

## **The Combined Effect of Regular Aerobic Exercise with Garlic Extract on Renal Apoptosis Regulatory Factors in Aged rats with Chronic Kidney Disease**

Parvin Farzanegi<sup>1\*</sup>, Masoumeh Habibian<sup>2</sup>, Hadi Alinejad<sup>3</sup>

1- Associate Professor, Department of Exercise Physiology, Sari Branch, Islamic Azad University, Sari, Iran.

2- Assistant Professor, Department of Physical Education, Islamic Azad University, Qaemshahar Branch, Qaemshahar, Iran.

3- MSc in Exercise Physiology, Sari Branch, Islamic Azad University, Sari, Iran.

Received: 1 Jan 2016, Accepted: 6 Apr 2016

---

### **Abstract**

**Background:** Chronic kidney disease as an important risk factor is associated with some disorders which are key causes of death and disability in older people. Therefore, the aim of this study was to assess the combined effect of regular aerobic exercise with garlic extract on renal apoptosis regulatory factors in aged rats with chronic kidney disease.

**Materials and Methods:** In this experimental research, 42 aged male Wistar rats (48-52 weeks) were selected and randomly divided into 6 groups: control, doxorubicin, doxorubicin-salin, doxorubicin-garlic, doxorubicin-exercise, doxorubicin-garlic-exercise (combined). Chronic kidney disease was induced by a single subcutaneous injection 8.5 mg/kg of doxorubicin. Swimming training was programmed 3 days/week, 30 min/day for 8 weeks. Both the doxorubicin-garlic and combined groups with garlic extract were administered by garlic gavage at a dose of 2.5 g/kg. The renal Bax and Bcl-2 levels were evaluated by ELISA method. A one-way analysis of variance was used to data analysis ( $p < 0.05$ ).

**Results:** The results showed that induced chronic kidney disease was associated with a significant increase on Bax and a decrease on Bcl-2 in aged rats. Also, 8 weeks swimming training, garlic supplementation and the combined intervention significantly reversed these changes. Furthermore, no significant difference has been observed in the effect of these interventions on Bax and Bcl-2 in aged rats with chronic kidney disease.

**Conclusion:** It seems that the use of non-pharmacological treatment methods such as exercise training, garlic extract supplement, and combination of the both interventions may be effective in reducing apoptosis resulted from chronic kidney disease in aged rats.

**Keywords:** Aerobic exercise, Aging, Apoptosis, Chronic kidney disease, Garlic

\*Corresponding Author:

Address: Department of Exercise Physiology, Sari Branch, Islamic Azad University, Sari, Iran.  
Email: Parvin.farzanegi@gmail.com

## اثر ترکیبی تمرین هوازی منظم و مصرف عصاره سیر بر برخی از فاکتورهای تنظیمی آپوپتوز کلیوی در رت‌های پیر مبتلا به بیماری مزمن کلیوی

پروین فرزاتگی<sup>۱\*</sup>، معصومه حبیبیان<sup>۲</sup>، هادی علی‌نژاد<sup>۳</sup>

۱- دانشیار، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساری، ساری، ایران.

۲- استادیار، گروه تربیت بدنی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد قائمشهر، قائمشهر، ایران.

۳- کارشناس ارشد فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساری، ساری، ایران.

تاریخ دریافت: ۹۴/۱۰/۱۲ تاریخ پذیرش: ۹۵/۱/۱۸

### چکیده

**زمینه و هدف:** بیماری مزمن کلیوی به عنوان یک فاکتور خطرزای مهم با برخی از اختلالات همراه است که از دلایل اصلی مرگ و ناتوانی در افراد پیر هستند. از این رو، هدف از مطالعه حاضر بررسی اثر ترکیبی تمرین هوازی منظم و مصرف عصاره سیر بر سطوح برخی از فاکتورهای تنظیمی آپوپتوز کلیوی در موش‌های پیر مبتلا به بیماری مزمن کلیوی بود.

**مواد و روش‌ها:** در این تحقیق تجربی، ۴۲ سر موش صحرایی نر ویستار پیر (۴۸ تا ۵۰ هفته) انتخاب و به طور تصادفی به ۶ گروه کنترل، دوکسوروبیسین، دوکسوروبیسین-سالین، دوکسوروبیسین-تمرین، دوکسوروبیسین-سیر و دوکسوروبیسین-سیر-تمرین (ترکیبی) تقسیم شدند. بیماری مزمن کلیوی با یک بار تزریق زیر جلدی دوکسوروبیسین (۸/۵ میلی گرم بر کیلوگرم وزن) القا شد. برنامه تمرینی شنا شامل ۳ روز در هفته، روزی ۳۰ دقیقه برای مدت ۸ هفته بود. گروه‌های دوکسوروبیسین-سیر و ترکیبی با عصاره سیر (۲/۵ گرم بر کیلوگرم وزن بدن) گاوآژ شدند. سطوح کلیوی Bax و Bcl-2 به روش الایزا سنجیده شد. از آزمون تحلیل واریانس یک طرفه برای تحلیل داده‌ها استفاده شد ( $p < 0.05$ ).

**یافته‌ها:** نتایج نشان داد القای بیماری مزمن کلیوی با افزایش سطوح کلیوی Bax و کاهش Bcl-2 در رت‌های پیر همراه است. همچنین ۸ هفته شنا، مصرف عصاره سیر و مداخله ترکیبی به طور معنی‌داری این تغییرات را معکوس نمود. به علاوه تفاوت معنی‌داری بین تأثیر مداخله‌های فوق بر سطوح کلیوی Bcl-2 و Bax در رت‌های پیر مبتلا به بیماری مزمن کلیوی مشاهده نشد.

**نتیجه‌گیری:** استفاده از شیوه‌های درمانی غیر دارویی تمرین ورزشی، مکمل سیر و ترکیبی این دو مداخله ممکن است در کاهش آپتوز کلیوی ناشی از بیماری مزمن کلیوی در افراد مسن موثر باشد.

**واژگان کلیدی:** تمرین هوازی، پیری، آپوپتوز، بیماری مزمن کلیوی، سیر

\* نویسنده مسئول: ایران، ساری، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساری، گروه فیزیولوژی ورزشی

Email: parvin.farzanegi@gmail.com

## مقدمه

مطالعه پاتوفیزیولوژی وابسته به سن و حل مشکلات بالینی ناشی از پیری، یک چالش مهم در علوم زیستی محسوب می‌شود. کلیه به عنوان اندامی با بیشترین تغییرات ساختاری و عملکردی ناشی از افزایش سن شناخته شده است. روند افزایش سن با کاهش حدود ۲۰ تا ۲۵ درصدی در جرم کلیه نرمال، از دست رفتن نفرون، گلوومرواسکلروز و فیبروزیس توبولی بینابینی همراه است (۱). هم‌چنین با سخت شدن گلوومرول، میزان فیلتراسیون گلوومرولی و عملکرد توبول‌های کلیوی نیز کاهش می‌یابد (۲). در سنین پایین‌تر از ۴۰ سال، کمتر از ۵ درصد از گلوومرول‌ها دچار اسکلروز می‌شوند در حالی که گلوومرواسکلروز با افزایش سن (در دهه هشتم) تا حدود ۳۰ درصد افزایش می‌یابد (۳) و احتمال بروز بیماری‌های مزمن کلیوی را افزایش می‌بخشد. علاوه بر این افزایش مرگ سلولی ناشی از آپوپتوز، به عنوان یک فرضیه مهم برای آسیب سلولی پیشرفته با پیری پیشنهاد شده است که بیان‌گر یک نقطه مشترک بین نارسایی مزمن کلیوی به علت از دست رفتن بافت توبولی و افزایش صدمات حاد کلیوی است (۱). آپوپتوز شکلی از مرگ سلولی برنامه‌ریزی شده است که این فرآیند برای بسیاری از عملکردهای فیزیولوژیکی مانند حفظ هومئوستاز بافت و حذف سلول‌های خطرناک و آسیب دیده لازم است (۴). اما افزایش آپوپتوز توبولی در رت‌های پیر در مقایسه با رت‌های جوان در شرایط فیزیولوژیکی گزارش شده است (۵). دو مسیر وابسته به کاسپاز برای تنظیم آپوپتوز مشخص شده است که شامل مسیر میتوکندریایی (داخلی) و مسیر گیرنده مرگ (خارجی) می‌باشند (۶). میتوکندری با باز کردن منافذ انتقال نفوذپذیری میتوکندریایی و رهایی پروتئین‌های آپوپتوزینیک (به طور عمده سیتو کروم C)، در فرآیند آپوپتوز شرکت دارد. آزاد سازی سیتو کروم C فعال شدن کاسپاز ۹ را تسهیل می‌کند. اعضای خانواده (B-cell lymphoma Bcl-2/2، مانند خود Bcl-2 (پروتئین ضد آپوپتوتیک) و پروتئین پرو آپوپتوتیک (Bcl-2-associated protein x)

Bax به طور قوی در تنظیم منافذ انتقال نفوذپذیری میتوکندریایی نقش دارند (۷). مسیر گیرنده مرگ (خارجی) که با اتصال به لیگاندهای خارج سلولی (به عنوان مثال، لیگاند Fas متعلق به خانواده فاکتور نکروز دهنده تومور آلفا) به گیرنده‌های سطحی سلولشان آغاز می‌شود، منجر به فعال سازی کاسپاز ۸ می‌شود (۸). هر دو مسیر خارجی و داخلی، با فعال سازی کاسپازهای فاکتور پایین دست (از جمله کاسپاز ۳) نقش مهمی در آپوپتوز ایفا می‌نمایند (۷). علاوه بر این، فعالیت آپوپتوتیک با برخی از پروتئین‌هایی که نقش مهمی در کنترل آن دارند، تنظیم می‌شود. به عنوان مثال با تنظیم منفی پروتئین ضد آپوپتوتیک Bcl-2، میزان پروتئین پرو آپوپتوتیک Bax افزایش می‌یابد که حساسیت سلولی را به آپوپتوز افزایش می‌بخشد. در مطالعات قبلی افزایش بیان Bax و کاسپاز ۳ (۹، ۱۰) و هم‌چنین کاهش مهارکننده آپوپتوز Bcl-2 (۱۰) در کلیه پیر گزارش شده است. بنابراین انتظار می‌رود که با تغییر در یکپارچگی میتوکندریایی ناشی از افزایش سن (۸) و صدمات حاد و مرمن کلیوی (۱۱)، فرآیند آپوپتوز نیز به شدت تحت تأثیر قرار گیرد.

بر اساس شواهد موجود در هر دو دسته از بیماران مبتلا به بیماری مزمن کلیوی و مسن، عملکرد جسمانی دچار اختلال می‌شود که ممکن است به واسطه فعالیت ورزشی معکوس شده و منجر به بهبود وضعیت زیستی گردد (۱۲). بنابراین تمرینات ورزشی می‌تواند یک استراتژی بالینی مؤثر در بهبود عملکرد کلیوی باشد به طوری که افزایش میزان فیلتراسیون گلوومرولی متعاقب ۱۲ هفته فعالیت ورزشی در افراد مبتلا به هردو بیماری مزمن کلیوی و قلبی عروقی مشاهده شد (۱۳). در تحقیقات قبلی نقش تمرینات ورزشی منظم بر روی نوارگردان در افزایش Bcl-2 و کاهش Bax و نسبت Bax/Bcl-2 در بافت عضلات نعلی، دوقلو (۱۴) و هم‌چنین بافت قلبی (۱۵) رت‌های پیر گزارش شده است. با این وجود تأثیر فعالیت ورزشی بر مسیرهای ضد آپوپتوتیک در بافت کلیه رت‌های پیر مبتلا به بیماری مزمن کلیوی به خوبی مشخص نیست. از سوی دیگر، امروزه در

شدند و به طور آزادانه به غذا (پلت)، تولید شرکت خوراک دام بهپور کرج) و آب دسترسی داشتند.

پروتکل تمرینی: قبل از شروع پروتکل اصلی، حیوانات به منظور آشنایی با شنا برای یک هفته (پنج روز) و به مدت پنج دقیقه در روز تمرین داده شدند. برنامه تمرینی شامل شنا در استخر جوندگان با دمای آب  $22 \pm 3$  درجه سانتی گراد، سه روز در هفته، ۳۰ دقیقه در روز و به مدت ۸ هفته بود (۱۷). هم چنین، ۵ دقیقه زمان، قبل و بعد از تمرین به گرم و سرد کردن حیوانات اختصاص داده می شد. در ضمن کلیه مراحل تحقیق فوق با مجوز شماره ۱۳۹۴۲۷ مورد تایید کمیته اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساری قرار گرفت.

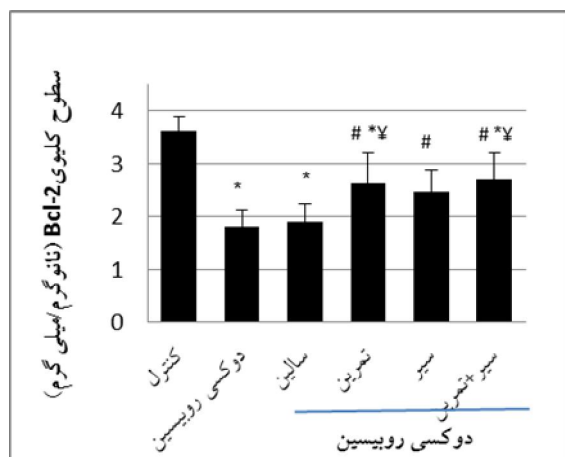
نحوه تهیه و مصرف عصاره سیر: سیر کهنه پس از تمیز و خرد شدن، به مدت سه ماه در دما و رطوبت معمولی نگهداری شد و سپس به روش ماسراسیون عصاره گیری شد. بدین منظور، ۵۰ گرم از سیر خرد شده به نسبت ۱ به ۳ با متانول مخلوط شد و به مدت ۲۴ ساعت روی دستگاه تکان دهنده قرار داده شد. پس از صاف کردن عصاره توسط کاغذ صافی، متانول بر روی تفاله باقی مانده ریخته شد و مخلوط حاصل مجدداً بعد از ۲۴ ساعت دوباره صاف شده و به عصاره اول اضافه گردید. سپس عصاره حاصل در خلاء و در دستگاه تقطیر با دمای ۵۰ درجه و دور چرخش ۷۰ تا رسیدن حجم باقی مانده به یک پنجم حجم اولیه تقطیر شد. عصاره باقی مانده بعد از سرد شدن، سه مرتبه و هر بار با حجم ۵۰ میلی لیتر کلروفرم دکانته شد و در آخر در دمای ۵۰ درجه سانتی گراد در دستگاه آون خشک گردید. پس از مخلوط پودر حاصل با آب مقطر، عصاره حاصل به میزان ۲/۵ گرم به ازای هر کیلوگرم وزن با دوز ۳ روز در هفته به رت های پیرو گروه های دو کسو رویسین - سیر و ترکیبی گاوآژ شد (۱۸). گروه سالیین هم، به همان میزان مکمل، سالیین را به صورت گاوآژ دریافت نمودند.

نحوه القای بیماری مزمن کلیوی: بیماری مزمن کلیوی با یک بار تزریق زیر جلدی دو کسورویسین (۸/۵ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن) در رت های پیر القا شد (۱۹). هم چنین با توجه به اثرات احتمالی ناشی از تزریق در

راستای تمرینات ورزشی استفاده از گیاهان دارویی با خواص بیولوژیکی مختلف به دلیل عوارض جانبی کمتر و تقلیل هزینه های درمان توصیه می شود. سیر که از زمان های قدیم به عنوان یک گیاه دارویی مورد استفاده قرار می گرفته، حاوی دو دسته از آنتی اکسیدان های اصلی شامل فلاونوئیدها و ترکیبات شامل سولفور است که منجر به اثرات ضد توموری، هیپولیپیدمی، هیپوکلسترولی، ضد آترواسکلروتیک آن می شوند (۱۶). با این وجود، خواص آپوتوتیکی سیر بر بافت کلیه پیر و مبتلا به بیماری مزمن کلیوی به خوبی مشخص نیست. با توجه به شیوع بالاتر بیماری های مزمن کلیوی در افراد پیر، سلامتی افراد پیر تا حدی به پاسخ های کلیوی آنان بستگی خواهد داشت. بنابراین مطالعه در خصوص شیوه های غیر دارویی اثر گذار در پیش گیری و یا درمان بیماری های مزمن کلیوی در افراد مسن و درک مکانیسم های مداخله گر از جمله مسیر آپوتوتیک برای اهداف درمانی ضروری به نظر می رسد. از این رو، در تحقیق حاضر اثر ترکیبی تمرین هوازی منظم به همراه مصرف عصاره سیر بر برخی از فاکتورهای تنظیمی آپوتوز کلیوی در رت های پیر مبتلا به بیماری مزمن کلیوی مورد مطالعه قرار گرفت.

## مواد و روش ها

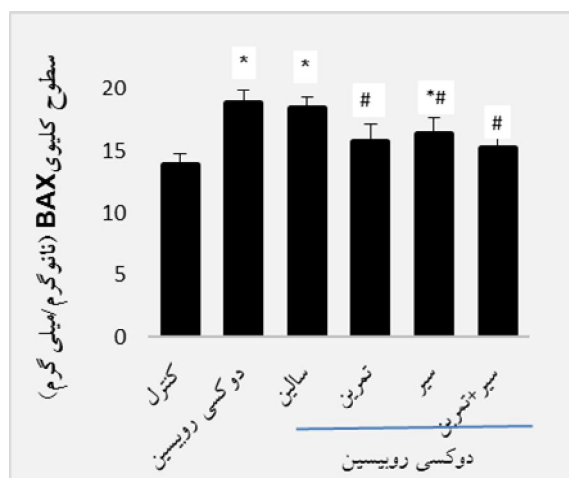
جامعه آماری این پژوهش تجربی شامل رت های صحرائی نر پیر ۲۰ تا ۳۰ هفته ای نژاد ویستار با میانگین وزن اولیه ۲۵۰ تا ۳۰۰ گرم بود که پس از ورود به محیط پژوهش، ۴۲ سر موش به روش تصادفی از بین آنها انتخاب و به گروه های کنترل، دو کسورویسین، دو کسورویسین - سالیین، دو کسورویسین - تمرین، دو کسورویسین - سیر و دو کسورویسین - سیر - تمرین (ترکیبی) تقسیم شدند. حیوانات طی مراحل پژوهش، در قفس های پلی کربنات شفاف به ابعاد طولی ۱۵ × ۱۵ × ۳۰ سانتی متر ساخت شرکت رازی راد، با چرخه روشنایی / تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت، در دمای محیطی  $22 \pm 2$  درجه سانتی گراد، رطوبت هوای  $50 \pm 5$  درصد و هم چنین با تهویه مناسب نگهداری



شکل ۱. مقایسه سطوح Bcl-2 در بافت کلیه گروه‌های مختلف پژوهش

\*: معنی داری تفاوت نسبت به گروه کنترل؛ # معنی داری تفاوت نسبت به گروه دوکسی‌روسیسین؛ †: معنی داری تفاوت نسبت به گروه دوکسی‌روسیسین-سالیین

علاوه بر این سطوح کلیوی Bax (شکل ۲) و نسبت Bax/Bcl-2 (شکل ۳) رت‌های پیر مبتلا به بیماری مزمن کلیوی پس از ۸ هفته تمرین شنا (به ترتیب ۱۶/۳۴ درصد،  $p=0/000$  و ۴۲/۱۱ درصد،  $p=0/000$ )، مصرف مکمل سیر (به ترتیب ۱۳/۰۵ درصد،  $p=0/004$  و ۳۶/۲۶ درصد،  $p=0/000$ ) و مداخله ترکیبی (به ترتیب ۱۸/۹۴ درصد،  $p=0/000$ ) و  $p=0/000$  (۴۴/۶۶ درصد،  $p=0/000$ ) کاهش معنی داری یافت، اما سطوح کلیوی Bax در گروه مکمل سیر به طور معنی داری بالاتر از سطوح آن در رت‌های پیر سالم بود ( $p=0/004$ ).



شکل ۲. مقایسه سطوح Bax در بافت کلیه گروه‌های مختلف پژوهش

\*: معنی داری تفاوت نسبت به گروه کنترل؛ # معنی داری تفاوت نسبت به گروه های دوکسی و دوکسی‌روسیسین-سالیین

گروه‌های دریافت کننده دوکسی‌روسیسین به منظور یکسان‌سازی شرایط برای همه آزمودنی‌ها، سایر گروه‌ها نیز به همان میزان سالیین (سدیم کلراید ۰/۹ درصد) دریافت کردند.

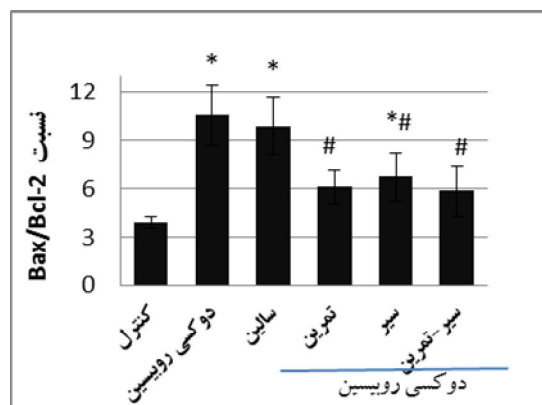
بافت‌برداری و تحلیل بیوشیمیایی متغیرها: ۷۲ ساعت پس از آخرین مداخله‌ها و متعاقب ۱۰ تا ۱۲ ساعت ناشتایی، رت‌های پیر با تزریق داخل صفاقی ترکیبی از کتامین (۹۰ میلی‌گرم بازای هر کیلوگرم) و زایلوزین (۱۰ میلی‌گرم بازای هر کیلوگرم وزن) بی‌هوش شده و بافت کلیه بلافاصله جدا شد. سطوح Bcl-2 و Bax کلیوی با استفاده از کیت‌های تجاری ویژه ساخت شرکت کازابایو کشور چین به ترتیب با حساسیت کمتر از ۰/۰۷۸ نانوگرم بر میلی‌لیتر و ۱۵/۶ پیکوگرم بر میلی‌لیتر به روش الایزا تعیین شد.

روش‌های آماری: برای تعیین توزیع نرمال داده‌ها و تجانس واریانس‌ها به ترتیب از آزمون‌های شاپیروویلک و لوین استفاده شد. هم‌چنین مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون تحلیل واریانس یک طرفه در سطح معنی داری  $p<0/05$  انجام شد. تجزیه و تحلیل‌های آماری با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۲۰ انجام شد.

## یافته‌ها

بر اساس نتایج پژوهش القای بیماری مزمن کلیوی با کاهش معنی دار سطوح Bcl-2 (۴۹/۵۸ درصد،  $p=0/000$ )، افزایش معنی دار در سطوح Bax (۳۵/۵۱ درصد،  $p=0/000$ ) و نسبت Bax/Bcl-2 (۱۷۵/۹۱ درصد،  $p=0/000$ ) در بافت کلیه رت‌های پیر گروه کنترل همراه بود. اما ۸ هفته تمرین شنا (۴۵/۶۰ درصد،  $p=0/008$ )، مصرف مکمل سیر (۳۶/۸۱ درصد،  $p=0/048$ ) و ترکیبی از هر دو مداخله (۴۸/۹۰ درصد،  $p=0/004$ ) سطوح کلیوی Bcl-2 را در رت‌های پیر مبتلا به بیماری مزمن کلیوی افزایش داد (شکل ۱). با این وجود سطوح Bcl-2 گروه‌های تمرین، سیر و سیر+تمرین در مقایسه با گروه کنترل به طور معنی داری پایین تر بود ( $p<0/05$ ).

است. علاوه بر بیماری‌های مزمن کلیوی، خود روند افزایش سن نیز با فرآیند آپوپتوز کلیوی همراه است. در این راستا لی و همکاران نشان دادند که بیان پروتئین پروآپوپتیک Bax در رت‌های ۲۴ ماهه در مقایسه با رت‌های جوان ۱۲ ماهه به طور معنی داری بیشتر بود، در حالی که سطوح پروتئین پروآپوپتیک Bcl-2 در رت‌های پیر کاهش معنی داری یافته بود (۹). هم‌چنین افزایش بیان Bax و کاهش بیان Bcl-2 در بافت کلیه رت‌های اسپراگ دولی ۶ هفته‌ای مبتلا به بیماری مزمن کلیوی نیز توسط محققان دیگر مشاهده شد (۱۹). بنابراین به نظر می‌رسد افزایش سطوح کلیوی Bax و نسبت Bax/Bcl-2 و هم‌چنین کاهش Bcl-2 ناشی از القای بیماری مزمن کلیوی در رت‌های پیر تحقیق حاضر، بیان‌گر تشدید فرآیند آپوپتوز کلیوی در شرایط هم‌زمان القای بیماری مزمن کلیوی و پیری باشد که متعاقب مداخله‌های غیردارویی تمرین ورزشی، مکمل سیر و ترکیب این دو شیوه کاهش یافت. اما با وجود این کاهش، سطوح Bcl-2 در مقایسه پایین‌تری از مقادیر پایه در گروه کنترل باقی ماند که ممکن است به عواملی مانند کم بودن مدت تمرین در هر جلسه و یا دوره تمرینی (۸ هفته)، کافی نبودن دوز مکمل و یا سطوح غیر نرمال فاکتورهای تنظیم‌کننده آپوپتوز در این آزمودنی‌ها مربوط باشد. در این خصوص چن و همکاران نشان دادند که تمرین مزمن دوییدن روی نوار گردان (۳۰ دقیقه و یا ۶۰ دقیقه در هر جلسه و ۳ جلسه در هفته) با کاهش بیان Bax و افزایش بیان Bcl-2 و نسبت Bcl-2/Bax در رت‌های مبتلا به بیماری مزمن کلیوی همراه بود (۱۹). علاوه بر این، کواک و همکاران نیز اظهار کردند که فعالیت ورزشی سطوح افزایش یافته Bax/Bcl-2 در بافت قلبی رت‌های پیر را به واسطه کاهش بیان پروتئین Bax و افزایش سطوح Bcl-2 قلبی کاهش می‌دهد (۱۵) که این مسئله تایید دیگری بر نقش حمایتی فعالیت ورزشی از طریق کاهش روند آپوپتوز در بافت‌های بدن است. بیماری مزمن کلیوی که با افزایش شاخص‌های التهابی همراه است، درازمدت باعث تغییرات لایه داخلی عروق، افزایش میزان کلاژن و کلسیم، ظهور لیوپروتئین‌های آتروژنیک،



شکل ۳. مقایسه نسبت Bax/Bcl-2 در بافت کلیه گروه‌های مختلف پژوهش

\*: معنی داری تفاوت نسبت به گروه کنترل؛ #: معنی داری تفاوت نسبت به گروه‌های دوکسی رویسین و دوکسی رویسین-سالین

هم‌چنین تفاوت معنی‌داری بین تأثیر مداخله‌های تمرین، مصرف سیر و ترکیبی از این دو شیوه در کاستن سطوح Bax و نسبت Bax/Bcl-2 و یا افزایش سطوح Bcl-2 در بافت کلیه رت‌های پیر مبتلا به بیماری مزمن کلیوی مشاهده نشد ( $p > 0.05$ ).

## بحث

به دلیل کاهش فعالیت بدنی، کاهش قدرت عضلانی و تغییر ساختار عروقی نفرون‌ها، عملکرد گلوبولین کلیوی و سرعت فیلتراسیون با افزایش سن کاهش یافته و در نتیجه احتمال بروز بیماری مزمن کلیوی افزایش می‌یابد (۱۹). از این رو، در تحقیق حاضر اثر ترکیبی تمرین هوازی منظم به همراه مصرف عصاره سیر بر برخی از فاکتورهای تنظیمی آپوپتوز کلیوی در رت‌های پیر مبتلا به بیماری مزمن کلیوی مورد مطالعه قرار گرفت. بر اساس یافته‌ها، القای بیماری مزمن کلیوی با کاهش معنی‌دار سطوح Bcl-2 و افزایش معنی‌دار سطوح Bax و نسبت Bax/Bcl-2 در بافت کلیه رت‌های پیر همراه بود که این تغییرات متعاقب مداخله‌های تحقیق به طور معنی‌داری معکوس شد. این نتایج بیان‌گر تأثیر حمایت کلیوی مداخله‌های پژوهش از طریق کاهش آپوپتوز کلیوی و سرکوب عوارض احتمالی ناشی از عوارض آن در بافت کلیوی موش‌های پیر مبتلا به بیماری مزمن کلیوی

منفی پروتئین کیناز فعال شده از میتوزن P38، فاکتور هسته‌ای کاپا بی (NF- $\kappa$ B) و کاسپازهای ۳ و ۹ میانجی‌گری شود (۲۲). NF- $\kappa$ B به واسطه وضعیت روداکس سلول تنظیم می‌شود و نقش مهمی در بیان ژن‌های مختلف مداخله کننده در القای استرس اکسیداتیو و آترواسکلروز دارد. هم‌چنین مشاهده شد که سطوح آنتی‌اکسیدانی زیاد موجود در عصاره سیر کهنه می‌تواند از آسیب اکسایشی در طول ایسکمی یا ریزش مجدد و در نتیجه مرگ سلولی و آپوپتوز در سلول‌های عصبی پیش‌گیری نماید (۲۳). علاوه بر این، افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، کاهش استرس اکسیداتیو کلیوی، بهبود تغییرات آتروفی گلوبومرولی، فیلتراسیون سلول‌های التهابی، نکروز توبولی ناشی از سیسپلاتین متعاقب سه هفته تیمار با عصاره سیر کهنه در رت‌های بزرگسال (۲۴) و افزایش معنی‌دار در سطوح کاهش یافته آنتی‌اکسیدانی تام پلازما، بافت‌های کبد و کلیه موش‌های دیابتی پس از دو هفته تیمار با عصاره آبی سیر تازه (۲۵) توسط محققان دیگر گزارش شده است. از سوی دیگر الماسی و همکاران نشان دادند که دوهفته تیمار با گرلین منجر به تنظیم مثبت Bcl-2 و کاهش Bax/Bcl-2 در بافت کلیه رت‌های مواجه با هیپوکسی مزمن می‌شود که بخشی از اثرات ضد آپوپتیک گرلین می‌تواند به علت خواص آنتی‌اکسیدانی آن و مهار کاسپازهای ۳ و ۹ در بافت کلیه باشد (۲۶). بنابراین مشابه با فعالیت ورزشی، مکمل سیر هم ممکن است بخشی از اثرات ضد آپوپتیک خود را به واسطه خواص آنتی‌اکسیدانی و از طریق کنترل فاکتورهای تنظیمی آپوپتوز در بافت کلیه رت‌های پیر مبتلا به بیماری مزمن کلیه ایفا نماید. با این وجود برای درک دقیق‌تر مکانیسم‌های اثر گذار این مداخلات نیاز به مطالعات بیشتری است.

### نتیجه‌گیری

بر اساس یافته‌های پژوهش، القای بیماری مزمن کلیوی با کاهش معنی‌دار Bcl-2 و افزایش معنی‌دار سطوح Bax و نسبت Bax/Bcl-2 در بافت کلیه رت‌های پیر همراه بود که این تغییرات متعاقب ۸ هفته ورزش شنا، مصرف

افزایش استرس اکسیداتیو، افزایش آسیب سلولی و کاهش فعالیت کلیه می‌شود (۲۰). هم‌چنین افزایش نسبت Bax/Bcl-2 ممکن است نفوذپذیری منافذ غشاء میتوکندریایی را افزایش دهد و با فعال سازی کاسپاز ۳ منجر به التهاب کلیوی، آتروفی توبولی و فیبروز کلیوی شود (۲۱). اگرچه مکانیسم‌های دقیق فعالیت ورزشی بر تنظیم مسیر آپوپتوزی حاصل از بیماری مزمن کلیوی، پیری یا هر دو به درستی مشخص نیست، ولی در تحقیقات قبلی مشاهده شد که فعالیت ورزشی می‌تواند از طریق کاهش پروتئین پروآپوپتیک Bax و افزایش پروتئین ضد آپوپتیک Bcl-2 و در نتیجه مهار آزادسازی سیتوکروم c مانع فعال شدن کاسپاز ۹ شود. کاسپاز ۹ نیز با فعال سازی کاسپاز ۳ می‌تواند منجر به تنظیم مثبت روند آپوپتوز شود (۱۹). اگرچه در تحقیق حاضر سطوح کلیوی کاسپازهای ۳ و ۹ تعیین نشد که می‌تواند از محدودیت‌های تحقیق حاضر نیز محسوب گردد، ولی در تحقیقات دیگر مشاهده شد که فعالیت ورزشی با کاهش فعالیت کاسپاز آغازگر ۹ و کاسپاز اجرایی ۳ می‌تواند از دو مسیر داخلی و خارجی مانع آپوپتوز و قطعه قطعه شدن DNA شود (۱۹، ۱۵).

از دیگر یافته‌های مهم تحقیق حاضر، افزایش سطوح Bcl-2 و کاهش سطوح Bax و نسبت Bax/Bcl-2 پس از ۸ هفته مصرف عصاره سیر در رت‌های پیر مبتلا به بیماری مزمن کلیوی بود. هر چند تأثیر تعاملی مصرف عصاره سیر و فعالیت ورزشی شنا با اثرهم افزایی اندکی در تغییر متغیرهای مورد مطالعه همراه بود که عدم تأثیر تعاملی قابل توجه ممکن است به طولانی نبودن دوره زمانی تحقیق و یا دوز مکمل مورد مصرف مربوط شود. اگرچه مطالعات مستقیمی در خصوص تأثیر عصاره سیر بر فاکتورهای تنظیمی آپوپتوز کلیوی مشاهده نشد که این مسئله می‌تواند از محدودیت‌های دیگر مطالعه حاضر نیز محسوب شود، ولی زانگ و همکاران نشان دادند که تیمار با آلپسین منجر به کاهش صدمات و آپوپتوز در بافت‌های ریه، کلیه و روده در رت‌های دچار شوک تروما/هموراژیک می‌گردد و این اثرات ضد آپوپتوتیک آلپسین ممکن است از طریق تنظیم

8. Ashkenazi A, Dixit VM. Death receptors: signaling and modulation. *Science*. 1998; 281(5381): 1305-08.

9. Lee JH, Jung KJ, Kim JW, Kim HJ, Yu BP, Chung HY. Suppression of apoptosis by calorie restriction in aged kidney. *Experimental gerontology*. 2004; 39(9):1361-8.

10. Schmitt R, Cantley LG. The impact of aging on kidney repair. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*. 2008; 294(6): F1265-F72.

11. Sanz AB, Santamaría B, Ruiz-Ortega M, Egido J, Ortiz A. Mechanisms of renal apoptosis in health and disease. *Journal of the American Society of Nephrology*. 2008; 19(9): 1634-42.

12. Greco A, Paroni G, Seripa D, Addante F, Dagostino MP, Aucella F. Frailty, disability and physical exercise in the aging process and in chronic kidney disease. *Kidney and Blood Pressure Research*. 2014; 39(2-3):164-8.

13. Toyama K, Sugiyama S, Oka H, Sumida H, Ogawa H. Exercise therapy correlates with improving renal function through modifying lipid metabolism in patients with cardiovascular disease and chronic kidney disease. *Journal of cardiology*. 2010; 56(2):142-6.

14. Song W, Kwak H-B, Lawler JM. Exercise training attenuates age-induced changes in apoptotic signaling in rat skeletal muscle. *Antioxidants & redox signaling*. 2006; 8(3-4):517-28.

15. Kwak H-B, Song W, Lawler JM. Exercise training attenuates age-induced elevation in Bax/Bcl-2 ratio, apoptosis, and remodeling in the rat heart. *The FASEB Journal*. 2006; 20(6): 791-3.

16. Zaidi SK, Ansari SA, Ashraf GM, Jafri MA, Tabrez S, Banu N. Reno-protective effect of garlic extract against immobilization stress induced changes in rats. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. 2015; 5(5):364-9.

17. Peng C-C, Chen K-C, Hsieh C-L, Peng RY. Swimming exercise prevents fibrogenesis in chronic kidney disease by inhibiting the myofibroblast transdifferentiation. *PLoS ONE*. 2012;7(6):e37388.

18. Seo DY, Kwak HB, Lee SR, Cho YS, Song I-S, Kim N, et al. Effects of aged garlic extract and endurance exercise on skeletal muscle

عصاره سیر و یا ترکیبی از دو شیوه فوق معکوس شد. بنابراین شیوه غیر داوریی ورزش شنا، مصرف سیر و یا ترکیبی از این دو روش می تواند خواص حمایتی و ضد آپوپتوتیک خود را از طریق تنظیم مثبت Bcl-2 و کاهش سطوح Bax و نسبت Bax/Bcl-2 در بافت کلیه رت های پیر مبتلا به بیماری مزمن کلیه ایفا نمایند.

### تشکر و قدردانی

بدین وسیله از کلیه همکارانی که در اجرای این تحقیق ما را یاری نمودند تشکر و قدردانی می گردد.

### منابع

1. Wang X, Bonventre JV, Parrish AR. The aging kidney: increased susceptibility to nephrotoxicity. *International journal of molecular sciences*. 2014; 15(9):15358-76.

2. Park DC, Yeo SG. Aging. *Korean J Audiol*. 2013; 17(2):39-44.

3. Weinstein JR, Anderson S. The aging kidney: physiological changes. *Advances in chronic kidney disease*. 2010; 17(4):302-7.

4. Podhorska-Okolow M, Dziegiel P, Gomulkiewicz A, Kisiela D, Dolinska-Krajewska B, Jethon Z, et al. Exercise-induced apoptosis in rat kidney is mediated by both angiotensin II AT1 and AT2 receptors. 2006; 21(5):459-66.

5. Thomas SE, Anderson S, Gordon KL, Oyama TT, Shankland SJ, Johnson RJ. Tubulointerstitial disease in aging: evidence for underlying peritubular capillary damage, a potential role for renal ischemia. *Journal of the American Society of Nephrology*. 1998; 9(2): 231-42.

6. Elmore S. Apoptosis: a review of programmed cell death. *Toxicologic pathology*. 2007; 35(4):495-516.

7. Qiao X, Chen X, Wu D, Ding R, Wang J, Hong Q, et al. Mitochondrial pathway is responsible for aging-related increase of tubular cell apoptosis in renal ischemia/reperfusion injury. *The Journals of Gerontology Series A: Biological Sciences and Medical Sciences*. 2005;60(7):830-9.



FNDC-5 and circulating irisin in high-fat-diet rat models. *Nutrition research and practice*. 2014; 8(2):177-82.

19. Chen K-C, Peng C-C, Hsieh C-L, Peng RY. Exercise ameliorates renal cell apoptosis in chronic kidney disease by intervening in the intrinsic and the extrinsic apoptotic pathways in a rat model. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2013; 2013.

20. Schlondorff DO. Overview of factors contributing to the pathophysiology of progressive renal disease. *Kidney international*. 2008; 74(7):860-6.

21. Yang B, Johnson TS, Thomas GL, Watson PF, Wagner B, Furness PN, et al. A shift in the Bax/Bcl-2 balance may activate caspase-3 and modulate apoptosis in experimental glomerulonephritis. *Kidney international*. 2002; 62(4): 1301-13.

22. Zhang Y, Yao H-P, Huang F-F, Wu W, Gao Y, Chen Z-B, et al. Allicin, a major component

of garlic, inhibits apoptosis in vital organs in rats with trauma/hemorrhagic shock\*. *Critical care medicine*. 2008; 36(12):3226-32.

23. Mathew B, Biju R. Neuroprotective effects of garlic: a review. *Libyan J Med*. 2008; 3(1):23-33.

24. Nasr AY, Saleh HA. Aged garlic extract protects against oxidative stress and renal changes in cisplatin-treated adult male rats. *Cancer cell international*. 2014; 14(1):92-3.

25. Mohandas Rai, Paramesha S, Suchetha Kumari N, Damodara Gowda KM, Vidhya GG. Effect of garlic on total antioxidants in alloxan induced diabetes mellitus rats. *IJBAR* 2010; 02(09):317-27.

26. Almasi S, Shahsavandi B, Aliparasty MR, Alipour MR, Rahnema B, Feizi H. The anti-apoptotic effect of ghrelin in the renal tissue of chronic hypoxic rats. *Physiology and Pharmacology*. 2015; 19(2):114-20.