

## مطالعه اثر محافظتی ورزش منظم هوازی بر آسیب کلیوی ناشی از مصرف مکمل کراتین منوهیدرات در موش صحرائی

داود رحیمی<sup>۱</sup>، حسن متین همایی<sup>۲\*</sup>

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی ورزشی-تغذیه ورزشی، واحد تهران مرکز، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

۲- استادیار گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد تهران مرکز، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

\*نویسنده مسئول مکاتبات: hasanmatinhomae@gmail.com

(دریافت مقاله: ۹۵/۹/۱۹ پذیرش نهایی: ۹۵/۱۰/۱۸)

### چکیده

کراتین یکی از رایج‌ترین مکمل‌های بهبودبخش اجرای ورزشی است که توسط ورزشکاران مورد استفاده قرار می‌گیرد. به‌علت افزایش بار پروتئینی ناشی از مصرف کراتین، تأثیرات سوء آن بر کلیه به‌عنوان مهم‌ترین موضوعات قابل بحث وجود داشته است. این مطالعه به منظور ارزیابی اثرات محافظتی ورزش هوازی بر آسیب کلیوی ناشی از مکمل کراتین منوهیدرات در موش صحرائی انجام گرفت. بدین منظور ۳۰ سر موش صحرائی نر و بیستار به‌طور تصادفی به ۳ گروه ۱۰ تائی تقسیم گردیدند. گروه اول به عنوان شاهد فقط غذای استاندارد دریافت کرد. گروه دوم روزانه مقدار ۵ g/kg b.w. مکمل کراتین منوهیدرات را به مدت ۸ هفته به صورت گاوآژ و گروه سوم روزانه ۳۰ دقیقه قبل از انجام ورزش هوازی مکمل کراتین منوهیدرات را به همان ترتیب دریافت کردند. تمرین هوازی، هفته‌ای پنج جلسه دویدن روی تردمیل با سرعت ۲۵-۱۰ متر/دقیقه به مدت ۳۰-۱۰ دقیقه با شیب ۵ درجه انجام شد. در پایان ۸ هفته، میزان آب مصرفی و دفع ادرار موش‌ها اندازه‌گیری شد و نمونه خون جهت اندازه‌گیری شاخص‌های سرمی عملکرد کلیه شامل اوره، اسید اوریک و کراتینین اخذ شد. در نهایت موش‌ها جهت آسیب‌شناسی بافتی کلیه آسان‌گشی شدند. در موش‌های گروه ۳، با انجام ورزش منظم هوازی، میزان آب مصرفی و دفع ادرار نسبت به گروه ۲ به طور معنی‌داری ( $p < 0/05$ ) افزایش و شاخص‌های سرمی آسیب کلیه به‌طور معنی‌داری ( $p < 0/05$ ) کاهش پیدا کرد. در گروه ۳، مطالعات میکروسکوپی کاهش معنی‌دار ( $p < 0/05$ ) آسیب‌های گلوبولولی-توبولی و بینابینی کلیه را در مقایسه با گروه ۲ نشان داد. نتایج به‌دست‌آمده نشان داد که انجام ورزش منظم هوازی می‌تواند آسیب بافت کلیه را متعاقب دریافت مکمل کراتین منوهیدرات در موش‌های صحرائی کاهش دهد.

کلیدواژه‌ها: کراتین، کلیه، ورزش هوازی، موش صحرائی.

**مقدمه**

کراتین یکی از رایج‌ترین مکمل‌های بهبود بخش اجرای ورزشی است که توسط ورزشکاران مورد استفاده قرار می‌گیرد. این ماده اولین بار در سال ۱۸۳۵ به وسیله دانشمندان فرانسوی کشف شد. کراتین یک پروتئین غیرضروری است که از سه اسید آمینه آرژینین، گلیسین و متیونین تشکیل شده است. کبد، کلیه‌ها و پانکراس به‌طور ذاتی در حدود ۱ الی ۲ گرم کراتین در روز تولید می‌کنند (Walker, 1979; Balsom and Kaddurah-Daouk, 1994). ۱ الی ۲ گرم کراتین دیگر نیز از طریق مواد غذایی مصرف شده و به‌طور عمده از طریق ماهی و گوشت قرمز کسب می‌شود. این مقادیر کراتین اخذ شده از مواد غذایی روزانه و تولیدشده توسط بدن با یکدیگر ترکیب می‌شوند تا نیازهای طبیعی بدن را که روزانه ۲ گرم کراتین است، برآورده سازند (Kraemer and Volek 1999).

امروزه استفاده از مکمل‌های کراتینی در جهت افزایش حجم عضلات و افزایش انرژی در ورزشکاران بسیار مرسوم شده است. این مکمل به صورت رژیم غذایی و در اشکال دارویی کپسول، پودر، محلول، قرص وجود دارند. مرور و بررسی پیرامون مصرف مکمل‌های کراتینی آشکار کرده که کیفیت اجراهای ورزشی در یک‌سری موقعیت‌های خاص در نتیجه استفاده از این مکمل‌ها ارتقاء می‌یابد و بیشترین سود و مزایای حاصل از مکمل‌های کراتینی بر تمرینات با توان بیشینه و کوتاه‌مدت و تکراری می‌باشد (Casey and Greenhaff 2000; Walker, 1979). برخی تحقیقات نیز نشان داده است که مصرف مکمل‌های کراتینی در حین تمرینات با وزنه باعث بهبودی قدرت خواهد شد،

به‌ویژه این‌که مصرف‌کنندگان کراتین قادر خواهند بود تا کارها را سریع‌تر و با تکرارهای بیشتر اجراء کنند (Juhn and Tarnopolsky, 1998; Juhn, 1999). هرچند که کراتین به‌تنهایی فرآورده‌ای آنابولیکی نیست و نمی‌تواند سنتز پروتئین‌ها را تغییر دهد، لکن اثبات شده است که این ماده می‌تواند مصرف‌کننده آن را در ارتقای حجم عضلانی و کمیت وزنه مورد تمرین، کمک کند و در نتیجه به‌طور غیرمستقیم قدرت و وزن بدون چربی بدن را در مقایسه با افرادی که کراتین مصرف نکرده‌اند افزایش می‌دهد (Kraemer and Volek, 1999; Volek et al., 1997).

اکثر مصرف‌کنندگان بر این باورند که مصرف مکمل‌های کراتینی اجرای ورزشی آنها را بهبود می‌بخشد. با وجود این، مصرف‌کنندگان محصولات کراتینی به خوبی در مورد آنها اطلاعات لازم را ندارند. همچنین، بیش از ۷۵ درصد از مصرف‌کنندگان نمی‌دانند که چه مقدار کراتین باید مصرف کنند و مقادیرهای بیشتری نسبت به مقادیر پیشنهادشده مصرف می‌کنند. اصولاً جهت نتیجه‌گیری کامل و صحیح، لازم است مصرف کراتین را به دو مرحله بارگیری و نگهدارنده یا حفظ تقسیم کرد. مدت مرحله بارگیری ۵ روز است و مرحله نگهدارنده از روز ششم آغاز می‌شود. مقدار مصرف این ماده ۱۵ گرم در مرحله بارگیری و ۴ تا ۸ گرم در مرحله نگهدارنده است (Smith et al., 1998).

به‌علت افزایش بار پروتئین ناشی از مصرف کراتین تأثیرات سوء آن بر کلیه به‌عنوان مهم‌ترین موضوعات قابل بحث وجود داشته است. در بارگیری کراتین، کراتینین سرم به‌طور تقریبی ۲۰ درصد افزایش می‌یابد

با کسانی که فعالیت ورزشی ندارند، آسیب کلیوی و کبدی کمتری خواهند داشت (Souza et al., 2009).

با توجه به مطالب فوق، این مطالعه برای بررسی تاثیر مصرف مکمل کراتین بر ساختار و عملکرد کلیه و همچنین ارزیابی اثرات محافظتی انجام ورزش منظم و فزاینده هوازی توسط تریدمیل، بر آسیب کلیوی متعاقب مصرف این مکمل در موش صحرایی انجام شد.

### مواد و روش‌ها

مطالعه حاضر از نوع تجربی آزمایشگاهی بوده و در سال ۱۳۹۴ در مدت ۸ هفته در مرکز تحقیقات دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی تبریز روی موش‌های صحرایی انجام پذیرفت. در این مطالعه، کلیه ملاحظات اخلاقی و پروتکل‌های کار روی حیوانات آزمایشگاهی مورد تأیید کمیته نظارت بر حقوق حیوانات آزمایشگاهی مرکز تحقیقات دارویی دانشگاه آزاد اسلامی تبریز رعایت گردید.

برای انجام این مطالعه، تعداد ۳۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با وزن تقریبی  $20 \pm 23$  گرم که از محل پرورش و نگهداری حیوانات آزمایشگاهی دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی تبریز تهیه شده بود، مورد استفاده قرار گرفت. این موش‌ها به طور تصادفی در ۳ گروه ۱۰ سری شامل: ۱- گروه شاهد که در مورد موش‌های این گروه هیچ‌گونه مداخله ورزشی و تغذیه-ای انجام نشد، ۲- گروه دریافت‌کننده مکمل که موش-های این گروه روزانه مکمل کراتین منوهیدرات را به مقدار ۵ گرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن به‌مدت ۸ هفته (Ferreiral et al., 2005) و به صورت گاوآژ دریافت کردند و ۳- گروه دریافت‌کننده مکمل در کنار

(Juhn and Tarnopolsky, 1998; Vanderberie et al., 1998).

پورتمانس و فرانکاکس در سال ۲۰۰۰ نشان دادند که فقط یک دوره بارگیری طبیعی و ۷ هفته دوره حفظ، در یک فرد با تاریخچه طولانی مدت از ابتلا به اسکروزیس (sclerosis) موضعی مجاری کلیه، کاهش ۵۰ درصدی در میزان فیلتراسیون گلومرولی را نشان داد که یک ماه پس از قطع مصرف کراتین این اختلال نیز برطرف شد (Poortmans and Francaux, 2000). اخیراً (American collage of sport ) ACSM (medicine) توصیه کرده است که افرادی که بیماری کلیوی یا دارای پیشینه خانوادگی برای بیماری‌های کلیوی هستند، نباید کراتین مصرف کنند. همچنین، ACSM توصیه می‌کند افرادی که از روش‌های کم کردن سریع وزن استفاده می‌کنند و یا در محیط‌های گرم فعالیت می‌کنند، باید از مصرف کراتین خودداری نمایند (Terjung et al., 2000).

ادموندز و همکاران در سال ۲۰۰۱ با بررسی اثر کراتین در حیواناتی که دچار ضایعات کیستیک کلیه بودند، دریافتند که مصرف این مکمل می‌تواند باعث افزایش کیست و همچنین بدتر شدن ضایعات کلیوی شود (Edmunds et al., 2001). همچنین فریرال و همکاران در سال ۲۰۰۵ بیان داشتند که GFR (میزان فیلتراسیون گلومرولی) و RPF (میزان جریان پلاسمایی کلیوی) در زمان مصرف کراتین کاهش می‌یابد (Ferreiral et al., 2005).

مطالعات نشان داده است که افرادی که کراتین را هم‌زمان با فعالیت ورزشی مصرف می‌کنند، در مقایسه

انجام ورزش هوازی، که موش‌های این گروه هشت هفته طول مدت مطالعه را متحمل انجام ورزش منظم و فزاینده هوازی شده و روزانه ۵ گرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن مکمل کراتین منویدرات را ۳۰ دقیقه قبل از انجام ورزش به صورت گاوآژ دریافت کردند.

شرایط نگهداری برای تمام گروه‌ها یکسان و به صورت ۱۲ ساعت روشنایی/تاریکی و دمای  $21 \pm 2$  درجه سلسیوس، در قفس‌های مخصوص موش‌ها و در بستری از پوشال بود. جیره غذایی به‌صورت پلت و آب آزادانه در اختیار حیوانات قرار گرفت. به‌منظور جلوگیری از خطر ابتلا به بیماری‌های تنفسی، تهویه مطلوب در محیط کار فراهم شد. جهت سازش با محیط جدید و کاهش استرس، به مدت یک هفته هیچ‌گونه آزمایشی روی موش‌ها انجام نشد.

**شیوه تمرین:** تمرین هوازی، به‌صورت هفته‌ای پنج جلسه دویدن روی تردمیل با سرعت ۱۰ تا ۲۵ متر در دقیقه و شیب ۵ درجه اجرا شد. در آغاز موش‌ها

به‌مدت یک هفته به محیط و شرایط دستگاه تردمیل عادت داده شدند. به این ترتیب که، در دو جلسه اول به مدت ۱۰ دقیقه فقط در داخل دستگاه تردمیل قرار گرفتند و در سه جلسه بعدی شروع تدریجی فعالیت با سرعت ۵ تا ۱۰ متر در دقیقه انجام شد. در دو هفته اول تمرین، موش‌ها با سرعت ۱۰ متر در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه شروع به دویدن کردند. سپس در هر دو هفته به سرعت و مدت دویدن افزوده شد تا اینکه در دو هفته آخر سرعت فعالیت به ۲۵ متر در دقیقه و مدت آن به ۳۰ دقیقه رسید. شیب دستگاه تردمیل از ابتدا تا انتهای دوره تمرین روی ۵ درجه ثابت ماند (جدول ۱). برای هر جلسه تمرین، ۵ دقیقه گرم کردن با سرعت ۵ تا ۱۰ متر در دقیقه و به همان ترتیب سرد کردن در نظر گرفته شد. این الگو بر اساس اصول علمی انجمن ACSM (American College of Sport Medicine) تنظیم گردید (Thompson, 2010).

جدول ۱- الگوی تمرین منظم و فزاینده هوازی برای موش‌های صحرایی مورد مطالعه

شدت تمرین	هفته			
	عادت	اول و دوم	سوم و چهارم	پنجم و ششم
سرعت (متر در دقیقه)	۵-۱۰	۱۰	۱۵	۲۰
مدت (دقیقه)	۱۰	۱۵	۲۰	۳۰
شیب (درصد)	۵	۵	۵	۵

در پایان ۸ هفته، برای جمع‌آوری و اندازه‌گیری میزان ادرار موش‌ها و همچنین اندازه‌گیری مصرف آب توسط آنها، حیوانات به مدت ۲۴ ساعت در قفس‌های متابولیک (metabolic cage) نگه داشته شدند. پس از آن، نمونه خون جهت اندازه‌گیری فاکتورهای بیوشیمیایی شاخص عملکرد کلیه شامل اوره (Fawcett and Scott, 1960)، کراتینین (Jaffe, 1886) و اسید اوریک (Caraway, 1955) از سینوس پشت کره چشم موش‌ها اخذ گردید. سرم نمونه‌های خون توسط سانتریفیوژ با سرعت ۲۵۰۰ دور در دقیقه و به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد جدا شد. برای اندازه‌گیری فاکتورهای فوق از کیت‌های

در پایان ۸ هفته، برای جمع‌آوری و اندازه‌گیری میزان ادرار موش‌ها و همچنین اندازه‌گیری مصرف آب توسط آنها، حیوانات به مدت ۲۴ ساعت در قفس‌های متابولیک (metabolic cage) نگه داشته شدند. پس از آن، نمونه خون جهت اندازه‌گیری فاکتورهای بیوشیمیایی شاخص عملکرد کلیه شامل اوره (Fawcett

**تحلیل آماری داده‌ها:** داده‌های به‌دست آمده کمی، به صورت میانگین  $\pm$  انحراف استاندارد ارائه شد. برای مقایسه میانگین متغیرهای کمی در بین گروه‌های مورد مطالعه از آزمون آماری تحلیل واریانس یک‌طرفه (ANOVA) و آزمون تعقیبی توکی (Tukey) توسط نرم‌افزار SPSS-17، استفاده شد. داده‌های آسیب‌شناسی بافتی توسط آزمون ناپارامتری کروسکال‌والیس (The Kruskal-Wallis test) و آزمون تعقیبی یومن-وایتنی (Mann-Whitney U test) جهت مقایسه‌های دو به دو مورد واکاوی آماری قرار گرفتند. اختلافات در سطح  $p < 0/05$  معنی‌دار تلقی گردید.

### یافته‌ها

میزان مصرف آب و دفع ادرار در گروه ۲ (دریافت-کننده کراتین منویدرات) در مقایسه با گروه ۱ (شاهد) به‌طور معنی‌داری ( $p < 0/01$ ) کاهش یافت. در گروه ۳ (دریافت‌کننده مکمل در کنار انجام ورزش هوازی) میزان مصرف آب و دفع ادرار با انجام هشت هفته ورزش منظم و فزاینده هوازی به‌طور معنی‌داری ( $p < 0/05$ ) نسبت به گروه ۲ کاهش یافت (جدول ۱).

نسبت وزن کلیه به وزن بدن در گروه ۲ (دریافت-کننده کراتین منویدرات) در مقایسه با گروه ۱ (شاهد) به‌طور معنی‌داری ( $p < 0/01$ ) افزایش یافت. در گروه ۳ (دریافت‌کننده مکمل در کنار انجام ورزش هوازی) نسبت وزن کلیه به وزن بدن با انجام هشت هفته ورزش منظم و فزاینده هوازی به‌طور معنی‌داری ( $p < 0/05$ ) نسبت به گروه ۲ کاهش یافت (جدول ۱).

شرکت زیست شیمی ( ZiestChem Diagnostics, Tehran, Iran) استفاده شد.

در پایان دوره آزمایش و ۲۴ ساعت پس از آخرین تیمار، موش‌ها وزن‌کشی شدند و پس از آسان‌کشی با ایجاد دررفتگی در مهره‌های گردن (cervical dislocation)، کلیه‌های آنها جدا و برای تعیین نسبت وزن کلیه‌ها به وزن بدن، وزن کلیه‌ها اندازه‌گیری شد. برای انجام مطالعه آسیب‌شناسی، کلیه‌ها از وسط برش داده شده و جهت پایدارسازی در فرمالین بافری ۱۰ درصد قرار داده شده و به آزمایشگاه آسیب‌شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی تبریز ارسال گردیدند. از بافت کلیه موش‌ها، مقاطع پی‌درپی با ضخامت ۵ میکرون جهت رنگ‌آمیزی معمول هماتوکسیلین-ئوزین تهیه شد و مقاطع بافتی توسط میکروسکوپ نوری مدل نیکون (E200، ساخت کشور ژاپن) مورد ارزیابی قرار گرفت. بررسی مقاطع آسیب‌شناسی توسط یک مقیاس نیمه‌کمی (semiquantitative scale) و به‌صورت دوسو بی‌خبر با ارزیابی شدت آسیب گلومرولی، شدت آسیب توبولی و شدت آماس و فیروز بینابینی انجام و بر اساس درجه آسیب، از صفر تا ۴+ (صفر نشانگر کلیه طبیعی، ۱+ نشانگر آسیب جزئی، ۲+ نشانگر آسیب متوسط، ۳+ نشانگر آسیب شدید و ۴+ نشانگر آسیب در کل بافت کلیوی) رتبه‌بندی شد (Bhalodia et al., 2009). تمام درجه‌بندی‌ها با بزرگ‌نمایی  $\times 100$  و در ۵ میدان میکروسکوپی از هر برش، به‌طور تصادفی انجام شد.

جدول ۱- اثرات ورزش منظم و فزاینده هوازی بر میزان مصرف آب، میزان دفع ادرار و نسبت وزن کلیه به وزن بدن در موش‌های صحرایی مورد مطالعه (میانگین  $\pm$  انحراف استاندارد)

گروه	تیمار	فراسنجه‌ها	
		مصرف آب (میلی لیتر)	دفع ادرار (میلی لیتر)
۱	شاهد	۳۴/۱۱ $\pm$ ۲/۱۵	۱۱/۲۵ $\pm$ ۰/۸۲
۲	دریافت‌کننده کراتین منویدرات	۲۶/۸۵ $\pm$ ۲/۹۵ <sup>a</sup>	۷/۵۴ $\pm$ ۰/۶۱ <sup>a</sup>
۳	دریافت‌کننده کراتین منویدرات+ هشت هفته ورزش منظم و فزاینده هوازی	۳۰/۱۷ $\pm$ ۲/۶۸ <sup>b</sup>	۹/۷۳ $\pm$ ۰/۴۹ <sup>b</sup>

a: اختلاف معنی‌دار با گروه ۱ ( $p < 0.01$ ), b: اختلاف معنی‌دار با گروه ۲ ( $p < 0.05$ ).

انجام ورزش هوازی)، انجام هشت هفته ورزش منظم و فزاینده هوازی، مقادیر افزایش یافته پارامترهای مذکور را به‌طور معنی‌داری کاهش داد ( $p < 0.05$ ). (جدول ۲).

سطوح سرمی اوره، اسید اوریک و کراتینین موش‌های گروه ۲ (دریافت‌کننده کراتین منویدرات) در مقایسه با گروه ۱ (شاهد) به‌طور معنی‌داری ( $p < 0.01$ ) افزایش یافت. در گروه ۳ (دریافت‌کننده مکمل در کنار

جدول ۲- تاثیر ورزش منظم و فزاینده هوازی بر سطوح اوره، اسید اوریک و کراتینین سرم در موش‌های صحرایی مورد مطالعه (میانگین  $\pm$  انحراف استاندارد)

گروه	تیمار	فراسنجه‌های بیوشیمیایی		
		اوره (میلی گرم/دسی لیتر)	اسید اوریک (میلی گرم/دسی لیتر)	کراتینین (میلی گرم/دسی لیتر)
۱	شاهد	۲۲/۴۵ $\pm$ ۰/۳۳	۱/۳۲ $\pm$ ۰/۱۴	۱/۱۵ $\pm$ ۰/۱۰
۲	دریافت‌کننده کراتین منویدرات	۳۱/۸۱ $\pm$ ۰/۴۵ <sup>a</sup>	۲/۱۹ $\pm$ ۰/۳۵ <sup>a</sup>	۲/۳۴ $\pm$ ۰/۲۰ <sup>a</sup>
۳	دریافت‌کننده کراتین منویدرات+ هشت هفته ورزش منظم و فزاینده هوازی	۲۷/۷۷ $\pm$ ۰/۶۸ <sup>b</sup>	۱/۷۰ $\pm$ ۰/۱۸ <sup>b</sup>	۱/۶۹ $\pm$ ۰/۱۶ <sup>b</sup>

a: اختلاف معنی‌دار با گروه ۱ ( $p < 0.01$ ), b: اختلاف معنی‌دار با گروه ۲ ( $p < 0.05$ ).

بود. در لوله‌های ادراری تورم سلول‌های پوششی توبول‌ها و افزایش ضخامت غشای بازال توبولی نیز دیده می‌شد. کست‌های هیالن نیز در داخل توبول‌ها قابل مشاهده بودند. پرخونی و خونریزی توأم با ادم و نفوذ لنفوسیت‌ها در بافت بینابینی کلیه مشخص بود. در گروه ۳ (دریافت‌کننده مکمل در کنار انجام ورزش هوازی)، انجام هشت هفته ورزش منظم و فزاینده

تغییرات بافت‌شناسی کلیه از لحاظ آسیب در موش‌های مورد مطالعه در تصاویر ۱ تا ۳ نشان داده شده است. در بافت کلیه موش‌های گروه ۲ (دریافت‌کننده مکمل کراتین منویدرات)، افزایش ضخامت غشاهای پایه گلومرولی اتساع فضاها، ادراری، چسبندگی پرده‌های احشایی و جداری کیسول بومن و هیپرسلولاریتی گلومرولی همراه با پرخونی قابل مشاهده

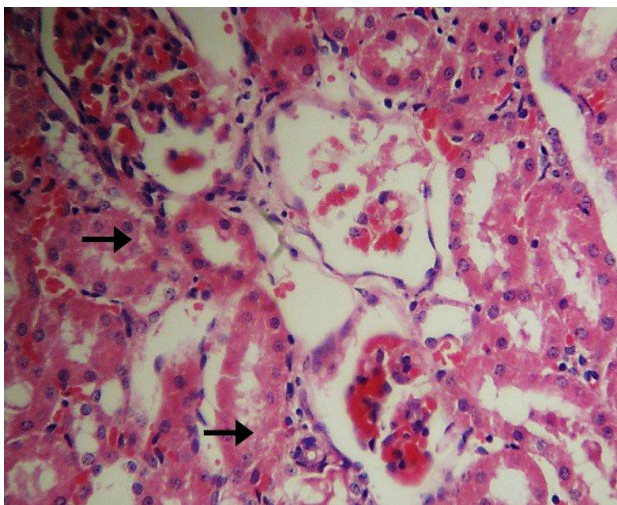
کلافه گلومرولی قابل رویت بود. شدت آسیب‌های گلومرولی-توبولی و آماس و فیروز بینابینی در جدول ۳ بین گروه‌های مورد مطالعه مقایسه گردیده است.

هوازی، به‌طور قابل ملاحظه‌ای باعث کاهش بروز جراحات آسیب‌شناسی فوق در موش‌ها شده بود، اما در بعضی از موارد همچنان آسیب‌های کلیوی نظیر حضور کست‌های هیالنی، تغییرات دژنراتیو-توبولی و آسیب

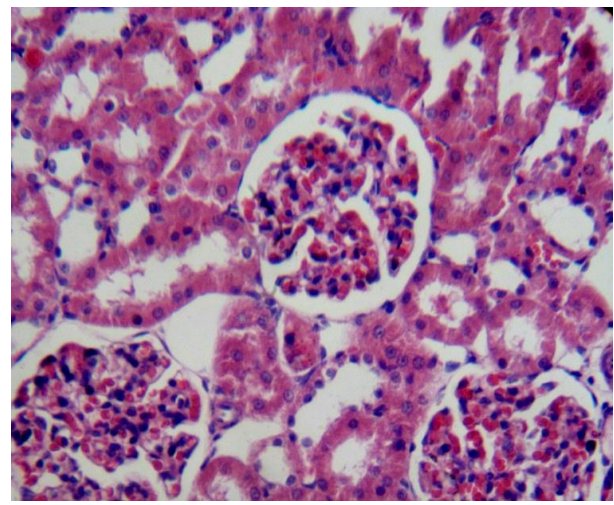
جدول ۳- مقایسه شدت آسیب کلیوی بین گروه‌های مورد مطالعه (میانگین  $\pm$  انحراف استاندارد)

روه	تیمار	تغییرات پاتولوژیک	
		آسیب گلومرولی	آسیب توبولی
۱	شاهد	۰/۰۰±۰/۰	۰/۰۰±۰/۰
۲	دریافت‌کننده کراتین منویدرات	۳/۱۱±۰/۵۶ <sup>a</sup>	۲/۸۵±۰/۱۶ <sup>a</sup>
۳	دریافت‌کننده کراتین منویدرات + هشت هفته ورزش منظم و فزاینده هوازی	۱/۹۲±۰/۲۴ <sup>b</sup>	۱/۴۴±۰/۰۳ <sup>b</sup>

a: اختلاف معنی‌دار با گروه ۱ ( $p < 0.01$ ). b: اختلاف معنی‌دار با گروه ۲ ( $p < 0.05$ ).



شکل ۲- نمای ریزبینی از بافت کلیه موش صحرایی از گروه ۲ (دریافت-کننده مکمل کراتین منویدرات). تغییرات استحال‌های و نکروز سلول‌های اپیتلیال توبول‌های پروگزیمال (پیکان‌ها)، اتساع فضای اداری در گلمروها، چروکیدگی و آترفی گلومرولی، پرخونی و خونریزی در گلمرول‌ها و فضاهای بینابینی مشخص می‌باشد (رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین و اتوزین، درشت‌نمایی  $\times 40$ ).

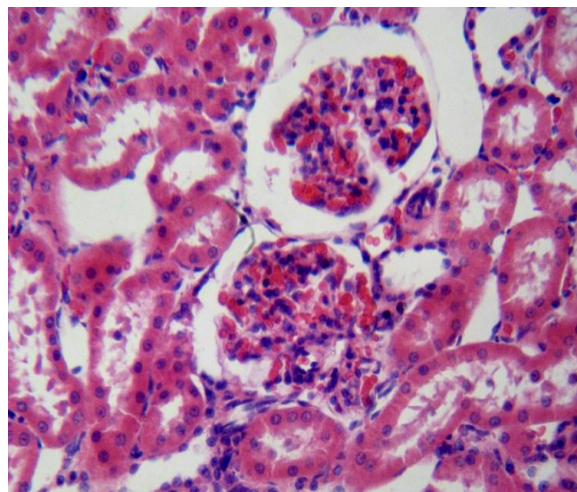


شکل ۱- نمای ریزبینی از بافت کلیه گروه ۱ (شاهد سالم) که در آن ظاهر هیستولوژیکی طبیعی قابل رویت می‌باشد (رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین و اتوزین، درشت‌نمایی  $\times 40$ ).

کراتین بدن متناسب با توده عضلانی بدن است. از آنجایی که مقدار کراتین بافت عضلانی ثابت است، مازاد کراتین با از دست دادن یک مولکول آب به کراتینین تبدیل می‌شود و به کمک جریان خون به کلیه‌ها انتقال یافته و توسط ادرار دفع می‌گردد. تشکیل کراتینین نیز ثابت و منظم بوده و ۲ درصد کراتین در هر ساعت به کراتینین تبدیل می‌شود. کراتین بعد از تبدیل به کراتینین از طریق کلیه‌ها دفع خواهد شد و به عبارتی سنتز و متابولیزه شدن این ماده در کبد انجام شده، اما دفع آن از طریق کلیه انجام می‌شود (Casey and Greenhaff, 2000). تحقیقات نشان داده است که تقریباً ۹۵ درصد کراتین بدن در عضلات اسکلتی به کراتینین تبدیل شده و ضمن گردش در بدن، توسط کلیه‌ها به میزان ۲ گرم در روز دفع می‌شود (Walker, 1979). بنابراین، مصرف زیاد از حد این مکمل آثار سویی در کلیه‌ها ایجاد می‌کند چرا که، در این شرایط کلیه‌ها در مدت زمان طولانی دفع کراتینین، تحت فشار قرار می‌گیرند و اولین محل آسیب در کلیه‌ها همان شبکه گلومرولی می‌باشد.

آسیب گلومرولی به همراه دفع پروتئین در ادرار متعاقب مصرف مکمل‌های کراتینینی در مطالعات روبینسون و همکاران در سال ۲۰۰۰ و ادموندس و همکاران در سال ۲۰۰۱ گزارش شده است که در این زمینه با نتایج مطالعه حاضر هم‌خوانی دارد (Edmunds et al., 2001; Robinson et al., 2000).

در برخی از مطالعات شکل‌گیری کست‌های کلیوی و حتی نفريت بینابینی نیز مشاهده گردیده است (Koshy and Griswold, 1999). اساساً رسوب پروتئین در فضاهای ادراری در طولانی مدت، خود باعث



شکل ۳- نمای ریزبینی از بافت کلیه گروه ۳ (دریافت‌کننده مکمل کراتین منوهدرات + هشت هفته ورزش منظم و فزاینده هوازی) که در آن گلومرول‌ها با پرخونی ملایم و توبول‌های پروگزیمال و دیستال با تغییرات متوسط دژنراتیو و نکروتیک قابل رویت می‌باشند (رنگ-آمیزی هماتوکسیلین و اتوزین، درشت‌نمایی ۴۰×).

## بحث و نتیجه‌گیری

مهم‌ترین ماده انرژی‌زا در بدن، ترکیبات فسفردار و به‌خصوص ATP است که با آزاد کردن فسفر می‌تواند انرژی مورد نیاز بدن را تامین نماید. علاوه بر این ماده پرانرژی، ماده‌ای به نام کراتین فسفات نیز وجود دارد که ماده ذخیره‌ای پرانرژی بوده و می‌تواند در زمان نیاز تغییر و تولید انرژی کند (Hultman et al., 1991). پیش‌ساز کراتین ۳ اسید آمینه گلیسین، آرژینین و متیونین است. واکنش بین گلیسین و آرژینین به‌وسیله ترانس آمینیداز انجام می‌شود. ماده حاصله به کبد منتقل شده و با کسب عامل متیل از آدنوزین متیل، به کراتین تبدیل می‌شود. کراتین وارد خون شده و در تمام بدن به‌خصوص عضلات پخش می‌شود. در عضلات توسط کراتین فسفوکیناز، فسفریله شده و به صورت کراتین فسفات ذخیره می‌گردد (Smith et al., 1998). میزان



مقدار کراتینین خون افزایش می‌یابد ( Balsom Wyss and Kaddurah-Daouk, 2000).

در این مطالعه، آسیب کلیوی ناشی از مصرف کراتین منویدرات با کاهش عملکرد کلیه به صورت افزایش اوره، اسید اوریک و کراتینین سرم مشخص شد. این تغییرات با آسیب‌های گسترده بافتی نظیر واکوئولاسیون سلولی، ادم بینابینی، پرخونی و خونریزی، نکرور توبولی و تغییرات شدید گلمرولی همراه بود. در بررسی حاضر، انجام ورزش هوازی آسیب‌های عملکردی و ساختاری ناشی از مصرف کراتین منویدرات را بهبود بخشید.

کراتینین، اوره و اسید اوریک خون شاخص‌های میزان فیلتراسیون گلمرولی هستند ( Karimi et al., 2005). در مطالعات بالینی از اوره و کراتینین سرم جهت ارزیابی وضعیت کارکرد کلیوی استفاده می‌شود. لازم به ذکر است که، عوامل پیش‌کلیوی می‌توانند باعث افزایش اوره سرمی بدون آسیب کلیوی گردند، که این حالت در رابطه با کراتینین کمتر صادق است. از طرف دیگر افزایش کراتینین سرمی زمانی رخ می‌دهد که کلیه تقریباً دو سوم کارکردش را از دست بدهد (Miyagawa et al., 2009; Oge et al., 2003). از آنجا که اوره و کراتینین سرمی تحت تاثیر فاکتورهای خارج کلیوی هم هستند، از این رو چندین سال است که از تغییرات سرمی پروتئینی بنام سیستاتین سی (Cystatin C) که به‌عنوان مهم‌ترین مارکر تشخیصی چگونگی کارکرد گلمرول‌های کلیه می‌باشد، استفاده می‌شود (Antognoni et al., 2005; Randers and Erlandsen, 1999).

آسیب‌های جبران ناپذیر در کلیه‌ها می‌گردد و مخصوصاً در فیلتراسیون کلیوی اختلال شدید ایجاد می‌کند (Persky and Branzeau, 2001).

پورتمنز و فرانکاکس در سال ۲۰۰۰ گزارش نمودند که مصرف مکمل‌های کراتینی علاوه بر آسیب در عملکرد کلیه‌ها در بروز سنگ‌های کلیوی و آسیب‌های نفروتوکسیک نیز نقش دارند ( Poortmans and Francaux, 2000).

کراتینین بیشترین شاخص برای میزان فیلتراسیون گلمرولی است چرا که، اولاً کراتینین یک ماده اندوژن می‌باشد که میزان تولید ثابتی دارد، ثانیاً کراتینین به پروتئین‌های پلاسما اتصال نیافته و بنابراین به آسانی به وسیله گلمرول فیلتره می‌شود. ثابت بودن تشکیل کراتینین و دفع آن از طریق ادرار، موجب می‌شود که تعیین مقدار آن در خون در بررسی عملکرد کلیه مفید واقع گردد. کراتینین توسط توبول‌های کلیه بازجذب نشده و تنها مقدار خیلی کمی از آن به وسیله توبول‌ها جذب می‌شود. هنگامی که فعالیت کلیه طبیعی و ثابت باشد، دفع کراتینین معادل با تولید آن است که آن هم به‌طور کلی به وزن عضله بستگی دارد. در برخی بیماری‌های عضلانی چون کراتین مصرف نمی‌شود، مقدار آن در خون افزایش می‌یابد، در حالی که از مقدار کراتینین خون کاسته می‌شود. بالعکس، در ورزش‌های شدید و مصرف زیاد گوشت در رژیم غذایی، میزان دفع ۲۴ ساعت کراتینین افزایش می‌یابد. معمولاً دفع کراتینین در ادرار، به مقدار جزئی کمتر از تولید آن است و این اختلاف با کاهش عملکرد کلیه به صورت پیشرونده‌ای افزایش می‌یابد. به‌عبارتی دیگر، در نارسایی‌های کلیوی که دفع کراتینین توسط کلیه‌ها دچار اختلال می‌گردد،

وضعیت دفع ادرار متعاقب استفاده از کراتین منویدرات در موش‌های صحرایی شد.

تحقیقات نشان داده است که فعالیت‌های ورزشی احتمالاً با کاهش متیلاسیون کراتین و تبدیل آن به کراتینین از شکل‌گیری کراتینین می‌کاهند و بنابراین، افرادی که کراتین را توأم با فعالیت ورزشی مصرف می‌کنند در مقایسه با کسانی که فعالیت ورزشی ندارند، آسیب کلیوی کمتری خواهند داشت (Souza et al., 2009).

در مجموع، نتایج بیوشیمیایی و هیستوپاتولوژی مطالعه حاضر نشان داد که انجام ورزش منظم و فزاینده هوازی دارای اثرات محافظتی در مقابل آسیب کلیوی ناشی از مصرف کراتین منویدرات در موش‌های صحرایی می‌باشد. به هر حال پیشنهاد می‌شود در صورت استفاده از مکمل‌های کراتین، پارامترهای بیوشیمیایی کلیوی به‌طور مرتب اندازه‌گیری شود تا در صورت تغییر پارامترها از مصرف آن پرهیز شود. همچنین توصیه می‌گردد، در بیماران با سابقه کلیوی از مصرف کراتین خودداری شود.

### سپاسگزاری

بدینوسیله از کلیه پرسنل مرکز تحقیقات دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی تبریز قدردانی می‌گردد. نویسندگان اعلام می‌دارند که هیچ‌گونه تضاد منافی ندارند.

در این مطالعه سطوح کراتینین، اوره و اسید اوریک خون موش‌های گروه مصرف‌کننده کراتین منویدرات به طور معنی‌داری بیشتر از گروه شاهد بود. این نشان می‌دهد که اختلال در عملکرد کلیه پس از مصرف کراتین منویدرات اتفاق می‌افتد. نتایج این مطالعه نشان داد که انجام ورزش منظم و فزاینده هوازی سطوح افزایش یافته کراتینین، اوره و اسید اوریک خون در اثر مصرف کراتین منویدرات را کاهش می‌دهد.

یافته‌های مطالعه ما همچنین نشان داد که متعاقب مصرف کراتین منویدرات، نسبت وزن کلیه به بدن به طور معنی‌داری افزایش و میزان تولید ادرار به طور معنی‌داری کاهش می‌یابد. احتمالاً تورم سلول‌های توبولی، تغییرات آماسی و ادم بینابینی منجر به افزایش نسبت وزن کلیه به وزن بدن می‌شود، که انجام ورزش هوازی با کاهش آسیب‌های یاد شده باعث بهبود در این تناسب (نسبت وزن کلیه به وزن بدن) می‌شود. نکروز حاد توبولی باعث الیگوری از طریق نشت ادرار به بافت بینابینی کلیه متعاقب آسیب غشاهای پایه توبولی یا انسداد توبول‌ها به وسیله سلول‌های نکروتیک جدا شده اتفاق می‌افتد. به علاوه، به دلیل فعال شدن سیستم رنین-آنژیوتانسین که نفرون‌های قشر بیرونی کلیه را عمدتاً تحت تاثیر قرار می‌دهند، جریان خون گلومرولی و فیلتراسیون کاهش می‌یابد، که منجر به کاهش تولید ادرار می‌شود (Newman, 2007). انجام ورزش منظم هوازی با کاهش آسیب‌های بافتی کلیه باعث بهبود

## منابع

- Antognoni, M.T., Siepi, D., Porciello, F. and Fruganti, G. (2005). Use of serum cystatin C determination as a marker of renal function in the dog. *Veterinary Research Communication*, 29: 265-267.
- Balsom Wyss, M. and Kaddurah-Daouk, R. (2000). Creatine and creatinine metabolism. *Physiological Reviews*, 80: 1107-1213.
- Bhalodia, Y., Kanzariya, N., Patel, R., Patel, N., Vaghasiya, J., Jivani, N., *et al.* (2009). Renoprotective activity of Benincasa cerifera fruit extract on ischemia/reperfusion-induced renal damage in rat. *Iranian Journal of Kidney Disease*, 3(2): 80-85.
- Caraway, W.T. (1955). Determination of uric acid in serum by carbonate method. *American Journal of Clinical Pathology*, 25: 840-845.
- Casey, A. and Greenhaff, P.L. (2000). Dose dietary creatine supplementation play a role in skeletal muscle metabolism and performance. *American Journal of Clinical Nutrition*, 72(Suppl): 607-617.
- Edmunds, J.W., Jayapalan, S., DiMarco, N.M., Saboorian, M.H. and Aukema, H.M. (2001). Creatine supplementation increases renal disease progression in Han: SPRD-cy rat. *American Journal of Kidney Disease*, 37(1): 73-78.
- Fawcett, J.K. and Scott, J.E. (1960). A rapid and precise method for the determination of urea. *Journal of Clinical Pathology*, 13: 156-159.
- Ferreiral, G., De Toledo Bergmaschi, C., Lazaretti-Castro, M. and Heilberg, I.P. (2005). Effects of creatine supplementation on body composition and renal function in rats. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 37(9): 1525-1529.
- Hultman, E., Greenhaff, P.L. and Ren, J.M. (1991). Energy metabolism and fatigue during intense muscle contraction. *Biochemical Society Transactions*, 19: 347-353.
- Jaffe, M. (1886). Concerning the precipitate produced in normal urine by picric acid and a new reaction of creatinine. *Zeitschrift für Physikalische Chemie*, 10: 391-400.
- Juhn, M.S. (1999). Oral creatine supplementation: Separating fact from hype. *Physiology of Sports Medicine*, 27: 47-61.
- Juhn, M.S. and Tarnopolsky, M. (1998). Oral creatine supplementation and athletic performance: A critical review. *Clinical Journal of Sport Medicine*, 8: 286-297.
- Karimi, G., Ramezani, M. and Tahoonian, Z. (2005). Cisplatin Nephrotoxicity and Protection by Milk Thistle Extract in Rats. *Evidence Based Complementary Alternative Medicine*, 2: 383-386.
- Koshy, K. and Griswold, E. (1999). Interstitial nephritis in a patient taking creatine. *The New England Journal of Medicine*, 340(10): 814-815.
- Kraemer, W.J. and Volek, J.S. (1999). Creatine supplementation: Its role in human performance. *Clinical Journal of Sport Medicine*, 18: 651-666.
- Miyagawa, Y., Takemura, N. and Hirose, H. (2009). Evaluation of the measurement of serum cystatin C by an enzyme-linked immunosorbent assay for humans as a marker of the glomerular filtration rate in dogs. *Journal of Veterinary Medicine Science*, 71: 1169-1176.
- Newman, S.J., Confer, A.W. and Panciera, R.J. (2007). Urinary system. In: *Pathologic Basis of Veterinary Disease*. Mc Gavin, M.D. and Zachary, J.F. editors. 4th ed., UK: Mosby, Elsevier, pp: 644-656.
- Oge, H., Doganay, A., Oge, S. and Yildirim, A. (2003). Prevalence and distribution of *Dirofilaria immitis* in domestic dogs from Ankara and vicinity in Turkey. *Dtsch Tierarztl Wochenschr*, 110: 69-72.
- Persky, A. and Branzeau, G. (2001). Clinical pharmacology of the dietary supplement ceratine monohydrate. *Pharmacological Reviews*, 53(2): 161-176.
- Poortmans, J. and Francaux, M. (2000). Adverse effects of creatine supplementation: fact or fiction? *Sports Medicine*, 30(3): 155-170.

- Randers, E. and Erlandsen, E.J. (1999). Serum cystatin C as an endogenous marker of the renal function – A Review. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, 37: 389-395.
- Robinson, T.M., Sewell, D.A., Casey, A., Steenge, G. and Greenhaff, P.L. (2000). Dietary creatine supplementation does not affect hematological indices, or indices of muscle damage and hepatic and renal function. *British Journal of Sports Medicine*, 34(4): 284-288.
- Smith, J.C., Stephens, D.P. and Hall, E.L. (1998). Effect of oral creatine ingestion on parameters of the work rate- time relationship and time to exhaustion in high- intensity cycling. *European Journal of Applied Physiology*, 77: 360-365.
- Souza, R.A., Miranda, H., Xavier, M., Lazo-Osorio, R.A., Gouvea, H.A., Cogo, J.C., *et al.* (2009). Effects of high-dose creatine supplementation on kidney and liver responses in sedentary and exercised rats. *Journal of Sports Science and Medicine*, 8(4): 672-681.
- Teitz, N.W. (1987). *Fundamentals of Clinical Chemistry*. Philadelphia: NB Saunders Company, pp: 638-639.
- Terjung, R.L., Clarkson, P., Eichner, E.R., Greenhaff, P.L., Hespel, P.J., Israel, R.G., *et al.* (2000). American College of Sports Medicine roundtable. The physiological and health effects of oral creatine supplementation. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 32(3): 706-717.
- Thompson, W.R. (2010). American College of Sports Medicine. In: *ACSM's Guidelines for Exercise Testing and Prescription*. Gordon, N.F. and Pescatello, L.S. editors. 8th ed., Philadelphia: Lippincott, Williams & Wilkins, pp: 580-640.
- Vanderberie, F., Vandeneynde, B.M. and Vandenberghe, K. (1998). Effect of creatine on endurance capacity and sprint power in cyclists. *International Journal of Sports Medicine*, 8: 2055-2063.
- Volek, J.S., Kraemer, W.J. and Bush, J.A. (1997). Creatine supplementation enhances muscular performance during high-intensity resistance exercise. *Journal of American Dietary Association*, 97: 765-770.
- Walker, H.B. (1979). Creatine biosynthesis, regulation, and function. *Advances in Enzymology Related Areas of Molecular Biology*, 50: 177-242.

## **Protective effects of regular aerobic exercise on renal tissue injury following creatine monohydrate supplementation in rats**

**Rahimi, D.<sup>1</sup>, Matin Homaeae, H.<sup>2\*</sup>**

1- MSc. Student of Sport Physiology-Sports Nutrition, Faculty of Physical Education Sciences, Central Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

2- Assistant Professor, Department of Sport Physiology, Faculty of Physical Education Sciences, Central Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

,Eqttgurqpfkpi"cwvjqtøu"g o ckn<"

(Received: 2016/12/9 Accepted: 2017/1/7)

### **Abstract**

Creatine is one of the most common supplements for improvement of athletic performance which is used by athletes. The most important debate about creatine consumption is its adverse effect on kidneys due to increased protein load. This study was performed to evaluate the protective effects of aerobic exercise on renal tissue injury following consumption of creatine monohydrate in the rat. For this purpose, 30 male Wistar rats were randomly divided into 3 groups of 10 animals each. Group 1, as control, received only standard food. Group 2 received 5 g/kg b.w. creatine monohydrate supplement daily for 8 weeks through gavage and group 3 received creatine monohydrate supplementation in the same manner 30 minutes before aerobic exercise. Aerobic exercise was performed 5 times per week on treadmill at speed of 10-25m/min for 10-30 minutes with the slope of 5 degrees. At the end of 8 weeks, water intake and urinary excretion of rats were measured and blood samples were collected for measurement of serum renal function biomarkers including urea, uric acid and creatinine. Finally, the rats were euthanized for renal histopathology. In group 3, by doing regular aerobic exercise, water intake and urinary excretion rates were significantly ( $p<0.05$ ) increased compared to group 2 and serum biomarkers of kidney injury decreased significantly ( $p<0.05$ ). In group 3, microscopic studies showed a significant ( $p<0.05$ ) reduction of glomerulo-tubular and renal interstitial damages compared to group 2. The results showed that regular aerobic exercise can ameliorate kidney tissue damage following creatine monohydrate supplementation in rats.

**Conflict of interest:** None declared.

**Keywords:** Creatine, Kidney, Aerobic exercise, Rat.