مقاله تحقیقی

مجلهٔ دانشگاه علوم پزشکی بابل
دوره پانزدهم، شمارهٔ ۱، دی ۱۳۹۱، صفحه ۳۷-۳۰

اثرحمایتی تمرین هوازی در مقابل برخی از شاخص های پیش التهابی ناشی از مهار مزمن نیتریک اکسید سنتاز در بافت کلیه موش های صحرایی

معصومه حبیبیان(MA)[*۱]، مقصود پیری(PhD)[۱]، محمدعلی آذربایجانی(PhD)[۱]، مهدی هدایتی(PhD)[۲]

۱- گروه تربیت بدنی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکزی
۲- مرکز تحقیقات پیشگیری و درمان چاقی، پژوهشکده علوم غدد درون ریز و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

دریافت: ۹۰/۱۲/۱۳، اصلاح: ۹۱/۴/۱۴، پذیرش: ۹۱/۶/۸

خلاصه

سابقه و هدف: پرفشارخونی با تغییر عملکرد اندوتلیالی حاصل از کاهش فراهمی نیتریک اکسید و آسیب کلیوی همراه است. بهبود عملکرد اندوتلیالی با تمرین ورزشی در مدل های پرفشارخونی حیوانی و بیماران مبتلا به پرفشارخونی مشاهده شد. هدف از این تحقیق بررسی اثر حمایتی تمرین هوازی در مقابل برخی از سایتوکاین های پیش التهابی بافت کلیه موش های تیمار شده با مهار مزمن نیتریک اکسید سنتاز می باشد.

مواد و روشها: در این تحقیق تجربی۴۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار به طور تصادفی و مساوی به ۴ گروه کنترل، شم، مهارنیتریک اکسید سنتاز (تزریق داخل صفاقی نیترو- ال آرژنین متیل استر) و تمرین هوازی (تمرین+ مهارنیتریک اکسید سنتاز) دسته بندی شدند. برنامه تمرینی شامل ۸ هفته دویدن روی نوار گردان با سرعت ۲۲-۱۵ متر بر دقیقه، ۶۴-۲۵ دقیقه در روز و ۵ روز در هفته بود. سطوح فاکتور نکروز دهنده تومور-آلفا و اینتر لوکین شش با روش الایزا اندازه گیری و گروهها مورد مقایسه قرار گرفتند.

یافته ها: مهار مزمن نتیریک اکسید سنتاز منجر به افزایش معنی دار سطوح فاکتور نکروز دهنده تومور-آلفا (۰/۵۲±۲/۵۳ پیکو گرم در میلی گرم) و اینتر لوکین شش (۰/۸۸±۴/۵۱ پیکو گرم در میلی گرم) شد (p=۰/۰۰۰). تمرین هوازی به طور معکوسی، سطوح این سایتوکاین های کلیوی را (به ترتیب ۰/۳۷±۱/۹۷ و۰/۸۰±۳/۴۶ پیکو گرم در میلی گرم) در موش ها کاهش داد (p=۰/۰۴۵).

نتیجه گیری: نتایج این مطالعه نشان داد که تمرین هوازی منظم با شدت متوسط ممکن است نقش حمایتی خود را در برابر صدمات التهاب کلیوی ناشی از کمبود نیتریک اکسید سیستمی، از طریق تنظیم منفی سایتوکاین های پیش التهابی اعمال نماید.

واژه های کلیدی: سایتوکاین پیش التهابی، نیتریک اکسید، تمرین ورزشی.

مقدمه

پرفشارخونی به دلیل گستردگی زیاد، خطرات قلبی عروقی و بیماری های کلیوی ناشی از آن یکی از مهم ترین عوامل تهدید کننده سلامت بشر است. افزایش شیوع پرفشارخونی در جمعیت بزرگسال جهان تا ۲۹/۲٪ در سال ۲۰۲۵ برآورد شده است (۱). در افراد مبتلا به پرفشارخونی، خطر بروز بیماری های قلبی عروقی، سکته مغزی، آتریوپاتی محیطی و ناتوانی قلبی ۲ تا ۴ برابر بیشتر از افراد عادی است (۲). التهاب مزمن با درجه کم یکی از نشانه های بارز پرفشارخونی است (۳). سایتوکاین های پیش التهابی مانند فاکتور نکروز دهنده تومورآلفا و اینتر لوکین-۶ به عنوان فاکتورهای خطرزا مستقل پرفشارخونی در افراد به ظاهر سالم شناخته شده اند و با شدت پرفشارخونی افزایش می یابند (۵-۳). سیستم های مهم تنظیمی فشارخون مانند رنین- آنژیوتنسین و سیستم عصبی سمپاتیک اثرات متقابلی با فاکتور نکروز دهنده تومورآلفا و اینتر لوکین-۶ دارند و منجر به تحریک رهایی (۶) و افزایش سنتز این سایتوکاین ها (۷) می شوند. کلیه از مهم ترین عضو هدف در پرفشارخونی است و سرعت پیشرفت شیوع بیماری ثانویه مرحله انتهایی کلیه با پرفشارخونی، مضاعف می گردد (۸). هم چنین بروز آسیب های کلیوی همراه با افزایش سطوح کلیوی فاکتور نکروز دهنده تومورآلفا و اینتر لوکین-۶ در انواع مدل های پرفشارخونی گزارش شده است (۱۱-۹). اینترلوکین-۶ در سلول

▣ این مقاله حاصل پایان نامه معصومه حبیبیان دانشجو دکتری رشته فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکزی می باشد.

* مسئول مقاله:
آدرس: قائم شهر، دانشگاه آزاد اسلامی واحد قائم شهر، گروه تربیت بدنی، تلفن: ۰۱۲۳-۲۲۴۰۰۹۱
e-mail: habibian_m@yahoo.com

[DOR: 20.1001.1.15614107.1391.15.1.20.9]
[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.15.1.30]

های اندوتلیال، عضلات صاف عروقی و ماکروفاژها تولید می شود (۱۲). این سایتوکاین با افزایش بیان و فعالیت کانال های سدیمی سلول های مجاری جمع کننده قشری، نقش کلیدی در بازجذب سدیم توبولی دارد و التهاب ناشی از آن، سهم زیادی در پاتوژنز نفروپاتی و آسیب ناتریورز فشاری ایفا می نماید (۱۳). فاکتور نکروز دهنده تومورآلفا نیز از طریق افزایش فعالیت سوپراکسید، کاهش نیتریک اکسید اندوتلیالی منجر به کاهش فیلتراسیون گلومرولی شده و اثرات مستقیمی بر بازجذب سدیم توبولی دارد (۱۴). علاوه بر این، مشاهده فیلتراسیون لنفوسیت های T و ماکروفاژها کلیوی در اکثر مدل های تجربی پرفشارخونی، دلالت بر افزایش التهاب توبولی بینابینی و آسیب کلیوی دارد (۱۵).

هم چنین نقش بالقوه فعالیت های ورزشی منظم بر سیستم قلبی عروقی، درمان بیماری فشارخون و التهاب مزمن در تحقیقات قبلی به خوبی ثابت شده است (۱۸-۱۶و۴). Kuru و همکاران نشان دادند که تمرین منظم هوازی با تحریک فیزیکی جریان خون، بهبود پاسخ شل شدگی عروقی ناشی از افزایش نیتریک اکسید و تغییر ساختار عروقی، منجر به کاهش فشارخون در مدل های تجربی پرفشارخونی با مهار نیتریک اکسید سنتاز شد (۲۰و۱۹). هم چنین کاهش سطوح پلاسمایی و بافتی فاکتور نکروز دهنده تومورآلفا و اینتر لوکین-۶ با اجرای تمرینات منظم تمرینات هوازی در مدل های انسانی و حیوانی (۱۸و۱۷و۳) و بهبود ساختار میکروسکوپی گلومرولی و توبولی کلیوی پس از ۲۰ هفته دویدن با شدت کم، در مدل حیوانی با پرفشارخونی ذاتی توسط Garcia-Pinto و همکاران گزارش شده است (۲۱). نیتریک اکسید نقش اصلی در تنظیم طولانی مدت فشارخون دارد. شواهد نشان می دهند تیمار دارویی مزمن با آنالوگ های ال-آرژنین، ضمن کاهش بیوسنتز نیتریک اکسید اندوتلیالی، منجر به القاء پرفشارخونی حساس به نمک و بروز آسیب کلیوی می شود (۲۳و۲۲) مهار تولید نیتریک اکسید با نیترو- ال آرژنین متیل استر به عنوان یک مدل حیوانی عالی برای بررسی نقش حمایتی نیتریک اکسید در آسیب کلیوی به کار می رود (۲۵-۲۲).

اما علی رغم تایید اثرات کاهنده و کنترلی درمان های دارویی (۲۲)، آنتی اکسیدانت ها (۹) و تمرین هوازی با شدت متوسط بر پرفشارخونی (۱۸و۱۷) و ارتباط مستقیم پرفشارخونی با التهاب کلیوی (۱۵)، مکانیسم های حمایتی اثر گذار ورزش بر آسیب های بافتی ناشی از عملکرد بد اندوتلیالی به ویژه در بافت کلیه مشخص نیست. لذا هدف از انجام این مطالعه بررسی اثرات تمرین بلند مدت تمرین هوازی بر فاکتورهای پیش التهابی فاکتور نکروز دهنده تومورآلفا و اینتر لوکین-۶ بافت کلیه موش های تیمارشده با نیترو- ال آرژنین متیل استر می باشد. همچنین برای ردیابی و تایید مهار تولید نیتریک اکسید توسط مهارکننده نیتریک اکسید سنتاز، فراهمی سطوح نیتریک اکسید سیستمیک، تعیین شد.

مواد و روشها

الف- حیوانات آزمایشگاهی: این پژوهش تجربی، بر روی ۴۰ سر موش صحرائی نر نژاد ویستار ۸ الی۱۰هفته ای با دامنه وزنی ۲۰۰ الی ۲۵۰ گرم انجام شد. حیوانات پس از خریداری و انتقال به آزمایشگاه، طی ۲ هفته با محیط جدید آشنایی یافتند و به طور تصادفی به چهار گروه ۱۰ تایی کنترل، شم، مهار نیتریک اکسید سنتاز، تمرین هوازی (تمرین + مهار نیتریک اکسید سنتاز) تقسیم شدند. در طول تحقیق، حیوانات به صورت گروه های ۴ سر موش در قفس های پلی اتیلنی ۱۵×۱۵×۳۰ ساخت شرکت رازی راد، دمای ۲۲±۲°C و رطوبت ۵۰±۵٪ در شرایط کنترل شده نور (چرخه روشنایی به تاریکی ۱۲ ساعت) نگهداری شدند و به جیره غذایی استاندارد (۱۰ گرم به ازای ۱۰۰ گرم وزن بدن) ساخت شرکت بهپرور به شکل پلت و آب، آزادانه دسترسی داشتند. پروتکل تجربی بر اساس راهنمودهایی برای تیمار و استفاده از آزمایشگاه حیوانات (NIH publication, No. 86-23, revised1996) انجام شد. در طی ۸ هفته، به موش های گروه های مهار نیتریک اکسید سنتاز و تمرین هوازی محلول مهارکننده نتیریک اکسید سنتاز (۱۰میلی گرم /کیلو گرم وزن بدن، پودر حل شده نیترو ال-آرژنین متیل استر در سالین) و به گروه شم، سالین ۰/۹٪ (۱میلی لیتر/ کیلو گرم وزن بدن) بصورت داخل صفاقی و ۶ روز/ هفته تزریق شد (۲۵و۲۴) و گروه کنترل تحت تیمار خاصی نبودند.

ب- برنامه تمرینی: قبل از شروع تمرینات اصلی، حیوانات گروه تمرینی، با ۵ جلسه راه رفتن و دویدن با سرعت ۵ تا ۸ متر در دقیقه روی نوارگردان بدون شیب ویژه جوندگان (ساخت پژوهشکده تربیت بدنی متعلق به دانشگاه مازندران) و به مدت ۵ تا ۱۰ دقیقه با نحوه انجام فعالیت روی نوارگردان آشنا شدند. برنامه تمرینی اصلی به صورت پیشرونده و شامل ۲۵ دقیقه دویدن با سرعت ۱۵متر/ دقیقه در هفته اول، تا ۶۴ دقیقه دویدن با سرعت ۲۲متر/دقیقه در هفته هشتم و ۵ جلسه/ هفته در طی ۸ هفته طرح ریزی شد. برای گرم کردن، در ابتدای هر جلسه تمرینی موش ها با سرعت ۷ متر در دقیقه به مدت ۳ دقیقه دویدند و تا رسیدن به سرعت مورد نظر، به ازای هر دقیقه، ۲ متر در دقیقه سرعت آنها افزایش یافت. عمل سرد کردن نیز در انتهای تمرین با کاهش پلکانی سرعت تا رسیدن به سرعت اولیه، در انتهای هر جلسه تمرین انجام شد. هم چنین شدت تمرین معادل ۷۵-۵۷ درصد اکسیژن مصرفی بود (۲۶).

ج- تهیه نمونه های بافتی و خونی: تمام حیوانات با شرایط کاملاً مشابه، پس از ۱۲ تا ۱۴ ساعت ناشتایی و ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی و تزریقات، با تزریق داخل صفاقی کتامین (۶۰ میلی گرم/کیلوگرم) و زایلازین (۵ میلی گرم/کیلوگرم) بی هوش و کشته شدند. پس از شکافتن حفره شکمی، بافت کلیه به دقت جدا و در دمای ۷۰°C- نگهداری شد. بافت فریز شده پس از پودر شدن در نیتروژن مایع، در بافر حاوی پروتئاز (PBS, pH 7.4) هموژنیزه شد. سپس به مدت ۳۰ دقیقه با سرعت ۱۲هزار دور در دقیقه در دمای ۴°C سانتریفوژ (مدل ۵۸۱۰ R اپندورف، ساخت آلمان) شد. محلول به دست آمده با استفاده از یخ خشک به آزمایشگاه منتقل شد. نمونه گیری خونی توسط سرنگ آغشته به هپارین به طور مستقیم از قلب گرفته شد و برای استخراج پلاسما به مدت ۱۵ دقیقه، با سرعت۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شد.

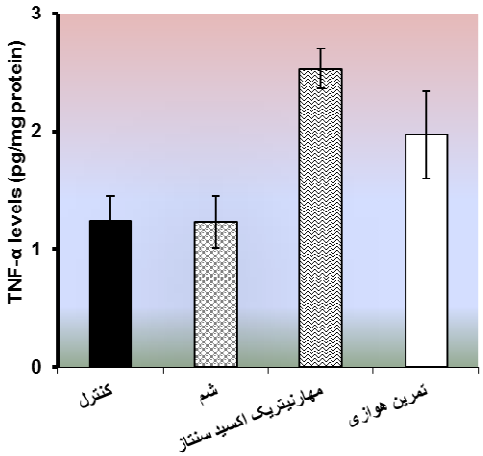
د- سنجش متغیرهای تحقیق: سنجش فاکتور نکروز دهنده تومورآلفا و اینتر لوکین-۶ با استفاده از کیت های تجاری الایزا (Rat Eliza kit ,Assaypro co, USA) و بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده با ضریب تغییر (۵/۲ و ۶/۱ CV%) و حساسیت (۵/۳pg/ ml) انجام شد. سطوح پلاسمایی نیتریک اکسید به طور غیرمستقیم، با تبدیل نیتریک اکسید به متابولیت های پایدار آن (تبدیل نیتریک اکسید به یون های نیترات به نیتریت از طریق نیترات ردوکتاز) و با استفاده از روش رنگ سنجی بر اساس واکنش گریس (Griess reagent) و کیت های سنجش ویژه نیتریک اکسید (Cayman Chemical Co. USA) اندازه گیری شد.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1391.15.1.20.9]
[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.15.1.30]

پس از تعیین توزیع طبیعی داده ها با استفاده از آزمون کولموگروف-اسمیرنوف، از روش آنالیز واریانس یک راهه و آزمون تعقیبی توکی تجزیه و تحلیل شدند و $p<۰/۰۵$ معنی دار در نظر گرفته شد.

یافته ها

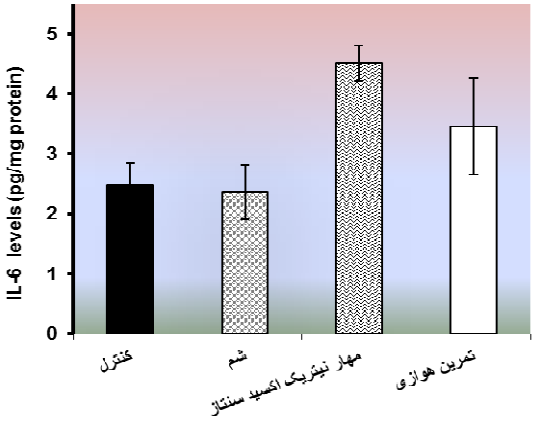
بر اساس یافته های این مطالعه ۸ هفته تیمار موش های ویستار با تزریق مهار کننده نیتریک اکسید سنتاز، سطوح فاکتور نکروز دهنده تومور آلفا کلیوی را نسبت به گروه های کنترل و شم توسعه بخشید (به ترتیب ۰/۵۲±۲/۵۳ در مقایسه با ۰/۵۵±۱/۲۴ و ۰/۶۱±۱/۲۳ پیکوگرم/میلی گرم بافت)، (p=۰/۰۰۰) (جدول ۱). اما علی رغم تنظیم منفی (p=۰/۰۴۵) این سایتوکاین با تمرین (۰/۳۷±۱/۹۷)، در سطوح بالاتری از گروه های کنترل (p=۰/۰۱۴) و شم (p=۰/۰۱۱) قرار داشت (نمودار ۱).



نمودار ۱: مقایسه تغییرات سطوح کلیوی فاکتور نکروز دهنده تومورآلفا در گروه های مختلف پژوهش با گروه کنترل

همچنین مقادیر اینترلوکین-۶ کلیوی با مهار تولید نیتریک اکسید اندوتلیالی، افزایش معنی داری نسبت به گروه های کنترل و شم یافت (به ترتیب ۰/۸۸±۴/۵۱ در مقایسه با ۰/۹۵±۲/۴۸ و ۱/۲۷±۲/۳۶ پیکوگرم/ میلیگرم بافت، p=۰/۰۰۰) و تمرین هوازی سطوح اینترلوکین-۶ (۰/۸۰±۳/۴۶ پیکوگرم / میلی گرم) را نرمال نمود به طوری که تفاوت معنی داری (p=۰/۰۷۶) بین گروه تمرین هوازی و کنترل مشاهده نشد (نمودار ۲).

هم چنین، سطوح نیتریک اکسید پلاسمایی در گروه تیمار شده با مهار کننده نیتریک اکسید سنتاز نسبت به گروه های شم (۴۵٪) و کنترل (۴۷٪) کاهش یافت (۷±۱۷ نسبت به ۳±۳۲ و ۳±۳۳ میکرومول/ لیتر، به ترتیب p=۰/۵۵۵، p=۰/۵۲۹) و تمرین هوازی با تنظیم مثبت قابل توجه سطوح نیتریک اکسید همراه بود (۳±۴۶ میکرومول/ لیتر، p=۰/۰۴۳) اما این افزایش نسبت به گروه های کنترل و شم معنی دار نبود (جدول۱). تمامی تغییرات متغیرهای فوق بین گروه های شم وکنترل معنی دار نبود.



نمودار ۲: مقایسه تغییرات سطوح کلیوی اینترلوکین-۶ در گروههای مختلف پژوهش با گروه کنترل

جدول۱: میانگین و انحراف معیارسطوح فاکتور نکروز دهنده تومورآلفا و اینتر لوکین-۶ (در بافت کلیه) و سطوح نیتریک اکسید در پلاسما گروه های مختلف پژوهش با گروه کنترل

گروه ها / متغیر	کنترل	شم	مهار نیتریک اکسید سنتاز	تمرین هوازی
فاکتور نکروز دهنده تومورآلفا (pg/mg protein)	۱/۲۴±۰/۵۵	۱/۲۳±۰/۶۱	[a]۲/۵۳±۰/۵۲	[b,a]۱/۹۷±۰/۳۷
اینتر لوکین-۶ (pg/mg protein)	۲/۴۸±۰/۹۵	۲/۳۶±۱/۲۷	[a]۴/۵۱±۰/۸۸	[b,c]۳/۴۶±۰/۸۰
نیتریک اکسید (µmol/L plasma)	۳۳± ۳	۳۲±۳	۱۷±۷	[b]۴۶±۳

a: اختلاف معنی دار نسبت به گروه های کنترل و شم، b: اختلاف معنی دار نسبت به گروه مهار نیتریک اکسید سنتاز، c: اختلاف معنی دار نسبت به گروه شم، (سطح معنی داری $p<۰/۰۵$)

بحث و نتیجه گیری

در این مطالعه افزایش سطوح فاکتور نکروز دهنده تومورآلفا و اینتر لوکین-۶ بافت کلیوی پس از ۸ هفته مهار آنزیم نیتریک اکسید سنتاز و تنظیم منفی این شاخص های التهابی با تمرین هوازی بلند مدت با شدت متوسط مشاهده شد که بیانگر مداخله سایتوکاین های پیش التهابی در شرایط پاتولوژی کلیوی حاصل از

[DOR: 20.1001.1.15614107.1391.15.1.20.9]
[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.15.1.30]

نقص تولید نیتریک اکسید و اثرات کاهندگی فعالیت های ورزشی هوازی در التهاب بافت کلیه است. التهاب بافت های مختلف شامل واکنش های پیچیده ای از سلول های ایمنی و پروتئین های محلول از جمله سایتوکاین ها است و همانند اکثر واکنش های ایمنی مزیت آن درمان و برگشت به ریکاوری پس از عفونت است. اما در صورت هماهنگ عمل نکردن دفاع هدفمند شده و ترمیمات لازم، می تواند از طریق لکوسیت ها منجر به آسیب بافتی در اندام های متعدد شود (۲۷). سلول های التهابی مانند ماکروفاژها و سلول هایT، در چربی دور عروقی و کلیه تجمع می یابند و در عملکرد بد عروقی و بیماری های کلیوی همراه با افزایش فشارخون، شرکت دارند. اما سوال اصلی این است که سلول هایT چگونه این اثرات را اعمال می کنند. یک مکانیسم احتمالی رهایی سایتوکاین هایی است که بر عملکرد سلول های کلیوی و عروقی اثرگذار هستند (۲۸)، افزایش سطوح کلیوی فاکتور نکروز دهنده تومورآلفا و اینترلوکین-۶ در موش های تیمار شده با مهارکننده نیتریک اکسید سنتاز در تحقیق حاضر همسو با گزارشات قبلی (۱۰و۹) می تواند تاییدی بر نقش مهم سایتوکاین های پیش التهابی در پاتوژنز کلیوی ناشی از عملکرد بد اندوتلیالی از جمله پرفشارخونی باشد. در نتایج تحقیقات مختلف افزایش فشارخون همراه با آسیب کلیوی، توسعه فیلتراسیون مونوسیت/ ماکروفاژها (۳۰و۲۹و۹) و لنفوسیت T (۳۱و۹)، ارتقاء فعالیت فاکتور هسته ای NF-κB – فاکتورنسخه برداری سایتوکاین های پیش التهابی- (۲۹و۱۱و۹)، تنظیم مثبت آنژیوتانسینII (۳۱و۲۴)، افزایش فاکتور نکروز دهنده تومورآلفا و اینتر لوکین-۶ (۱۱-۹) و استرس اکسیداتیو بالا (۲۹و۹) بافت کلیوی در انواع مدلهای تجربی گزارش شده است.

به اعتقاد پژوهشگران توسعه آترواسکلروز شریان آوران ممکن است با اختلال در خود تنظیمی گلومرولی همراه باشد. در حالی که از دست رفتن مویرگهای دور توبولی ممکن است سبب ایسکمی موضعی گردد. این تغییرات برای استقرار سلول هایT و ماکروفاژها درون ماده بینابینی مناسب هستند که توام با استرس موضعی و تولید آنژیوتانسین II ممکن است در ناتریورز فشاری آسیب دیده و در نتیجه افزایش فشارخون دخالت یابند (۳۲). از سوی دیگر Gazik و همکاران نیز نشان دادند تزریق آنژیوتانسین II به موش های سالم، فعال سازی سلول هایT موجود در بافت چربی دور عروقی و تولید فاکتور نکروز دهنده تومورآلفا در لنفوسیت T را افزایش داد (۳۳). سلولT به واسطه دارا بودن یک سیستم رنین-آنژیوتانسین داخلی، قادر به تولید سطوح فیزیولوژیکی از آنژیوتنسین II می باشند که می تواند بیان شاخص های مضر بافتی و تولید سایتوکاین فاکتور نکروز دهنده تومور آلفا را افزایش دهد (۳۴) اگرچه در تحقیق حاضر عوامل اثر گذار دیگر بر پروسه های التهابی مانند آنژیوتانسین II، فعالیت NF-κB اندازه گیری نشد. ولی به نظر می رسد ماکروفاژها و لنفوسیت هایT فعال فیلتر شده به بافت کلیه همانند خود سلول های اصلی کلیه، ممکن است از طریق افزایش سطوح آنژیوتانسین II (به عنوان یک سایتوکاین پیش التهابی)، استرس اکسیداتیو و یا فعالیت فاکتور NF-κB سبب افزایش سطوح کلیوی سایتوکاین های فاکتور نکروز دهنده تومورآلفا و اینتر لوکین-۶ مشابه با سایر مدل های تجربی پرفشارخونی شوند. با توجه به اینکه در این مطالعه کاهش معنی دار سطوح فاکتور نکروز دهنده تومورآلفا و اینتر لوکین-۶ کلیوی پس از ۸ هفته تمرینات هوازی منظم، همراه با افزایش قابل ملاحظه (۱۶۳٪) سطوح نیتریک اکسید پلاسمایی در مقایسه با گروه های تیمار شده با مهار کننده نیتریک اکسید سنتاز مشاهده شد، بنابراین تمرین ممکن است به واسطه کاهش التهاب کلیوی ناشی از تنظیم منفی تولید نیتریک اکسید، اثرات حمایتی خود را بر بافت کلیه اعمال نماید. با این وجود فعالیت ورزشی نتوانست به طور کامل التهاب ناشی از فاکتور نکروز دهنده تومورآلفا بافتی کلیوی را خنثی سازد که علت احتمالی آن ممکن است افزایش زیاد فاکتور نکروز دهنده تومورآلفا ناشی از فیلتراسیون سلول های T و یا ماکروفاژها / مونوسیت ها باشد (۳۱و۹). هم چنین مشاهده کاهش بیشتر سطوح اینتر لوکین-۶ می تواند تاییدی بر تاثیر مطلوب تمرین در نرمال نمودن سطوح اینتر لوکین-۶ باشد و این که تداوم فعالیت در زمان طولانی تر از ۸ هفته و بروز سازگاری های بیشتر، ممکن است سطوح اضافی شاخص های التهابی فاکتور نکروز دهنده تومورآلفا را نیز نرمال سازد.

Asghar و همکاران گزارش دادند که ۶ هفته تمرین هوازی همراه با کاهش استرس اکسیداتیو و افزایش فعالیت آنتی اکسیدانتی، تولید فاکتور نکروز دهنده تومورآلفا را مهار نمود و منجر به کاهش التهاب در توبول های پروگزیمال کلیوی موش های مسن گشت (۳۵). هم چنین Agarwal و همکاران نشان دادند ۱۶ هفته تمرین با شدت متوسط سطوح پلاسمایی و قلبی فاکتور نکروز دهنده تومورآلفا را کاهش داد و با بهبود وضعیت رداکس از طریق کاهش فعالیت NF-κB و تولید نیتریک اکسید قلبی در موش های پرفشارخون ذاتی همراه بود (۳). علاوه بر این ارتباط منفی بین افزایش حداکثر اکسیژن مصرفی و کاهش سطوح فاکتور نکروز دهنده تومورآلفا و اینتر لوکین-۶ پلاسمایی در بیمارانی با ناتوانایی قلبی مزمن در نتایج Adamopoulos و همکاران گزارش شد (۳۶). تشابه تحقیقات مذکور با تحقیق حاضر در کاهش فاکتور نکروز دهنده تومورآلفا و اینترلوکین-۶ کلیوی در موش های تمرین کرده، می تواند گواهی بر اثرات چند جانبه تمرین هوازی مزمن بر کنترل فاکتورهای پیش التهابی در پلاسمایی و بافتی اندام های متعدد و فشارخون بالا باشد.

اگر چه عدم اندازه گیری مستقیم فشارخون، را می توان از محدودیت های تحقیق حاضر عنوان نمود، ولی به کارگیری از مدل تجربی پرفشارخونی ناشی از مهار سنتز نیتریک اکسید سنتاز و اندازه گیری فراهمی نیتریک اکسید پلاسمایی را می توان از جمله نقاط قوت این پژوهش برشمرد. بر اساس تحقیقات قبلی، تیمار مزمن نیترو ال-آرژنین متیل استر منجر به القا پر فشارخونی حساس به نمک شد (۲۴و۲۲). حدود نیمی از افراد مبتلا به فشارخون اساسی، دارای حساسیت به نمک می باشند و آسیب های کلیوی در این افراد جدی تر از بیماران پرفشارخون غیر حساس به نمک است (۸). در تحقیق حاضر تیمار مزمن با نیترو ال-آرژنین متیل استر، با کاهش سطوح سیستمی نیتریک اکسید همراه بود که بیانگر تایید مهار نیتریک اکسید سنتاز و در نتیجه القا آسیب کلیوی ناشی از نقص تولید نیتریک اکسید بود. نیتریک اکسید به عنوان یک عنصر غیر قابل جایگزین و اساسی، نقش مهمی در تنظیم دراز مدت فشارخون دارد. از این جهت مهار نیتریک اکسید مدل بسیار پیچیده از القاء پرفشارخونی شریانی است (۲۵و۲۳و۲۲و۲۰و۱۹). تشابه کاهش نیتریک اکسید در تحقیق حاضر و پژوهش های قبلی، می تواند گواهی بر پرفشارخون شدن احتمالی موش ها در تحقیق تجربی حاضر باشد در حالی که تمرین به طور معکوسی منجر به افزایش شاخص نیتریک اکسید حتی نسبت به گروه های پایه (۳۹٪) و شم (۴۴٪) شد. افزایش فشار برشی (shear stress) که همراه با ازدیاد جریان خون در طول ورزش اتفاق می افتد، تولید و رهایی نیتریک اکسید را از طریق اندوتلیوم عروقی و افزایش بیان نیتریک اکسید سنتاز ،

[DOR: 20.1001.1.15614107.1391.15.1.20.9]
[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.15.1.30]

توسعه می بخشد، هم چنین تاثیر فعالیت های ورزشی بر افزایش پاسخ به استیل کولین و شل شدگی وابسته به نیتریک اکسید و کاهش فشارخون در مدل های با نقص نیتریک اکسید تایید شده است (۲۵و۲۳و۲۰و۱۹). Husain در تحقیقی مشابه نشان داد که ۸ هفته تزریق نیترو ال-آرژنین متیل استر با دوز۱۰میلی گرم /کیلو گرم منجر به کاهش سطوح نیتریک اکسید پلاسمایی و افزایش معنی دار فشارخون شد و اجرای فعالیت ورزشی با شدت متوسط، با افزایش قابل توجه نیتریک اکسید پلاسمایی و نرمال شدن فشارخون همراه بود (۲۵). بنابراین در تحقیق حاضر، اجرای تمرین مزمن، ممکن است افزایش فشارخون احتمالی حاصل از نقص تولید نیتریک اکسید را از طریق فراهمی سطوح نیتریک اکسید پلاسمایی و اتساع عروقی ناشی از آن کاهش دهد.

در کل نتایج تحقیق حاضر، بیانگر نقش حمایتی فعالیت های هوازی با شدت متوسط در مقابل صدمات التهابی کلیوی، ناشی از مهار نیتریک اکسید سنتاز با نیترو ال- آرژنین متیل استر است. بنابراین تمرین هوازی بلند مدت ممکن است از طریق تنظیم منفی سایتوکاین های پیش التهابی کلیوی مانند فاکتور نکروز دهنده تومورآلفا و اینتر لوکین-۶ و هم چنین افزایش سطوح نیتریک اکسید پلاسمایی، آسیب کلیوی ناشی از عملکرد بد اندوتلیوم را در بیماری های قلبی عروقی از جمله پرفشارخونی کاهش بخشد. با توجه به نقش حمایت کلیوی تمرین منظم ورزشی، به نظر می رسد نتایج این مطالعه بتواند زمینه ساز تحقیقات جدیدی در این راستا باشد.

تقدیر و تشکر

بدینوسیله از کلیه همکارانی که در انجام این پژوهش ما را یاری دادند، تشکر و قدردانی می گردد.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1391.15.1.20.9]
[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.15.1.30]

Protective Effect of Aerobic Exercise against Some of Proinflammatory Cytokines-Induced Chronic Nitric Oxide Synthase Inhibition in Renal Tissue Rats

M. Habibian (MA) [1*], M. Peeri (PhD) [1], M.A. Azarbayjani (PhD) [1], M. Hedayati (PhD) [2]

1. Department of Physical Education and Sport Sciences, Islamic Azad University, Central Tehran Branch, Tehran, Iran
2. Obesity Research Center, Research Institute for Endocrine Sciences, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

J Babol Univ Med Sci; 15(1); Jan 2012; pp: 30-37
Received: Mar 3rd 2012, Revised: Jul 4th 2012, Accepted: Aug 29th 2012.

ABSTRACT

BACKGROUND AND OBJECTIVE: Hypertension is associated with alteration in endothelial function mediated through reduced nitric oxide bioavailability and renal injury. Exercise training has been shown to improve endothelial function in animal models of hypertension and in the patients with essential hypertension. The purpose of this study was to investigate the protective effect of aerobic exercise against some of proinflammatory cytokines in the renal tissue of rats treated with chronic nitric oxide synthase inhibition.

METHODS: In this experimental research, 40 male Wistar rats were randomly divided into four groups: (1) control (2) sham (3) nitric oxide synthase inhibition (infusion of Nω-Nitro-L-Arginine Methyl Ester, intraperitoneally) and (4) aerobic exercise (exercise + nitric oxide synthase inhibition) (n=10 for any group). The exercise consisted of progressive running training on the treadmill for 15 to 22 m/min, 25 to 64 min /day, and 5 days/week for 8 weeks. Tumor necrosis factor-alpha (TNF-α) and interlukin-6 (IL-6) levels was measured by ELISA method and the groups were compared.

FINDINGS: Chronic nitric oxide synthase inhibition significantly enhanced renal TNF-α (2.53 ± 0.52 pg/mg) and IL-6 (4.15 ± 0.88 pg/mg) levels (p=0.000). Conversely, aerobic exercise significantly decreased (p=0.045) this proinflammatory cytokines levels (1.97 ± 0.37, 3.46 ± 0.80 pg/mg, respectively) in rat kidney.

CONCLUSION: Regular aerobic exercise with moderate intense may exert protective role against systemic nitric oxide deficiency-induced inflammatory renal injury by down-regulating the proinflammatory cytokines.

KEY WORDS: *Proinflammatory cytokines, Nitric oxide, Exercise training.*

[*] **Corresponding Author;**
Address: Department of Physical Education and Sport Sciences, Islamic Azad University, Ghaemshar, Iran
Tel: +98 123 2240091
E-mail: habibian_m@yahoo.com

[DOR: 20.1001.1.15614107.1391.15.1.20.9]
[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.15.1.30]

References

1.Kearney PM, Whelton M, Reynolds K, Muntner P, Whelton PK, He J. Global burden of hypertension: analysis of worldwide data. Lancet 2005; 365(9455): 217-23.

2.Novo S, Lunetta M, Evola S, Novo G. Role of ARBs in the blood hypertension therapy and prevention of cardiovascular events. Curr Drug Targets 2009;10(1):20-5.

3.Agarwal D, Haque M, Sriramula S, Mariappan N, Pariaut R, Francis J. Role of proinflammatory cytokines and redox homeostasis in exercise-induced delayed progression of hypertension in spontaneously hypertensive rats. Hypertension 2009;54(6):1393-400.

4.Edwards KM, Ziegler MG, Mills PJ. The potential anti-inflammatory benefits of improving physical fitness in hypertension. J Hypertens 2007;25(8):1533-42.

5.Bautista LE, Vera LM, Arenas IA, Gamarra G. Independent association between inflammatory markers (C-reactive protein, interleukin-6, and TNF-a) and essential hypertension. J Hum Hypertens 2005;19(2):149-54.

6.Zhang ZH, Wei SG, Francis J, Felder RB. Cardiovascular and renal sympathetic activation by blood-borne TNF in rat: the role of central prostaglandins. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol 2003;284(4):R916-27.

7.Sanz-Rosa D, Oubina MP, Cedie E, et al. Effect of AT_1 receptor antagonism on vascular and circulating inflammatory mediators in SHR: role of NF-KappaB/IKappaB system. Am J Physiol Heart Circ Physiol 2005;288(1): H111-5.

8.Manning RD Jr, Tian JN, Meng S. Oxidative stress and antioxidant treatment in hypertension and the associated renal damage. Am J Nephrol 2005;25(4):311-7.

9.Tian N, Moore RS, Braddy S, et al. Interactions between oxidative stress and inflammation in salt-sensitive Hypertension. Am J Physiol Heart Circ Physiol 2007;293(6):H3388-95.

10.Ruiz-Ortega M, Ruperez M, Lorenzo O, et al. Angiotensin II regulates the synthesis of proinflammatory cytokines and chemokines in the kidney. Kidney Int Suppl 2002; 82:S12-2.

11.Matavelli LC, Huang J, Siragy HM. Angiotensin AT_2 receptor stimulation inhibits early renal inflammation in renovascular hypertension. Hypertension 2011;57(2):308-13.

12.Lee DL, Sturgis LC, Labazi H, et al. Angiotensin II hypertension is attenuated in interleukin-6 knockout mice. Am J Physiol Heart Circ Physiol 2006;290(3):H935-40.

13.Li K, Guo D, Zhu H, Hering-Smith KS, et al. Interleukin-6 stimulates epithelial sodium channels in mouse cortical collecting duct cells. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol 2010;299(2): R590-5.

14.Shahid M, Francis J, Majid DS. Tumor necrosis factor-alpha induces renal vasoconstriction as well as natriuresis in mice. Am J Physiol Renal Physiol 2008;295(6):F1836-44.

15.Johnson RJ, Herrera-Acosta J, Schreiner GF, Rodríguez-Iturbe B. Subtle acquired renal injury as a mechanism of salt-sensitive hypertension. N Engl J Med 2002;346(12):913-23.

16.Ciampone S, Borges R, de Lima IP, Mesquita FF, Cambiucci EC, Gontijo JA. Long-term exercise attenuates blood pressure responsiveness and modulates kidney angiotensin II signalling and urinary sodium excretion in SHR. J Renin Angiotensin Aldosterone Syst 2011;12(4):394-403.

17.Adamopoulos S, Parissis J, Karatzas D, et al. Physical training modulates proinflammatory cytokines and the soluble Fas/soluble Fas ligand system in patients with chronic heart failure. J Am Coll Cardiol 2002;39(4):653-63.

18.Lesniewski LA, Durrant JR, Connell ML, et al. Aerobic exercise reverses arterial inflammation with aging in mice. Am J Physiol Heart Circ Physiol 2011;301(3):H1025-32.

19.Kuru O, Şentürk UK, Kocer G, et al. Effect of exercise training on resistance arteries in rats with chronic NOS inhibition. J Appl Physiol 2009;107(3):896-902.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1391.15.1.20.9]
[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.15.1.30]

20.Kuru O, Şentürk ÜK, Demir N, et al. Effect of exercise on blood pressure in rats with chronic NOS inhibition. Eur J Appl Physiol 2002;87(2):134-40.
21.Garcia-Pinto AB, De Matos VS, Rocha V, Moraes-Teixeira J, Carvalho JJ. Low-Intensity physical activity beneficially alters the ultrastructural renal morphology of spontaneously hypertensive rats. Clinics 2011;66(5):855-63.
22.Zatz R, Baylis C. Chronic nitric oxide inhibition model six years on. Hypertension 1998;34(6):958-64.
23.Husain K. Exercise conditioning attenuates the hypertensive effects of nitric oxide synthase inhibitor in rat. Mol Cell Biochem 2002;231(1-2):129-37.
24.Quiroz Y, Pons H, Gordon KL, et al. Mycophenolate mofetil prevents salt-sensitive hypertension resulting from nitric oxide synthesis inhibition. Am J Physiol Renal Physiol 2001; 281(1): F38-47.
25.Husain K. Interaction of exercise training and chronic NOS inhibition on blood pressure, heart rate, NO and antioxidants in plasma of rats. Pathophysiology 2003;10(1):47-56.
26.Hosseinzadeh S, Dabidi Roshan V, Mahjoub S, Taghipour Darzi M. The interactive effect of lead acetate and endurance training on the brain-derived neurotrophic factor and malondialdehyde levels in rat's cortex. J Babol Univ Med Sci 2012;14(2):7-15. [in Persian]
27.Lam CWK. Inflammation, cytokines and chemokines in chronic kidney disease. eJIFCC 2009;20(1):11-19.
28.Harrison DG, Vinh A, Lob H, Madhur MS. Role of the adaptive immune system in hypertension. Curr Opin Pharmacol 2010;10(2):203-7.
29.Tian N, Gu JW, Jordan S, Rose RA, Hughson MD, Manning RD Jr, et al. Immune suppression prevents renal damage and dysfunction and reduces arterial pressure in salt-sensitive hypertension. Am J Physiol Heart Circ Physiol 2007;292(2):H1018-25.
30.Lawes CM, Vander Hoorn S, Law MR, Elliott P, MacMahon S, Rodgers A. Blood pressure and the global burden of disease 2000. Part II: estimates of attributable burden. J Hypertens 2006;24(3):423-30.
31.De Miguel C, Das S, Lund H, Mattson DL. T lymphocytes mediate hypertension and kidney damage in Dahl salt-sensitive rat. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol 2010;298(4): R1136-42.
32.Rodriguez-Iturbe B, Johnson RJ. The role of renal microvascular disease and interstitial inflammation in salt-sensitive hypertension. Hypertens Res 2010;33(10):975-80.
33.Guzik TJ, Hoch NE, Brown KA, et al. Role of the T cell in the genesis of angiotensin II–induced hypertension and vascular dysfunction. J Exp Med 2007;204 (10):2449-60.
34.Hoch NE, Guzik TJ, Chen W, et al. Regulation of T-cell function by endogenously produced angiotensin II. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol 2009;296(2):R208-16.
35.Asghar M, George L, Lokhandwala MF. Exercise decreases oxidative stress and inflammation and restores renal dopamine D1 receptor function in old rats. Am J Physiol Renal Physiol 2007;293(3):F914-9.
36.Adamopoulos S, Parissis J, Karatzas D, et al. Physical training modulates proinflammatory cytokines and the soluble Fas/soluble Fas ligand system in patients with chronic heart failure. J Am Coll Cardiol 2002;39(4):653-63.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1391.15.1.20.9]
[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.15.1.30]