JME
https://jme.guilan.ac.ir/
https://doi.org/10.22124/jme.2023.23952.250

دوفصلنامه سوخت‌وساز و فعالیت ورزشی
سال دوازدهم، جلد دوازدهم، شماره ۲

Open Access
مقاله پژوهش

تاثیر تمرین هوازی و مکمل کورکومین بر برخی شاخص‌های میتوفاژی ناشی از ایسکمی/خون‌رسانی مجدد کلیه موش‌های صحرایی نر

امیر داداش‌زاده[۱]، رقیه پوزش‌جدیدی[۲*]، امید آذین‌فام[۱]، جبرئیل پوزش‌جدیدی[۱]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۲/۰۷ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۲/۲۲ تاریخ چاپ: ۱۴۰۲/۰۴/۰۳

چکیده

هدف: هدف مطالعه حاضر تعیین تاثیر تمرین هوازی و مکمل کورکومین بر برخی شاخص‌های میتوفاژی ناشی از ایسکمی/خون‌رسانی مجدد کلیه موش‌های صحرایی نر بود.

روش: ۵۰ سر موش صحرائی نر (۱۲ هفته‌ای با وزن ۲۸/۵۷ ± ۳۱۵/۲۳) پس از القای ایسکمی کلیه، به‌طور تصادفی در پنج گروه کنترل سالم، کنترل ایسکمی، تمرین، کورکومین، تمرین + کورکومین تقسیم شدند. برنامه تمرین هوازی شامل هشت هفته متشکل از پنج جلسه تمرین در هر هفته بود که هر جلسه با سرعت ۱۰ متر در دقیقه، شیب ۵ درصد به مدت ۱۰ دقیقه در روز، آغاز شد. سرعت و زمان دویدن به‌تدریج تا ۱۵ متر در دقیقه به مدت ۲۰ دقیقه در روز افزایش یافت. در دو جلسه آخر شدت فعالیت هوازی به ۲۵ متر در دقیقه و به مدت ۳۰ دقیقه در روز رسید. هر جلسه دو دقیقه گرم کردن و سرد کردن با سرعت ۱۰ متر در دقیقه انجام شد. کورکومین (تهیه‌شده از شرکت دارویی سیگما آلمان) روزانه ۲۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن به‌صورت گاواژ خوراکی مصرف شد. بیان ژن‌های HIF-1α و BNIP3 با استفاده از روش Real-Time PCR بررسی شدند و داده‌ها با استفاده از روش تحلیل واریانس یک‌سویه و آزمون تعقیبی توکی در سطح معنی‌داری p<۰/۰۵ تحلیل شدند.

یافته‌ها: در هر چهار گروه مداخله شامل کنترل ایسکمی، تمرین، کورکومین و توام، بیان HIF-1α و BNIP3 بافت کلیه افزایش معنی‌دار (p=۰/۰۰۱ در هر چهار گروه) نسبت به گروه کنترل داشت. بااین‌حال، بیان ژن HIF-1α و BNIP3 بافت کلیه پس از تمرین، موجب کاهش و افزایش معنی‌دار (به ترتیب p=۰/۰۰۷ و p=۰/۰۱) در مقایسه با گروه کنترل سالم و کنترل ایسکمی شد. همچنین، کورکومین و توام با فزایش بیان ژن HIF-1α و BNIP3 بافت کلیه در مقایسه با گروه کنترل سالم و کنترل ایسکمی (به ترتیب p=۰/۰۰۲ و p=۰/۰۰۱) همراه بود؛ اما نسبت به گروه تمرین معنی‌دار (به ترتیب p=۰/۷ و p=۰/۱) نبود.

نتیجه‌گیری: ایسکمی کلیوی موجب افزایش بیان ژن‌های Bnip3 و HIF-1α می‌شود اما به دنبال ۸ هفته تمرین هوازی بیان ژن HIF-1α کاهش و بیان ژن Bnip3 افزایش یافت. همچنین، احتمالاً کورکومین و اثر توام تمرین و کورکومین با افزایش بیان ژن‌های Bnip3 و HIF-1α و احتمالاً با حذف میتوکندری‌های آسیب‌دیده موجب بهبود وضعیت پاتولوژیک ناشی از ایسکمی کلیوی می‌شود. بااین‌حال، به دلیل کمبود شواهد کافی و محدودیت‌های تحقیق، همچنان نیاز به بررسی بیشتر در این زمینه باقی و ضروری به نظر می‌رسد.

واژه‌های کلیدی: میتوفاژی، کورکومین، هوازی، HIF-1α، Bnip3

۱. گروه تربیت‌بدنی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران. ۲. استادیار، گروه تربیت‌بدنی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران. * نشانی الکترونیک نویسنده مسئول: poozesh2016@gmail.com

Copyright © The Authors Publisher: University of Guilan

مقدمه

آسیب ایسکمی/خون‌رسانی مجدد کلیوی (RI/R) یک پاتوژنز شایع آسیب حاد کلیه است که آسیب شدید کلیه را به همراه دارد. ازنظر بالینی، علیرغم توجه زیاد به این بیماری شایع، AKI همچنان یک مشکل دشوار برای پزشکان در تشخیص و درمان است، همچنین، میزان عوارض و مرگ‌ومیر ناشی از AKI در بیماران بخش مراقبت‌های ویژه ۵۰ تا ۷۰ درصد گزارش‌شده است (۱). در سطح مولکولی، شایع‌ترین شکل AKI کلیوی، نکروز حاد توبولی و آسیب نفرون‌ها در اثر هیپوکسی می‌باشد که با مرگ سلول‌های اپیتلیال توبولی و اختلال در عملکرد یک یا چند بخش توبول کلیه مشخص می‌شود (۲، ۳).

در این راستا، نشان داده شده است که افزایش فاکتور ۱ القاکننده هیپوکسی (HIF-1) یک تغییر مشخصه در I/R به شمار می‌رود (۴). HIF-1 یک هترودایمر است که از یک زیرواحد HIF-1αو یک زیرواحد HIF-1β تنظیم شده با O2 تشکیل شده است. در شرایط هیپوکسیک، پروتئین HIF-1α ژن‌های دخیل در سازگاری با شرایط هیپوکسی را تثبیت و فعال می‌کند. اعتقاد بر این است HIF-1α از طریق افزایش بیان ژن‌های هدف HIF-1α که در تغییر متابولیسم گلوکز به گلیکولیز دخیل هستند، نقش محافظتی در IRI اعمال می‌کند (۵، ۶)؛ همچنین، رادیکال‌های آزاد اکسیژن را از بین برده (۶) و به بقاء سلول کمک می‌کند (۷). به‌عنوان‌مثال، نشان داده شده است که miR-30c-5p بیان HIF-1α را با هدف قرار دادن سرکوبگر سیتوکین سیگنالینگ-۳ (SOCS3) تثبیت می‌کند، درنتیجه از آپوپتوز ناشی از هیپوکسی/اکسیژناسیون مجدد (H/R) محافظت می‌کند و تکثیر سلولی را القا می‌کند (۸-۱۰). همچنین، گزارش شده است HIF-1α در تنظیم فعالیت، رشد سلول، آپوپتوز و میتوفاژی (۱۱، ۱۲) با حفظ فعالیت‌های فیزیولوژیکی طبیعی سلول‌ها در محیط هیپوکسیک نقش دارد (۱۳). از سویی، HIF-1α از طریق تنظیم متابولیسم، رگزایی، اریتروپوئز و اثرات ضد آپوپتوزی و فعال کردن پروتئین‌های میتوفازی (۱۴) از آسیب ایسکمی بازخون-رسانی کلیه محافظت می‌کند (۱۵). همچنین، HIF-1α با اتصال به پروموتر miR-140-5p و کاهش بیان آن فرآیند میتوفاژی را در شرایط هیپوکسیک تقویت می‌کند (۱۱). فعال شدن میتوفاژی پس از آسیب ایسکمیک کلیه با افزایش بیان LC3، PINK1، PARKIN، BNIP3 و با کاهش متعاقب آن در سطوح پروتئین p62 همراه

https://doi.org/10.22124/jme.2023.23952.250

است (۱۱). بااین‌حال، مکانیسم زیربنایی اثر محافظتی HIF-1α در آسیب کلیوی ناشی از I/R تا حد زیادی ناشناخته باقی مانده است. از سویی، گزارش شده است پروتئین ۳ برهم-کنش ۱۹ کیلو دالتونی (BNIP3) Bcl-2، یک پروتئین میتوکندریایی می‌باشد که نقش مهمی در میتوفاژی بازی می‌کند. به‌عنوان‌مثال، Chourasia و همکاران، نشان دادند کاهش BNIP3 منجر به نقص میتوفاژی در سلول‌های تومور پستانی می‌شود (۱۷) و سرکوبگر تومور p53 رونویسی و بیان BNIP3 را مهار می‌کند و منجر به کاهش فعالیت میتوفاژی می‌شود (۱۸). همچنین گزارش شده است Bnip3 در میتوفاژی ناشی از هیپوکسی نقش دارد و از طریق HIF-1α یا FOXO3 تنظیم می‌شود (۱۹). علاوه بر این، مشخص شد که میتوفاژی با واسطه BNIP3 نقش محافظتی در AKI ناشی از IRI (۱۲) و در تولید حافظه سلولی کشنده طبیعی نقش ایفا می‌کند (۲۰). نشان داده شده است بیان پروتئین BNIP3، BAX (X مرتبط با BCL2، تنظیم‌کننده آپوپتوز) و (BAK آنتاگونیست/قاتل ۱) را با وارد کردن و فعال کردن در میتوکندری، که یک مرحله کلیدی برای نفوذپذیری غشای خارجی میتوکندری می‌باشد و منجر به آزاد شدن عوامل پرواپوپتوزی موجود در فضای بین غشای میتوکندری به داخل سیتوزول برای شروع آبشار آپوپتوز می‌شود را حساس‌تر می‌کند (۲۱،۲۲). از سوی دیگر، مطالعات اخیر نشان می‌دهد که BNIP3 و HIF-1α در شرایط پاتولوژیک به بقاء سلول کمک می‌کند (۷، ۲۰، ۲۳، ۲۴). مطالعات نشان می‌دهد احتمالاً BNIP3 در تنظیم میتوفاژی سلول‌های توبول‌های پروگزیمال کلیه (RPTCs) در پاسخ به استرس اکسیداتیو و هیپوکسی نقش دارد (۲۵)، اما نقش دقیق آن در پاتوژنز AKI تا حد زیادی روشن نیست. همچنین، گزارش شده است تنظیم مثبت BNIP3 با افزایش اتوفاژی، تخریب پروتئین‌های میتوکندری و همچنین تشکیل میتوفاگوزوم سلول‌های لوله‌ای به دنبال IR کلیه همراه است. بااین‌حال، همه این تغییرات تا حدودی با کاهش BNIP3 معکوس می‌شود (۱۲) بااین‌وجود، نقش و دقت عوامل دخیل. بیان پروتئین‌های BNIP3 و HIF-1α در AKI ناشی از ایسکمی-بازخونرسانی به‌طور کامل شناخته‌نشده است. از سویی، کورکومین یا ۱,۷-bis(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-1,6-heptadiene-3,5-dione، یک ماده فنولی طبیعی است که در ریزوم Curcumae longae وجود دارد (۱۶،۱۷). کورکومین به دلیل طیف وسیعی از اثرات بیولوژیکی گزارش شده ازجمله اثرات ضدالتهابی، آنتی‌اکسیدانی، ضدسرطان‌زا و

Copyright © The Authors Publisher: University of Guilan

https://doi.org/10.22124/jme.2023.23952.250

محافظت از کلیه (۲۸) موردتوجه علمی روزافزونی قرارگرفته است (۲۹، ۳۰). مطالعات قبلی گزارش کرده‌اند که کورکومین با تنظیم تکثیر سلولی، آپوپتوز و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، اثرات مثبتی بر آسیب‌های ایسکمی/ریپرفیوژن (I/R) در اندام‌های مختلف ایجاد می‌کند (۳۱،۳۲). علاوه بر این، تعدادی از مطالعات نشان داده‌اند که کورکومین با تنظیم مسیرهای سیگنالینگ مختلف، آسیب I/R را کاهش می‌دهد. لیو و همکاران نشان دادند کورکومین با مهار سیگنالینگ اکسید نیتریک (NO) از توبول-های کلیه در برابر آسیب I/R کلیوی محافظت می‌کند (۳۳). علاوه‌براین، کیم و همکاران پیشنهاد کردند کورکومین مسیر سیگنالینگ TLR2/NF-kB را تعدیل می‌کند تا آسیب ناشی از I/R را کاهش دهد (۳۴). همچنین، برخی مطالعات از فعال‌سازی میتوفاژی و اتوفاژی متعاقب القاء کورکومین حمایت کرده‌اند (۲۹،۳۵). بااین‌حال، مکانیسم‌های حفاظتی زیربنای اثرات محافظتی کورکومین در برابر آسیب I/R و میتوفاژی هنوز به‌طور کامل مشخص نشده است.

در این راستا، فعالیت بدنی ممکن است برای پیشگیری و درمان اغلب بیماری‌های مزمن، ازجمله، بیماری‌های قلبی عروقی، دیابت، فشارخون بالا و انواع خاصی از سرطان مفید باشد (۳۶). همچنین، مطالعات نشان می‌دهد تمرین ورزشی به‌عنوان یک مداخله درمانی کلیدی در اختلالات کلیوی در نظر گرفته می‌شود و ممکن است خطرات قلبی عروقی را کاهش و عملکردهای قلبی تنفسی، متابولیکی، عصبی-عضلانی و شناختی را افزایش دهد و عملکرد کلیه را بهبود بخشد (۳۷، ۳۸). تمرین بدنی یک عامل کلیدی برای مدیریت بالینی بیماران مبتلا به نارسایی کلیوی ناشی از ایسکمی است (۳۹)، همچنین، گزارش شده است انجام تمرینات بدنی عملکرد کلیه را در بیماران مبتلا به CKD بهبود می‌بخشد (۳۸). از سویی، گزارش شده است فعالیت ورزشی برای حفظ میتوفاژی پروتئین‌ها مؤثر است و حتی ممکن است بیان پروتئین‌های میتوفاژی را تسهیل کند که حاکی از نقش مفید تمرینات ورزشی بر عملکرد میتوکندری می‌باشد (۴۰). در حمایت از این مفهوم، نشان داده شده است که تمرینات ورزشی می‌توانند باعث القاء میتوفاژی شوند (۴۰،۴۱). از سویی، گزارش شده است تمرین ورزش ظرفیت اکسیداتیو میتوکندری کلیوی را در حیوانات مبتلا به نارسایی کلیوی ناشی از ایسکمی بهبود می‌بخشد (۳۸) و این بهبود ظرفیت اکسیداتیو با بازسازی جریان اتوفاژی در

ارتباط است (۴۲). ورزش با افزایش جذب پارکین در میتوکندری کلیه، اتوفاژی میتوکندری را تحریک می‌کند (۱۱). قابل‌توجه است که تمرینات هوازی مسیر سیگنال دهی PINK1/Parkin را افزایش می‌دهد و درنتیجه باعث ایجاد اتوفاژی میتوکندری می‌شود (۴۳). همچنین فعالیت بدنی بیان SIRT3 را تنظیم، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بدن را افزایش، کیفیت میتوکندری را بهبود می‌بخشد و به کاهش اختلال عملکرد کلیه در موش‌ها بعد از ایسکمی کمک می‌کند (۴۴). مطالعات پیشنهاد کردند که ورزش هوازی با افزایش بیان پروتئین‌های مربوط به میتوفاژی و اتوفاژی میتوکندریایی، اتوفاژی میتوکندری را القا می‌کند و آسیب کلیوی ناشی از ایسکمی را بهبود می‌بخشد (۲۰، ۴۵). بااین‌وجود، هنوز اثرات ورزش و مکمل کورکومین بر مقدار بیان ژن‌های HIF-1α و BNIP3 ناشی از ایسکمی به‌طور دقیق ارزیابی نشده است و در حال حاضر، شواهد کافی برای حمایت از مداخله تمرین ورزشی هوازی و کورکومین بر بیان ژن‌های HIF-1α و BNIP3 ناشی از ایسکمی کلیوی وجود ندارد. از سویی، کلیه به دلیل آناتومی عروق کلیوی، شبکه عروقی پیچیده و مصرف انرژی بالای سلول‌های اپیتلیال توبولهای کلیوی به هیپوکسی بسیار حساس و به وضعیت ایسکمیک آسیب‌پذیرتر است (۴۸-۴۶)؛ بنابراین، احتمالاً مداخله کورکومین و تمرین ورزشی یک اثر محافظتی جالبی در برابر آسیب ایسکمی خون‌رسانی مجدد ایجاد کند. هرچند، برخی مطالعات قبلی اثرات مفید ورزش را بر آسیب برخی اندام‌ها ناشی از ایسکمی و خون‌رسانی مجدد در مدل‌های حیوانی ایسکمی نشان داده‌اند (۴۹). بااین‌حال، اثرات محافظتی تمرین ورزشی و مکمل کورکومین در مورد پارامترهای آسیب کلیوی ناشی از ایسکمی خون‌رسانی مجدد به‌طور دقیق ارزیابی و به‌خوبی درک نشده است. بنابراین، هدف از این مطالعه بررسی تاثیر تمرین هوازی و مکمل کورکومین بر برخی شاخص‌های میتوفاژی ناشی از ایسکمی/خون‌رسانی مجدد کلیه موش‌های صحرایی نر بود.

روش‌پژوهش

نوع پژوهش در مطالعه حاضر، ازلحاظ هدف بنیادی-کاربردی و روش پژوهش از نوع تجربی بوده و براساس میزان نظارت و درجه کنترل، از نوع پژوهش‌های آزمایشگاهی بود. تعداد ۵۰ سر موش صحرائی نر نژاد ویستار ۱۲ هفته‌ای با وزن ۲۰۰ تا ۲۵۰ گرم از مرکز انستیتو پاستور ایران خریداری شدند. در مدت اجرای مداخله‌های تمرینی و جراحی، تعداد سه سر موش صحرائی در هر قفس با

Copyright © The Authors

https://doi.org/10.22124/jme.2023.23952.250

دسترسی آزاد به آب و بسته‌های غذایی و طبق چرخه ۱۲ ساعت خواب و بیداری نگه‌داری شدند. درجه حرارت اتاق، در محدوده ۲±۲۲ درجه سانتی‌گراد حفظ شد و شرایط نگهداری و کار با حیوانات براساس توصیه‌های قوانین حمایت از حیوانات آزمایشگاهی (NIH) انجام گرفت. در ادامه حیوانات به‌وسیله تزریق درون صفاقی محلول کتامین (۴۰ mg/kg) و زایلازین (۵ mg/kg) بی‌هوش شدند. سپس موهای ناحیه شکمی حیوان تراشیده شد و پس از ضدعفونی کردن، برشی طولی بر روی شکم ایجاد و هر دو شریان و ورید کلیوی به‌وسیله کلمپ مسدود شدند. ایسکمی به مدت ۴۵ دقیقه انجام شد. پس از ایسکمی خون‌رسانی مجدد به مدت ۲۴ ساعت انجام شد (۲۹). در ادامه، ۴۰ سر موش، به‌جز گروه کنترل سالم (۱۰ سر)، پس از القای ایسکمی کلیه، به‌طور تصادفی در چهار گروه کنترل ایسکمی، تمرین، کورکومین، تمرین + کورکومین جایگزین شدند.

پروتکل تمرین هوازی

ابتدا، همه موش‌ها با شیب ۵ درصد، سرعت ۵ - ۱۰ متر در دقیقه و ۱۰ دقیقه در روز به مدت یک هفته با دویدن روی تردمیل آشنا شدند. سپس قسمت اصلی تمرین با سرعت ۱۰ متر در دقیقه، شیب ۵ درصد به مدت ۱۰ دقیقه در روز، آغاز شد. سرعت و زمان دویدن به‌تدریج تا ۱۵ متر در دقیقه به مدت ۲۰ دقیقه در روز افزایش یافت. به‌طوری‌که در دو جلسه آخر شدت فعالیت هوازی به ۲۵ متر در دقیقه و به مدت ۳۰ دقیقه در روز رسید. هر جلسه دو دقیقه گرم کردن و سرد کردن با سرعت ۱۰ متر در دقیقه انجام شد (۵۰). کورکومین (تهیه‌شده از شرکت دارویی سیگما Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) روزانه ۲۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن در طی دو وهله (که در هر وهله نصف دوز مصرف شد) به‌صورت گاواژ خوراکی مصرف شد (۲۹).

واکنش زنجیره‌ای پلیمراز در زمان واقعی (PCR time Real)

پس از ۸ هفته مداخله، تمامی حیوانات به‌وسیله تزریق درون صفاقی محلول کتامین (۴۰ mg/kg) و زایلازین (۵ mg/kg) بی‌هوش و بافت کلیه استخراج شد. در ادامه ۵۰ میلی‌گرم بافت کلیه با اضافه کردن ۱ میلی مول معرف Plus RNX (سینا ژن، ایران) هموژن گردید. سپس کلیه مراحل، مطابق دستورالعمل کیت استخراج RNA تا تهیه RNA خالص انجام شد. محلول RNA استخراج‌شده با آنزیم I DNase از هرگونه آلودگی به DNA و آنزیم‌های تخریب‌کننده RNA پاکسازی شد. در مرحله

https://doi.org/10.22124/jme.2023.23952.250

بعد، ۵ میکروگرم از RNA استخراج‌شده مطابق پروتکل کیت مورداستفاده Firs (تاکارا، ژاپن synthesis cDNA standard) و به‌وسیله پرایمرهای Oligo-dT به cDNA تبدیل گردید. آزمایش RT-qPCR با دستگاه Light cycler 96 (Roche) با استفاده از رنگ SYBR Grean I (یکتا تجهیز، ایران) و پرایمرهای طراحی‌شده توسط نرم‌افزار Primer3 انجام شد. با استفاده از نتایج qPCR-RT بیان نسبی ژن‌های HIF-1α و BNIP3 در بافت کلیه گروه‌های موردمطالعه با روش $2^{\Delta\Delta-Ct}$ محاسبه شد. همچنین پس از انجام آزمایشqPCR، مقادیر مربوطه توسط ژن بتااکتین نرمالیزه و میزان تغییر نسبت به گروه‌های دیگر مقایسه شدند.

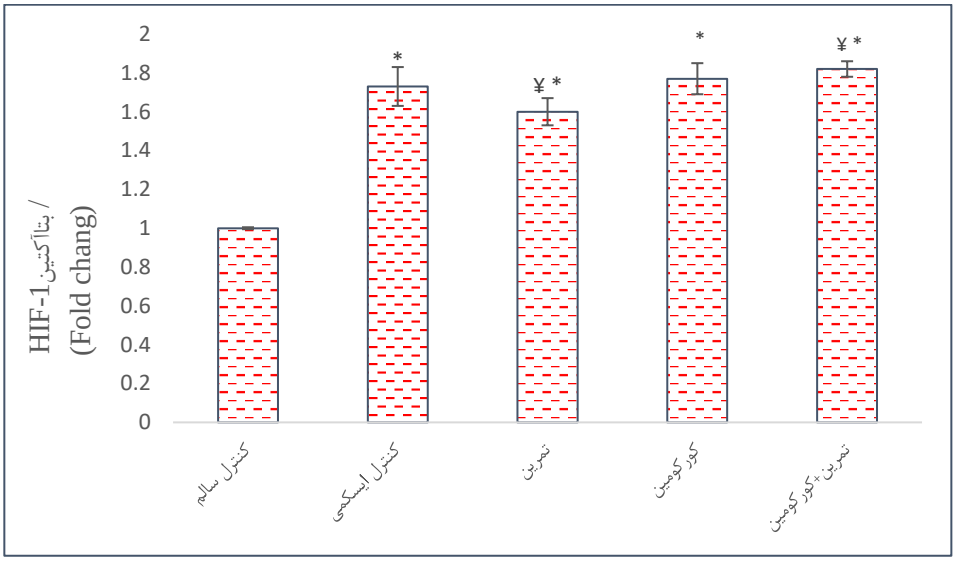
روش آماری

پس از ارزیابی توزیع طبیعی داده‌ها به کمک آزمون شاپیرو ویلک، در ادامه، برای مقایسه بین‌گروهی داده‌ها از تحلیل واریانس تک راهه استفاده شد که در صورت معنی‌دار شدن آن، در ادامه داده‌ها با استفاده از آزمون تعقیبی توکی و یا جیمز هاول (بسته به نتایج آزمون لون) مقایسه شدند. تمام آزمون‌ها با نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۱ در سطح اطمینان آماری ۹۵ درصد تحلیل شدند.

یافته‌ها

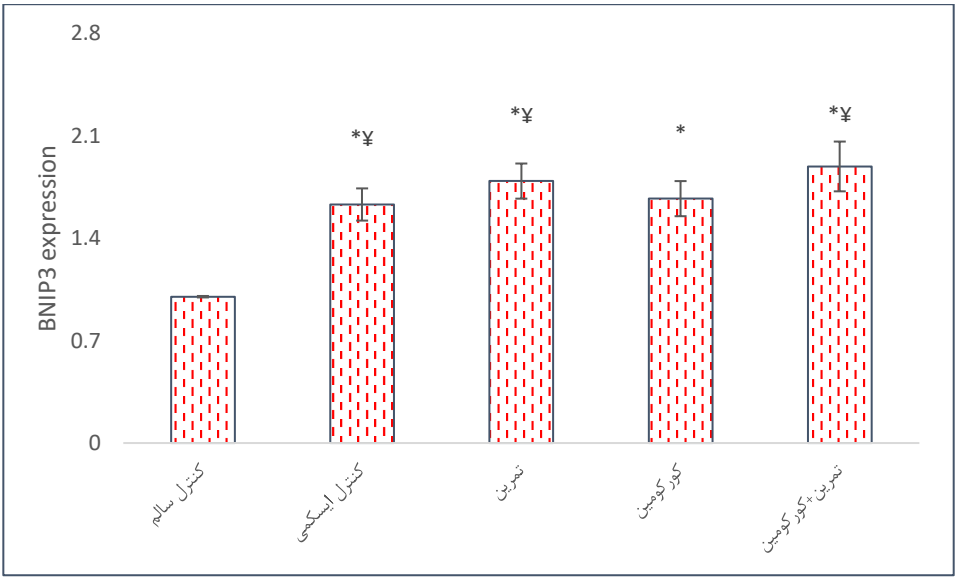
تمام رت‌ها (۵۰ رت در قالب پنج گروه) دوره مداخله را تکمیل کردند. نتایج نشان داد ایسکمی کلیه منجر به افزایش معنی‌دار مقدار بیان ژن‌های HIF-1α و BNIP3 (P=۰/۰۰۱ در هر دو مورد) موش‌ها شد. تمرین با کاهش معنی‌دار بیان ژن‌های HIF-1α (P=۰/۰۰۱) و افزایش معنی‌دار BNIP3 (P=۰/۰۰۱) همراه بود. همچنین، مداخله کورکومین موجب افزایش غیرمعنی‌دار مقدار ژن‌های HIF-1α (P=۰/۹) و BNIP3 (P=۰/۱) شد؛ بااین‌حال، مداخله توام موجب افزایش معنی‌دار مقدار ژن‌های HIF-1α و BNIP3 (P=۰/۰۰۱ در هر دو مورد) شد.

Copyright © The Authors Publisher: University of Guilan



شکل ۱. مقایسه بیان ژن HIF-1α در بافت کلیه موش‌های صحرایی پس از مداخله

*: نشانه تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه کنترل در سطح p=۰/۰۰۱؛ ¥: نشانه تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه ایسکمی در سطح p=۰/۰۰۱



شکل ۲. مقایسه بیان ژن BNIP3 در بافت کلیه موش‌های صحرایی پس از مداخله

*: نشانه تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه کنترل در سطح p=۰/۰۰۱؛ ¥: نشانه تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه ایسکمی در سطح p=۰/۰۰۱

https://doi.org/10.22124/jme.2023.23952.250

بحث و نتیجه‌گیری

اولین بخش یافته‌ها نشان داد که ایسکمی/ خون‌رسانی مجدد کلیه سبب افزایش بیان ژن‌های HIF-1α و BNIP3 موش‌های صحرایی نر شد. HIF-1α در تنظیم فعالیت، رشد سلولی، آپوپتوز و حفظ فعالیت‌های فیزیولوژیکی طبیعی سلول‌ها در محیط‌های هیپوکسیک نقش دارد (۵۱). HIF-1α از طریق تنظیم متابولیسم، رگزایی، اریتروپویئز و نقش ضد آپوپتوزی در برابر آسیب ایسکمی بازخونرسانی کلیوی (RI/R) اثرات محافظتی دارد (۱۵). در این راستا، یک مطالعه نشان داد که افزایش بیان HIF-1α با کاهش پروتئینوری، نیتروژن اوره و سطح کراتینین سرم در موش‌های RI/R همراه است؛ همچنین، افزایش بیان HIF-1α اثرات محافظتی خوبی بر روی موش‌های RI/R از طریق کاهش آسیب گلومرول‌ها و لوله‌های کلیوی ناشی از ایسکمی خون‌رسانی مجدد دارد (۱۳). افزایش بیان HIF-1α سبب کاهش کاسپاز-۳، کاسپاز-۹ و نسبت Bax/Bcl-2 در موش‌های صحرایی RI/R شد. درواقع افزایش بیان HIF-1α می‌تواند از طریق تنظیم مسیر آپوپتوز میتوکندریایی از آسیب ایسکمی خون‌رسانی مجدد محافظت کند (۱۳).

از سویی، یک مطالعه نشان داد که مسیر سیگنالینگ HIF-1α-BNIP3 در میتوفاژی ناشی از I/R دخالت دارد و نقش محافظتی در آسیب حاد کلیه بازی می‌کند. همچنین، گزارش شده است ناک اوت HIF-1α به‌طور قابل‌توجهی میتوفاژی ناشی از H/R را کاهش، آپوپتوز ناشی از H/R را تشدید و تولید ROS را در سلول‌های توبول‌های کلیه افزایش می‌دهد (۴۵). همچنین، بیان بیش‌ازحد BNIP3، تنظیم‌کننده پایین‌دستی HIF1α، اثر مهاری ناک اوت HIF-1α را بر روی میتوفاژی ناشی از H/R معکوس می‌کند و از اثر افزایشی ناک اوت HIF-1α بر آپوپتوز و تولید ROS ناشی از I/R جلوگیری می‌کند (۴۵).

شواهد نشان می‌دهد میتوفاژی نقش مهمی در از بین بردن میتوکندری‌های آسیب‌دیده یا ناکارآمد و حفظ هموستاز میتوکندری بر عهده دارد (۵۶). میتوکندری حاوی سیتوکروم c کمتر و بیان بیشتر پروتئین پرو آپوپتوز Bax می‌باشد. تمایل به متورم شدن، شکستن و پتانسیل غشایی پایین‌تری دارد (۵۷). این تغییرات ممکن است منجر به شکست سلول‌های اپیتلیال لوله‌های کلیوی در حفظ یکپارچگی عملکردی و ساختاری خود شود (۵۸، ۵۹). علاوه بر این، مطالعه ما نشان داد که میتوفاژی با واسطه HIF-1α-

Copyright © The Authors
Publisher: University of Guilan

https://doi.org/10.22124/jme.2023.23952.250

BNIP3 با کاهش آپوپتوز سلول‌های لوله‌ای کلیوی در برابر AKI محافظت می‌کند. یافته‌های حاضر مبنی بر اینکه HIF-1α مستقیماً رونویسی و بیان BNIP3 را افزایش می‌دهد با مطالعات قبلی مطابقت دارد. شواهد نشان می‌دهد که HIF-1α نقش مهمی در میتوفاژی ناشی از هیپوکسی ایفا می‌کند (۶۰) و BNIP3 به‌عنوان یک تنظیم‌کننده مستقیم پایین‌دستی HIF-1α در هیپوکسی عمل می‌کند (۶۱). همچنین، اتوفاژی میتوکندری عنوان یک روش سازگاری و پاسخ متابولیک سلول برای جلوگیری از افزایش سطوح ROS و مرگ سلولی ضروری است (۶۲). در میتوکندری‌های ناکارآمد، تشکیل رادیکال‌های آزاد آنیون سوپراکسید و تولید ROS به دلیل اختلال در انتقال الکترون در طول زنجیره تنفسی و کاهش تشکیل اکسیژن افزایش می‌یابد (۱۷، ۶۳). درواقع، نشان داده شده است که میتوفاژی وابسته به BNIP3 توده میتوکندری را کاهش می‌دهد و یکپارچگی مخزن میتوکندری را ارتقا می‌دهد و درنتیجه تولید ROS را در سلول‌های آسیب‌دیده محدود می‌کند (۶۴، ۶۵). در این راستا، تانگ و همکاران نشان دادند آسیب IRI با افزایش BNIP3 توبول-های کلیه همراه است و مهار BNIP3 با RNAهای خاص، میتوفاژی را کاهش و آسیب IR را تشدید می‌کند (۱۲). همسو با یافته‌های تانگ و همکاران، مطالعه ما نشان داد که احتمالاً میتوفاژی ناشی از مسیر HIF-1α-BNIP3 در کاهش شدت آسیب ناشی از ایسکمی کلیه و جلوگیری از افزایش تولید ROS نقش دارد. بااین‌حال، به دلیل محدودیت‌های تحقیق و عدم بررسی سایر شاخص‌های آسیب ناشی از ایسکمی ازجمله آپوپتوز و ولید ROS در بافت کلیه نیازمند مطالعات بیشتر در این زمینه می‌باشد.

سایر یافته‌های این مطالعه نشان داد تمرین ورزشی موجب کاهش بیان ژن HIF-1α و افزایش بیان ژن BNIP3 موش‌های صحرایی نر شد. مطالعات نشان می‌دهد کاهش بیان HIF-1α یک فرآیند سازگاری اصلی می‌باشد که با بهبود ظرفیت اکسیداتیو و عملکرد استقامتی همراه است. در این راستا، سیلویانا و همکاران (۲۰۱۸) نشان دادند ۴ هفته تمرین شنا با شدت متوسط ۵ روز در هفته به مدت ۳۰ دقیقه موجب کاهش بیان ژن HIF-1α موش‌ها شد (۶۶). همچنین، مطالعه Lindholm و همکاران نشان داد شش هفته تمرین استقامتی ۴۵ دقیقه سه روز در هفته با شدت ۷۰ درصد اوج اکسیژن مصرفی موجب افزایش بیان تنظیم‌کننده‌های منفی HIF-1α (PHD2، FIH و SIRT6) می‌شود (۶۷). نتایج مطالعه سیلویانا و همکاران

https://doi.org/10.22124/jme.2023.23952.250

(۲۰۱۸) و Lindholm و همکاران (۲۰۱۴) با یافته مطالعه ما همسو می‌باشد. کاهش فعالیت HIF-1 به دنبال تمرین هوازی طولانی‌مدت می‌تواند توسط تنظیم‌کننده‌های منفی FIH-1 (Factor inhibiting HIF-1) و سیرتوئین ایجاد شود (۶۶). FIH از اتصال به CBP/p300 از طریق از طریق هیدروکسیلاسیون بقایای آسپارژین جلوگیری می‌کند، درحالی‌که سیرتوئین ۶ یک هیستون ۳ لیزین ۹ داستیلاز است که ازنظر اپی ژنتیکی فعال شدن ژن‌های گلیکولیتیک را مهار می‌کند (۶۸). پرولیل هیدروکسیلازها (PHD1-3) موجب تخریب HIF می‌شوند، درحالی‌که مهارکننده فاکتور HIF (FIH) و هیستون دی استیلاز سیرتوئین-۶ (SIRT6) فعالیت رونویسی آن را سرکوب می‌کنند. از سویی، تمرین استقامتی منظم بیان ژن HIF-1α ناشی از ورزش را در عضله اسکلتی انسان در شرایط عادی کاهش می‌دهد (۶۹). مطالعات نشان می‌دهد سطوح FIH و SIRT6، مهارکننده‌های فعالیت رونویسی HIF-1، در افراد تمرین کرده بسیار بالا می‌باشد. در مطالعه‌ای که توسط راداک انجام شد، یک جلسه ورزش دویدن در افراد کم‌تحرک باعث افزایش پنج برابری p300/CBP کواکتیواتور HIF شد، درحالی‌که مهارکننده SIRT6 کاهش یافت (۷۰). بااین‌حال، در افراد تمرین کرده، p300/CBP با تمرین ورزشی کاهش می‌یابد که از تنظیم کاهشی پاسخ HIF-1α ناشی از تمرین حمایت می‌کند (۷۰). همچنین، گزارش شده است ناک اوت BNIP3 موجب کاهش میتوفاژی می‌شود که این امر با افزایش و تجمع میتوکندری‌های آسیب‌دیده، افزایش گونه‌های فعال اکسیژن، افزایش مرگ سلولی و پاسخ التهابی در کلیه‌ها به دنبال ایسکمی کلیوی همراه است (۱۴). میتوفاژی ناشی از افزایش بیان ژن BNIP3 نقش مهمی در کنترل کیفیت میتوکندری و بقای سلول‌های توبولهای کلیه در آسیب ایسکمی بازخونرسانی دارد. در این راستا، جو و همکاران (۲۰۱۶) نشان دادند ۸ هفته تمرین ورزشی شنا روزانه یک ساعت (شنا در یک مخزن پلاستیکی (۴۵ × ۶۰ × ۴۰ سانتی‌متر) با عمق ۳۰ سانتی‌متر آب در دمای ۳۵ تا ۳۶ درجه سانتی‌گراد انجام شد) غلظت پروتئین Bnip3 را افزایش داد (۷۱) و تام و همکاران نشان دادند ۵ ماه دویدن روی چرخ دوار باعث افزایش سطح پروتئین Bnip3 در موش‌های ماده بالغ شد (۷۲). همچنین، در مطالعه لیرا و همکاران ۴ هفته دویدن اختیاری محتوای پروتئین Bnip3 را در عضله اسکلتی موش افزایش داد (۷۳). یافته‌های جو و همکاران (۲۰۱۶) و لیرا و همکاران (۲۰۱۳)

Copyright © The Authors Publisher: University of Guilan

https://doi.org/10.22124/jme.2023.23952.250

و تام و همکاران (۲۰۱۵) با نتایج ما همسو می‌باشند. این یافته‌ها نشان می‌دهد احتمالاً تمرینات ورزشی با تنظیم سازوکار کنترل کیفیت میتوکندری از طریق افزایش بیان ژن Bnip3 و میتوفاژی با حذف انتخابی میتوکندری‌های آسیب‌دیده در پاسخ به تمرین ورزشی همراه است. بااین‌حال، در حال حاضر، به دلیل عدم فهم دانش فعلی در مورد مکانیسم‌های افزایش BNIP3 ناشی از تمرینات ورزشی و مطالعات کافی در مورد کینازها و فسفاتازها درگیر در مسیر Bnip3 (۱۹) و برای روشن شدن نقش دقیق Bnip3 در تنظیم میتوفاژی در پاسخ به ورزش، باید مطالعات بیشتری انجام شود.

سایر یافته‌های شگفت‌آور مطالعه نشان داد مداخله کورکومین و اثر توام تمرین+ کورکومین موجب افزایش بیان ژن‌های Bnip3 و HIF-1α شد. در این راستا، گزارش شده است کورکومین مسیر سیگنالینگ PtdIns3K[1]-AKT-mTOR را برای افزایش میتوفاژی سرکوب می‌کند. (۲) همچنین، کورکومین موجب افزایش جداسازی BECN1 و BCL-2 می‌شود و افزایش BECN1 آزاد در سیتوپلاسم باعث ایجاد فرآیند اتوفاژیک می‌شود (۳۵، ۷۴). از سویی، کورکومین از قرارگیری FOXO1 هسته‌ای در شرایط استرس اکسیداتیو جلوگیری می‌کند و سطح استیلاسیون FOXO1 را افزایش می‌دهد (۳۵). بنابراین، احتمالاً در این مطالعه کورکومین با فعال‌سازی اتوفاژی، استیل زدایی FOXO1 و مهار قرارگیری FOXO1 هسته‌ای که بخشی از مکانیسم سازگاری ضروری برای حفظ حیات سلول‌های آسیب‌دیده در شرایط استرس اکسیداتیو ناشی از ایسکمی می‌باشد؛ در بهبود وضعیت ایسکمی نقش داشته است. همچنین، احتمال دارد کورکومین و اثر توام تمرین+ کورکومین با افزایش بیان ژن‌های Bnip3 و HIF-1α و فعال‌سازی مسیر میتوفاژی و با حذف میتوکندری‌های آسیب‌دیده ناشی از ایسکمی که مستعد تولید ROS بیشتر و محرک آپوپتوز هستند، موجب بهبود وضعیت ایسکمی شده‌اند (۶۷، ۷۵). از سویی، تصور می‌شود کورکومین و اثر توام (تمرین+ کورکومین) با افزایش FIH، SIRT6 و مهارکننده‌های فعالیت رونویسی HIF-1 موجب افزایش بیان ژن‌های Bnip3 و HIF-1α شده‌اند. علاوه بر این، گزارش شده است مکانیسم کنترل کیفیت میتوکندری و میتوفاژی برای حذف میتوکندری‌های اضافی در پاسخ به اختلالات هموستاتیک موردنیاز است. ثابت‌شده است که میتوفاژی ناکارآمد یا

[1] phosphatidylinositol 3-kinase

ناکافی مسئول وضعیت‌های پاتولوژیک مختلف، مانند آسیب ایسکمی خون‌رسانی مجدد در اندام‌های مختلف (۴۵، ۷۶) و آسیب کلیوی حاد (۷۷) می‌باشد. از سویی، نشان داده شده است که HIF و BNIP3 باعث ایجاد میتوفاژی و به‌عنوان یک پاسخ سازگاری، برای تنظیم و جلوگیری از افزایش سطوح ROS و مرگ سلولی ضروری است (۶۲).

در کل با وجود محدودیت‌هایی از قبیل عدم بررسی سایر شاخص‌های میتوفاژی و اتوفاژی LC3، PINK1، PARKIN، سطوح پروتئین p62، بیان تنظیم‌کننده‌های منفی HIF-1α (PHD2، FIH و SIRT6)، p300/CBP، BCL-2، FOXO1 و عدم اندازه‌گیری سطوح ROS برای شفاف‌سازی سازگاری با تمرین در بیان ژن‌های Bnip3 و HIF-1α، درنهایت نتیجه‌گیری می‌شود ایسکمی کلیوی موجب افزایش بیان ژن‌های Bnip3 و HIF-1α می‌شود اما به دنبال ۸ هفته تمرین هوازی بیان ژن HIF-1α کاهش و بیان ژن Bnip3 افزایش یافت. همچنین، احتمالاً کورکومین و اثر توام تمرین و کورکومین با افزایش بیان ژن‌های Bnip3 و HIF-1α و احتمالاً با حذف میتوکندری‌های آسیب‌دیده موجب بهبود وضعیت پاتولوژیک ناشی از ایسکمی کلیوی شد. بااین‌حال برای شفاف‌سازی مکانیسم‌های مداخلات مربوط نتایج این مطالعه بایستی بااحتیاط گزارش شود. به‌علاوه، به دلیل کمبود شواهد کافی و محدودیت‌های تحقیق، همچنان نیاز به بررسی بیشتر در این زمینه باقی و ضروری به نظر می‌رسد.

منابع

1. Bellomo R, Kellum JA, Ronco C. Acute kidney injury. The Lancet. 2012;380(9843):756-66.
2. Sancho-Martínez SM, López-Novoa JM, López-Hernández FJ. Pathophysiological role of different tubular epithelial cell death modes in acute kidney injury. Clinical kidney journal. 2015;8(5):548-59.
3. Duann P, Lianos EA, Ma J, Lin P-H. Autophagy, innate immunity and tissue repair in acute kidney injury. International journal of molecular sciences. 2016;17(5):662.
4. Zhang Z, Haimovich B, Kwon YS, Lu T, Fyfe-Kirschner B, Olweny EO. Unilateral partial nephrectomy with warm ischemia results in acute hypoxia inducible factor 1-alpha (HIF-1α) and Toll-like receptor 4 (TLR4) overexpression in a porcine model. PLoS One. 2016;11(5):e0154708.

Copyright © The Authors Publisher: University of Guilan

5. Pastor-Soler NM, Sutton TA, Mang HE, Kinlough CL, Gendler SJ, Madsen CS, et al. Muc1 is protective during kidney ischemia-reperfusion injury. American Journal of Physiology-Renal Physiology. 2015;308(12):F1452-F62.
6. Fähling M, Mathia S, Paliege A, Koesters R, Mrowka R, Peters H, et al. Tubular von Hippel-Lindau knockout protects against rhabdomyolysis-induced AKI. Journal of the American Society of Nephrology. 2013;24(11):1806-19.
7. Conde E, Alegre L, Blanco-Sanchez I, Saenz-Morales D, Aguado-Fraile E, Ponte B, et al. Hypoxia inducible factor 1-alpha (HIF-1 alpha) is induced during reperfusion after renal ischemia and is critical for proximal tubule cell survival. PloS one. 2012;7(3):e33258.
8. Zou Y-F, Liao W-T, Fu Z-J, Zhao Q, Chen Y-X, Zhang W. MicroRNA-30c-5p ameliorates hypoxia-reoxygenation-induced tubular epithelial cell injury via HIF1α stabilization by targeting SOCS3. Oncotarget. 2017;8(54):92801.
9. Kaushal GP, Shah SV. Autophagy in acute kidney injury. Kidney international. 2016;89(4):779-91.
10. Bernhardt WM, Câmpean V, Kany S, Jürgensen J-S, Weidemann A, Warnecke C, et al. Preconditional activation of hypoxia-inducible factors ameliorates ischemic acute renal failure. Journal of the American Society of Nephrology. 2006;17(7):1970-8.
11. Zhang Q, Bian ZX, Song Y, Wang X, Zhang H, Ren Q, et al. Regulation of mitophagy through HIF-1α/miR-140-5p/PARKIN axis in acute kidney injury. Environmental Toxicology. 2022;37(7):1759-67.
12. Tang C, Han H, Liu Z, Liu Y, Yin L, Cai J, et al. Activation of BNIP3-mediated mitophagy protects against renal ischemia–reperfusion injury. Cell death & disease. 2019;10(9):1-15.
13. Li X, Chen W, Feng J, Zhao B. The effects of HIF-1α overexpression on renal injury, immune disorders and mitochondrial apoptotic pathways in renal ischemia/reperfusion rats. Translational Andrology and Urology. 2020;9(5):2157.
14. Tang C, Han H, Liu Z, Liu Y, Yin L, Cai J, et al. Activation of BNIP3-mediated mitophagy protects against renal ischemia–reperfusion injury. Cell death & disease. 2019;10(9):677.
15. Semenza GL. Oxygen sensing, hypoxia-inducible factors, and disease pathophysiology. Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease. 2014;9:47-71.
16. Knudsen AR, Kannerup A-S, Dich R, Funch-Jensen P, Grønbæk H, Kruhøffer M, et al. Ischemic pre-and postconditioning has pronounced effects on gene expression profiles in the rat liver after ischemia/reperfusion. American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology. 2012;303(4):G482-G9.

17. Chourasia AH, Tracy K, Frankenberger C, Boland ML, Sharifi MN, Drake LE, et al. Mitophagy defects arising from BNip3 loss promote mammary tumor progression to metastasis. EMBO reports. 2015;16(9):1145-63.
18. Zhou H, Du W, Li Y, Shi C, Hu N, Ma S, et al. Effects of melatonin on fatty liver disease: The role of NR 4A1/DNA-PK cs/p53 pathway, mitochondrial fission, and mitophagy. Journal of Pineal Research. 2018;64(1):e12450.
19. Liu L, Sakakibara K, Chen Q, Okamoto K. Receptor-mediated mitophagy in yeast and mammalian systems. Cell research. 2014;24(7):787-95.
20. O'Sullivan TE, Johnson LR, Kang HH, Sun JC. BNIP3-and BNIP3L-mediated mitophagy promotes the generation of natural killer cell memory. Immunity. 2015;43(2):331-42.
21. Burton TR, Gibson SB. The role of Bcl-2 family member BNIP3 in cell death and disease: NIPping at the heels of cell death. Cell Death & Differentiation. 2009;16(4):515-23.
22. Kale J, Osterlund EJ, Andrews DW. BCL-2 family proteins: changing partners in the dance towards death. Cell Death & Differentiation. 2018;25(1):65-80.
23. Zhang T ,Xue L, Li L, Tang C, Wan Z, Wang R, et al. BNIP3 protein suppresses PINK1 kinase proteolytic cleavage to promote mitophagy. Journal of biological chemistry. 2016;291(41):21616-29.
24. Glick D, Zhang W, Beaton M, Marsboom G, Gruber M, Simon MC, et al. BNip3 regulates mitochondrial function and lipid metabolism in the liver. Molecular and cellular biology. 2012;32(13):2570-84.
25. Ishihara M, Urushido M, Hamada K, Matsumoto T, Shimamura Y, Ogata K, et al. Sestrin-2 and BNIP3 regulate autophagy and mitophagy in renal tubular cells in acute kidney injury. American Journal of Physiology-Renal Physiology. 2013;305(4):F495-F509.
26. Esatbeyoglu T, Huebbe P, Ernst IM, Chin D, Wagner AE, Rimbach G. Curcumin—from molecule to biological function. Angewandte Chemie International Edition. 2012;51(22):5308-32.
27. Yeh C-H, Chen T-P, Wu Y-C, Lin Y-M, Lin PJ. Inhibition of NFκB activation with curcumin attenuates plasma inflammatory cytokines surge and cardiomyocytic apoptosis following cardiac ischemia/reperfusion1. Journal of Surgical Research. 2005;125(1):109-16.
28. Molina-Jijón E, Tapia E, Zazueta C, El Hafidi M, Zatarain-Barrón ZL, Hernández-Pando R, et al. Curcumin prevents Cr (VI)-induced renal oxidant damage by a mitochondrial pathway. Free Radical Biology and Medicine. 2011;51(8):1543-57.
29. Yang L, Chen X, Bi Z, Liao J, Zhao W, Huang W. Curcumin attenuates renal ischemia reperfusion injury via JNK pathway with the involvement of p300/CBP-mediated histone acetylation. The Korean journal of physiology &
Copyright © The Authors Publisher: University of Guilan

pharmacology: official journal of the Korean Physiological Society and the Korean Society of Pharmacology. 2021;25(5):413-23.
30. Zhu P, Yang M, He H, Kuang Z, Liang M, Lin A, et al. Curcumin attenuates hypoxia/reoxygenation-induced cardiomyocyte injury by downregulating Notch signaling. Molecular Medicine Reports. 2019;20(2):1541-50.
31. Shen S-Q, Zhang Y, Xiang J-J, Xiong C-L. Protective effect of curcumin against liver warm ischemia/reperfusion injury in rat model is associated with regulation of heat shock protein and antioxidant enzymes. World journal of gastroenterology: WJG. 2007;13(13):1953.
32. Yucel AF, Kanter M, Pergel A, Erboga M, Guzel A. The role of curcumin on intestinal oxidative stress, cell proliferation and apoptosis after ischemia/reperfusion injury in rats. Journal of Molecular Histology. 2011;42(6):579-87.
33. Liu F, Ni W, Zhang J, Wang G, Li F, Ren W. Administration of curcumin protects kidney tubules against renal ischemia-reperfusion injury (RIRI) by modulating nitric oxide (NO) signaling pathway. Cellular Physiology and Biochemistry. 2017;44(1):401-11.
34. Kim YS, Kwon JS, Cho YK, Jeong MH, Cho JG, Park JC, et al. Curcumin reduces the cardiac ischemia–reperfusion injury: involvement of the toll-like receptor 2 in cardiomyocytes. The Journal of nutritional biochemistry. 2012;23(11):1514-23.
35. Han J, Pan X-Y, Xu Y, Xiao Y, An Y, Tie L, et al. Curcumin induces autophagy to protect vascular endothelial cell survival from oxidative stress damage. Autophagy. 2012;8(5):812-25.
36. Formigari GP, Dátilo MN, Vareda B, Bonfante ILP, Cavaglieri CR, Lopes de Faria JM, et al. Renal protection induced by physical exercise may be mediated by the irisin/AMPK axis in diabetic nephropathy. Scientific Reports. 2022;12(1):1-11.
37. Wilkinson TJ, Shur NF ,Smith AC. “Exercise as medicine” in chronic kidney disease. Scandinavian journal of medicine & science in sports. 2016;26(8):985-8.
38. de Lima WV, Visona I, Schor N, Almeida WS. Preconditioning by aerobic exercise reduces acute ischemic renal injury in rats. Physiological reports. 2019;7(14):e14176.
39. Elsaid FH, Khalil AA, Ibrahim EM, Mansour A, Hussein AM. Effects of exercise and stevia on renal ischemia/reperfusion injury in rats. Acta scientiarum polonorum Technologia alimentaria. 2019;18(3).
40. Yan Z, Lira VA, Greene NP. Exercise training-induced regulation of mitochondrial quality. Exercise and sport sciences reviews. 2012;40(3):159-64.
41. Ding H, Jiang N, Liu H, Liu X, Liu D, Zhao F, et al. Response of mitochondrial fusion and fission protein gene expression to exercise in rat

skeletal muscle. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects. 2010;1800(3):250-6.
42. Leermakers PA, Gosker HR. Skeletal muscle mitophagy in chronic disease: implications for muscle oxidative capacity? Current opinion in clinical nutrition and metabolic care. 2016;19(6):427-33.
43. Shang H, Xia Z, Bai S, Zhang H, Gu B, Wang R. Downhill Running Acutely Elicits Mitophagy in Rat Soleus Muscle. Medicine and Science in Sports and Exercise. 2019;51(7):1396-403.
44. Wang Q, Xu J, Li X, Liu Z, Han Y, Xu X, et al. Sirt3 modulate renal ischemia-reperfusion injury through enhancing mitochondrial fusion and activating the ERK-OPA1 signaling pathway. Journal of Cellular Physiology. 2019;234(12):23495-506.
45. Fu Z-J, Wang Z-Y, Xu L, Chen X-H, Li X-X, Liao W-T, et al. HIF-1α-BNIP3-mediated mitophagy in tubular cells protects against renal ischemia/reperfusion injury. Redox biology. 2020;36:101671.
46. Linkermann A, Chen G, Dong G, Kunzendorf U, Krautwald S, Dong Z. Regulated cell death in AKI. Journal of the American Society of Nephrology. 2014;25(12):2689-701.
47. Haase VH. Mechanisms of hypoxia responses in renal tissue. Journal of the american society of nephrology. 2013;24(4):537-41.
48. Kroshian VM, Sheridan AM, Lieberthal W. Functional and cytoskeletal changes induced by sublethal injury in proximal tubular epithelial cells. American Journal of Physiology-Renal Physiology. 1994;266(1):F21-F30.
49. Osada T, Katsumura T, Hamaoka T, Inoue S, Esaki K, Sakamoto A, et al. Reduced blood flow in abdominal viscera measured by Doppler ultrasound during one-legged knee extension. Journal of Applied Physiology. 1999;86(2):709-19.
50. Badkoubeh-Hezaveh M, Abedi B, Rahmati-Ahmadabad S. The Effect of Regular Aerobic Exercise Training and Pumpkin Seed Extract on the Heart and Aorta Apoptosis Biomarkers in Arsenic-Intoxicated Rats. Gene, Cell and Tissue. 2021;8.(۲)
51. Tang C, Lei H, Zhang J, Liu M, Jin J, Luo H, et al. Montelukast inhibits hypoxia inducible factor-1α translation in prostate cancer cells. Cancer Biology & Therapy. 2018;19(8):715-21.
52. Rosenberger C, Rosen S, Shina A, Frei U, Eckardt K-U, Flippin LA, et al. Activation of hypoxia-inducible factors ameliorates hypoxic distal tubular injury in the isolated perfused rat kidney. Nephrology Dialysis Transplantation. 2008;23(11):3472-8.
53. Matsumoto M, Makino Y, Tanaka T, Tanaka H, Ishizaka N, Noiri E, et al. Induction of renoprotective gene expression by cobalt ameliorates ischemic

Copyright © The Authors Publisher: University of Guilan

injury of the kidney in rats. Journal of the American Society of Nephrology. 2003;14(7):1825-32.
54. Sutton TA, Wilkinson J, Mang HE, Knipe NL, Plotkin Z, Hosein M, et al. p53 regulates renal expression of HIF-1α and pVHL under physiological conditions and after ischemia-reperfusion injury. American Journal of Physiology-Renal Physiology. 2008;295(6):F1666-F77.
55. Von Hoermann C, Ruther J, Reibe S, Madea B, Ayasse M. The importance of carcass volatiles as attractants for the hide beetle Dermestes maculatus (De Geer). Forensic Science International. 2011;212(1-3):173-9.
56. Wu X, Li X, Liu Y, Yuan N, Li C, Kang Z, et al. Hydrogen exerts neuroprotective effects on OGD/R damaged neurons in rat hippocampal by protecting mitochondrial function via regulating mitophagy mediated by PINK1/Parkin signaling pathway. Brain Research. 2018;1698:89-98.
57. Plotnikov E, Kazachenko A, Vyssokikh MY, Vasileva A, Tcvirkun D, Isaev N, et al. The role of mitochondria in oxidative and nitrosative stress during ischemia/reperfusion in the rat kidney. Kidney international. 2007;72(12):1493-502.
58. Molitoris BA. Actin cytoskeleton in ischemic acute renal failure. Kidney international. 2004;66(2):871-83.
59. Schrier RW, Wang W, Poole B, Mitra A. Acute renal failure: definitions, diagnosis, pathogenesis, and therapy. The Journal of clinical investigation. 2004;114(1):5-14.
60. Mazure NM, Pouyssegur J. Hypoxia-induced autophagy: cell death or cell survival? Current opinion in cell biology. 2010;22(2):177-80.
Wu Z, Zhang W, Kang YJ. Copper affects the binding of HIF-1α to the critical motifs of its target genes. Metallomics. 2019;11(2):429-38.
62. Zhang H, Bosch-Marce M, Shimoda LA, Tan YS, Baek JH, Wesley JB, et al. Mitochondrial autophagy is an HIF-1-dependent adaptive metabolic response to hypoxia. Journal of Biological Chemistry. 2008;283(16):10892-903.
63. Zorov DB, Juhaszova M, Sollott SJ. Mitochondrial reactive oxygen species (ROS) and ROS-induced ROS release. Physiological reviews. 2014;94(3):909-50.
64. Chourasia AH, Macleod KF. Tumor suppressor functions of BNIP3 and mitophagy. Autophagy. 2015;11(10):1937-8.
65. Sathiyaseelan P, Rothe K, Yang KC, Xu J, Chow NS, Bortnik S, et al. Diverse mechanisms of autophagy dysregulation and their therapeutic implications: does the shoe fit? Autophagy. 2019;15(2):368-71.
66. Sylviana N, Helja N, Qolbi HH, Goenawan H, Lesmana R, Syamsunarno MRA, et al. Effect of swimming exercise to cardiac PGC-1 α and HIF-1 α gene expression in mice. Asian Journal of Sports Medicine. 2018;9(4).
57. Lindholm ME, Fischer H, Poellinger L, Johnson RS, Gustafsson T, Sundberg CJ, et al. Negative regulation of HIF in skeletal muscle of elite endurance athletes:

a tentative mechanism promoting oxidative metabolism. American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology . :(۳)۳۰۷;۲۰۱٤R248-R55.
68. Lindholm ME, Rundqvist H. Skeletal muscle hypoxia-inducible factor-1 and exercise. Experimental physiology. 2016;101(1):28-32.
69. Lundby C, Gassmann M, Pilegaard H. Regular endurance training reduces the exercise induced HIF-1α and HIF-2α mRNA expression in human skeletal muscle in normoxic conditions. European journal of applied physiology. 2006;96:363-9.
70. Radak Z, Bori Z, Koltai E, Fatouros IG, Jamurtas AZ, Douroudos II, et al. Age-dependent changes in 8-oxoguanine-DNA glycosylase activity are modulated by adaptive responses to physical exercise in human skeletal muscle. Free Radical Biology and Medicine. 2011;51(2):417-23.
71. Ju J-s, Jeon S-i, Park J-y, Lee J-y, Lee S-c, Cho K-j, et al. Autophagy plays a role in skeletal muscle mitochondrial biogenesis in an endurance exercise-trained condition. The Journal of Physiological Sciences. 2016;66:417-30.
72. Tam B, Pei X, Yu A, Sin T, Leung K, Au K, et al. Autophagic adaptation is associated with exercise-induced fibre-type shifting in skeletal muscle. Acta physiologica. 2015;214(2):221-36.
73. Lira VA, Okutsu M, Zhang M, Greene NP, Laker RC, Breen DS, et al. Autophagy is required for exercise training-induced skeletal muscle adaptation and improvement of physical performance .The FASEB Journal. 2013;27(10):4184.
74. Motterlini R, Foresti R, Bassi R, Green CJ. Curcumin, an antioxidant and anti-inflammatory agent, induces heme oxygenase-1 and protects endothelial cells against oxidative stress. Free Radical Biology and Medicine. 2000;28(8):1303-12.
75. Huang Z, Ye B, Dai Z, Wu X, Lu Z, Shan P, et al. Curcumin inhibits autophagy and apoptosis in hypoxia/reoxygenation-induced myocytes. Molecular Medicine Reports. 2015;11(6):4678-84.
76. Kubli DA, Gustafsson ÅB. Mitochondria and mitophagy: the yin and yang of cell death control. Circulation research. 2012;111(9):1208-21.
77. Lin Q, Li S, Jiang N, Jin H, Shao X, Zhu X, et al. Inhibiting NLRP3 inflammasome attenuates apoptosis in contrast-induced acute kidney injury through the upregulation of HIF1A and BNIP3-mediated mitophagy. Autophagy. 2021;17(10):2975-90.

Copyright © The Authors Publisher: University of Guilan

JME https://jme.guilan.ac.ir/
https://doi.org/10.22124/jme.2023.23952.250

Metabolism and Exercise
A biannual journal

Vol 12, Number 2, 2023

University Of Guilan

Effects of aerobic training and curcumin supplementation on some mitophagy indices induced by renal ischemia/reperfusion of male rats

Dadashzadeh A[1], Pouzesh Jadidi R[2*], Azin Fam O[1], Pouzesh Jadidi J[1]

Received: 26/02/2023 Accepted: 13/03/2023 Published: 24/06/2023

Abstract

Aim: Was to investigate the effects of eight weeks aerobic training and curcumin supplementation on some mitophagy indices induced by ischemia/reperfusion of male rats.

Methods: Fifty-eight (age: 12 weeks, weight: 315.23 ± 28.57 gr) male rats were randomized into five groups including on Healthy control, Ischemic control, Curcumin, Training, Training+ Curcumin (Concomitant). Aerobic training program were conducted for eight weeks (5 d/w) starting with running at a speed of 10 m/min, 5% incline for 10 min per day. The running speed and time were gradually increased up to 15-20 m/min per day. In the last two sessions, the intensity of aerobic training reached 25 m/min for 30 min/day with 2min recovery period at 10 m/min. curcumin (200 mg/bw.day) were consumed through oral gavage for six weeks. The gene expression levels of miR-1 and miR-133 were evaluated using Real-Time PCR method and the data were analyzed using one-way analysis of variance and Tukey post hoc test at the significance level of $p < 0.05$.

Results: In all four intervention groups, including ischemia control, exercise, curcumin and combination, the expression of HIF-1α and BNIP3 in renal tissue increased significantly ($p=0.001$ in all groups) compared to the control group. However, the expression of HIF-1α and BNIP3 genes in renal tissue after exercise caused a significant decrease and increase ($p=0.007$ and $p=0.01$, respectively) compared to the healthy control and ischemic control groups. Also, curcumin and Concomitant were associated with an increase in HIF-1α and BNIP3 gene expression in renal tissue compared to the healthy control group and the ischemia control group ($p=0.002$ and $p=0.001$, respectively); But it was not significant compared to the training group ($p=0.7$ and $p=0.1$, respectively).

Conclusion: Renal ischemia increases the expression of Bnip3 and HIF-1α genes, but after 8 weeks of aerobic training, HIF-1α gene expression decreased and Bnip3 gene expression increased. Also, it is possible that curcumin and the combined effect of exercise and curcumin improve the pathological condition caused by renal ischemia by increasing the expression of Bnip3 and HIF-1α genes and possibly by removing damaged mitochondria. However, due to the lack of sufficient evidence and the limitations of the research, there is still a need for further investigation in this field and it seems necessary.

Key words: Curcumin, Mitophagy, HIF-1α, BNIP

1.Department of Exercise Physiology, Tabriz branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran. 2.Assistant Prof., Department of Exercise Physiology, Tabriz branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran
*Corresponding author: poozesh2016@gmail.com

Copyright © The Authors Publisher: University of Guilan