

Research Paper:

The Effect of Chronic Kidney Disease Induction Upon Affective Factors on Muscle Apoptosis in Rats and the Role of Aerobic Training in Its Modulation



\*Mahmood Jafari<sup>1</sup>, Pezhman Motamedi<sup>1</sup>, Neda Khaledi<sup>1</sup>

1. Department of Exercise Physiology, Faculty of Sport Sciences, Kharazmi University, Tehran, Iran.



**Citation** Jafari M, Motamedi P, Khaledi N. The Effect of Chronic Kidney Disease Induction Upon Affective Factors on Muscle Apoptosis in Rats and the Role of Aerobic Training in Its Modulation. Jundishapur Scientific Medical Journal. 2021; 20(4):382-389. <https://doi.org/10.32598/JSMJ.20.4.2475>

<https://doi.org/10.32598/JSMJ.20.4.2475>



Received: 13 May 2021

Accepted: 27 Aug 2021

Available Online: 01 Oct 2021

**Keywords:**

Chronic kidney disease, Apoptosis, Continuous aerobic training

**ABSTRACT**

**Background and Objectives** Chronic Kidney Disease (CKD) is characterized by progressive and irreversible loss of renal function. One of the complications of this disease is muscle wasting and atrophy. The aim of this study was to determine the effect of exercise training on CKD-induced muscle apoptosis in rats.

**Subjects and Methods** In the present developmental study, 30 rats were selected and divided into 3 groups: disease training, disease control and healthy controls. Induction of CKD was through primary and final 1.3 resection of one kidney and complete resection of the other kidney. The training program consisted of eight weeks of continuous running training with an intensity of 45-55%  $VO_2$  max. After removal of EDL muscle, protein level and Bcl-2 and Bax gene expression were measured by immunohistochemistry and real-time PCR, respectively.

**Results** Induction of CKD caused a significant increase in protein level and gene expression of Bax and Bax/Bcl-2 and a significant decrease in Bcl-2 compared to the healthy control group ( $P < 0.001$ ). Also significant decrease was found in the expression of genes and proteins Bax and Bax/Bcl-2 ( $P < 0.001$ ) and a significant increase was found in protein Bcl-2 ( $P < 0.001$ ), without significant changes in the gene expression of Bcl-2 ( $P = 0.935$ ) in disease training compared to the disease control.

**Conclusion** The results of the present study support the anti-apoptotic effect of exercise on muscle tissue of CKD patients; therefore, it is recommended that clinical research be conducted in this regard for exercise recommendations for these patients.

**\* Corresponding Author:**

Mahmood Jafari

Address: Department of Exercise Physiology, Faculty of Sport Sciences, Kharazmi University, Tehran, Iran.

Tel: +98 (912) 2855805

E-Mail: mahmoud.jafari30@yahoo.com

## مقاله پژوهشی:

## اثر القای نارسایی مزمن کلیوی بر عوامل مؤثر در آپوپتوز عضلانی در موش‌های صحرایی و نقش تمرینات هوازی در تعدیل آن

\* محمود جعفری<sup>۱</sup>، پژمان معتمدی<sup>۱</sup>، ندا خالدی<sup>۱</sup>

۱. گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران.

## چکیده

**زمینه و هدف:** نارسایی مزمن کلیه (CKD) با از بین رفتن پیشرونده و غیر قابل برگشت عملکرد کلیه مشخص می‌شود که یکی از عوارض این بیماری تحلیل و آتروفی عضلانی است. هدف تحقیق حاضر تعیین اثر تمرینات ورزشی بر آپوپتوز عضلانی ناشی از CKD در موش‌های صحرایی بود.

**روش بررسی:** در تحقیق توسعه‌ای حاضر ۳۰ سر موش صحرایی انتخاب شدند و به ۳ گروه بیمار تمرین، بیمار کنترل و سالم کنترل تقسیم شدند. القای CKD از طریق برداشتن ۱/۳ ابتدایی و انتهایی یک کلیه و برداشت کامل کلیه دیگر بود. برنامه تمرین شامل ۸ هفته تمرین دویدن تناوبی با شدت ۴۵-۵۵ درصد  $VO_2 \max$  بود. پس از برداشتن عضله EDL، سطح پروتئین و بیان ژن Bax و Bcl-2 به ترتیب با روش‌های ایمنووهیستوشیمی و real-time PCR سنجیده شد.

**یافته‌ها:** القای CKD موجب افزایش معنی‌دار سطح پروتئین و بیان ژن Bax و Bcl-2 و کاهش معنی‌دار در Bcl-2 نسبت به گروه کنترل سالم شد ( $P < 0/001$ ). همچنین کاهش معنی‌داری در بیان ژن و پروتئین Bax و Bcl-2 ( $P < 0/001$ ) و افزایش معنی‌دار پروتئین Bcl-2 ( $P < 0/001$ )، بدون تغییر معنی‌دار در بیان ژن Bcl-2 ( $P = 0/935$ ) در گروه بیمار تمرین نسبت به گروه بیمار مشاهده شد. **نتیجه‌گیری:** نتایج تحقیق حاضر از اثر ضد آپوپتوزی تمرینات ورزشی در بافت عضلانی بیماران CKD حمایت می‌کند. بنابراین پیشنهاد می‌شود که تحقیقات بالینی در این خصوص برای توصیه‌های ورزشی برای این بیماران انجام شود.

تاریخ دریافت: ۲۳ اردیبهشت ۱۴۰۰  
تاریخ پذیرش: ۰۵ شهریور ۱۴۰۰  
تاریخ انتشار: ۰۹ مهر ۱۴۰۰

## کلیدواژه‌ها:

بیماری مزمن کلیوی، آپوپتوز، عضله، تمرین هوازی تناوبی

## مقدمه

اختلالات عضلانی در CKD ممکن است با افزایش کاتابولیسم پروتئین یا کاهش سنتز آن و تغییرات در نسبت این دو، ایجاد شود. [۵]. استرس اکسیداتیو ناشی از بیماری‌های التهابی به عنوان دلیل اصلی آتروفی و تحلیل عضلانی شناخته شده است [۶]. با توجه به عدم کارایی کلیه در CKD، فاکتورهای التهابی و استرس اکسیداتیو افزایش می‌یابد که در ارتباط با آتروفی عضلانی در بیماران کلیوی است. گونه‌های فعال اکسیژن<sup>۲</sup> می‌تواند از اختلال عملکرد میتوکندری‌ها و افزایش NADPH Oxidase افزایش یابند. و به طور خاص با فعال کردن مسیرهای اتوفاژی و از طریق فاکتورهای رونویسی FOXO، آتروژن ۱ و MuRF-1 منجر به آتروفی عضلانی شود [۷]. همچنین بر مسیر آپوپتوز میتوکندریایی و مایوستاتین

نارسایی مزمن کلیه<sup>۱</sup> با از بین رفتن پیشرونده و غیر قابل برگشت عملکرد کلیه مشخص می‌شود [۱]. تظاهر بالینی CKD به صورت سندرم اورمیک است که معمولاً با کاهش شدید فیلتراسیون گلومرولی همراه است [۲]. این بیماری به طور بارزی با تحلیل عضلات اسکلتی همراه است. ضعف بیش از اندازه بدن به علت آتروفی عضلانی دلیل مهم کاهش عملکرد جسمانی است که این آتروفی بیشتر در تارهای نوع ۲ اتفاق می‌افتد. کاهش فعالیت و کاهش قدرت عضلانی با سرعت فیلتراسیون گلومرولی رابطه مستقیم دارد [۳، ۴].

## 1. Chronic Kidney Disease (CKD)

## 2. Reactive oxygen species

## \* نویسنده مسئول:

محمود جعفری

نشانی: تهران، دانشگاه خوارزمی، دانشکده علوم ورزشی، گروه فیزیولوژی ورزشی.

تلفن: +۹۸ (۹۱۲) ۲۸۵۵۸۰۵

رایانامه: mahmoud.jafari30@yahoo.com

در حال حاضر، هیچ مداخله دارویی مؤثری وجود ندارد که از آتروفی عضلات در شرایطی مانند CKD جلوگیری کند یا آن را کاهش دهد. با این حال برخی از موفقیت‌ها در حفظ توده عضلانی در بیماران مبتلا به CKD با استفاده از تمرینات ورزشی به دست آمده است [۱۵، ۱۶]. یکی از دلایل کاهش توده عضلانی در CKD افزایش آپوپتوز در بافت عضلانی است [۷، ۸]. استفاده از روش‌های درمانی برای کاهش آپوپتوز می‌تواند منافی تعویق انداختن و حفظ یا بازیابی توده عضلانی در بیماران CKD داشته باشد. با وجود این تحقیقی که به طور خاص اثر ورزش بر عوامل مؤثر بر آپوپتوز در بافت عضلانی انجام نشده است که نشان‌دهنده ضرورت تحقیق حاضر است.

با توجه به مطالب گفته‌شده، پژوهش حاضر درصدد آن است که تأثیر تمرین هوازی تداومی را بر میزان شاخص‌های آپوپتوزی در عضله رت‌های صحرایی با بیماری مزمن کلیوی مورد مطالعه قرار دهد.

### روش بررسی

در پژوهش توسعه‌ای حاضر که با طرح پس‌آزمون انجام شد، ۳۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار خریداری شدند و به ۳ گروه بیمار تمرین، بیمار کنترل و سالم کنترل تقسیم شدند. بعد از القای CKD و گذشت ۲ هفته نقاهت و دو هفته آشناسازی، دوره تمرینی آغاز شد. در طول پژوهش موش‌ها در قفس‌های پلی‌کربنات شفاف نگهداری شدند. چرخه روشنایی به تاریکی ۱۲:۱۲ و دمای محیط ۲۲ درجه سانتی‌گراد و رطوبت ۵۰ درصد در نظر گرفته شد. تغذیه موش‌های صحرایی به صورت پلت که حاوی ترکیب مشخصی از انواع مواد مغذی مورد نیاز حیوان است، تهیه شد.

مراحل القای CKD: رت‌ها از حیوان‌خانه به مرکز پژوهش منتقل شدند. در اتاق بیهوشی با توجه به زمان فرارسیدن جراحی هر کدام به صورت نوبتی، فرایند بیهوشی انجام شد. ابتدا حیوان‌ها در داخل باکس CO<sub>2</sub> قرار داده شدند، تا زمانی که بتوان آن‌ها را کنترل کرد. سپس از محفظه بیرون آورده شدند و ۰/۳ سی‌سی مواد بیهوشی مخلوط کتامین و زایلازین به صورت داخل صفاقی به آن‌ها تزریق شد. بعد از تزریق برای اینکه شرایط مساعد برای بیهوشی فراهم شود، چراغ روشنایی اتاق خاموش شد و به حیوان فرصت داده شد که به طور کامل بیهوش شود. بعد از بیهوشی کامل حیوانات به اتاق جراحی منتقل شدند. از زیر دنده حیوان به سمت پایین به ابعاد تقریبی ۴-۶ سانتی‌متر تراشیده شد. سپس با پنبه الکلی محل جراحی کاملاً ضدعفونی شد. برش با تیغ و قیچی در ناحیه خط وسط شکم ایجاد شد. کلیه چپ زیر طحال رؤیت و به آرامی از شکم خارج شد. بعد از این مرحله کپسول کلیوی، چربی اطراف آن، و فاسیای کلیوی، پاره شد و کلیه

عضله اسکلتی تأثیرگذار است. گونه‌های فعال اکسیژن باعث آزاد شدن سیتوکروم C از میتوکندری و متلاشی شدن سلول می‌شود. همچنین باعث افزایش Bax و Bak و کاهش Bcl-2 می‌شوند. در این میان پروتئین‌های خانواده Bcl-2 کنترل‌کننده آزاد شدن سیتوکروم C از میتوکندری و آبشار کاسپازی هستند و نفوذپذیری میتوکندری را کنترل می‌کنند. با بیماری مزمن کلیوی سطح Bcl-2 در تمام بافت‌ها مخصوصاً بافت قلب، کلیه و میوسیت‌های عضلانی کاهش می‌یابد و سطح Bax افزایش می‌یابد و در نتیجه آزادسازی سیتوکروم C از میتوکندری افزایش پیدا می‌کند و مسیر کاسپازی فعال می‌شود. افزایش Bax باعث فعال شدن کاسپاز ۹ و در نهایت فعال‌سازی کاسپاز ۳ خواهد شد؛ که روند آپوپتوز را افزایش خواهد داد [۷، ۸].

محققین گزارش کردند که فعالیت ورزشی می‌تواند از طریق کاهش پروتئین پیش‌آپوپتوزی Bax و افزایش پروتئین ضدآپوپتوزی Bcl-2 و در نتیجه مهار آزاد سازی سیتوکروم C مانع فعال شدن کاسپاز ۹ شود و فعال‌سازی کاسپاز ۳ را کاهش دهد که این امر منجر به تنظیم و کاهش روند آپوپتوز خواهد شد. ورزش با کاهش پروتئین Bax و متعاقب آن فعالیت کاسپاز آغازگر ۹ و کاسپاز اجرایی ۳ می‌تواند از دو مسیر داخلی و خارجی مانع آپوپتوز و قطعه قطعه شدن DNA شود [۹، ۱۰].

ورزش درمانی می‌تواند یک استراتژی بالینی مؤثر برای بهبود مشکلات کلیوی و آسیب‌های بعد از آن باشد [۱۱]. پچتر و همکاران گزارش کردند که ورزش پروتئینوریا و ترشح سیستماتین C را کاهش می‌دهد و میزان فیلتراسیون گلومرولی را در بیماران مبتلا به CKD افزایش می‌دهد که متعاقب آن استرس اکسیداتیو کاهش می‌یابد و می‌تواند برای بیماران CKD مفید باشد [۱۲]. کواک نشان داد که تمرینات ورزشی، افزایش مشکلات کلیوی را که ناشی از سن است، و همچنین نسبت Bcl-2 / Bax و سطح کاسپاز ۹ را کاهش می‌دهد که نشان‌دهنده نقش حفاظتی فعالیت ورزشی بر عضله قلب موش‌های صحرایی است [۹].

یکی از ویژگی‌های قابل توجه CKD، آپوپتوز عضله اسکلتی است. چندین مسیر ممکن است در آپوپتوز دخیل باشند، مانند مسیری که توسط فعال‌سازی JNK ایجاد می‌شود و افزایش سطح p-JNK، یکی از شاخص‌های فعال شدن آپوپتوز است که می‌تواند بقایای فسفریلاته را در BAD و Bcl-xL فسفریله کند و همچنین منجر به رونویسی از چندین فاکتور شود که در آپوپتوز نقش دارند که با فعالیت بدنی سطح آن کاهش یافته است [۹]. سیگنالینگ آپوپتوز قبل از تخریب پروتئین‌ها در حین آتروفی عضلانی در حیوانات CKD و بیماران مشاهده می‌شود [۱۳] که می‌تواند سیگنالینگ pro-apoptotic و بیش‌فعالی UPS را توضیح دهد. فعالیت بدنی با فعال‌سازی مسیر AKT و با کاهش پراکندگی DNA می‌تواند آپوپتوز را کاهش دهد [۱۴].

شد. از عضله به طور تصادفی ۵ برش نازک غیرمتوالی به ضخامت ۵ میکرومتر جهت بررسی ایمونوهیستوشیمیایی بیان پروتئینی Bcl-2 و ۵ برش نازک دیگر جهت بررسی ایمونوهیستوشیمیایی بیان پروتئینی Bax انتخاب شد. تکنیک ایمونوهیستوشیمی به روش انوینژن<sup>۴</sup> و با استفاده از آنتی‌بادی اختصاصی Bcl-2 و Bax انجام شد. برای سنجش mRNA Bcl-2 و Bax نیز از روش Real Time PCR استفاده شد.

برای تجزیه و تحلیل آماری از آزمون آماری تحلیل واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی توکی استفاده شد و سطح معنی‌داری  $P \leq 0/05$  در نظر گرفته شد. جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۶ استفاده شد.

### یافته‌ها

نتایج آزمون شاپیروویلک نشان داد که تمامی متغیرها دارای توزیع نرمال هستند ( $P > 0/05$ )؛ همچنین در بررسی تجانس واریانس‌ها، نتایج آزمون لون نشان داد که تفاوت معنی‌داری بین واریانس متغیرها در گروه‌های تحقیق وجود ندارد ( $P > 0/05$ ). برای مقایسه متغیرهای بررسی‌شده بین گروه‌های تحقیق، از آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه استفاده شد که نتایج آن در **جدول شماره ۲**، ارائه شده است.

نتایج آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه (**جدول شماره ۲**) نشان داد که تفاوت معنی‌داری در سطح پروتئین و بیان ژن Bax و Bcl-2 و همچنین نسبت Bax به Bcl-2 در گروه‌های تحقیق وجود داشت ( $P < 0/001$ ). به منظور یافتن محل تفاوت از آزمون تعقیبی توکی استفاده شد که نتایج آن در **جدول شماره ۳**، ارائه شده است.

### بحث

نتایج تحقیق ما نشان داد که القای CKD موجب افزایش بیان ژن و پروتئین Bax در بافت عضلانی موش‌ها شد. Bax یکی

آزاد شد. یک‌سوم بالایی و پایینی کلیه برداشته شد و بافت‌های اضافی که نکرور شده بودند، با قیچی مخصوص بافت جدا شد. در انتها از یک لایه سرچی سل در دوطرف کلیه برای جلوگیری از خون‌ریزی احتمالی استفاده شد. یک‌سوم باقی‌مانده کلیه به طور تقریبی در جای خود قرار داده شد و عضله و پوست به طور جداگانه با نخ جذبی و با روش ساده پیوسته بخیه شدند. در انتها پوست دوباره با الکل ضدعفونی شد. برای جلوگیری از عفونت از سفازولین استفاده شد که به صورت درون‌عضلانی به ران حیوان تزریق شد. در انتها بعد از به هوش آمدن نسبی، حیوان به قفس انتقال داده شد. بعد از ۲ هفته دوره نقاهت و سازگاری نسبی حیوان، مرحله دوم جراحی اجرا شد. در این مرحله پس از بیهوشی و آماده‌سازی حیوان، کلیه راست بیرون آورده شد و با پاره کردن کپسول کلیوی، چربی اطراف آن و فاسیای کلیوی، آزاد شد. عروق کلیه از ناحیه انتهایی با نخ silk بدون سوزن بسته شد و کلیه به صورت کامل نفرکتومی شد. بعد از اطمینان از خون‌ریزی نکردن محل برش نخ، قیچی شد و عروق باقی‌مانده دوباره به داخل شکم منتقل شد و پس از بخیه محل جراحی، مکان جراح با الکل ضدعفونی شد. برای جلوگیری از عفونت، سفازولین به صورت درون‌عضلانی تزریق شد. در انتها بعد از به هوش آمدن نسبی، حیوان به قفس نگهداری انتقال داده شد. پروتکل تمرین: بعد از دو هفته دوره آشناسازی و سازگاری با تمرین، پروتکل اصلی آغاز شد. در تحقیق حاضر تمرینات ورزشی به صورت تمرینات هوازی تداومی با شدت ۴۵-۵۵ درصد  $VO_2max$  موش‌ها در نظر گرفته شد که جزئیات پروتکل تمرین در **جدول شماره ۱**، بیان شده است.

اندازه‌گیری‌ها: ۴۸ ساعت بعد از آخرین جلسه تمرین، حیوانات به آزمایشگاه منتقل و تشریح شدند. بافت عضله EDL از بدن حیوان جدا شد و در محلول فرمالین ۱۰ درصد قرار داده شد. پس از سپری شدن ۵ روز از زمان فیکس بافتی، ابتدا با استفاده از تکنیک اوریتیتور و رعایت اصول IUR برش‌هایی از بافت عضله EDL تهیه و با انجام مراحل پاساژ (با استفاده از دستگاه اتوماتیک هیستوکینت مدل ۲۰۰۰ ساخت شرکت لایکا) و آماده‌سازی قالب‌های پارافینی با استفاده از دستگاه میکروتوم دورانی مدل ۸۲۰، برش‌های متوالی به ضخامت ۵ میکرومتر جهت مطالعات ایمونوهیستوشیمی تهیه

جدول ۱. پروتکل تمرین

متغیر	واحد	هفته ۱	هفته ۲	هفته ۳	هفته ۴	هفته ۵	هفته ۶	هفته ۷	هفته ۸
سرعت	متر بر دقیقه	۱۵	۱۵	۱۵	۱۶	۱۶	۱۶	۱۷	۱۷
شیب	درجه	۰	۰	۰	۱	۱	۱	۱	۱
زمان	دقیقه	۱۶	۲۰	۲۵	۲۷	۳۰	۳۰	۳۵	۳۵
مسافت	متر	۲۴۰	۳۰۰	۳۷۵	۴۳۰	۴۸۰	۴۸۰	۶۰۰	۶۰۰
فرکانس هفتگی	تعداد جلسه	۳	۳	۳	۳	۳	۳	۳	۳

جدول ۲. مقایسه بین گروهی میزان mrna و پروتئین Bcl-2 و Bax در گروه‌های تحقیق

میانگین ± انحراف معیار						گروه
پروتئین			Mrna			
Bax/Bcl-2	Bcl-2	Bax	Bax/Bcl-2	Bcl-2	Bax	
۰/۶۹±۰/۶۶	۳۹/۴۲±۲/۰۴	۲۷/۱۰±۱/۹۲	۰/۲۰±۰/۷۶	۰/۳۴±۰/۱۷	۰/۰۶±۰/۰۱	کنترل سالم
۲/۱۰±۰/۲۷	۲۳/۴۲±۲/۵۷	۴۸/۶۴±۲/۰۷	۲/۷۲±۹۱	۰/۱۸±۰/۱۲	۰/۴۱±۰/۰۸	کنترل بیمار
۱/۲۴±۰/۱۲	۳۳/۴۲±۳/۲۸	۴۱/۰۶±۰/۰۸۹	۱/۱۰±۰/۳۲	۰/۱۹±۰/۰۴	۰/۲۰±۰/۰۶	تمرین بیمار
<۰/۰۰۱	<۰/۰۰۱	<۰/۰۰۱	<۰/۰۰۱	<۰/۰۰۱	<۰/۰۰۱	P

مجله علمی پزشکی

## جندی شاپور

کاهش بیان ژن و پروتئین Bax در عضله EDL موش‌های مبتلا به CKD شد. بنابراین می‌توان نتیجه‌گیری کرد که مداخله تمرینات ورزشی از بیان ژن و پروتئین Bax جلوگیری می‌کند و می‌تواند با کاهش این عامل پیش‌آپوپتوزی احتمالاً از راه‌اندازی آپوپتوز جلوگیری کند. در تأیید یافته‌های ما، چن و همکاران نیز در تحقیقشان گزارش کردند که مداخله فعالیت بدنی موجب کاهش بیان Bax در بافت کلیه موش‌های مدل CKD شد [۱۰] که نشان‌دهنده نقش تمرینات هوازی منظم بر کاهش Bax به عنوان یک عامل پیش‌آپوپتوزی است.

از طرف دیگر خانواده Bcl-2 یکی دیگر از عوامل مؤثر بر آپوپتوز سلولی هستند که در بقا و مرگ سلولی نقش تعدیلی دارد [۲۲]. Bcl-2 با کنترل سیگنال‌های داخل سلولی پیش‌آپوپتوز و ضدآپوپتوز نقش مهمی در تنظیم مرگ برنامه‌ریزی شده سلول دارند [۲۳]. در تحقیق حاضر سطح پروتئین Bcl-2 به عنوان یک عامل ضدآپوپتوزی از خانواده Bcl-2 سنجیده شد و نتایج تحقیق ما نشان داد که القای CKD موجب افزایش بیان ژن و پروتئین Bcl-2 در بافت عضلانی موش‌های بیمار شد. پروتئین‌های Bcl-2-PROSurvival از مسیرهای مختلف از جمله تعامل و توقف پروتئین‌های فعال‌گر BH3-only، آپوپتوز را سرکوب می‌کنند. همچنین پروتئین‌های BH3-only (حساس‌کننده‌ها) نیز ممکن است به طور رقابتی با پروتئین‌های PROSurvival ارتباط برقرار کنند و پروتئین‌های فعال‌کننده BH3-only را آزاد کنند. در مدل خنثی‌سازی، نیز فعال شدن Bax و Bak توسط پروتئین‌های Bcl-2-PROSurvival کنترل می‌شوند [۲۴]. با توجه

از عوامل پیش‌آپوپتوزی است که نقش واسطه‌ای در راه‌اندازی سیگنالینگ آپوپتوز دارد و با افزایش نفوذپذیری میتوکندری و در تعامل با افزایش سطوح سیتوکروم C در مرگ سلولی نقش دارد [۱۷]. گروس و همکارانش گزارش کردند که Bax در پاسخ به یک سیگنال مرگ که شامل هم‌دیمریزاسیون و درج غشای انتگرال میتوکندری است، دچار یک تغییر ساختاری می‌شود. علاوه بر این، یک سیگنال مرگ فیزیولوژیکی و خروج یک عامل بقا، منجر به انتقال Bax از سیتوزول به میتوکندری در سلول‌های FL5.12 می‌شود. همچنین آن‌ها گزارش کردند که Bax سیتوزولی نشان‌دهنده یک مونومر غیرفعال است که یک محرک مرگ باعث تغییر ساختاری در Bax و یا آزاد شدن Bax از یک چارپون سیتوزولی می‌شود و پیکربندی فعال آن را به عنوان یک پروتئین غشایی میتوکندریایی انتگرال دیمر شده امکان‌پذیر می‌کند [۱۸]. لی و همکاران نیز در تحقیقشان گزارش کردند که Bax نقشی محوری در سیگنالینگ آپوپتوز وابسته به میتوکندری دارد [۱۹]. رضوی مجد و همکاران نیز نقش CKD را در افزایش Bax تأیید کردند [۲۰] که با نتایج تحقیق حاضر هم‌خوانی دارد. افزایش Bax در تحقیق حاضر را می‌توان به دلیل افزایش بیان ژن Bax نسبت داد که احتمالاً به علت عوارض CKD از جمله افزایش فاکتورهای التهابی و رادیکال‌های آزاد است و به علت کاهش عملکرد کلیوی ناشی از CKD ایجاد شده است [۲۱]. البته در تحقیق حاضر سطوح فاکتورهای التهابی و رادیکال‌های آزاد اندازه‌گیری نشد که از محدودیت‌های تحقیق حاضر است. از طرفی نتایج نشان داد که مداخله تمرین هوازی تداومی موجب

جدول ۳. نتایج آزمون تعقیبی توکی

Bax/Bcl-2	Bcl-2 MRNA	Bax MRNA	پروتئین Bcl-2	پروتئین Bax	گروه‌ها
<۰/۰۰۱	<۰/۰۰۱	<۰/۰۰۱	<۰/۰۰۱	<۰/۰۰۱	کنترل بیمار
<۰/۰۰۱	۰/۰۰۷	۰/۰۰۵	۰/۰۲۸	<۰/۰۰۱	کنترل بیمار
<۰/۰۰۱	۰/۹۳۵	<۰/۰۰۱	<۰/۰۰۱	<۰/۰۰۱	بیمار تمرین

مجله علمی پزشکی

## جندی شاپور

از عوامل راه انداز آپوپتوز است [۲۸، ۲۹] که می‌تواند با اثرات مثبتی از جمله فاکتورهای رشد و بقای سلولی و کاهش عوامل مرتبط با مرگ سلولی از تحلیل عضلانی جلوگیری کرده و احتمالاً موجب کاهش تحلیل عضلانی در بیماران CKD شود.

### نتیجه‌گیری

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که القای CKD با افزایش Bax و کاهش Bcl-2 می‌تواند موجب افزایش سیگنالینگ آپوپتوز در بافت عضلانی شود. از طرف دیگر تمرینات هوازی تداومی توانست از افزایش Bax / Bcl-2 ناشی از القای CKD در عضله EDL جلوگیری کند و احتمالاً با مهار سیگنالینگ آپوپتوز موجب حفظ توده عضلانی در بیماران مبتلا به CKD شود. با توجه به نتایج به‌دست‌آمده و نقش مثبت تمرینات ورزشی در جلوگیری از آپوپتوز بافت عضلانی و با توجه به اینکه تاکنون درمان قطعی دارویی برای جلوگیری از تحلیل عضلانی بیماران CKD وجود ندارد، پیشنهاد می‌شود که تحقیقات بالینی آینده به منظور ارائه و توصیه تمرینات ورزشی مناسب برای بیماران CKD انجام شود.

### ملاحظات اخلاقی

#### پیروی از اصول اخلاق پژوهش

تمام مراحل اجرا در تحقیق حاضر، بر اساس اصول بیانیه هلسینکی و تأیید کمیته اخلاق در پژوهش پژوهشگاه تربیت‌بدنی و علوم ورزشی رعایت شد (کد اخلاق: IR.SSRI.REC.1400.1008).

#### حامی مالی

تحقیق حاضر بخشی از رساله دکتری نویسنده اول در گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه خوارزمی، تهران است.

#### مشارکت نویسندگان

مفهوم‌سازی: محمود جعفری، پژمان معتمدی؛ تحقیق و بررسی: تمامی نویسندگان؛ ویراستاری و نهایی‌سازی نوشته: محمود جعفری.

#### تعارض منافع

بنابر اظهار نویسندگان این مقاله تعارض منافع ندارد.

به نقش پروتئین Bcl-2 به عنوان یک عمل ضدآپوپتوزی می‌توان کاهش بیان ژن و پروتئین Bcl-2 را یکی از دلایل تحلیل عضلانی مرتبط با آپوپتوز سلولی دانست. وانگ دونگ و همکاران نیز در پژوهشی که روی رت‌های مدل CKD انجام دادند، گزارش کردند که در عضله اسکلتی رت‌های CKD پروتئین Bax افزایش و Bcl-2 کاهش می‌یابد که این تغییر موجب راه‌اندازی کاسپاز ۳ و آزاد شدن سیتوکروم C از میتوکندری و آپوپتوز سلول عضلانی می‌شود [۲۵]. که نتایج تحقیق وانگ دونگ با نتایج تحقیق ما هم‌خوانی داشت. همچنین نتایج تحقیق حاضر نشان داد که افزایش معنی‌داری هم در پروتئین Bcl-2 در بافت عضلانی رت‌های بیمار تمرین مشاهده شد که نشان‌دهنده اثر تمرین بر افزایش پروتئین Bcl-2، به عنوان یکی از عوامل مؤثر در بقای سلولی است. چن و همکاران نیز در تحقیقشان گزارش کردند که تمرینات هوازی اثر معنی‌داری بر افزایش Bcl-2 در کلیه رت‌های مبتلا به CKD داشت [۱۰]. رضوی مجد و همکاران نیز نتایج مشابهی متعاقب تمرینات هوازی بر افزایش Bcl-2 در کاردیوسیت‌های رت‌های مبتلا به CKD گزارش کردند [۲۰] که نتایج این تحقیقات از یافته‌های تحقیق ما حمایت می‌کنند.

آتروفی عضلانی و کاهش عملکرد عضلانی یکی از عوارض اصلی CKD است که منجر به کاهش کیفیت زندگی در این بیماران می‌شود [۲۶، ۴، ۳]. تحلیل عضله یک عارضه شایع در بیماران مبتلا به CKD است که کیفیت زندگی بیماران را کاهش می‌دهد و خطر ابتلا به مرگ‌ومیر آن‌ها را افزایش می‌دهد [۱۵]. یکی از عوامل اصلی آتروفی عضلانی در CKD افزایش آپوپتوز در بافت عضلانی است. با توجه به اینکه آپوپتوز سلولی تحت تأثیر تعامل فاکتورهای ضدآپوپتوزی و پیش‌آپوپتوزی است، نسبت این عوامل می‌تواند در بقا یا مرگ سلولی مؤثر باشد [۲۰]. نتایج تحقیق حاضر نشان داد اگرچه القای CKD موجب افزایش نسبت پروتئین Bax به Bcl-2 (Bax/Bcl-2) می‌شود؛ ولی تمرینات ورزشی توانست موجب کاهش Bax/Bcl-2 نسبت به گروه بیمار کنترل شود. پتچر و همکارانش گزارش کردند که تمرینات ورزشی منظم با افزایش فیلتراسیون گلومرولی موجب کاهش استرس اکسیداتیو در CKD می‌شود [۱۲]؛ با توجه به ارتباط بین استرس اکسیداتیو و راه‌اندازی سیگنالینگ آپوپتوز [۲۷] می‌توان گفت که احتمالاً اثرات تمرینات هوازی بر کاهش آپوپتوز در تحقیق حاضر به خاطر اثرات ضداکسیداتیو تمرینات ورزشی باشد. کواک نیز نشان داد که تمرینات ورزشی، نسبت Bax/Bcl-2 در کلیه را کاهش می‌دهد [۹]؛ رضوی مجد و همکاران نیز نتایج مشابهی متعاقب تمرینات هوازی، بر کاهش Bax/Bcl-2 در کاردیوسیت‌های رت‌های مبتلا به CKD گزارش کردند [۲۰] که نتایج این تحقیقات با یافته‌های تحقیق ما هم‌خوانی دارند.

مشخص شده است که به هم خوردن تعادل بین Bax و Bcl-2 و کاهش Bax/Bcl-2 می‌تواند از مرگ سلولی جلوگیری کند [۲۲]. در واقع تمرینات ورزشی یکی از عوامل مؤثر بر افزایش سطح Bcl-2 به عنوان مهم‌ترین عامل ضدآپوپتوتیک و کاهش Bax به عنوان یکی

**References**

- [1] Ketteler M, Block GA, Evenepoel P, Fukagawa M, Herzog CA, McCann L, et al. Executive summary of the 2017 KDIGO Chronic Kidney Disease-Mineral and Bone Disorder (CKD-MBD) guideline update: What's changed and why it matters. *Kidney Int.* 2017; 92(1):26-36. [DOI:10.1016/j.kint.2017.04.006] [PMID]
- [2] Kalambay J, Zaman R, Zaman M. Atypical Hemolytic uremic syndrome presenting as pre-eclampsia in a 24-year-old woman with chronic kidney disease: Pathogenesis and genetics. *Cureus.* 2018; 10(9):e3358. [DOI:10.7759/cureus.3358] [PMID] [PMCID]
- [3] Cheema BSB, O'Sullivan AJ, Chan M, Patwardhan A, Kelly J, Gillin A, et al. Progressive resistance training during hemodialysis: Rationale and method of a randomized-controlled trial. *Hemodial Int.* 2006; 10(3):303-10. [DOI:10.1111/j.1542-4758.2006.00112.x] [PMID]
- [4] Johansen KL, Shubert T, Doyle J, Soher B, Sakkas GK, Kent-Braun JA. Muscle atrophy in patients receiving hemodialysis: Effects on muscle strength, muscle quality, and physical function. *Kidney Int.* 2003; 63(1):291-7. [DOI:10.1046/j.1523-1755.2003.00704.x] [PMID]
- [5] McIntyre CW, Selby NM, Sigrist M, Pearce LE, Mercer TH, Naish PF. Patients receiving maintenance dialysis have more severe functionally significant skeletal muscle wasting than patients with dialysis-independent chronic kidney disease. *Nephrol Dial Transplant.* 2006; 21(8):2210-6. [DOI:10.1093/ndt/gfl064] [PMID]
- [6] Jafari M, Ghalavand A, Rajabi H, Khaledi N, Motamedi P. [A review of the effect of exercise training on neuromuscular junction in throughout life: A logical analysis of animal experimental studies (Persian)]. *Razi J Med Sci.* 2021; 28(3):37-47. <http://rjms.iums.ac.ir/article-1-6316-en.html>
- [7] Gao Y, Ordas R, Klein JD, Price SR. Regulation of caspase-3 activity by insulin in skeletal muscle cells involves both PI3-kinase and MEK-1/2. *J Appl Physiol.* 2008; 105(6):1772-8. [DOI:10.1152/jappphysiol.90636.2008] [PMID] [PMCID]
- [8] Powers SK, Kavazis AN, McClung JM. Oxidative stress and disuse muscle atrophy. *J Appl Physiol.* 2007; 102(6):2389-97. [DOI:10.1152/jappphysiol.01202.2006] [PMID]
- [9] Kwak HB, Song W, Lawler JM. Exercise training attenuates age-induced elevation in Bax/Bcl-2 ratio, apoptosis, and remodeling in the rat heart. *FASEB J.* 2006; 20(6):791-3. [DOI:10.1096/fj.05-5116fje] [PMID]
- [10] Chen KC, Peng CC, Hsieh CL, 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 Alternat Med.* 2013; 2013:368450. [DOI:10.1155/2013/368450] [PMID] [PMCID]
- [11] Van Craenenbroeck AH, Van Craenenbroeck EM, Kouidi E, Vrints CJ, Couttenye MM, Conraads VM. Vascular effects of exercise training in CKD: Current evidence and pathophysiological mechanisms. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2014; 9(7):1305-18. [DOI:10.2215/CJN.13031213] [PMID] [PMCID]
- [12] Pechter Ü, Ots M, Mesikepp S, Zilmer K, Kullissaar T, Vi-halemm T, et al. Beneficial effects of water-based exercise in patients with chronic kidney disease. *Int J Rehabil Res.* 2003; 26(2):153-6. [DOI:10.1097/00004356-200306000-00013] [PMID]
- [13] De Moraes WMAM, de Souza PRM, da Paixão NA, de Sousa LGO, Ribeiro DA, Marshall AG, et al. Aerobic exercise training rescues protein quality control disruption on white skeletal muscle induced by chronic kidney disease in rats. *J Cell Mol Med.* 2018; 22(3):1452-63. [DOI:10.1111/jcmm.13374] [PMID] [PMCID]
- [14] Watson EL, Viana JL, Wimbury D, Martin N, Greening NJ, Barratt J, et al. The effect of resistance exercise on inflammatory and myogenic markers in patients with chronic kidney disease. *Front Physiol.* 2017; 8:541. [DOI:10.3389/fphys.2017.00541] [PMID] [PMCID]
- [15] Wang B, Zhang C, Zhang A, Cai H, Price SR, Wang XH. MicroRNA-23a and microRNA-27a mimic exercise by ameliorating CKD-induced muscle atrophy. *J Am Soc Nephrol.* 2017; 28(9):2631-40. [DOI:10.1681/ASN.2016111213]
- [16] Wang XH, Du J, Klein JD, Bailey JL, Mitch WE. Exercise ameliorates chronic kidney disease-induced defects in muscle protein metabolism and progenitor cell function. *Kidney Int.* 2009; 76(7):751-9. [DOI:10.1038/ki.2009.260] [PMID] [PMCID]
- [17] Wang TS, Coppens I, Saorin A, Brady NR, Hamacher-Brady A. Endolysosomal targeting of mitochondria is integral to BAX-mediated mitochondrial permeabilization during apoptosis signaling. *Dev Cell.* 2020; 53(6):627-45.E7. [DOI:10.1016/j.devcel.2020.05.014] [PMID] [PMCID]
- [18] Gross A, Jockel J, Wei MC, Korsmeyer SJ. Enforced dimerization of BAX results in its translocation, mitochondrial dysfunction and apoptosis. *EMBO J.* 1998; 17(14):3878-85. [DOI:10.1093/emboj/17.14.3878] [PMID] [PMCID]
- [19] Lee YS, Kalimuthu K, Park YS, Luo X, Choudry MHA, Bartlett DL, et al. BAX-dependent mitochondrial pathway mediates the crosstalk between ferroptosis and apoptosis. *Apoptosis.* 2020; 25(9-10):625-31. [DOI:10.1007/s10495-020-01627-z] [PMID] [PMCID]
- [20] Razavimajd Z, Homaei HM, Azarbayjani MA, Farzanegi P. The effect of regular aerobic exercise with garlic extract on heart apoptosis regulatory factors in chronic kidney disease. *Iran J Diabetes Obes.* 2017; 9(1-2):62-8. <http://ijdo.ssu.ac.ir/article-1-342-en.html>
- [21] Yang P, Xiao Y, Luo X, Zhao Y, Zhao L, Wang Y, et al. Inflammatory stress promotes the development of obesity-related chronic kidney disease via CD36 in mice. *J Lipid Res.* 2017; 58(7):1417-27. [DOI:10.1194/jlr.M076216] [PMID] [PMCID]
- [22] Singh R, Letai A, Sarosiek K. Regulation of apoptosis in health and disease: The balancing act of BCL-2 family proteins. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2019; 20(3):175-93. [DOI:10.1038/s41580-018-0089-8] [PMID] [PMCID]
- [23] Ashkenazi A, Fairbrother WJ, Levenson JD, Souers AJ. From basic apoptosis discoveries to advanced selective BCL-2 family inhibitors. *Nat Rev Drug Discov.* 2017; 16(4):273-84. [DOI:10.1038/nrd.2016.253] [PMID]

- [24] Pihán Ph, Carreras-Sureda A, Hetz C. BCL-2 family: Integrating stress responses at the ER to control cell demise. *Cell Death Differ*. 2017; 24(9):1478-87. [DOI:10.1038/cdd.2017.82] [PMID] [PMCID]
- [25] Wang DT, Lu L, Shi Y, Geng ZB, Yin Y, Wang M, et al. Supplementation of ketoacids contributes to the up-regulation of the Wnt7a/Akt/p70S6K pathway and the down-regulation of apoptotic and ubiquitin-proteasome systems in the muscle of 5/6 nephrectomised rats. *Br J Nutr*. 2014; 111(9):1536-48. [DOI:10.1017/S0007114513004091] [PMID]
- [26] Bataille S, Chauveau Ph, Fouque D, Aparicio M, Koppe L. Myostatin and muscle atrophy during chronic kidney disease. *Nephrol Dial Transplant*. 2021; 36(11):1986-93. [DOI:10.1093/ndt/gfaa129] [PMID]
- [27] Wan F, Zhong G, Ning Zh, Liao J, Yu W, Wang C, et al. Long-term exposure to copper induces autophagy and apoptosis through oxidative stress in rat kidneys. *Ecotoxicol Environ Saf*. 2020; 190:110158. [DOI:10.1016/j.ecoenv.2019.110158] [PMID]
- [28] Moradi A, Hosseini SA, Nikbakht M. Anti-apoptotic effects of interval and continued training and crocin on the muscle tissue of the rats with type II diabetes induced by a high-fat diet. *J Nutr Fasting Health*. 2019; 7(3):130-7. [DOI:10.22038/JNFH.2019.39346.1186]
- [29] Park SS, Park HS, Jeong H, Kwak HB, No MH, Heo JW, et al. Treadmill exercise ameliorates chemotherapy-induced muscle weakness and central fatigue by enhancing mitochondrial function and inhibiting apoptosis. *Int Neurourol J*. 2019; 23(Suppl 1):S32-9. [DOI:10.5213/inj.1938046.023] [PMID] [PMCID]