

اثر همزمان تمرین هوازی منظم و عصاره سیر بر شاخص‌های آپوپتوزی بافت قلب موش صحرایی پیر تحت بیماری مزمن کلیوی

زینب رضوی مجد^۱، حسن متین همایی^۲، محمد علی آذربایجانی^{۳*}، پروین فرزانی^۴

- ۱- دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکزی، تهران، ایران
 - ۲- دانشیار، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکزی، تهران، ایران
 - ۳- استاد، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکزی، تهران، ایران
 - ۴- دانشیار، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساری، ساری، ایران
- * آدرس مکاتبه: تهران، شهرک غرب ابتدای خیابان ایران زمین دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکزی، گروه فیزیولوژی ورزشی
تلفن: ۸۸۰۷۴۹۰۵ (۰۲۱)، نمابر: ۸۸۰۷۴۸۷۴ (۰۲۱)
پست الکترونیک: m_azarbayjani@iauctb.ac.ir

تاریخ دریافت: ۹۴/۹/۱۷

تاریخ تصویب: ۹۴/۱۰/۲۷

چکیده

مقدمه: یکی از مشکلات ناشی از سالمندی توسعه آپوپتوز در بافت‌های مختلف بدن می‌باشد. شواهدی وجود دارد که برخی از داروها از طریق توسعه فشار اکسیداتیو موجب توسعه این روند می‌شوند. با این وجود فعالیت‌های بدنی و داروهای گیاهی با دو مکانیسم متفاوت می‌توانند موجب مهار آپوپتوز شوند.

هدف: هدف از پژوهش حاضر، بررسی اثر تمرین هوازی منظم به همراه مصرف عصاره سیر بر سطوح Bcl-2 و Bax و نسبت آن دو در بافت قلب موش‌های صحرایی مسن مبتلا بیماری مزمن کلیوی بود.

روش بررسی: در یک کارآزمایی تجربی، ۴۲ سر موش صحرایی نر ویستار پیر (۴۸ تا ۵۰ هفته) انتخاب و به طور تصادفی به گروه‌های کنترل، دوکسوروبیسین، دوکسوروبیسین-سالین، دوکسوروبیسین-تمرین، دوکسوروبیسین-سیر، دوکسوروبیسین-سیر-تمرین تقسیم شدند. بیماری مزمن کلیوی با یک بار تزریق زیر جلدی دوکسوروبیسین (۸/۵ میلی‌گرم/کیلوگرم وزن) القا شد. برنامه تمرینی شنا شامل ۳۰ دقیقه/روز، سه روز/هفته به مدت ۸ هفته بود. گروه‌های دوکسوروبیسین-سیر و ترکیبی با عصاره سیر (۲/۵ گرم/کیلوگرم وزن بدن) گاوآژ شدند. سطوح قلبی Bcl-2 و Bax به روش الایزا سنجیده شد.

نتایج: نتایج نشان داد هشت هفته تمرین شنا و مصرف عصاره سیر و ترکیب تمرین و عصاره سیر سبب افزایش معنی‌داری در سطوح Bcl-2 و همچنین کاهش معنی‌داری در سطوح Bax و نسبت Bcl-2 به Bax بافت قلب موش‌های مسن تحت بیماری مزمن کلیوی شد ($P < 0/05$).

نتیجه‌گیری: بر اساس نتایج، فعالیت بدنی و سیر هریک به تنهایی اثر محافظتی بر بافت قلب را اعمال می‌نمایند. اما این دو مداخله اثر یکدیگر را در این محافظت تقویت نمی‌نمایند. لذا پیشنهاد می‌شود می‌توان از هریک به تنهایی استفاده نمود.

کل‌واژگان: آپوپتوز، بیماری مزمن کلیوی، تمرین هوازی منظم، دوکسوروبیسین، عصاره سیر، Bcl-2، Bax



مقدمه

سالم پیر شدن، حق همه‌ی افراد است و این امر بر اهمیت پدیده‌ی سالمندی و پیشگیری از مشکلات آن می‌افزاید [۱] با افزایش سن اختلالات فیزیولوژیک، مشکلات جسمانی ناشی از آن و خطر ابتلا به بیماری‌های مزمن افزایش یافته که یکی از این بیماری‌ها، بیماری مزمن کلیوی است. در طی دو قرن گذشته، شمار بیماران سالمند مبتلا به نارسایی مزمن کلیوی، در بیشتر کشورها افزایش یافته است. بنابراین الگوی سنی این بیماری به سمت سالمندی گرایش پیدا کرده است و شیوع آن به طور یکنواخت در سرتاسر جهان در حال افزایش است [۲]. همه بیماران با نارسایی مزمن کلیه بدون در نظر گرفتن سایر عوامل در بالاترین گروه بیماران با مشکلات قلبی عروقی قرار می‌گیرند. بیماری‌های قلبی عروقی حدود ۴۰ تا ۵۰ درصد علت تمامی مرگ و میرهای بیماران با نارسایی مزمن کلیه در Stage 5 را تشکیل می‌دهد و میزان مرگ و میر به علت مشکلات قلبی عروقی در میان بیماران با نارسایی کلیوی ۱۵ برابر بیشتر از مردمان عادی می‌باشد [۳]. متانالیز انجام شده بر روی شانزده مقاله نشان داد از میان ۸۰۰۹۸ بیمار مبتلا به نارسایی قلب، ۲۹ درصد به نارسایی کلیوی متوسط تا شدید و ۶۳ درصد به نارسایی کلیوی خفیف دچار بودند [۴]. اختلال کارکرد کلیه موجب تشدید و پیشرفت آترواسکلروز و هایپرتروفی بطنی می‌شود، با شدت یافتن اختلال در عملکرد قلب، کسر جهشی بطن چپ کاهش یافته و موجب کاهش خون‌رسانی به کلیه شده و این امر سبب پیشرفت اختلال کارکرد کلیه و افزایش بار مایعات بدن می‌شود [۵، ۶]. با پیشرفت سن از میزان کارایی بافت قلب (تغییرات فشار سیستولیک و کاهش پتانسیل ترمیمی) کاسته و بطن چپ دچار هایپرتروفی شده و این امر باعث کاهش قطر داخلی بطن چپ و برون‌ده قلب می‌شود [۷]. پیری یک موضوع بسیار مهم و مرتبط با کارایی ارگان‌های بدن موجودات زنده می‌باشد و با پیشرفت سن موجود زنده تحت تأثیر فاکتورهای مختلف نظیر پرتوها، مواد شیمیایی و مخصوصاً استرس‌های اکسیداتیو با منشا داخلی و خارجی قرار می‌گیرد و احتمال اینکه تعداد کثیری از سلول‌های قلبی دچار آپوپتوزیس شوند وجود دارد،

به طوری که نتایج مطالعات کاژسترا (Kajstura) و همکاران (۱۹۹۶) نشانگر افزایش ۲۰ درصدی آپوپتوزیس در قلب موش‌های ۲۴ ماهه در مقایسه با رت‌های ۱۲ ماهه بود [۸].

دوکسوروبیسین یا آدریامایسین یکی از قوی‌ترین داروهای آنتراسیکلین است که برای درمان چندین نوع از سرطان‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد. دوکسوروبیسین با تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن موجب آسیب به غشاء میتوکندری و آزاد شدن سیتوکروم C و در نتیجه القاء آپوپتوز در کاردیومیوسیت‌ها می‌شود [۹، ۸]. در این راستا محمدی (۲۰۱۳) اثر داروی دوکسوروبیسین بر بیان ژن‌های آپوپتوزی Bax و Bcl2 قلب موش صحرائی را بررسی نموده و مشاهده کرد دوکسوروبیسین فیروز درون میوکارد را افزایش داده و موجب کاهش بیان ژن Bcl-2 و افزایش بیان ژن Bax می‌شود [۱۰].

در پاسخ به محرک آپوپتوزی تنوعی از سیگنال‌های درونی و بیرونی، بیان ژن‌هایی را تنظیم می‌کند که شروع آپوپتوز را کنترل می‌کنند. در مسیر داخلی، ژن‌ها پروتئین‌هایی مانند bax را بیان می‌کنند که آپوپتوز را آغاز نموده و پروتئین‌های بازدارنده آپوپتوز مانند Bcl-2 را فعال می‌نمایند [۱۱].

به طور کلی این احتمال وجود دارد که در افراد سالمند مبتلا به بیماری مزمن کلیوی فعالیت بدنی منظم می‌تواند فرآیندهای سیگنالیک در CKD را کاهش داده و یا معکوس نماید که ممکن است این اثر را از طریق هر دو مسیر داخلی و بیرونی آپوپتوزی اعمال نماید [۱۲].

از طرفی دیگر، در حال حاضر مصرف بعضی از گیاهان دارویی برای درمان و پیشگیری بسیاری از بیماری‌ها افزایش یافته است. بنابراین با توجه به اینکه مصرف مکمل‌های گیاهی در مقایسه با داروهای صناعی اثرات جانبی کمتری دارد. احتمالاً استفاده از این مکمل‌های گیاهی در برخی موارد می‌تواند جایگزین مناسبی برای دارودرمانی باشد [۳]. یکی از گیاهان سودمند در این رابطه سیر می‌باشد که استفاده‌های سنتی آن مورد تأیید و تصدیق قرار گرفته است. گزارش شده ترکیبات منحصر به فرد موجود در سیر موجب کاهش غلظت چربی پلاسما، استرس اکسیداتیو و سابتوکین‌های التهابی می‌شود [۱۳، ۱۴].



قفس قرار گرفت. در تمام مراحل پژوهش، آب مورد نیاز حیوان به صورت آزاد در بطری ۵۰۰ میلی‌لیتری ویژه‌ی حیوانات آزمایشگاهی در اختیار آنها قرار گرفت.

پروتکل تمرینی

قبل از شروع پروتکل اصلی به منظور آشنایی با شنا، حیوانات گروه‌های تمرینی به مدت یک هفته (پنج روز) و به مدت پنج دقیقه در روز، تمرین داده شدند. برنامه تمرینی شامل شنا در استخر جوندگان با دمای آب 2 ± 32 درجه سانتی‌گراد، سه روز در هفته، ۳۰ دقیقه در روز و به مدت ۸ هفته بود [۱۵]. همچنین پنج دقیقه زمان قبل و بعد از تمرین به گرم و سرد کردن حیوانات اختصاص داده می‌شد.

آماده‌سازی و مصرف عصاره سیر

در ابتدا سیر کهنه از بازار تهیه، سپس تمیز و خرد (له) شد. بعد در دما و رطوبت معمولی به مدت سه ماه مانده و به روش ماسراسیون عصاره‌گیری شد. جهت عصاره‌گیری، ابتدا در یک بالن یک لیتری میزان ۵۰ گرم از سیر خرد شده را ریخته و به نسبت ۱ به ۳ متانول به آن اضافه و روی دستگاه تکان‌دهنده به مدت ۲۴ ساعت قرار داده شد. سپس عصاره حاصل توسط کاغذ صافی و قیف بوخنر صاف و بر روی تغال باقی‌مانده، متانول ریخته شد. بعد از آن عصاره در دستگاه تقطیر در خلأ در دمای ۵۰ درجه و دور چرخش ۷۰ تقطیر شد، تا زمانی که حجم باقی‌مانده به یک‌پنجم حجم اولیه رسید. در این حالت مخزن عصاره، از دستگاه جدا و عصاره باقی‌مانده بعد از سرد شدن، سه مرتبه و هر بار با حجم ۵۰ میلی‌لیتر کلروفورم دکانته شد. باقی‌مانده در ظرف پتری با وزن معلوم ریخته و در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد در دستگاه آون خشک شد. بعد از خشک شدن عصاره، توزین شد. پس از مخلوط پودر حاصل با آب مقطر، عصاره حاصل به ۲/۵ گرم به ازای هر کیلوگرم وزن به رت‌های پیر ۳ روز در هفته به گروه‌های دوکسوروبیسین-سیر و ترکیبی گاوآژ شد. گروه سالیین هم، به همان میزان مکمل، سالیین به صورت گاوآژ دریافت نمودند [۱۶].

لذا تاکنون پژوهش قابل توجهی در رابطه با اثر هم‌زمان فعالیت بدنی و گیاهان دارویی در بیماران مبتلا به بیماری مزمن کلیوی یافت نشد. لذا با توجه به اطلاعات اندک در این زمینه و اثرات مشابه فعالیت بدنی و عصاره سیر، این پژوهش به بررسی اثر هشت هفته تمرینات منظم شنا به همراه مصرف عصاره سیر بر برخی از شاخص‌های آپوتوزی و ضد آپوتوزی بافت قلب موش‌های پیر می‌پردازد که آیا نتایج حاصله می‌تواند برای افراد سالمند که در معرض خطر بالایی از بیماری‌های مزمن هستند، مفید باشد.

مواد و روش‌ها

جمعیت و نمونه آماری

جامعه آماری این پژوهش تجربی، موش‌های صحرائی نر مسن ۵۰ - ۴۰ هفته‌ای نژاد ویستار با میانگین وزن اولیه ۳۰۰-۲۵۰ گرم مرکز پژوهش و تکثیر حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه آزاد واحد ساری هستند که از بین آنان ۴۲ سر موش انتخاب و پس از ورود به محیط پژوهش و آشنایی یک هفته‌ای با محیط جدید و نحوه فعالیت در استخر شنا، به روش تصادفی به ۶ گروه ۱- گروه کنترل، ۲- گروه سالیین، ۳- گروه دوکسوروبیسین، ۴- گروه دوکسوروبیسین + تمرین هوازی، ۵- گروه دوکسوروبیسین + مصرف سیر، ۶- گروه دوکسوروبیسین + تمرین هوازی + مصرف سیر تقسیم شدند.

محل تحقیقات و تغذیه

حیوانات مورد آزمایش در این پژوهش در طی مراحل پژوهش در قفس‌های پلی‌کربنات شفاف به ابعاد طول ۱۵ × ۳۰ سانتی‌متر ساخت شرکت رازی راد، چرخه روشنایی به تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت، با دمای محیطی 2 ± 22 درجه سانتی‌گراد و رطوبت هوای 5 ± 50 درصد همچنین با تهویه‌ی مناسب نگهداری شدند. غذای آزمودنی‌های این پژوهش، تولید شرکت خوراک دام به پرور کرج بوده که بر اساس وزن‌کشی سه روز یک‌بار با ترازوی استاندارد ویژه و با توجه به جیره‌ی طبیعی ۱۰ گرم به ازای هر ۱۰۰ گرم وزن بدن در روز در هر



نحوه تهیه و تزریق داروی دوکسوروبیسین و سالین

داروی دوکسوروبیسین از شرکت اسپانیایی خریداری شده، و سپس برای تهیه دوز موردنظر (۸/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن) با آب مقطر رقیق شد. دوکسوروبیسین به میزان موردنظر بوسیله سرنگ انسولینی به صورت داخل صفاقی یک‌بار در ابتدای هفته اول تزریق شد [۱۷]. همچنین با توجه به اثرات احتمالی ناشی از تزریق در گروه‌های دریافت‌کننده دوکسوروبیسین، به منظور یکسان‌سازی شرایط برای همه آزمودنی‌ها، سایر گروه‌ها نیز به همان میزان سالین (سدیم کلراید ۰/۹ درصد) دریافت کرد. برای جلوگیری از تأثیر آهنگ شبانه‌روزی تمام تزریقات همگن و حدود ساعت ۱۰ صبح صورت گرفت.

بافت‌برداری و آنالیز بیوشیمیایی متغیرها

۷۲ ساعت پس از آخرین مداخله‌ها و متعاقب ۱۲ - ۱۰ 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 قلب بلافاصله جدا شد. سطوح Bcl-2 و Bax قلبی با استفاده از کیت‌های تجاری ویژه ساخت شرکت کازابایو (Cusabio) کشور چین به ترتیب با حساسیت کمتر از ۰/۰۷۸ نانوگرم بر میلی‌لیتر و ۱۵/۶ پیکوگرم بر میلی‌لیتر، به روش الیزا تعیین شد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها

برای دسته‌بندی و تعیین شاخص‌های پراکندگی از آمار توصیفی و جهت بررسی تجانس واریانس متغیرها از آزمون لون استفاده شد. برای بررسی تغییرات بین گروه‌ها از آنجایی که دو مداخله تمرین و مکمل سیر وجود داشت از آزمون آنالیز واریانس دوراهه (ANOVA) برای تعیین اثر اصلی تمرین، اثر اصلی مکمل و تعامل تمرین و مکمل استفاده شد. در صورت مشاهده تفاوت معنی‌دار، جهت تعیین تفاوت بین گروه‌ها از آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. در این بررسی‌ها مقدار معنی‌داری در سطح $P \leq 0.05$ از طریق نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۰ استفاده شد.

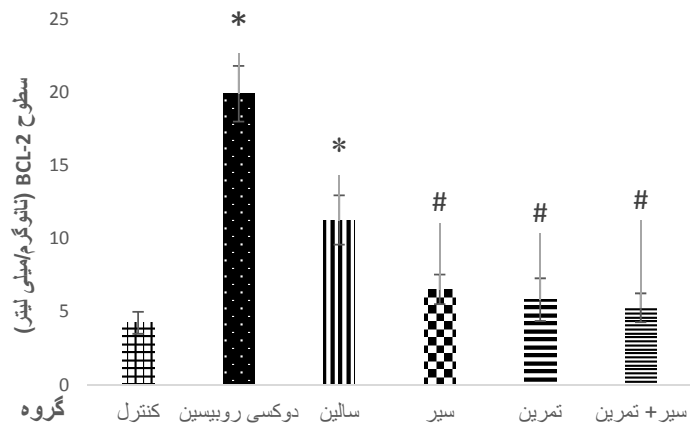
نتایج

القای دوکسوروبیسین منجر به کاهش معنی‌دار سطوح قلبی Bcl-2 (۰/۴۶/۵۸، $P=0.000$) در موش‌های پیر شد. اما سطوح قلبی Bcl-2 در موش‌های پیر تحت بیماری مزمن کلیوی پس از ۸ هفته تمرین هوازی (اثر اصلی تمرین)، مصرف مکمل سیر (اثر اصلی مکمل) و ترکیبی (اثر تعاملی تمرین در مکمل) از هر دو مداخله در مقایسه با گروه‌های دوکسوروبیسین (به ترتیب ۰/۶۱/۰۴، $P=0.005$ ؛ ۰/۵۲/۳۲، $P=0.023$ ؛ ۰/۶۴/۵۳، $P=0.002$) و دوکسو رویسین + سالین (به ترتیب ۰/۵۵/۶۲، $P=0.009$ ؛ ۰/۴۷/۵۲، $P=0.041$ ؛ ۰/۵۸/۹۹، $P=0.005$) افزایش معنی‌داری یافت. اما هر کدام از سه مداخله (تمرین، عصاره سیر و ترکیب هردو) به یک اندازه بر افزایش سطوح قلبی Bcl-2 اثر داشته‌اند ($P > 0.05$) (شکل شماره ۱).

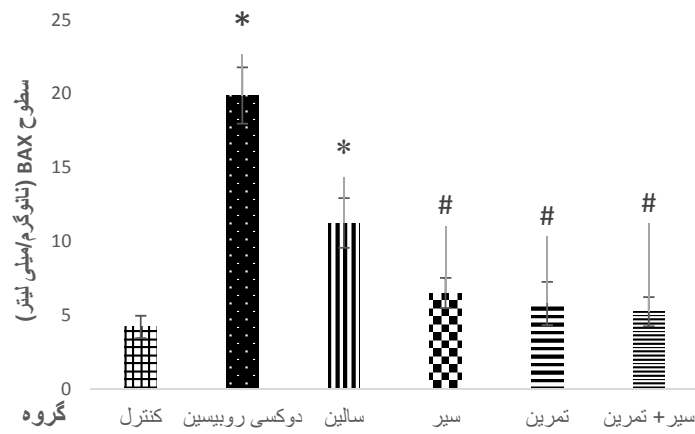
سطوح قلبی Bax موش‌های پیر پس از القای دوکسی رویسین افزایش معنی‌داری یافت (۰/۴۷/۹۵، $P=0.000$). بعلاوه ۸ هفته تمرین هوازی منظم (اثر اصلی تمرین)، مصرف مکمل سیر (اثر اصلی مکمل) و ترکیبی (اثر تعاملی تمرین در مکمل) از هر دو مداخله منجر به کاهش معنی‌دار سطوح قلبی Bax موش‌های پیر بیمار در مقایسه با گروه‌های دوکسی رویسین (به ترتیب ۰/۲۴/۲۰، $P=0.000$ ؛ ۰/۱۹/۰۷، $P=0.006$ ؛ ۰/۲۶/۶۷، $P=0.000$) و دوکسی رویسین + سالین (به ترتیب ۰/۲۳/۲۰، $P=0.001$ ؛ ۰/۱۸/۰۰، $P=0.012$ ؛ ۰/۲۵/۷۰، $P=0.000$) شد. اما هر کدام از سه مداخله (تمرین، عصاره سیر و ترکیب هردو) به یک اندازه بر کاهش سطوح قلبی Bax اثر داشته‌اند (شکل شماره ۲).

نسبت Bax به Bcl-2 موش‌های پیر پس از القای دوکسو رویسین افزایش معنی‌داری یافت (۰/۱۷۶/۵۴، $P=0.000$). بعلاوه ۸ هفته تمرین هوازی منظم، مصرف مکمل سیر و ترکیبی از هر دو مداخله منجر به کاهش معنی‌دار نسبت Bax به Bcl-2 موش‌های پیر بیمار در مقایسه با گروه‌های دوکسو رویسین (به ترتیب ۰/۵۰/۲۱، $P=0.000$ ؛ ۰/۴۱/۲۱، $P=0.000$ ؛ ۰/۵۵/۰۱، $P=0.000$) و دوکسوروبیسین + سالین (به ترتیب ۰/۴۸/۳۵، $P=0.000$ ؛ ۰/۴۲/۱۳، $P=0.003$ ؛ ۰/۵۳/۳۳، $P=0.000$) شد (شکل شماره ۳).

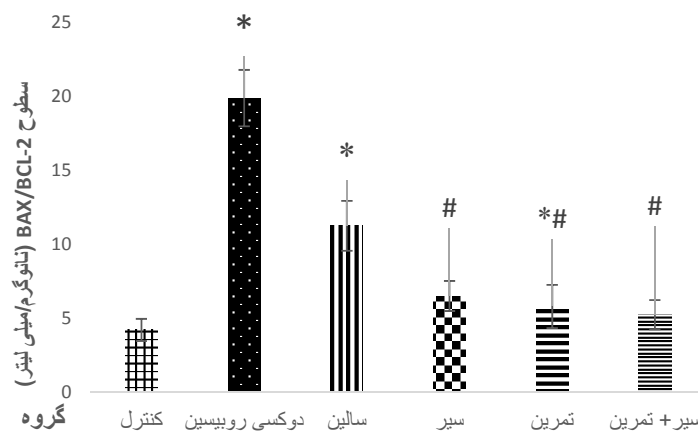




شکل شماره ۱- مقایسه میانگین سطوح قلبی Bcl-2 در گروه‌های مختلف



شکل شماره ۲- مقایسه میانگین سطوح قلبی Bax در گروه‌های مختلف



شکل شماره ۳- مقایسه میانگین نسبت Bax به Bcl-2 قلبی در گروه‌های مختلف



بحث

نتایج این مطالعه نشان داد سطوح Bax بافت قلب موش‌های پیر پس از القای دوکسیروبیسین افزایش معنی‌داری و کاهش معنی‌دار در سطوح قلبی Bcl-2 نسبت Bax به Bcl-2 بافت قلب موش‌های مسن پس از القای دوکسیروبیسین افزایش معنی‌داری یافت. ورزش منظم هوازی به همراه مصرف عصاره‌ی سیر از تغییرات شاخص‌های آپوپتوزی ناشی از سن و القاء دوکسیروبیسین که سبب افزایش پروتئین Bax و کاهش پروتئین Bcl-2 که مرگ سلول را افزایش می‌دهد، جلوگیری و محافظت می‌کند.

با پیشرفت سن میزان مرگ سلول‌های قلبی افزایش می‌یابد. پیری پروسه بسیار پیچیده‌ای است و تغییرات مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی، تغییر در سیستم عروق کرونری و ماتریکس خارج سلولی همه در بروز دو الگوی مهم مرگ سلولی نظیر آپوپتوزیس و نکروزیس دخیل هستند برخی از مطالعات به این نتیجه رسیدند که در سلول‌های پیر بافت قلب، میزان بیان ژن‌های P16/INK4A و p53 افزایش یافته که به دلیل تغییرات در آنزیم تلومراز، روند پیری در سلول آغاز شده و الگوی مرگ سلولی به شکل آپوپتوزیس بارز می‌شود [۲۰-۱۸]. گزارش شده در زمان پیری به علت کاهش بیان و عملکرد آنزیم Sarcoplasmic Reticulum Ca ATPase و کاهش بیان BCL ۲ و Survivin القاء آپوپتوزیس اتفاق می‌افتد [۲۲، ۲۱].

از سوی دیگر اطلاعات موجود نشان می‌دهد که دوکسیروبیسین از طریق اختلال کارکردهای مهم میتوکندری آسیب‌های بافتی ایجاد می‌کند. محمدی (۲۰۱۳) نشان داد با افزایش بیان ژن Bax و از طرفی کاهش بیان ژن Bcl2 بعد از تزریق دوکسیروبیسین، ناپایداری غشاء میتوکندری افزایش یافت و در نتیجه نفوذپذیری آن نسبت به سیتوکروم C افزایش می‌یابد. لذا می‌توان نتیجه گرفت که تزریق دوکسیروبیسین باعث آسیب غشاء میتوکندری و در نتیجه ایجاد آپوپتوز از طریق مسیر داخلی در میوکارد موش صحرائی شده است [۱۱]. ذوالفقارزاده و دبیدی روشن (۲۰۱۳) گزارش نمودند اجرای تمرینات منظم هوازی قبل از تزریق دوکسیروبیسین،

عدم تعادل اکسیدانٹی/آنتی‌اکسیدانٹی ناشی از سمیت دارو را در بافت کبد معکوس نموده و پیشنهاد دادند که تمرین منظم هوازی می‌تواند به عنوان یک رویکرد درمانی جهت کاهش سمیت کبدی ناشی از دوکسیروبیسین مورد استفاده قرار گیرد [۲۳]. در همین راستا چن (Chen) و همکاران نشان دادند که CKD ناشی از دوکسیروبیسین (DRCKD) موجب افزایش نسبت Bax به Bcl-2 و سیتوکروم C درون میتوکندریایی شد که ورزش این نسبت را معکوس و همچنین گونه‌های اکسیژن واکنش‌پذیر را کاهش داد [۲۴].

فعالیت بدنی ظاهراً از طریق مسیر میتوکندریایی، آپوپتوز را در قلب موش‌های مسن تحت القاء دوکسیروبیسین را بهبود می‌بخشد. مسیر میتوکندریایی آپوپتوز تا حد زیادی از طریق پروتئین‌های خانواده Bcl-2 میانجی‌گری می‌شود که آزادسازی سیتوکروم C میتوکندریایی را مهار می‌کنند [۲۵]. افزایش Bax/Bak، گونه‌های اکسیژن واکنش‌پذیر و افزایش یون‌های کلسیم باعث آزادسازی سیتوکروم C میتوکندریایی از میتوکندری به سیتوزول می‌شوند. بنابراین، به نظر می‌رسد فعالیت بدنی تا حدودی از طریق کاهش ROS و پیشگیری از دست دادن متعاقب سیتوکروم C درون میتوکندریایی در کاهش آپوپتوز سلول قلبی مفید باشد [۲۵].

علاوه بر این گزارش شده سیر در کاهش عوامل خطر مختلف مرتبط با بیماری‌های قلبی و عروقی از قبیل چربی خون، فشارخون بالا، تولید سایتوکین‌های التهابی و فعال شدن پلاکت اثر مثبت دارد [۲۶]. یکی از ترکیبات فعال و اصلی عصاره‌ی سیر خام اس-آلیل سیستئین می‌باشد [۲۷] که گزارش شده دارای فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی [۲۸]، ضد سرطانی [۲۹] و ضد سمیت کبدی می‌باشد [۳۰]. یکی دیگر از ترکیبات اصلی سیر آلپسین می‌باشد که با توجه به میزان دوز مورد استفاده ممکن است اثرات آپوپتوزی یا ضد آپوپتوزی داشته باشد، همچنین ثابت شده آلپسین مانع از بیان ژن پروآپوپتوز، یعنی BAX، می‌شود و سطح سیتوکروم C منتشرشده از میتوکندری را کاهش می‌دهد [۳۱، ۱۶].



نتیجه گیری

این اساس پیشنهاد می شود می توان از هریک از این دو مداخله برای کاهش عوارض آسیب های قلبی ناشی از مصرف داروی دوکسوروبیسین استفاده نمود.
این مطالعه بخشی از رساله دکتری فیزیولوژی ورزشی در دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکزی می باشد.

بر اساس نتایج این مطالعه مشخص شد فعالیت بدنی، و سیر هریک به تنهایی اثر محافظتی بر بافت قلب از طریق آنزیم های فعال در مسیر آپوپتوز را اعمال می نمایند. اما این دو مداخله اثر یکدیگر را در این محافظت تقویت نمی نمایند.

منابع

1. Chen RC1, Xu XD1, Zhi Liu X2, Sun GB1, Zhu YD1, Dong X3, Wang J4, Zhang HJ5, Zhang Q3 and Sun XB1. Total Flavonoids from *Clinopodium chinense* (Benth.) O. Ktze Protect against Doxorubicin-Induced Cardiotoxicity In Vitro and In Vivo. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2015; 1-17.
2. Carvalho FS1, Burgeiro A, Garcia R, Moreno AJ, Carvalho RA and Oliveira PJ. Doxorubicin-induced cardiotoxicity: from bioenergetic failure and cell death to cardiomyopathy. *Med. Res. Rev*. 2014 Jan; 34 (1): 106 - 35.
3. Mari-Carmen M, Gomez-Cabrera, Elena D and Jose V. Moderate exercise is an antioxidant: Upregulation of antioxidant genes by training. *Free Radic. Biol. Med*. 2008; 44: 126 - 131.
4. Poirier B, Lannaud-Bournoville M, Conti M, Bazin R, Michel O, Bariety J and et al. Oxidative stress occurs in absence of hyperglycemia and inflammation in the onset of kidney lesions in normotensive obese rats. *Nephrol. Dial. Transplant*. 2000; 15: 467 - 476.
5. Dae Yun Seo, SungRyul Lee, Arturo Figueroa, Yi Sub Kwak, Nari Kim, Byoung Doo Rhee, Kyung Soo Ko, Hyun Seok Bang, Yeong Ho Baek, and Jin Han. Aged garlic extract enhances exercise-mediated improvement of metabolic parameters in high fat diet-induced obese rats. *Nutrition Research and Practice (Nutr Res Pract)* 2012; 6 (6): 513 - 519.
6. Haines DD, Juhasz B and Tosaki A. Management of multicellular senescence and oxidative stress. *Journal of Cellular and Molecular Medicine* 2013; 17: 936 - 57.
7. Rodr'iguez-Rodero S, Fern'andez-Morera JL and Men'endez- Torre E. Aging genetics and aging. *Aging and Disease* 2011; 2: 186 - 95.
8. Kajstura J, Cheng W, Sarangarajan R, Lim P, Li B, Nitahara JA and et al. Necrotic and apoptotic myocyte cell death in the aging heart of Fischer 344 rats. *Am. J. Physiol*. 1996; 271: H1215-H28.
9. Frias MA, Somers S, Gerber-Wicht C, Opie LH, Lecour S and Lang U. The PGE2-Stat3 interaction in doxorubicin-induced myocardial apoptosis. *Cardiovasc. Res*. 2008 Oct; 80 (1): 69-77.
10. Chandran K, Aggarwal D, Migrino RQ, Joseph J, McAllister D, Konorev EA and et al. Doxorubicin inactivates myocardial cytochrome c oxidase in rats: cardioprotection by Mito-Q. *Biophys. J*. 2009 Feb; 96 (4): 1388 - 98.
11. Mohammadi Gorji S and Karimpour Malekshah AA. Effect of doxorubicin on Bcl2 and Bax expression in Rat heart. *Journal of Gorgan University of Medical Sciences*. 2013; 15 (1): 19-24.
12. Mustata S, Groeneveld S, Davidson W, Ford G, Kiland K and Manns B. Effects of exercise training on physical impairment, arterial stiffness and health-related quality of life in patients with chronic kidney disease: a pilot study. *International Urology and Nephrology* 2011; 43 (4): 1133 - 41.
13. Yeh YY and Yeh SM. Garlic reduces plasma lipids by inhibiting hepatic cholesterol and triacylglycerol synthesis. *Lipids* 1994; 29: 189-93.



14. Zare A, Farzaneh P, Pourpak Z, Zahedi F, Moin M, Shahabi S and Hassan ZM. Purified aged garlic extract modulates allergic airway inflammation in BALB/c mice. *Iran. J. Allergy Asthma Immunol.* 2008; 7: 133 - 41.
15. Peng CC, Chen KC, Hsieh CL and Peng RY. Swimming Exercise Prevents Fibrogenesis in Chronic Kidney Disease by Inhibiting the Myofibroblast Transdifferentiation. *PLoS One* 2012; 7: 6 e37388.
16. Seo DY, Kwak HB, Lee SR, Cho YS, Song IS, Kim N and et al. Effects of aged garlic extract and endurance exercise on skeletal muscle FNDC-5 and circulating irisin in high-fat-diet rat models. *Nutr. Res. Pract.* 2014; 8 (2): 177 - 82.
17. Chen KC, Peng CC, Hsieh CL and 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. *Evid. Based Complement Altrnat. Med.* 2013; 2013: 440 - 50.
18. Domenighetti AA, Wang Q, Egger M, Richards SM, Pedrazzini T and Delbridge LM. Angiotensin II mediated phenotypic cardiomyocyte remodeling leads to age-dependent cardiac dysfunction and failure. *Hypertension* 2005; 46: 426 - 32.
19. Li SY, Du M, Dolence EK, Fang CX, Mayer GE, Ceylan-Isik AF and et al. Aging induces cardiac diastolic dysfunction, oxidative stress, accumulation of advanced glycation end products and protein modification. *Aging Cell* 2005; 4: 57-64.
20. Leeuwenburgh C, Hollander J, Leichtweis S, Griffiths M, Gore M and Ji LL. Adaptations of glutathione antioxidant system to endurance training are tissue and muscle fibre specific. *Am. J. Physiol.* 1997; 272: R363 - R69.
21. Bodyak N, Kang PM, Hiromura M, Sulijoadikusumo I, Horikoshi N, Khrapko K and et al. Gene expression profiling of the aging mouse cardiac myocytes. *Nucl. Acids Res.* 2002; 30: 3788 - 94.
22. Park SK and Prolla TA. Gene expression profiling studies of aging in cardiac and skeletal muscles. *Cardiovasc. Res.* 2005; 66: 205 - 12.
23. Zolfagharzadeh F and Dabidi Roshan V. Pretreatment hepatoprotective effect of regular aerobic training against hepatic toxicity induced by doxorubicin in rats. *Asian Pacific J. Cancer Prev.* 2013; 14 (5): 5227 - 32.
24. Kuan – Chou Chen, Chiung – Chi peng, Chi – lan Hsieh and Robert Y. Peng. Exercise Ameliorates Renal Cell Apoptosis in CKD by Intervening in the Intrinsic and the Extrinsic Apoptotic pathways in a Rat Model. *Evidence – Based Complementary and Alternative Medicine* 2013; Article ID 368450, 13 pages.
25. S. Cory, D. C. S. Huang and J. M. Adams, “The Bcl-2 family: roles in cell survival and oncogenesis,” *Oncogene* 2003; 22 (53): 8590 – 8607.
26. Ginter E and Simko V. Garlic (*Allium sativum* L.) and cardiovascular diseases. *Bratisl Lek Listy* 2010; 111: 452 - 6.
27. Allison GL, Lowe GM and Rahman K. Aged garlic extract and its constituents inhibit platelet aggregation through multiple mechanisms. *J. Nutr.* 2006; 136: 782 - 8.
28. Herrera-Mundo MN, Silva-Adaya D, Maldonado PD, Galvan-Arzate S, Andres-Martinez L, Pérez-De La Cruz V and et al. S-allylcysteine prevents the rat from 3-nitropropionic acid-induced hyperactivity, early markers of oxidative stress and mitochondrial dysfunction. *Neurosci. Res.* 2006; 56: 39 - 44.
29. Chu Q, Lee DT, Tsao SW, Wang X and Wong YC. S-allylcysteine, a water-soluble garlic derivative, suppresses the growth of a human androgen-independent prostate cancer xenograft, CWR22R, under in vivo conditions. *BJU Int.* 2007; 99: 925 - 32.
30. Ngo SN, Williams DB, Cobiac L and Head RJ. Does garlic reduce risk of colorectal cancer? A systematic review. *J. Nutr.* 2007; 137: 2264 - 9.



31. Cho SJ, Rhee DK, Pyo S. Allicin, a major component of garlic, inhibits apoptosis of macrophage in a depleted nutritional state Nutrition. 22 (11-12): 1177 – 84.



Effects of Concurrent Regular Aerobic Training and Garlic Extract on Cardiac Tissue Apoptosis Markers in Aged Rats with Chronic Kidney Disease

Razavi Majd Z (Ph.D. Student)¹, Matin Homae H (Ph.D.)¹, Azarbayjani MA (Ph.D.)^{1*}, Farzanegi P (Ph.D.)²

1- Department of Exercise Physiology, Islamic Azad University, Central Tehran Branch, Tehran, Iran

2- Department of Exercise Physiology, Islamic Azad University, Sari Branch, Sari, Iran

*Corresponding author: Department of Exercise Physiology, Islamic Azad University, Central Tehran Branch, Tehran, Iran

Tel: +98-21-88074905, Fax: +98-21-88074874

E-mail: m_azarbayjani@iauctb.ac.ir

Abstract

Background: One of the problems due to aging is apoptosis development in various tissues of body. There is some evidence that some drugs induce apoptosis development via oxidative stress. However, physical activity and herbal drugs through two different mechanisms can cause to inhibit the apoptosis.

Objective: The aim of this study was to investigate the effects of concurrent regular aerobic training and garlic extract on Bax and Bcl-2 levels and Bax to Bcl-2 ratio in cardiac tissue of aged rats with chronic kidney disease.

Methods: Forty two aged male rats were selected and randomly divided into control group, Doxorubicin group, Doxorubicin and saline group, Doxorubicin and aerobic training group, Doxorubicin and garlic group, Doxorubicin, garlic and aerobic training group. The chronic kidney disease induced by the subcutaneous injection of doxorubicin (8.5 mg/kg of body weight). The protocol training included 3 sessions per week, 30 minutes per session for 8 weeks. The garlic extract were given by gavage (2.5 g/kg of body weight). Cardiac levels of Bax and Bcl-2 were measured by ELISA.

Results: The results showed that eight weeks swimming training and garlic extract and combination of them caused to significant increase in Bcl-2 levels and significant decrease in Bax levels and Bcl-2 to Bax ratio of aged cardiac tissue rats with chronic kidney disease ($P < 0.05$).

Conclusion: Based on the results, although physical training and garlic extract individually imposed protective effects on the cardiac tissue but intervention effect of them had no reinforcement effect on the cardiac protection.

Key words: Apoptosis, Bax, Bcl-2, Chronic kidney disease, Doxorubicin, Garlic extraction, Regular aerobic training

