40] Pischon T, Hankinson SE, Hotamisligil GS, Rifai N, Rimm EB. Leisure-time physical activity and reduced plasma levels of obesity-related inflammatory markers. *Obesity* 2003; 11: 1055-64.

[41] 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: 804-9.