پژوهش‌های فیزیولوژی و مدیریت در ورزش
دورهٔ ۱۰، شمارهٔ ۱، بهار ۱۳۹۷
ص ص : ۳۳- ۲۳

# تأثیر تمرین هوازی پس از قرارگیری در معرض هوای آلوده به ذرات کربن سیاه بر بیان ژن TLR4 و TLR2 در بافت هیپوکمپ مغز موش‌های صحرایی

**بتول رضایی سراجی[۱]– حمید آقا علی‌نژاد*[۲] – معصومه ابتکار[۳] – رضا قراخانلو [۴]**

*۱. دکتری تربیت بدنی گرایش فیزیولوژی ورزش، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران ۲. دانشیار گروه تربیت بدنی فیزیولوژی ورزش، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران ۳. دانشیار گروه ایمونولوژی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران ۴. استاد گروه تربیت بدنی فیزیولوژی ورزش، دانشگاه تربیت مدرس، تهران ، ایران*

(تاریخ دریافت : ۱۵/ ۰۸ / ۱۳۹۵، تاریخ تصویب : ۲۳ / ۱۰ / ۱۳۹۵)

**چکیده**

**قرارگیری در هوای آلوده بر سیستم عصبی مرکزی تأثیرگذار است و به التهاب و تخریب عصبی منجر می‌شود. هدف از پژوهش حاضر بررسی تأثیر تمرین هوازی و هوای آلوده به ذرات کربن سیاه بر بیان mRNA ژن گیرندهٔ شبه تول ۲و ۴ (TLR4 و TLR2 ) در هیپوکمپ مغز موش‌ها بود. ۲۴ سر موش نر نژاد ویستار به‌طور تصادفی در چهار گروه الف) کنترل، ب) آلودگی، ج) تمرین و د) تمرین- آلودگی قرار گرفتند. موش‌های گروه‌های ب و د به مدت چهار هفته در معرض ذرات قرار گرفتند. پس از هر جلسه آلودگی، گروه دو ج به اجرای برنامهٔ تمرین هوازی با ۵۰ درصد سرعت بیشینهٔ خود (۶۰ دقیقه در هر جلسه) پرداختند. با استفاده از روش Real time-Pcr بیان mRNA ژن‌های TLR4وTLR2 در بافت هیپوکمپ مغز موش‌ها ارزیابی شد. برای تعیین معنادار بودن تأثیر تمرین و آلودگی از تحلیل واریانس دوطرفه استفاده شد. هوای آلوده به ذرات کربن سیاه به افزایش معناداری در بیان mRNA ژن‌های TLR4 (P=۰/۰۰۵) و TLR2(P=./۰۳۳) منجر شد. تمرین تأثیر معناداری بر بیان mRNA ژن TLR4(P=۰/۱۳۷) و TLR2 (P=۰/۱۱۳) نداشت و تمرین به‌دنبال قرارگیری در معرض هوای آلوده تأثیر معناداری بر بیان mRNA ژن‌های TLR4 (P=۰/۰۶۳) و TLR2(P=۰/۸۶۷) در بافت هیپوکمپ موش‌های صحرایی نر نداشت. همچنین، تمرین با کاهش معنادار تودهٔ بدن در گروه‌های در معرض ذرات کربن سیاه همراه شد. به‌نظر می‌رسد تمرین هوازی سبب تنظیم کاهشی TLR4 و TLR2 در هیپوکمپ مغز موش‌ها پس از قرارگیری در معرض هوای آلوده می‌شود و شاید بتواند آثار التهاب عصبی ناشی از آلودگی را تعدیل کند.**

**واژه‌های کلیدی**

**آلودگی هوا، تمرین هوازی، گیرندهٔ شبه تول ۲و ۴.**

*- نویسنده مسئول : تلفن: ۰۲۱-۸۸۶۹۱۱۳۵
Email : halinejad@modares.ac.ir

**مقدمه**

آلودگی هوا به روش‌های گوناگونی می‌تواند آثار زیانبار درازمدت و کوتاه‌مدت بر سلامت انسان بگذارد. آلاینده‌های موجود در هوا به‌طور مستقیم بر سلامت افراد تأثیر می‌گذارد. امروزه آلودگی هوا به‌عنوان یکی از مهم‌ترین عوامل اثرگذار بر سلامت عمومی جامعه و همچنین یکی از چالش‌های بزرگ اقتصادی در کلان‌شهرها و شهرهای صنعتی دنیا مطرح است (۱). آلودگی هوا از ترکیب چندین جزء تشکیل شده که شامل ریزذرات (PM[1]) محیط، گازها، ترکیبات ارگانیک و فلزات است. به‌نظر می‌رسد که در میان اجزای آلودگی هوا، ریزذرات (PM) بیشترین تهدید را برای سلامتی انسان دارد، زیرا این ذرات بسیار ریز موجود در هوای آلوده، می‌توانند به‌سرعت وارد دستگاه گردش خون شوند و به ارگان‌های مختلف از جمله ریه، قلب- عروق و مغز آسیب برسانند. این آلاینده‌های ریز حتی می‌توانند به‌طور مستقیم از طریق مخاط بویایی و مسیر پیاز بویایی به مغز دسترسی داشته باشند (۲). با اینکه طی مدت زمان زیادی مرگ‌ومیر ناشی از بیماری‌های تنفسی و قلبی – عروقی به‌عنوان نتیجهٔ اصلی قرارگیری در معرض هوای آلوده معرفی شده بود، تحقیقات صورت‌گرفته طی دههٔ اخیر نشان می‌دهد که سیستم عصبی مرکزی نیز می‌تواند نقطهٔ اصلی آسیب ناشی از آلودگی هوا قلمداد شود (۴، ۳، ۱). التهاب یکی از عوامل سببی در پاتولوژی بیماری‌های مزمن سیستم عصبی مرکزی (CNS[2]) است و آلودگی هوا می‌تواند از طریق انواعی از مسیرهای سلولی، مولکولی و التهابی بر سیستم عصبی اثرگذار باشد و سبب التهاب و آسیب ساختاری مغز شود یا به زمینه‌ای برای ایجاد بیماری‌های نورولوژیکی منجر شود. آسیب اکسیداتیو و التهاب نورونی، نقش تعیین‌کننده‌ای در بیماری‌های تخریب عصبی دارند (۶، ۵). بکر و همکاران (۲۰۰۲)، نشان دادند ذرات آلودگی هوا سبب تحریک TLR[3]2 و TLR4 شده و در ادامه با تولید سایتوکاین‌های پیش‌التهابی همراه می‌شود (۷). یکی از اجزای ذرات معلق که اهمیت بسیاری دارد، کربن سیاه است. کربن سیاه ناشی از احتراق ناقص هیدروکربن‌های مایع و گازی است و امروزه به‌دلیل استفاده در سوخت گازوئیل و موتورهای دیزلی، از آن به‌عنوان آلایندهٔ موتورهای دیزلی یاد می‌شود. براساس نتایج مطالعات بین قرارگیری در معرض ذرات کربن سیاه و التهاب و خطر برخی بیماری‌ها رابطه وجود دارد (۸). جکسون و همکاران (۲۰۱۲)، در تحقیقی بر روی موش‌های باردار نشان دادند که قرارگیری در معرض ذرات کربن سیاه با افزایش التهاب و آسیب DNA همراه می‌شود (۹). سوگلیا و همکاران (۲۰۰۸) طی تحقیقی رابطهٔ بین مواجهه با کربن سیاه را، که یک جایگزین برای ذرات ناشی از وسایل نقلیه است، و عملکرد شناختی کودکان بررسی کردند. این محققان پی بردند که بین مواجههٔ بیشتر با کربن سیاه و کاهش عملکرد شناختی رابطه وجود داد (۱۰). افزایش استفاده از کربن سیاه در سوخت‌های دیزلی، صنعت تایر ماشین، پلاستیک و موارد دیگر نگرانی‌های روزافزونی را در این زمینه موجب شده است.

TLRها گیرنده‌های انتقال پیام غشایی‌اند که نقش‌های اساسی در دفاع ذاتی علیه میکروب‌ها- ذرات آلودگی هوا نیز به‌عنوان حامل‌های میکروب یا آلرژن عمل می‌کنند- دارند (۱۱). TLR ها روی سطح بسیاری از سلول‌ها و نیز در اندوزوم سلول‌ها یافت می‌شوند. TLR های ۲ و ۴ و ۵ در سطح سلول بیان می‌شوند و در آنجا به الگوهای مولکولی مرتبط با عامل بیماری‌زای خارج‌سلولی

1. Particulate Maters
2. Central Nerves Sistem
3. Toll Like Reseptor

متصل می‌شوند. سایر TLR ها مانند ۳ و ۷ و ۸ و۹ روی غشای آندوزومی بیان می‌شوند که در آنجا می‌توانند اسیدهای نوکلئیک میکروب‌هایی را که توسط فاگوسیتوز شده‌اند، شناسایی کنند (۱۲، ۱۱). گیرندهٔ TLR4 در پاسخ ایمنی اولیه در مغز نقش تنظیم‌کنندگی دارد. غشای انواع سلول‌های اصلی گلیال از جمله میکروگلیا، آستروسیت‌ها و الیگودندروسیت های مغز TLR ها را بیان می‌کنند (۱۳). یکی از آثار اصلی مسیرهای انتقال پیام فرودست در TLRها، فعال شدن فاکتور نسخه‌برداری NF-κB[1] است که برای بیان بسیاری از ژن‌های مرتبط با ایمنی ذاتی در سیتوپلاسم ضروری است. در شرایط التهاب بیان TLRها در مغز افزایش می‌یابد. برای مثال در پی خونریزی مغزی بیان TLR4 در اندوتلیوم مویرگ‌های عروق مغزی افزایش می‌یابد. هنگام سکتهٔ مغزی افزایش بیان TLR2,4 رخ می‌دهد. مطالعات کمی در زمینهٔ تأثیر ذرات معلق بر TLR ها مغز منتشر شده است.

در مقابل آلودگی هوا که به افزایش عوامل التهابی در مغز منجر می‌شود، یک‌سری از تحقیقات اظهار داشتند که فعالیت ورزشی منظم سبب کاهش بیان مارکرهای التهابی در مغز شده و در نتیجه به کاهش التهاب و استرس اکسیداتیو در مغز منجر می‌شود (۱۶-۱۴). تأثیرات مفید بالقوهٔ ورزش منظم در مغز در برخی مطالعات سنجیده شده است. تأثیر ورزش بر مغز بسیار پیچیده و شامل نروژنز از طریق فاکتورهای نروتروفیک، افزایش مویرگ-سازی، کاهش استرس اکسیداتیو و افزایش تجزیهٔ پروتئولیتیک از طریق پروتئوزوم است (۲۰-۱۷). در مورد تأثیر تمرینات ورزشی بر گیرنده‌های شبه تول پژوهش-های بسیار کمی صورت گرفته است. با وجود مطالعات مذکور، پژوهشی در زمینهٔ اثر تمرینات ورزشی پس از قرارگیری در معرض هوای آلوده بر گیرنده‌های TLR و مسیرهای پیام‌دهی آنها یافت نشد. بنابراین این سؤال پیش می‌آید که آیا انجام چهار هفته تمرینات هوازی می-تواند بیان گیرندهٔ شبه تول – ۴ و۲ را در هیپوکمپ مغز موش‌های در معرض هوای آلوده به ذرات کربن سیاه با قطر کمتر از ۱۰ میکرون (PM10) تغییر دهد؟ بنابراین، هدف از مطالعهٔ حاضر بررسی تأثیر چهار هفته تمرین هوازی پس از قرارگیری هوای آلوده به ذرات کربن سیاه با قطر کمتر از ۱۰ میکرون بر روی بیان mRNA ژن‌های TLR2 و TLR4 در بافت هیپوکمپ مغز موش‌هایی صحرایی نر بود.

## روش پژوهش

### حیوانات و شرایط نگهداری

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

1. Nuclear Factor –kappa B

**پروتکل قرارگیری در معرض ذرات**

به‌منظور قرارگیری حیوانات در معرض ذرات کربن سیاه از دستگاه تزریق ذرات و اتاقک (فالونک) استفاده شد. دستگاه تزریق و اتاقک به‌گونه‌ای بود که هر یک دقیقه یک بار هوای اتاقک عوض می‌شد و با ایجاد فشار منفی در اتاقک از خروج ذرات به فضای آزمایشگاه جلوگیری می‌شد. ذرات آلاینده با غلظت حدود ۵ میلی‌گرم در متر مکعب، دمای ۲۲ درجهٔ سانتی‌گراد و رطوبت[۱] ۲۹ درصد شبیه‌سازی می‌شد. موش‌های گروه‌های کنترل- آلودگی و تمرین- آلودگی به مدت دو ساعت در روز، ۵ روز در هفته و به مدت ۶ هفته در معرض هوای آلوده به ذرات کربن سیاه قرار گرفتند. ذرهٔ آلایندهٔ به‌کاررفته در این تحقیق کربن سیاه (N660) با قطر کمتر از ۱۰ میکرون بود که از شرکت دودهٔ کربن ایران تهیه شد. شکل و قطر ذرات به‌ترتیب با روش تصویربرداری با استفاده از میکروسکوپ نوری[۲] و داست کانتر[۳] بررسی و تأیید شد.

**برنامهٔ تمرین هوازی**

در مرحلهٔ آشناسازی، موش‌ها ۳ روز در هفته، ۱۵ دقیقه در روز و با سرعت ۶ متر بر دقیقه به مدت یک هفته روی چرخ گردان اجباری تمرین کردند. پس از آن، برای تعیین بار کار بیشینهٔ حیوانات، آزمون فزاینده به شکل زیر انجام گرفت:

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 دستگاه). با استفاده از این آزمون، بار کار بیشینه برای هر موش مشخص شد. از میانگین بار کار بیشینهٔ هر گروه برای تعیین شدت تمرین گروه استفاده شد. برنامهٔ تمرین اصلی با گرم کردن ۱۰ دقیقه‌ای با سرعت ۶ متر بر دقیقه شروع شده و سپس تمرین اصلی با ویژگی‌های زیر اجرا شد: "دویدن با ۵۰ درصد بار کار بیشینهٔ هر گروه، ۶۰ دقیقه در روز، ۵ روز در هفته و به مدت ۴ هفته."

**آماده‌سازی بافت**

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

**استخراج RNA و سنتز cDNA**

حدود ۵۰ میلی‌گرم بافت هیپوکمپ به‌صورت جداگانه، جهت استخراج total RNA به نسبت ۱ به ۱۰ در QIAzol Lysis Reagent هموژن شد. به‌منظور برداشتن اجزای پروتئینی، محصول حاصل در $^0C$ ۴، ۱۰min، ۱۲۰۰۰g سانتریفیوژ شد. سپس به نسبت ۱ به ۰/۵ با کلروفرم مخلوط و به مدت ۱۵ ثانیه به‌شدت تکان داده شد. محصول در $^0C$ ۴، ۱۵min، ۱۲۰۰۰g سانتریفیوژ و بخش معدنی و آبی از هم جدا شد، بخش محتوی RNA برداشته و با نسبت ۱ به ۰/۵ با ایزوپروپانول مخلوط و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای اتاق رها و سپس در $^0C$ ۴، ۱۰min، ۱۲۰۰۰g سانتریفیوژ شد. Pellet حاوی RNA در اتانول شست‌وشو و در Lμ20 آب RNAS-Free حل شد. غلظت RNA سنجش شد (Eppendorff, Germany) و نسبت ۲۶۰ به ۲۸۰ بین ۱/۸ تا ۲ به‌عنوان تخلیص مطلوب تعریف گردید. سنتز cDNA با استفاده از gμ1 از RNA و Random

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

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

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

hexamer primer و آنزیم transcriptase Reverse انجام گرفت.

**Real time – PCR**

اندازه‌گیری سطوح بیان با استفاده از روش کمی Real time-PCR و Primix eva green II انجام گرفت (Applied Biosystems, USA). مخلوط واکنش در حجم نهایی Lμ20 و هر واکنش به‌صورت duplicate صورت پذیرفت. طراحی پرایمرها براساس اطلاعات ژن‌های TLR2، TLR4 و GAPDH در بانک ژنی NCBI و توسط شرکت ماکرو ژن (Macrogen Inc, Seoul, Korea) انجام گرفت. توالی پرایمرهای مورد استفاده در جدول ۱ گزارش شده است، ضمن اینکه از GAPDH به‌عنوان ژن کنترل استفاده شد. برنامهٔ دمایی مورد استفاده در Real time-PCR شامل ۹۵ به مدت ۱۰ دقیقه- ۹۵ به مدت ۱۵ ثانیه، ۶۰ به مدت ۱ دقیقه (تکرار ۴۰ سیکل) بود. میزان بیان ژن‌های مورد نظر نیز با روش $2^{-\Delta\Delta CT}$ اندازه‌گیری شد.

**جدول ۱. توالی پرایمرهای مورد استفاده در پژوهش حاضر**

| Genes | Primer sequence |
|---|---|
| TLR2 | For: 5′-TGGAGGTCTCCAGGTCAAAC-3′<br>Rev: 5′-TGTTTGCTGTGAGTCCCGAG-3′ |
| TLR4 | For: 5′- AATCCCTGCATAGAGGTACTTCCTAAT -3′<br>Rev: 5′- CTCAGATCTAGGTTCTTGGTTGAATAAG -3′ |
| GAPDH | For: 5′- GACATGCCGCCTGGAGAAAC -3′<br>Rev: 5′- AGCCCAGGATGCCCTTTAGT -3′ |

**تجزیه‌وتحلیل آماری**

تمامی داده‌ها براساس میانگین±انحراف استاندارد توصیف شده‌اند. به‌منظور همسان بودن واریانس‌ها از آزمون Leven استفاده شد. برای تعیین معنادار بودن تفاوت بین گروه‌ها از تحلیل واریانس (ANOVA) دوطرفه [1] و آزمون تعقیبی LSD [2] استفاده شد. سطح معناداری نیز P≤۰/۰۵ در نظر گرفته شد. کلیهٔ بررسی‌های آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخهٔ ۲۰ انجام گرفت.

**یافته‌ها**

تمام حیوانات در گروه‌های تمرینی و آلودگی توانستند چهار هفته تمرین هوازی و قرارگیری در معرض ذرات کربن سیاه کمتر از ۱۰ میکرون را به‌طور مداوم انجام دهند و به اتمام برسانند. پس از مداخله، اختلاف معناداری در تودهٔ بدن موش‌های گروه آلودگی مشاهده شد (P=۰/۰۲۳). موش‌های گروه کنترل نیز در این مدت افزایش وزن معناداری از خود نشان دادند (P=۰/۰۴۵) (جدول ۲).

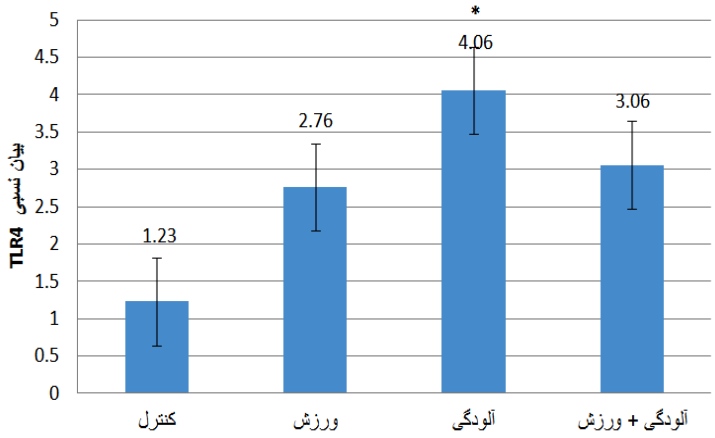
1. Two Way ANOVA
2. Post Hoc LSD Test

**جدول ۲. تودهٔ بدن حیوانات گروه‌های تحقیق پیش و پس از مداخله**

| فرایند / گروه | پیش از مداخله(گرم) میانگین±انحراف معیار | پس از مداخله (گرم) میانگین±انحراف معیار | تفاوت بین دو مداخله (گرم) | سطح معناداری P≤۰/۰۵ |
|---|---|---|---|---|
| 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±۳۳/۲۳ | ۳۴ | ۰/۱۰۱ |

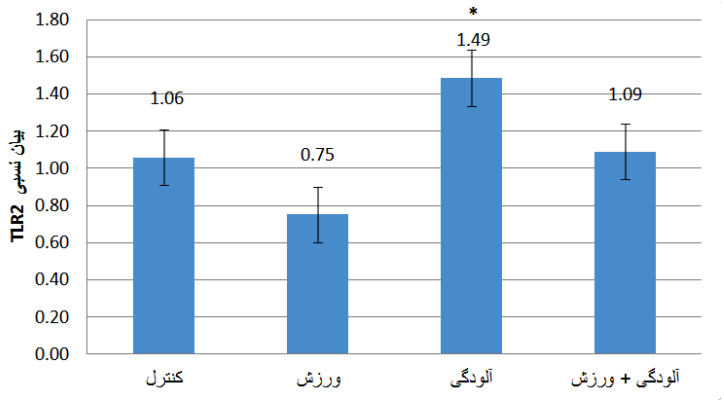
٭معناداری تفاوت‌ها در P≤ ۰/۰۵

با توجه به همگنی واریانس داده‌های TLR4 (P=۰/۱۲۳) از آزمون تحلیل واریانس دوطرفه همراه با آزمون تعقیبی LSD استفاده شد. ۴ هفته تمرین هوازی به تغییر معناداری در بیان mRNA ژن TLR4 در هیپوکامپ موش‌های نر صحرایی منجر نشد (P=۰/۱۳۷). اما افزایش معنادار بیان mRNA ژن TLR4 در هیپوکمپ مغز موش‌ها مشاهده شد (P=۰/۰۰۵). ۴ هفته تمرین هوازی پس از قرارگیری در معرض هوای آلوده به تغییر معنادار در mRNA ژن TLR4 در هیپوکامپ موش‌های نر صحرایی نسبت به گروه کنترل منجر نشد (P=۰/۰۶۳) (نمودار ۱).




**نمودار ۱. بیان نسبی TLR4**

با توجه به همگنی واریانس داده‌های TLR2 (P=۰/۱۲۳) از آزمون تحلیل واریانس دوطرفه همراه با آزمون تعقیبی LSD استفاده شد. ۴ هفته تمرین هوازی به تغییر معناداری در بیان mRNA ژن TLR2 در هیپوکامپ موش‌های نر صحرایی منجر نشد (P=۰/۱۳۷). افزایش معنادار بیان mRNA ژن TLR4 در هیپوکمپ مغز موش‌ها مشاهده شد (P=۰/۰۰۵). ۴ هفته تمرین هوازی پس از قرارگیری در معرض هوای آلوده به تغییر معنادار در mRNA ژن TLR4 در هیپوکامپ موش‌های نر صحرایی نسبت به گروه کنترل منجر نشد (P=۰/۰۶۳) (نمودار ۲).




**نمودار ۲. بیان نسبی TLR2**

## بحث

در پژوهش حاضر، اثر تمرین هوازی پس از قرارگیری در معرض هوای آلوده به ذرات کربن سیاه بر بیان ژن TLR4 و TLR2 در بافت هیپوکمپ مغز موش‌های صحرایی بررسی شد. نتایج نشان داد که چهار هفته تمرین هوازی به تعدیل عوامل التهابی TLR4 و TLR2 در هوای آلوده به ذرات منجر می‌شود. زانگ و همکاران (۲۰۱۳) نشان دادند که ذرات معلق موجود در هوای آلوده از طریق مسیر TLR4 به بروز مسمومیت در اندوتلیال عروق مغز منجر می‌شوند. به‌طوری‌که موش‌های با کمبود TLR4 مسمومیت کمتری در مقابل گروه کنترل از خود نشان داده بودند (۲۱). بائر و همکاران (۲۰۱۲)، شواهدی را برای چندین جزء آلودگی هوا از جمله ریز ذرات و ازون و سازوکارهایی برای شروع پاسخ‌های التهابی گزارش کرده‌اند. برخی از مسیرهای پاسخ التهابی به آلودگی هوا شامل مسیر اسید آراشیدونیک/ سیکلواکسیژناز، مسیر NF-κB و مسیر گیرنده‌های شبه تول (TLR) است (۶۲). محرک‌های خارجی و داخلی از جمله ویروس‌ها و باکتری‌های عفونی، رادیکال‌های آزاد و سایتوکاین‌ها می‌توانند NF-κB را فعال و انتقال آن را به هسته برای رونویسی میانجی‌های پیش‌التهابی مانند سایتوکاین‌ها و کموکاین‌ها، مولکول‌های چسبان و پروتئین کینازها تسهیل کنند. فعال شدن NF-κB و پروتئین کیناز فعال‌شده با میتوژن سبب تولید میانجی‌های پیش‌التهابی مانند IL-1، IL-6، IL-12، TNF-α، چندین اینترفرون و نیتریک اکساید می‌شود (۲۲). در پژوهش حاضر بیان TLR4 و TLR2در حیوانات در معرض آلودگی افزایش داشت.

همان‌طورکه تأثیرات ضدالتهابی ورزش منظم به‌خوبی شناخته شده، از میان ۱۱ نوع TLR شناخته‌شده، TLR2و TLR4 در ادبیات ورزشی بیشتر مورد توجه قرار گرفته است. مطالعات اخیر نشان داده‌اند که تمرینات مقاومتی حاد و مزمن بیان گیرنده‌های شبه تول سطح مونوسیت‌ها را کاهش می‌دهد. بنابراین یک دوره تمرینات ورزشی مزمن تولید سایتوکاین‌های التهابی و بیان گیرنده‌های شبه تول-۴ سطح مونوسیت‌ها را کاهش می‌دهد. این تأثیرات ممکن است در افت ایمنی پس از ورزش و حساسیت به عفونت در ورزشکاران سهم داشته باشد. با وجود این در طولانی‌مدت، کاهش در بیان گیرنده‌های شبه تول، ممکن است تأثیرات مفیدی را نشان دهد، زیرا ظرفیت التهابی لکوسیت‌ها را کاهش و بنابراین التهاب مزمن کل بدن را تغییر می‌دهد. سازوکارهای فیزیولوژیکی دقیق این تغییرات هنوز شناخته نشده‌اند. با وجود این به‌نظر می‌رسد برخی از سیگنال‌های درگیر شامل سایتوکاین‌های ضدالتهابی، هورمون‌های استرسی و پروتئین‌های شوک گرمایی باشد (۲۳). الیویرا (۲۰۱۰) نشان داد که تمرینات ورزشی طولانی‌مدت با کاهش بیان

گیرندهٔ شبه تول -۴ در بافت‌های کبد، عضله و چربی همراه می‌شود که در در نهایت به بهبود وضعیت التهابی و مقاومت انسولین منجر می‌شود (۲۴). در این مطالعه تمرین موجب کاهش در بیان TLR2 شد اما معنادار نبود.

لانکستر و همکاران نشان دادند که بیان TLR4 بر CD14 مونوسیت‌های خون در پی ۲ ساعت دوچرخه‌سواری شدید در گرما کاهش می‌یابد (۲۵). برخلاف آن، مک فارلین و همکاران گزارش کردند که ورزش مقاومتی حاد بر بیان TLR4 و TLR2 مونوسیت‌های خون زنان مسن بی‌تأثیر بود (۲۶). به‌نظر می‌رسد تغییر بیان TLR4 پس از ورزش حاد به مدل تمرین و شرایط محیطی یا گروه‌های مورد مطالعه بستگی دارد. در پژوهش حاضر تمرین هوازی به افزایش کمی در TLR4 منجر شد، البته این تغییر به لحاظ آماری معنادار نبود. دلیل این پاسخ متفاوت بیان ژن TLR4 به ورزش شاید به مدت و شدت تمرین هوازی مربوط باشد. شایان ذکر است که در پژوهش حاضر تمرین هوازی به کاهش شایان توجه TLR4 و TLR2 در حیوانات در معرض آلودگی منجر شد.

تأثیر ورزش هوازی پس از قرارگیری در معرض هوای آلوده به ذرات کربن سیاه بر بیان TLR4 و TLR2 برای اولین بار در مطالعهٔ حاضر بررسی شد. از تمرین به‌عنوان عاملی ضدالتهابی یاد شده است. به‌نظر می‌رسد که تمرینات ورزش هوازی به تعدیل TLRها منجر می‌شود. الیویرا (۲۰۱۰)، تأثیر ۱/۵ ساعت دوچرخه‌سواری با ۷۵ درصد اوج اکسیژن مصرفی در ۹ مرد ورزشکار استقامتی بر TLR4 و TLR2 و مدت زمان برگشت آن به مقدار پیش از تمرین را بررسی کرد. اگرچه محتوای مونوسیت-های تام بلافاصله، ۱ و ۴ ساعت پس از تمرین افزایش داشت، تمرین بیان TLR4 مونوسیت را ۳۲ و ۴۵ درصد بلافاصله و یک ساعت پس از تمرین به‌ترتیب نسبت به پیش از تمرین کاهش داد، اما میزان TLR2 بدون تغییر باقی ماند (۲۴). فرناندز و همکاران (۲۰۱۲)، نشان دادند پاسخ مسیرهای پیام‌دهی TLR4 پس از یک برنامهٔ تمرین اکسنتریک از طریق مسیرهای وابسته و مستقل از عامل تمایز میلوئید- ۸۸ تقلیل می‌یابد (۲۷). ما و همکاران (۲۰۱۳) نشان دادند که تمرین با تردمیل پس از ایسکمی مغز به تنظیم کاهشی بیان TLR2, TLR4, NF-κB و MyD88 در بافت مغز موش‌ها منجر شد و تمرین با تردمیل سبب بهبود ریکاوری در این موش‌ها شد (۲۲).

در مطالعهٔ حاضر چهار هفته قرارگیری در معرض هوای آلوده به کربن سیاه و در پی آن ورزش هوازی به افزایش بیان mRNA ژن TLR4 و TLR2 در هیپوکمپ مغز موش‌ها انجامید، اما این افزایش معنادار نبود که می‌توان آن را به تأثیرات ضدالتهابی ورزش در برابر التهاب ایجادشده توسط آلودگی نسبت داد.

در این مقاله افزایش معنادار وزن بدن در موش‌های در معرض ذرات کربن سیاه گزارش شد که همسو با نتایج مطالعهٔ زو و همکاران است. زو و همکاران (۲۰۱۰)، بالا بودن ذرات آلاینده را عامل خطر برای توسعهٔ مقاومت انسولین، چاقی و التهاب گزارش کردند (۲۸). بین افزایش وزن و چاقی و افزایش عوامل التهابی ارتباط وجود دارد، این در حالی است که کاهش وزن می‌تواند حتی مستقل از ورزش به کاهش نشانگرهای التهابی منجر شود (۲۹). پاره‌ای از مطالعات نیز اثر اصلی ورزش بر کاهش عوامل التهابی و القای فاکتورهای ضدالتهابی را به کاهش وزن ناشی از ورزش نسبت داده‌اند (۳۱، ۳۰). بنابراین، به‌نظر می‌رسد افزایش بیان TLR4 و TLR2 در گروه آلودگی را می‌توان در بخشی به افزایش وزن بدن حیوانات ناشی از ذرات کربن سیاه نسبت داد، این در حالی است که این افزایش وزن در گروه آلودگی + تمرین کمتر بود.

به‌طور خلاصه، این یافته‌ها نشان می‌دهد که چهار هفته تمرین هوازی در هوای آلوده به ذرات کربن سیاه به تعدیل عوامل التهابی TLR4 و TLR2و نیز وزن بدن منجر می‌شود. با وجود این، پژوهش‌های بیشتری برای آشکار شدن سازوکارهای دقیق در این مداخلات مورد نیاز است.

**منابع و مآخذ**


1.Block ML, Elder A, Auten RL, Bilbo SD, Chen H, Chen J-C, et al. The outdoor air pollution and brain health workshop. Neurotoxicology. 2012;33(5):972-84.

2.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.

3.Guxens M, Sunyer Deu J. A review of epidemiological studies on neuropsychological effects of air pollution. Swiss Medical Weekly 2012 141: w13322. 2012.

4.Genc S, Zadeoglulari Z, Fuss SH, Genc K. The adverse effects of air pollution on the nervous system. Journal of Toxicology. 2012;2012.

5.Nunomura A, Perry G, Aliev G, Hirai K, Takeda A, Balraj EK, et al. Oxidative damage is the earliest event in Alzheimer disease. Journal of Neuropathology & Experimental Neurology. 2001;60(8):759-67.

6.Nunomura A, Tamaoki T, Motohashi N, Nakamura M, McKeel Jr DW, Tabaton M, et al. The earliest stage of cognitive impairment in transition from normal aging to Alzheimer disease is marked by prominent RNA oxidation in vulnerable neurons. Journal of neuropathology and experimental neurology. 2012;71(3):233.

7.Becker S, Fenton MJ, Soukup JM. 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.

8.Li Y, Henze DK, Jack D, Henderson BH, Kinney PL. Assessing public health burden associated with exposure to ambient black carbon in the United States. Science of The Total Environment. 2016;539:515-25.

9.Jackson P, Hougaard KS, Boisen AMZ, Jacobsen NR, Jensen KA, 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.

10. Suglia SF, Gryparis A, Wright R, Schwartz J, Wright R. Association of black carbon with cognition among children in a prospective birth cohort study. American journal of epidemiology. 2008;167(3):280-6.

11. Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. Cellular and molecular immunology: Elsevier Health Sciences; 2014.

12.Akira S, Takeda K. Toll-like receptor signalling. Nature reviews immunology. 2004;4(7):499-511.

13. Hanke ML, Kielian T. Toll-like receptors in health and disease in the brain: mechanisms and therapeutic potential. Clinical Science. 2011;121(9):367-87.

14. Barrientos RM. Voluntary exercise as an anti-neuroinflammatory therapeutic. Brain, behavior, and immunity. 2011;25(6):1061-2.
15. 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.
16.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):35.٦٥-٩
17. Adlard PA, Perreau VM, Pop V, Cotman CW. Voluntary exercise decreases amyloid load in a transgenic model of Alzheimer's disease. The Journal of neuroscience. 2005;25(17):4217-21.
18. Daigle CC, Chalupa DC, Gibb FR, Morrow PE, Oberdörster G, Utell MJ, et al. Ultrafine particle deposition in humans during rest and exercise. Inhalation toxicology. 2003;15(6):539-52.
19. Dishman RK, Berthoud HR, Booth FW, Cotman CW, Edgerton VR, Fleshner MR, et al. Neurobiology of exercise. Obesity. 2006;14(3):345-5.٦
20. 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.
21. Zhang B, Choi JJ, Eum SY, Daunert S, Toborek M. TLR4 signaling is involved in brain vascular toxicity of PCB153 bound to nanoparticles. PloS one. 2013;8(5):e63159.
22. Ma Y, He M, Qiang L. Exercise therapy downregulates the overexpression of TLR4, TLR2, MyD88 and NF-κB after cerebral ischemia in rats. International journal of molecular sciences. 2013;14(2):3718-33.
23. Stewart LK, Flynn MG, Campbell WW, Craig BA, Robinson JP, McFarlin BK, et al. Influence of exercise training and age on CD14+ cell-surface expression of toll-like receptor 2 and 4. Brain, behavior, and immunity. 2005;19(5):389-97.
24. Oliveira M, Gleeson M. The influence of prolonged cycling on monocyte Toll-like receptor 2 and 4 expression in healthy men. European journal of applied physiology. 2010;10.٧-٢٥١:(٢)٩
25. Lancaster GI, Khan Q, Drysdale P, Wallace F, Jeukendrup AE, Drayson MT, et al. The physiological regulation of toll□like receptor expression and function in humans. The Journal of physiology. 2005;563(3):945-55.
26. 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.
27. Fernandez-Gonzalo R, De Paz JA, Rodriguez-Miguelez P, Cuevas MJ, González-Gallego J. Effects of eccentric exercise on toll-like receptor 4 signaling pathway in peripheral

blood mononuclear cells. J2 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.

29. 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.
30. 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.
31. 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.