

اثر مستقل و ترکیبی تمرین هوازی و عصاره سیر بر سطح کلیوی عامل رشد اندوتلیال عروقی و عامل رشد تبدیل بتا - ۱ در موش‌های صحرایی پیر

دکتر معصومه حبیبیان^{۱*}، ناصرالدین صبحی^۲

۱- دانشیار، گروه تربیت بدنی، واحد قائمشهر، دانشگاه آزاد اسلامی، قائمشهر، ایران. ۲- کارشناس ارشد فیزیولوژی ورزشی، واحد ساری، دانشگاه آزاد اسلامی، ساری، ایران.

چکیده

زمینه و هدف: پیری با آنژیوژنز آسیب‌دیده، گلوومروواسکلروز و افزایش ابتلا به آسیب نفروتوکسیک همراه است. این مطالعه به منظور تعیین اثر مستقل و ترکیبی تمرین هوازی شنا و عصاره سیر بر سطح کلیوی عامل رشد اندوتلیال عروقی (VEGF) و عامل رشد تبدیل بتا - ۱ (TGF- β 1) در موش‌های صحرایی پیر انجام شد.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی ۳۵ سر موش صحرایی نر پیر (۵۰-۴۸ هفته‌ای) از نژاد ویستار به صورت تصادفی در گروه‌های کنترل، شش، تمرین هوازی، عصاره سیر (۲/۵ گرم بر کیلوگرم وزن بدن) و تمرین هوازی + عصاره سیر (۲/۵ گرم بر کیلوگرم وزن بدن) قرار داده شدند. حیوانات با تمرین شنا به مدت ۶۰ دقیقه، ۳ روز در هفته به مدت ۸ هفته ورزش داده شدند. سطح کلیوی VEGF و TGF- β 1 به روش الایزا تعیین شد.

یافته‌ها: ۸ هفته تمرین شنا، مصرف مکمل سیر و ترکیبی از دو مداخله با افزایش معنی‌دار سطح VEGF و کاهش معنی‌دار TGF- β 1 در بافت کلیه موش‌های پیر همراه بود ($P < 0/05$). بین اثر مستقل و ترکیبی این مداخله‌ها بر سطح TGF- β 1 و VEGF کلیوی موش‌های پیر تفاوت آماری معنی‌داری مشاهده نشد.

نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد بخشی از اثر حفاظتی تمرین منظم شنا، مصرف مکمل سیر و ترکیبی از دو مداخله بر فرایند پیری کلیه به توانایی این مداخله‌ها در کاهش TGF- β 1 و تنظیم مثبت VEGF مربوط است.

کلید واژه‌ها: کلیه، پیری، عصاره سیر، تمرین هوازی، عامل رشد اندوتلیال عروقی، عامل رشد تبدیل- بتا یک

* نویسنده مسئول: دکتر معصومه حبیبیان، پست الکترونیکی habibian_m@yahoo.com

نشانی: قائمشهر، دانشگاه آزاد اسلامی واحد قائمشهر، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، تلفن ۳۰-۲۵-۴۲۱۴۴۵۰۲۵-۰۱۱، نمابر ۲۱۴۵۱۱۷
وصول مقاله: ۱۳۹۴/۹/۸، اصلاح نهایی: ۱۳۹۴/۱۰/۲۳، پذیرش مقاله: ۱۳۹۴/۱۱/۸

مقدمه

جمعیت افراد سالمند به سرعت در حال رشد است. به‌طوری‌که تعداد افراد بالای ۶۵ سال در سراسر جهان تا سال ۲۰۲۵، بیش از ۸۰۰ میلیون نفر برآورد شده است (۱). افزایش سن با تغییر ساختاری و عملکردی کلیه همراه است (۲). با افزایش سن، حدود ۲۰ تا ۲۵ درصد از جرم کلیه‌های طبیعی کاهش می‌یابد که شامل از دست رفتن هر دو بخش توبولی و گلوومرولی قشر کلیه است (۱) و از دست رفتن و کاهش نفرون، همراه با گلوومرولواسکلروز و فیبروز توبولی بینایی در کلیه پیر مشاهده شده است (۳). افزایش بروز نفروواسکلروز از ۲/۷ درصد در افراد ۱۸ تا ۲۹ سال به ۷۳ درصد در سالمندان ۷۰ تا ۷۷ سال گزارش شده است (۴). با افزایش سن، بروز هر دو پدیده میکروآلبومینوری و افزایش پروتئین، حتی در غیاب دیابت، فشارخون بالا و یا بیماری کلیوی رخ می‌دهد (۵). آنژیوژنز آسیب‌دیده همراه با از دست رفتن تدریجی میکروعروقی، ممکن

است نقش اساسی در نفروپاتی مرتبط با سن داشته باشد (۶). کاهش بیان سطح عامل رشد اندوتلیال عروقی (vascular endothelial growth factor: VEGF) در توبول‌های کلیوی، دلیل از دست رفتن تدریجی میکروعروقی با افزایش سن است (۷و۶). VEGF یک عامل رشد مهم درگیر در نوآنژیوژنز است و در پدوسیت‌های گلوومرولی و سلول‌های اندوتلیال کلیه بیان می‌شود. این عامل رشد برای هیپرتروفی گلوومرولی و تکثیر سلولی اندوتلیال در پاسخ به کاهش نفرون‌ها ضروری است و تنظیم منفی VEGF ممکن است به توسعه گلوومرولواسکلروز و فیبروز توبولی بینایی منجر شود (۸). از سوی دیگر اختلال در رگ‌زایی منجر به فیبروز پیشرونده کلیه می‌شود و عامل تبدیل رشد بتا-۱ (transforming growth factor- β : TGF- β 1) به‌عنوان یک میانجی‌گر کلیدی در کنترل رگ‌زایی شناخته شده است (۹). افزایش TGF- β 1 نیز با توسعه گلوومرولواسکلروز و فیبروز بینایی همراه است

(۱۰). همچنین TGF-β1 فیروز پیشرونده کلیوی را با تحریک تولید ماتریکس خارج سلولی و مهار تخریب آنها میانجیگری می کند (۱۱). به طوری که افزایش سطح کلیوی TGF-β در موش های صحرایی پیر مشاهده شده است (۱۲).

با افزایش سن و پیر شدن کلیه، میزان بروز بیماری های مزمن کلیه نیز افزایش می یابد (۱۳). به نظر می رسد فعالیت ورزشی با اثرات ویژه ای بر بیماری مزمن کلیوی از طریق توسعه عملکرد اندوتلیالی و کاهش خطر قلبی - عروقی همراه است و اطلاعات انسانی و تجربی در مورد اثر فعالیت های ورزشی بر عملکرد کاهش یافته کلیوی ناشی از افزایش سن محدود است (۱۴). با این حال انجام فعالیت های ورزشی تا آن اندازه که برای افراد مبتلا به بیماری های قلبی - عروقی و یا دارای عوامل خطرزای بیماری های قلبی - عروقی به طور مرسوم توصیه می شود؛ در بیماری های مزمن کلیوی پیشنهاد نمی گردد (۱۵). طی ورزش جریان خون کلیوی به سطح پایین تر از مقادیر استراحتی به عنوان نتیجه ای از توزیع مجدد جریان خون برای برطرف نمودن نیازهای عضلات در حال تمرین کاهش می یابد (۱۳). بنابراین بسته به چگونگی تغییر فشار برشی به هنگام کاهش جریان خون در کلیه، عملکرد اندوتلیال ممکن است بهبود نیافته و یا دچار آسیب شود (۱۶). هر چند فعالیت ورزشی ممکن است با معکوس شدن خود بیماری های کلیوی همراه نباشد؛ ولی پتانسیل زیادی برای کاهش خطر قلبی - عروقی در بیماری های مزمن کلیوی دارد (۱۴). براساس تحقیقات قبلی اثر فعالیت ورزشی مزمن بر کاهش بیان TGF-β1 در شریان کاروتیدی (۱۷) و افزایش VEGF بافت قلب (۱۸) موش های پیر مشاهده شده است. با این وجود اثر فعالیت ورزشی هوازی از جمله شنا بر سطح شاخص های موثر در فیروز و آنژیوزنز (TGF-β1 و VEGF) ناشی از بیماری کلیوی همانند مدل های پیر بسیار محدود است. علاقه به مطالعه در خصوص نقش بیولوژیکی گیاهان دارویی مختلف، با توجه به اثربخشی در کاهش هزینه های درمان، منشاء طبیعی و عوارض جانبی کمتر، افزایش یافته است و در تحقیقاتی بسیاری از خواص دارویی سیر تایید شده است. این گیاه از زمان های قدیم توسط همه تمدن ها به عنوان یک منبع دارویی، طعم دهنده و نیز در طب سنتی برای درمان استفاده شده است (۱۹). وجود ترکیبات آلین، آلیل سیستین، آلیل دی سولفید و آلینین به عنوان ترکیبات محافظتی با الگوهای مختلف فعالیت آنتی اکسیدانی در برابر آسیب رادیکال های آزاد گزارش شده است (۲۰). این مواد به احتمال زیاد نقش مهمی را در اثرات بیولوژیکی سیر ایفا می کنند که شامل خواص ضدتوموری، هیپولیپیدمی، هیپوکلستولی، ضدآترواسکلروتیک، آنتی اکسیدان و اثر بر سیستم ایمنی است (۱۹). با توجه به تغییرات ساختاری و عملکردی کلیه ها از جمله فیروز (۱۰-۸) و آسیب به آنژیوزنز کلیوی (۶) با پیری و خواص مهم سیر و اثر تمرینات منظم

ورزشی در حفظ سلامتی دوران پیری (۱۷ و ۱۸)؛ این مطالعه به منظور تعیین اثر مستقل و ترکیبی تمرین هوازی شنا و عصاره سیر بر سطح کلیوی عامل رشد اندوتلیال عروقی و عامل رشد تبدیل بتا - ۱ در موش های صحرایی پیر انجام شد.

روش بررسی

این مطالعه تجربی روی ۳۵ سر موش صحرایی نر پیر (۵۰-۴۸ هفته) از نژاد ویستار با وزن تقریبی ۳۰۰-۲۵۰ گرم پرورش داده شده در دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساری، در آزمایشگاه فیزیولوژی ورزش واحد ساری طی سال ۱۳۹۴ انجام شد.

قوانین بین المللی کار بر روی حیوانات آزمایشگاهی رعایت گردید. حیوانات در قفس هایی از جنس پلی کربنات شفاف به ابعاد ۱۵ × ۲۶/۵ × ۴۲ سانتی متر، دمای ۲۲±۲ درجه سانتی گراد، رطوبت ۵۵±۵ درصد و چرخه روشنایی - تاریکی ۱۲ ساعته با تهویه مناسب نگهداری شدند و به آب و غذای پلت (ساخت شرکت بهپرور کرج) دسترسی آزادانه داشتند. موش ها به صورت تصادفی در ۵ گروه ۷ تایی به شرح زیر تقسیم شدند.

گروه کنترل: هیچ مداخله ای انجام نشد؛ گروه شم: گاوژ نرمال سالین؛ گروه تجربی اول: اجرای تمرین هوازی به مدت هشت هفته؛ گروه تجربی دوم: گاوژ عصاره سیر؛ گروه تجربی سوم: اجرای تمرین هوازی به مدت هشت هفته به همراه گاوژ عصاره سیر.

حیوانات گروه های تمرینی به منظور آشنایی با آب یک هفته قبل از اجرای برنامه تمرینی به مدت پنج دقیقه در روز و پنج روز در هفته تمرین داده شدند.

برنامه تمرینی شامل ۶۰ دقیقه شنا در تانکر ویژه جوندگان به مدت هشت هفته، سه جلسه در هفته و در ساعات ۱۲-۱۰ صبح بود (۲۱). دمای آب برای شنا ۲۲±۲ درجه سانتی گراد بود. پنج دقیقه قبل و بعد از تمرین برای گرم و سرد کردن حیوانات در نظر گرفته شد. پس از اتمام تمرینات شنا در هر جلسه، حیوانات پس از قرار گرفتن در معرض جریان هوای گرم هیتر مخصوص جوندگان با دمای ۲۸ درجه سانتی گراد خشک شدند.

برای تهیه عصاره سیر، سیرهای کهنه پس از تمیز و خرد (له) شدن در دما و رطوبت معمولی به مدت سه ماه نگهداری گردید و به روش ماسراسیون عصاره گیری شد. برای عصاره گیری ۵۰ گرم از سیر خرد شده با متانول به نسبت ۱ به ۳ مخلوط و پس از ۲۴ ساعت توسط کاغذ صافی و قیف بوختر صاف گردید. محلول صاف شده در دستگاه تقطیر در خلا در دمای ۵۰ درجه سانتی گراد تقطیر شد تا زمانی که حجم باقیمانده به یک پنجم حجم اولیه رسید. محلول حاصله بعد از سه مرتبه دکانته کردن با ۵۰ میلی لیتر کلروفرم در دمای ۵۰ درجه سانتی گراد در دستگاه آون شد. سپس پودر عصاره خشک شده با آب مقطر مخلوط و به میزان ۲/۵ گرم به ازای هر کیلو گرم وزن بدن، سه بار در هفته گاوژ گردید (۲۲). همچنین

جدول ۱: میانگین و انحراف معیار سطح کلیوی TGF- β 1 و VEGF در گروه‌های مورد مطالعه		
گروه‌ها	TGF- β 1 (پیکوگرم / میلی گرم پروتئین)	VEGF (نانوگرم / گرم پروتئین)
کنترل	۲۸۱/۵۷±۴۳/۷۱	۵۷۰/۴۳±۶۷/۴۹
نرمال سالین	۲۸۵/۷۱±۴۷/۵۴	۵۶۵/۴۳±۴۳/۴۱
تمرین هوازی	۲۹۸/۵۷±۳۸/۱۱ *	۶۸۶/۵۷±۵۴/۳۸ *
عصاره سیر	۳۰۹/۴۳±۳۴/۳۸ *	۶۶۹/۲۸±۴۴/۳۷ *
تمرین هوازی + عصاره سیر	۲۸۸/۴۳±۳۴/۳۱ *	۷۱۱/۴۳±۳۲/۴۶ *

* $P < 0.05$ نسبت به گروه‌های کنترل و سالین

به همان میزان عصاره سیر، به گروه شم نرمال سالین گاوآژ شد.

۷۲ ساعت بعد از آخرین مداخله، حیوانات با استفاده از تزریق درون صفاقی کتامین (۹۰ میلی گرم بر کیلوگرم) و زایلازین (۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم) بیهوش و سپس به روش نخاع گردنی کشته شدند. پس از شکافتن حفره شکمی بافت کلیه به دقت جدا و تا زمان بررسی آزمایشگاهی در دمای منفی ۷۰ درجه سانتی گراد نگهداری شد. پس از هموژنیزه کردن بافت کلیه در بافر پروتئاز (PBS, PH 7.4)، سطح VEGF و TGF- β 1 با استفاده از روش الایزا و کیت‌های ویژه به ترتیب با حساسیت کمتر از ۵/۰۱ نانوگرم بر لیتر و ۲/۱ پیکوگرم بر میلی لیتر تعیین شد.

داده‌ها با استفاده از نرم افزار آماری SPSS-20 تجزیه و تحلیل شدند. از آزمون‌های شاپیروویلک و لوین به ترتیب برای تعیین توزیع نرمال داده‌ها و تجانس واریانس‌ها استفاده شد. برای مقایسه میانگین داده‌ها از آزمون تحلیل واریانس یک طرفه استفاده گردید. در صورت معنی داری اختلاف بین گروه‌ها، از آزمون تعقیبی توکی برای روشن شدن محل اختلاف استفاده گردید. سطح معنی داری در همه آزمون‌ها کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

سطح کلیوی VEGF ابتدا و انتهای مطالعه در گروه تمرین هوازی (به ترتیب ۲۰/۳۶ درصد، $P < 0.001$ ؛ ۲۱/۴۲ درصد، $P < 0.001$)، گروه تیمار شده با عصاره سیر (به ترتیب ۱۷/۳۲ درصد، $P < 0.001$ ؛ ۱۸/۳۶ درصد، $P < 0.004$) و گروه تمرین هوازی توام با دریافت عصاره سیر (به ترتیب ۲۴/۷۲ درصد، $P < 0.001$ ؛ ۲۵/۸۲ درصد، $P < 0.001$) در مقایسه با گروه‌های کنترل و شم افزایش آماری معنی داری یافت (جدول یک).

سطح کلیوی TGF- β 1 ابتدا و انتهای مطالعه در گروه تجربی اول (به ترتیب ۲۱/۷۵ درصد، $P < 0.004$ ؛ ۲۲/۵۹ درصد، $P < 0.003$)، گروه تجربی دوم (به ترتیب ۱۸/۹۱ درصد، $P < 0.016$ ؛ ۱۹/۷۷ درصد، $P < 0.010$) و گروه تجربی سوم (به ترتیب ۲۴/۴۱ درصد، $P < 0.001$ ؛ ۲۵/۲۲ درصد، $P < 0.001$) کاهش آماری معنی داری در مقایسه با گروه‌های کنترل و شم نشان داد (جدول ۲). با این وجود بین اثر مستقل و ترکیبی این مداخله‌ها بر سطح TGF- β 1 و VEGF کلیوی موش‌های پیر تفاوت آماری معنی داری مشاهده نشد.

بحث

براساس یافته‌های این مطالعه هشت هفته تمرین هوازی، مصرف

مکمل سیر و ترکیبی از این دو مداخله منجر به کاهش معنی دار سطح TGF- β 1 و افزایش سطح VEGF بافت کلیوی در موش‌های پیر گردید که بیانگر اثر حمایتی مداخله‌های پژوهش در کاهش فیروز شدن کلیوی و سرکوب عوارض احتمالی ناشی از آن و نیز افزایش آنژیوژنز در بافت کلیوی موش‌های پیر است. در این راستا Ruiz-Torres و همکاران نشان دادند افزایش سن با تغییرات ساختاری مانند گلوامرواسکلروز و فیروز بینایی، افزایش TGF- β 1 در قشر کلیه موای با افزایش بیان ژنی TGF- β 1 mRNA کلیوی در موش‌های صحرایی ۲۴ و ۳۰ ماهه همراه است (۱۰). همچنین افزایش بیشتر و معنی داری بیان TGF- β 1 کلیوی در موش‌های پیر در مقایسه با موش‌های جوان پس از ۱۲ هفته القا صدمات حاد از طریق ایجاد صدمات ایسکمی - ریزش توسط محققین دیگر گزارش شده است (۲۳). در زمینه تحقیقات VEGF، Kang و همکاران نشان دادند در موش‌های صحرایی پیر بیان VEGF در بخش قشری کلیه در مقایسه با موش‌های صحرایی جوان افزایش معنی داری یافت. در حالی که در بخش‌های خارجی و داخلی مرکزی کلیه کاهش نشان داد (۶). در مطالعه Satoh و همکاران بالارفتن سن با افزایش آسیب توبولی بینایی و از دست رفتن سلول‌های توبولی پروگزیمال، افزایش استرس اکسایشی توبول‌ها و مهار بیان کلیوی VEGF در موش‌های صحرایی پیر (۲۴ ماهه) همراه بود (۷). توانایی ترمیم بافت از طریق جوانه زدن عروق جدید (آنژیوژنز) که نیاز به حضور VEGF است؛ با افزایش سن دچار اختلال می‌شود (۲۴). TGF- β 1 نقش مهمی در اختلال رگ‌زایی منجر شونده به فیروز پیشرونده کلیه دارد (۹). اگرچه در مطالعه ما سطح VEGF و TGF- β 1 بافت کلیه موش‌های صحرایی پیر با موش‌های صحرایی جوان مورد مقایسه قرار نگرفت که از محدودیت‌های مطالعه حاضر نیز محسوب می‌شود؛ ولی با جمع‌بندی نتایج تحقیقات مورد بحث و یافته‌های تحقیق حاضر به نظر می‌رسد بخشی از اثر مطلوب مداخله‌های تحقیق بر بافت کلیه موش‌های صحرایی پیر ممکن است از طریق تعدیل سطح VEGF و TGF- β 1 کلیوی میانجیگری شده باشد که در نتیجه می‌تواند به بهبود آنژیوژنز و کاهش فیروزیس بافت کلیوی منجر شوند. اگرچه در خصوص اثر فعالیت ورزشی بر سطح VEGF و TGF- β 1 کلیوی موش‌های پیر مطالعه‌ای مشاهده نشد که می‌تواند محدودیت دیگر پژوهش حاضر نیز محسوب گردد؛ ولی تحقیقات مشابهی بر سایر اندام‌ها و یا در

افزایش VEGF، منجر به کاهش TGF-β1 کلیوی در موش‌های پیر مطالعه حاضر شده باشد.

از یافته‌های مهم دیگر مطالعه حاضر کاهش سطح کلیوی TGF-β1 و افزایش VEGF پس از مصرف عصاره سیر بود و این اثرات در مداخله ترکیبی با فعالیت ورزشی شنا تقویت معنی‌داری نیافت که ممکن به علت کم‌بودن زمان ۸ هفته برای افزایش و هم‌افزایی اثر ترکیب این دو مداخله باشد. در این راستا Kabasakal و همکاران نشان دادند تیمار با عصاره سیر افزایش سطح رادیکال‌های آزاد، استرس اکسایشی، محتوی کلاژن و نیز کاهش گلوتاتیون ناشی از ایسکمی، ریزش مجدد کلیوی را در موش‌های آلبینو معکوس نمود (۳۰).

در تحقیقات انجام شده با مواد دارویی کاهش سطح TGF-β1 کلیوی پس از ۴ هفته تیمار با سیلاتوزول (اتساع‌کننده مستقیم عروقی) (۳۱) و کاهش بیان کلاژن IV و TGF-β1 و آپوپتوز همراه با کاهش سطح پراکسید هیدروژن و زیرواحدهای NADPH اکسیداز در بافت کلیه متعاقب دو هفته تیمار با بیلی‌روبین (۳۲) در مدل حیوانی دیابتی توسط محققین دیگر گزارش شده است. عصاره سیر می‌تواند موجب افزایش جریان خون و فراهمی متابولیت‌های نیتریک اکسید مشتق از نیتریک اکسید سنتاز اندوتلیالی شود (۳۳) و در تعداد قابل توجهی از مطالعات توانایی سیر را برای کاهش گونه‌های اکسیژن واکنشی و گونه‌های نیتروژن واکنش‌تایید شده است (۱۹). بنابراین همانند فعالیت ورزشی بخشی از اثرات عصاره سیر بر افزایش VEGF و تنظیم منفی TGF-β1 بافت کلیه موش‌های پیر مطالعه حاضر می‌تواند از طریق کاهش استرس اکسایشی و افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و تولید نیتریک اکسید اعمال شده باشد. به‌نظر می‌رسد برای افزایش قابل ملاحظه اثرات تعاملی فعالیت ورزشی و مکمل سیر بر متغیرهای پژوهش، به دوره‌های زمانی بیشتر از هشت هفته نیاز است.

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که هر یک از مداخله‌های غیردارویی ورزش شنا، مصرف عصاره سیر و یا ترکیبی از دو شیوه مداخله به یک میزان بر عامل رشد اندوتلیال عروقی و TGF-β1 کلیه موثرند.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل پایان‌نامه (شماره ۲۰۸۲۱۴۰۴۹۲۲۰۱۲) آقای ناصرالدین صبحی برای اخذ درجه کارشناسی ارشد در رشته فیزیولوژی ورزشی از دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساری بود. بدین وسیله از همکاری صمیمانه خانم دکتر پروین فرزادنگی و نیز همه همکارانی که در اجرای این مطالعه ما را یاری نمودند؛ تشکر و قدردانی می‌گردد.

شرایط پاتولوژیکی دیگر انجام شده است. در این راستا Iemitsu و همکاران نشان دادند پس از ۸ هفته تمرین شنا، بیان مولکولی و سطح VEGF قلبی و موازی با آن پروتئین ژن نیتریک اکسید سنتاز اندوتلیالی در موش‌های صحرایی پیر ۲۳ ماهه افزایش معنی‌داری یافته است (۱۸). همچنین Al-Jarrah و همکاران نیز افزایش بیان VEGF در موش‌های صحرایی سالم تمرین کرده در مقایسه با موش‌های صحرایی گروه کنترل و کاهش بیان VEGF در بافت کلیه موش‌های صحرایی دیابتی تمرین کرده را گزارش نمودند (۲۵). علت این کاهش ممکن است به افزایش پاتولوژیکی VEGF در وضعیت دیابت و تعدیل سطح آن با فعالیت ورزشی مربوط باشد. در زمینه TGF-β1 نیز Peng و همکاران نشان دادند هر دو برنامه هوازی دویدن مزمن روی تردمیل با مدت‌های متفاوت ۳۰ دقیقه یا ۶۰ دقیقه در هر جلسه، با اثر معکوسی بر تورم گلو مرولی، تغییر در کلاژن ماده توبولی بینابینی و بخش قشری کلیه و افزایش در سطح سرمی پراکسیداسیون لیپیدی و TGF-β1 کلیوی موش‌های صحرایی در یک مدل القای نفروپاتی با القای آدریامایسین همراه است (۲۶). از سوی دیگر کاهش سطح TGF-β1 در بافت بطن چپ موش‌های پیر پس از ۱۲ هفته تمرین مشاهده شده است (۲۷). اگرچه مکانیسم دقیق اثر فعالیت ورزشی بر تنظیم سطح کلیوی TGF-β1 و VEGF و نیز از دست دادن بافت مویرگی در کلیه پیر به‌خوبی مشخص نیست؛ ولی افزایش تولید آنژیواستاتین (مهارکننده قوی آنژیوژنز در داخل بدن) و فعالیت کاتپسین D (آنزیم لازم برای تولید آنژیواستاتین) در موش‌های پیر مشاهده شده است (۷). همچنین با افزایش سن میزان استرس اکسیداتیو و فعال‌سازی عامل هسته‌ای NF-kB در کلیه توسعه می‌یابد (۲۸). از سوی دیگر مشاهده شده سایتوکاین‌های مرتبط با ماکروفاژ از جمله اینترلوکین بتا-۱، اینترلوکین ۶، عامل نکروزدهنده تومور آلفا منجر به مهار بیان ترشح پروتئین و mRNA VEGF در سلول‌های اپیتلیال توبولی کشت شده در هر دو شرایط طبیعی و هیپوکسی می‌شوند (۶). اگرچه تاکنون مشخص نشده TGF-β چگونه Smad2 و Smad3 را برای کنترل فرایند رگزایی‌ها از طریق تنظیم مختلف VEGF فعال می‌کند؛ اما Smad2 برای بیان ترومبواسپوندین-۱ که به‌عنوان یک عامل آنتی‌آنژیوژنیک در پاسخ به TGF-β1 عمل می‌کند؛ مهم است و می‌تواند علاوه بر نقش آنتی‌آنژیوژنیک، بیان آنتاگونیست VEGF-A، گیرنده sFlt-VEGF-A محلول، در پاسخ به TGF-β1 میانجی‌گری نماید (۹). به‌علاوه نقش حفاظت کلیوی نیتریک اکسید به علت کاستن سلول مزانژال و تولید ماتریکس مشاهده شده است (۲۹). بنابراین می‌توان پیشنهاد نمود فعالیت ورزشی ممکن است از مسیرهای کاهش استرس اکسایشی، افزایش تولید نیتریک اکسید و در نتیجه

References

- Wang X, Bonventre JV, Parrish AR. The aging kidney: increased susceptibility to nephrotoxicity. *Int J Mol Sci.* 2014 Sep; 15(9): 15358-76. doi: 10.3390/ijms150915358
- Zhou XJ, Yu X, Saxena R, Vaziri ND, Silva FG. The aging kidney. *Kidney International.* Sep 2008; 74(6): 710-20. doi: http://dx.doi.org/10.1038/ki.2008.319
- Lerma EV. Anatomic and physiologic changes of the aging kidney. *Clin Geriatr Med.* 2009 Aug; 25(3): 325-9. doi: 10.1016/j.cger.2009.06.007
- Rule AD, Amer H, Cornell LD, Taler SJ, Cosio FG, Kremers WK, et al. The association between age and nephrosclerosis on renal biopsy among healthy adults. *Ann Intern Med.* 2010 May; 152(9): 561-7. doi: 10.7326/0003-4819-152-9-201005040-00006
- Jones CA, Francis ME, Eberhardt MS, Chavers B, Coresh J, Engelgau M, et al. Microalbuminuria in the US population: third National Health and Nutrition Examination Survey. *Am J Kidney Dis.* 2002 Mar; 39(3): 445-59.
- Kang DH, Anderson S, Kim YG, Mazzalli M, Suga S, Jefferson JA, et al. Impaired angiogenesis in the aging kidney: vascular endothelial growth factor and thrombospondin-1 in renal disease. *Am J Kidney Dis.* 2001 Mar; 37(3): 601-11.
- Satoh M, Fujimoto S, Horike H, Ozeki M, Nagasu H, Tomita N, et al. Mitochondrial damage-induced impairment of angiogenesis in the aging rat kidney. *Lab Invest.* 2011 Feb; 91(2): 190-202. doi: 10.1038/labinvest.2010.175
- Schrijvers BF, Flyvbjerg A, De Zeeuw AS. The role of vascular endothelial growth factor (VEGF) in renal pathophysiology. *Kidney Int.* 2004 Jun; 65(6): 2003-17.
- Lan HY. Diverse roles of TGF- β /Smads in renal fibrosis and inflammation. *Int J Biol Sci.* 2011; 7(7): 1056-67.
- Ruiz-Torres MP, Bosch RJ, O'Valle F, Del Moral RG, Ramírez C, Masseroli M, et al. Age-related increase in expression of TGF- β 1 in the rat kidney: relationship to morphologic changes. *J Am Soc Nephrol.* 1998 May; 9(5): 782-91.
- Lan HY. Tubular epithelial-myofibroblast transdifferentiation mechanisms in proximal tubule cells. *Curr Opin Nephrol Hypertens.* 2003 Jan; 12(1): 25-9.
- Ying WZ, Aaron KJ, Sanders PW. Effect of aging and dietary salt and potassium intake on endothelial PTEN (Phosphatase and tensin homolog on chromosome 10) function. *PLoS One.* 2012; 7(11): e48715. doi: 10.1371/journal.pone.0048715
- Moninga NC, Sindler AL, Muller-Delp JM, Baylis C. Twelve weeks of treadmill exercise does not alter age-dependent chronic kidney disease in the Fisher 344 male rat. *J Physiol.* 2011 Dec; 589(Pt 24): 6129-38. doi: 10.1113/jphysiol.2011.214569
- Edwards DG. Exercise and diseased kidneys are they compatible? *J Physiol.* 2011 Dec; 589(Pt 24): 5897. doi: 10.1113/jphysiol.2011.222646
- Johansen KL. Exercise and chronic kidney disease: current recommendations. *Sports Med.* 2005; 35(6): 485-99.
- Miyauchi T, Maeda S, Iemitsu M, Kobayashi T, Kumagai Y, Yamaguchi I, et al. Exercise causes a tissue-specific change of NO production in the kidney and lung. *J Appl Physiol* (1985). 2003 Jan; 94(1): 60-8.
- Fleenor BS, Marshall KD, Durrant JR, Lesniewski LA, Seals DR. Arterial stiffening with ageing is associated with transforming growth factor- β 1-related changes in adventitial collagen: reversal by aerobic exercise. *J Physiol.* 2010 Oct; 588(Pt 20): 3971-82. doi: 10.1113/jphysiol.2010.194753
- Iemitsu M, Maeda S, Jesmin S, Otsuki T, Miyauchi T. Exercise training improves aging-induced downregulation of VEGF angiogenic signaling cascade in hearts. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2006 Sep; 291(3): H1290-8.
- 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 Pac J Trop Biomed.* 2015; 5(5): 364-69.
- Chung LY. The antioxidant properties of garlic compounds: allyl cysteine, allicin, and allyl disulfide. *J Med Food.* 2006; 9(2):205-13.
- Peng CC, Chen KC, Hsieh CL, Peng RY. Swimming Exercise Prevents Fibrogenesis in Chronic Kidney Disease by Inhibiting the Myofibroblast Transdifferentiation. *PLoS One.* 2012; 7(6): e37388. doi: 10.1371/journal.pone.0037388
- Seo DY, Kwak HB, Lee SR, Cho YS, Song IS, Kim N, 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 Apr; 8(2): 177-82. doi: 10.4162/nrp.2014.8.2.177
- Xu X, Fan M, He X, Liu J, Qin J, Ye J. Aging aggravates long-term renal ischemia-reperfusion injury in a rat model. *J Surg Res.* 2014 Mar; 187(1): 289-96. doi: 10.1016/j.jss.2013.10.008
- Rivard A, Berthou-Soulie L, Principe N, Kearney M, Curry C, Branellec D, et al. Age-dependent defect in vascular endothelial growth factor expression is associated with reduced hypoxia-inducible factor 1 activity. *J Biol Chem.* 2000 Sep; 275(38): 29643-7.
- Al-Jarrah M, Erekat N, Al Khatib AJ. Upregulation of Vascular Endothelial Growth Factor Expression in the Kidney Could Be Reversed Following Treadmill Exercise Training in Type I Diabetic Rats. *World J Nephrol Urol.* 2014; 3(1): 25-29.
- Peng CC, Chen KC, Lu HY, Peng RY. Treadmill exercise improved adriamycin-induced nephropathy. *J Biol Regul Homeost Agents.* 2012 Jan-Mar; 26(1): 15-28.
- Kwak HB, Kim JH, Joshi K, Yeh A, Martinez DA, Lawler JM. Exercise training reduces fibrosis and matrix metalloproteinase dysregulation in the aging rat heart. *FASEB J.* 2011 Mar; 25(3): 1106-17. doi: 10.1096/fj.10-172924
- Jin Jung K, Hyun Kim D, Kyeong Lee E, Woo Song C, Pal Yu B, Young Chung H. Oxidative stress induces inactivation of protein phosphatase 2A, promoting proinflammatory NF- κ B in aged rat kidney. *Free Radic Biol Med.* 2013 Aug; 61: 206-17. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2013.04.005
- Baylis C. Sexual dimorphism in the aging kidney: differences in the nitric oxide system. *Nat Rev Nephrol.* 2009 Jul; 5(7): 384-96. doi: 10.1038/nrneph.2009.90
- Kabasakal L, Sehirli O, Cetinel S, Cikler E, Gedik N, Sener G. Protective effect of aqueous garlic extract against renal ischemia/reperfusion injury in rats. *J Med Food.* 2005; 8(3):319-26.
- Wang X, Yan L, Chen W, Xu L, Zhang X. The renal protective effects of cilostazol on suppressing pathogenic thrombospondin-1 and transforming growth factor-beta expression in streptozotocin-induced diabetic rats. *J Int Med Res.* 2009 Jan-Feb; 37(1): 145-53.
- Xu J, Lee ES, Baek SH, Ahn SY, Kim S, Na KY, et al. Effect of bilirubin on triglyceride synthesis in streptozotocin-induced diabetic nephropathy. *J Korean Med Sci.* 2014 Sep; 29 Suppl 2: S155-63. doi: 10.3346/jkms.2014.29.S2.S155
- Weiss N, Ide N, Abahji T, Nill L, Keller C, Hoffmann U. Aged garlic extract improves homocysteine-induced endothelial dysfunction in macro- and microcirculation. *J Nutr.* 2006 Mar; 136(3 Suppl): 750S-754S.

Original Paper

Independent and combined effect of aerobic exercise and garlic extract on the level of renal vascular endothelial growth factor and transforming growth factor- β 1 in the elderly rats

Habibian M (Ph.D)^{*1}, Sobhi N (M.A)²

¹Associate Professor, Department of Physical Education and Sports Sciences, Qaemshahar Branch, Islamic Azad University, Qaemshahar, Iran. ²M.A in Physical Education and Sports Sciences, Sari Branch, Islamic Azad University, Sari, Iran.

Abstract

Background and Objective: Aging elderly is associated with impaired angiogenesis, glomerulosclerosis and increased susceptibility to nephrotoxic injury. This study was done to compare the independent and combined effect of aerobic exercise and garlic extract on the levels of renal vascular endothelial growth factor (VEGF) and transforming growth factor- β 1 (TGF- β 1) in elderly rats.

Methods: In this experimental study, 35 aged elderly male Wistar rats were randomly allocated into 5 groups including control, sham, garlic (2.5 g/kg/bw), aerobic exercise, garlic plus exercise. The animals exercised by swimming training at 5 min to 60 min per day, 3 days a week over 8 weeks. Animals in garlic plus exercise were received garlic extract (2.5 g/kg/bw) and swimming training. The renal TGF- β 1 and VEGF level were evaluated by ELIZA method.

Results: 8 weeks swimming training, garlic supplementation and the combined intervention were associated with a significant increased the renal VEGF and reduced TGF- β 1 level ($P < 0.05$). There was no difference between swimming training, garlic supplementation and garlic plus exercise on renal VEGF and TGF- β 1 levels in aged rats.

Conclusion: It seems that the protective role of regular swimming training, garlic supplementation and the combined intervention in the renal aging process might in part be related to their ability to attenuate TGF- β 1 and up regulating VEGF.

Keywords: Kidney, Aging, Garlic, Aerobic exercise, Vascular endothelial growth factor, Transforming growth factor- β 1

* **Corresponding Author:** Habibian M (Ph.D), E-mail: habibian_m@yahoo.com

Received 29 Nov 2015

Revised 13 Jan 2016

Accepted 28 Jan 2016