

## اثر حمایتی تمرين 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)\*<sup>۱</sup>، مقصود پیری (PhD)<sup>۱</sup>، محمدعلی آذربایجانی (PhD)<sup>۱</sup>، مهدی هدایتی (PhD)<sup>۲</sup>

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

### خلاصه

**سابقه و هدف:** پرفسارخونی با تغییر عملکرد اندولیالی حاصل از کاهش فراهمی نیتریک اکسید و آسیب کلیوی همراه است. بهبود عملکرد اندولیالی با تمرين ورزشی در مدل های پرفسارخونی حیوانی و بیماران مبتلا به پرفسارخونی مشاهده شد. هدف از این تحقیق بررسی اثر حمایتی تمرين 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 روشهای:** در این تحقیق تجربی ۴۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار به طور تصادفی و مساوی به ۴ گروه کنترل، شم، مهارنیتریک اکسید سنتاز (تریپریک داخل صفاقی نیترو- ال آرزنین مตیل است) و تمرين هوازی (تمرين + مهارنیتریک اکسید سنتاز) دسته بندی شدند. برنامه تمرينی شامل ۸ هفته دویلن روی نوار گردان با سرعت ۱۵-۲۲ متر بر دقیقه، ۲۵-۶۴ 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 نیتریک اکسید سنتاز منجر به افزایش معنی دار سطوح فاکتور نکروز دهنده تومور-آلفا ( $2/53 \pm 0.05$ ) پیکو گرم در میلی گرم) و اینتر لوکین شش ( $4/51 \pm 0.08$ ) پیکو گرم در میلی گرم) شد ( $p=0.000$ ). تمرين هوازی به طور معکوسی، سطوح این سایتوکاین های کلیوی را ( $1/97 \pm 0.046$ ) و ( $1/80 \pm 0.037$ ) پیکو گرم در میلی گرم) در موش ها کاهش داد ( $p=0.045$ ).

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

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

### مقدمه

شناخته شده اند و با شدت پرفسارخونی افزایش می یابند (۳-۵). سیستم های مهم تنظیمی فشارخون مانند رنین- آنژوتنسین و سیستم عصبی سمپاتیک اثرات متقابلی با فاکتور نکروز دهنده تومور آلفا و اینتر لوکین-۶ دارند و منجر به تحریک رهابی (۶) و افزایش سنتز این سایتوکاین ها (۷) می شوند. کلیه از مهم تمرين عضو هدف در پرفسارخونی است و سرعت پیشرفت شیوع بیماری ثانویه مرحله انتهایی کلیه با پرفسارخونی، مضاعف می گردد (۸). هم چنین بررس آسیب های کلیوی همراه با افزایش سطوح کلیوی فاکتور نکروز دهنده تومور آلفا و اینتر لوکین-۶ در انواع مدل های پرفسارخونی گزارش شده است (۹-۱۱). اینترلوکین-۶ در سلول

پرفسارخونی 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 پرفسارخونی در جمعیت بزرگسال جهان تا ۲۹٪ در سال ۲۰۲۵ برآورد شده است (۱). در افراد مبتلا به پرفسارخونی، 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 پرفسارخونی است (۳). سایتوکاین های پیش التهابی مانند فاکتور نکروز دهنده تومور آلفا و اینتر لوکین-۶ به عنوان فاکتورهای خطرناک مستقل پرفسارخونی در افراد به ظاهر سالم

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

\* مسئول مقاله:

e-mail: habibian\_m@yahoo.com

adr: قائم شهر، دانشگاه آزاد اسلامی واحد قائم شهر، گروه تربیت بدنی، تلفن: ۰۲۳-۲۲۴۰۰۹۱

پلی اتیلنی  $30 \times 15 \times 15$  ساخت شرکت رازی راد، دمای  $22 \pm 2^\circ\text{C}$  و رطوبت  $50 \pm 5\%$  در شرایط کنترل شده نور (چرخه روشنایی به تاریکی ۱۲ ساعت) نگهداری شدند و به حیره غذایی استاندارد (۱۰ گرم به ازای ۱۰۰ گرم وزن بدن) ساخت شرکت پهپور 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, revised 1996) انجام شد. در طی ۸ هفته، به موش های گروه های مهار نیتریک اکسید سنتاز و تمرين هوایی محلول مهار کننده نیتریک اکسید سنتاز (۱۰ میلی گرم / کیلو گرم وزن بدن، پودر حل شده نیترو-ال-آرژنین متیل استر در سالین) و به گروه شم، سالین  $9\% / 0.9\%$  (۱ میلی لیتر / کیلو گرم وزن بدن) بصورت داخل صفائی و ۶ روز / هفته تزریق شد ( $24 \pm 25$ ) و گروه کنترل تحت تیمار خاصی نبودند.

**ب- برنامه تمرينی:** قبل از شروع تمرينات اصلی، حیوانات گروه تمرينی، با ۵ جلسه راه رفتن و دويدن با سرعت ۵ تا ۸ متر در دقیقه روی نوارگردان بدون شب 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 تمرينی اصلی به صورت پیشرونده و شامل ۲۵ دقیقه دويدن با سرعت  $15 \text{ m} / \text{دقیقه}$  در هفته اول، تا  $24 \text{ m} / \text{دقیقه}$  دويدن با سرعت  $22 \text{ m} / \text{دقیقه}$  در هفته هشتم و ۵ جلسه / هفته در طی ۸ هفته طرح ریزی شد. برای گرم کردن، در ابتدای هر جلسه تمرينی موش ها با سرعت ۷ متر در دقیقه به مدت ۳ دقیقه دويدند 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 تمرين با کاهش بلکانی سرعت تا رسیدن به سرعت اولیه، در انتهای هر جلسه تمرين انجام شد. هم چنین شدت تمرين معادل  $57 \pm 7.5$  درصد اکسیژن مصروف بود (۲۶).

**ج- تهیه نمونه های بافتی و خونی:** تمام حیوانات با شرایط کاملاً مشابه، پس از ۱۲ تا ۱۴ ساعت ناشتاپی و  $48$  ساعت پس از آخرین جلسه تمرينی و تزریقات، با تزریق داخل صفائی کتامین ( $60$  میلی گرم / کیلو گرم) و زایلazin ( $5$  میلی گرم / کیلو گرم) بی هوش و کشته شدند. پس از شکافتن حفره شکمی، بافت کلیه به دقت جدا و در دمای  $70^\circ\text{C}$ - نگهداری شد. بافت فریز شده پس از پودر شدن در نیتروژن مایع، در بافر حاوی پروتاز (PBS، pH 7.4)  $4^\circ\text{C}$  سانتریفور میسپس به مدت  $30$  دقیقه با سرعت  $12$  هزار دور در دقیقه در دمای  $40^\circ\text{C}$  سانتریفور شد. نمونه گیری خونی توسط سرنگ آغشته به هپارین (مدل  $5810$  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 پلاسمما به مدت  $15$  دقیقه، با سرعت  $3000$  دور در دقیقه سانتریفور شد.

**د- سنجش متغیرهای تحقیق:** سنجش فاکتور نکروز دهنده تومور آلفا و اینتر لوکین-۶ با استفاده از کیت های تجاری الیزا (Rat Eliza kit Assaypro co, USA) و بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده با ضریب تغییر ( $5/2$  و  $1/5$ ) و حساسیت ( $5/\text{pg} / \text{ml}$ ) انجام شد. سطوح پلاسمایی نیتریک اکسید به طور غیرمستقیم، با تبدیل نیتریک اکسید به متاپولیت 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 Cayman (Griess reagent) و کیت های سنجش ویژه نیتریک اکسید (Chemical Co. USA) اندازه گیری شد.

های اندوتیال، عضلات صاف عروقی و ماکروفازها تولید می شود (۱۲). این سایتوکاین با افزایش بیان و فعلیت کانال های سدیمی سلول های مجاری جمع کننده قشری، نقش کلیدی در بازجذب سدیم توبولی دارد و التهاب ناشی از آن، سهم زیادی در پاتوزنر نفوپاتی و آسیب ناتریبورز فشاری ایفا می نماید (۱۳). فاکتور نکروز دهنده تومور آلفا نیز از طریق افزایش فعلیت سوپراکسید، کاهش نیتریک اکسید اندوتیالی منجر به کاهش فیلتراسیون گلومرولی شده و اثرات مستقیمی بر بازجذب سدیم توبولی دارد (۱۴). علاوه بر این، مشاهده فیلتراسیون لنفوسيت های T و ماکروفازها کلیوی در اکثر مدل های تحریبی پرفشارخونی، دلالت بر افزایش التهاب توبولی بینایی و آسیب کلیوی دارد (۱۵).

هم چنین نقش بالقوه فعلیت های ورزشی منظم بر سیستم قلبی عروقی، درمان بیماری فشارخون و التهاب مزمن در تحقیقات قبلی به خوبی ثابت شده است (۱۶-۱۸). Kuru و همکاران نشان دادند که تمرين منظم هوایی 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 تحریبی پرفشارخونی با مهار نیتریک اکسید سنتاز شد (۱۹-۲۰). هم چنین کاهش سطوح پلاسمایی و بافتی فاکتور نکروز دهنده تومور آلفا و اینتر لوکین-۶ با اجرای تمرينات منظم تمرينات هوایی در مدل های انسانی و حیوانی (۱۷ و ۱۸) 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 بیوسنتر نیتریک اکسید اندوتیالی، منجر به القاء پرفشارخونی حساس به نمک و بروز آسیب کلیوی می شود (۲۲ و ۲۳) 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 (۲۲-۲۵).

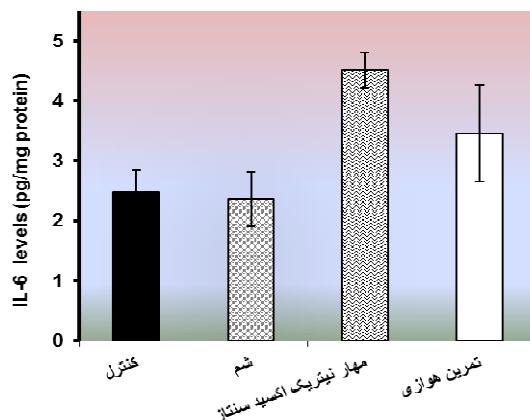
اما على رغم تأیید اثرات کاهنده و کنترلی درمان های دارویی (۲۲)، آنتی اکسیدانت ها (۹) و تمرين هوایی با شدت متوسط بر پرفشارخونی (۱۷ و ۱۸) و ارتباط مستقیم پرفشارخونی با التهاب کلیوی (۱۵)، مکانیسم های حمایتی اثر گذار ورزش بر آسیب های بافتی ناشی از عملکرد بد اندوتیالی به ویژه در بافت کلیه مشخص نیست. لذا هدف از انجام این مطالعه بررسی اثرات تمرين بلند مدت تمرين هوایی بر فاکتورهای پیش التهابی فاکتور نکروز دهنده تومور آلفا و اینتر لوکین-۶ بافت کلیه موش های تیمار شده با نیترو-ال-آرژنین متیل استر می باشد. همچنین برای دیابی و تأیید مهار تولید نیتریک اکسید توسط مهار کننده نیتریک اکسید سنتاز، فراهمی سطوح نیتریک اکسید سیستمیک، تعیین شد.

## مواد و روشها

**الف- حیوانات آزمایشگاهی:** این پژوهش تجربی، بر روی  $40$  سر مosh صحرائی نر نژاد ویستار  $8$  الی  $10$  هفته ای با دامنه وزنی  $200$  الی  $250$  گرم حیوانات پس از خریداری و انتقال به آزمایشگاه، طی  $2$  هفته با محیط جدید آشنا شده ایافتند و به طور تصادفی به چهار گروه  $10$  تایی کنترل، شم، مهار نیتریک اکسید سنتاز، تمرين هوایی (تمرين + مهار نیتریک اکسید سنتاز) تقسیم شدند. در طول تحقیق، حیوانات به صورت گروه های  $4$  سر مosh در قفس های

همچنین مقادیر اینترلوکین-۶ کلیوی با مهار تولید نیتریک اکسید اندولیالی، افزایش معنی داری نسبت به گروه‌های کنترل و شم یافت (به ترتیب  $4/۵۱ \pm ۰/۸۸$  در مقایسه با  $۲/۴۸ \pm ۰/۹۵$  و  $۲/۳۶ \pm ۱/۲۷$  پیکوگرم / میلیگرم بافت،  $p=0/000$ ) و تمرین هوایی سطوح اینترلوکین-۶ ( $۳/۴۶ \pm ۰/۸۰$  پیکوگرم / میلی‌گرم) را نرمال نمود به طوری که تفاوت معنی داری ( $p=0/076$ ) بین گروه تمرین هوایی و کنترل مشاهده نشد (نمودار ۲).

هم چنین، سطوح نیتریک اکسید پلاسمایی در گروه‌های با مهار کننده نیتریک اکسید سنتاز نسبت به گروه‌های شم ( $۰/۴۵$ ) و کنترل ( $۰/۴۷$ ) کاهش یافت ( $۱/۷ \pm ۰/۷$  نسبت به  $۳/۲ \pm ۰/۳$  و  $۳/۳ \pm ۰/۳$  میکرومول / لیتر، به ترتیب مقایسه با  $۰/۵۲$  و  $۱/۲۴ \pm ۰/۶۱$  پیکوگرم / میلی‌گرم بافت)، اما این افزایش نسبت به گروه‌های کنترل و شم معنی دار نبود (جدول ۱). تمامی تغییرات متغیرهای فوق بین گروه‌های شم و کنترل معنی دار نبود.

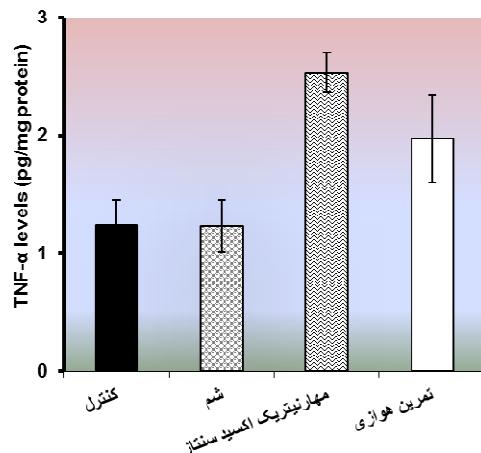


نمودار ۲: مقایسه تغییرات سطوح کلیوی اینترلوکین-۶ در گروههای مختلف پژوهش با گروه کنترل

پس از تعیین توزیع طبیعی داده‌ها با استفاده از آزمون کولموگروف-asmirnov، از روش آنالیز واریانس یک راهه و آزمون تعقیبی توکی تجزیه و تحلیل شدن و  $p < 0/05$  معنی دار در نظر گرفته شد.

### یافته‌ها

بر اساس یافته‌های این مطالعه ۸ هفته تیمار موش‌های ویستار با تزریق مهار کننده نیتریک اکسید سنتاز، سطوح فاکتور نکروز دهنده تومور آلفا کلیوی را نسبت به گروه‌های کنترل و شم توسعه بخشید (به ترتیب  $۰/۵۳ \pm ۰/۵۲$  در مقایسه با  $۰/۵۵$  و  $۱/۲۴ \pm ۰/۶۱$  پیکوگرم / میلی‌گرم بافت)، ( $p=0/000$ ). اما علی‌رغم تنظیم منفی ( $۰/۰۴۵$ ) این سایتوکاین با تمرین (جدول ۱)، در سطوح بالاتری از گروه‌های کنترل ( $p=0/014$ ) و شم ( $p=0/011$ ) قرار داشت (نمودار ۱).



جدول ۱: میانگین و انحراف معیار سطوح فاکتور نکروز دهنده تومور آلفا و اینتر لوکین-۶ (در بافت کلیه) و سطوح نیتریک اکسید در پلاسمای گروه‌های مختلف پژوهش با گروه کنترل

	تمرين هوائي	مهار نيتريک ا克斯يد سنتاز	شم	كنترل	متغير	
					فاكتور نکروز دهنده تومور آلفا (pg/mg protein)	اينتر لوکين-۶ (pg/mg protein)
b,a	$۱/۹۷ \pm ۰/۳۷$	$۰/۲ \pm ۰/۵۲$	$۱/۲۳ \pm ۰/۶۱$	$۱/۲۴ \pm ۰/۵۵$		
b,c	$۳/۴۶ \pm ۰/۸۰$	$۰/۴/۵۱ \pm ۰/۸۸$	$۲/۳۶ \pm ۱/۲۷$	$۲/۴۸ \pm ۰/۹۵$		
	$۰/۴۶ \pm ۰/۳$	$۱/۷ \pm ۰/۷$	$۲/۲ \pm ۰/۳$	$۳/۳ \pm ۰/۳$	نيتریک اکسید (μmol/L plasma)	

a: اختلاف معنی دار نسبت به گروه‌های 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  $p < 0/05$ )

### بحث و نتیجه گیری

در این مطالعه افزایش سطوح فاکتور نکروز دهنده تومور آلفا و اینتر لوکین-۶ بافت کلیوی پس از ۸ هفته مهار آنزیم نیتریک اکسید سنتاز و تنظیم منفی این

شاخص‌های التهابی با تمرین هوایی بلند مدت با شدت متوسط مشاهده شد که بیانگر مداخله سایتوکاین‌های پیش‌التهابی در شرایط پاتولوژی کلیوی حاصل از

ستاز مشاهده شد، بنابراین تمرين 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 ماکروفازها / مونوسیت ها باشد (۹و۳۱). هم چنین مشاهده کاهش بیشتر سطوح ایتر لوکین-۶ می تواند تاییدی بر تاثیر مطلوب تمرين در نرمال نمودن سطوح ایتر 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 تمرين 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 تبول های پروگزیمال کلیوی مosh های مسن گشت (۳۵). هم چنین Agarwal و همکاران نشان دادند ۱۶ هفته تمرين 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 مosh های پرفشارخون ذاتی همراه بود (۳). علاوه بر این ارتباط منفی بین افزایش حداکثر اکسیژن مصرفی و کاهش سطوح فاکتور نکروز دهنده تومورآلفا و ایتر لوکین-۶ پلاسمایی در بیمارانی با ناتوانی قلبی مزمун در نتایج Adamopoulos و همکاران گزارش شد (۳۶). تشابه تحقیقات مذکور با تحقیق حاضر در کاهش فاکتور نکروز دهنده تومورآلفا و ایترلوکین-۶ کلیوی در مosh های تمرين کرده، می تواند گواهی بر اثرات چند جانبه تمرين هوازی مزن 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 نموده ولی به کارگیری از مدل تجربی پرفشارخونی ناشی از مهار سنتر نیتریک اکسید ستاز و اندازه گیری فراهمی نیتریک اکسید پلاسمایی را می توان از جمله نقاط قوت این پژوهش برشمرد. بر اساس تحقیقات قبلي، تیمار مزن نیترو-ال-آرژین متیل استر منجر به فشارخون اساسی، دارای حساسیت به نمک (۲۲و۲۴). 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 مزن با نیترو-ال-آرژین متیل استر، با کاهش سطوح سیستمی نیتریک اکسید همراه بود که بیانگر تایید مهار نیتریک اکسید ستاز 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 (۲۵و۲۳و۲۰و۱۹). تشابه کاهش نیتریک اکسید در تحقیق حاضر و پژوهش های قبلی، می تواند گواهی بر پرفشارخون شدن احتمالی مosh ها در تحقیق تحریبی حاضر باشد در حالی که تمرين 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 افزایش جریان خون در طول ورزش اتفاق می افتد، تولید و رهایی نیتریک اکسید را از طریق اندوتیلوم عروقی و افزایش بیان نیتریک اکسید ستاز،

نقص تولید نیتریک اکسید و اثرات کاهنده 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 ماکروفازها و سلول های T، 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 های T 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 ایترلوکین-۶ در موش های تیمار شده با مهار کننده نیتریک اکسید ستاز در تحقیق حاضر همسو با گزارشات قبلی (۹و۱۰) می تواند تاییدی بر نقش مهم سایتوکاین های پیش التهابی در پاتوژن کلیوی ناشی از عملکرد بد اندوتیالی از جمله پرفشارخونی باشد. در نتایج تحقیقات مختلف افزایش فشارخون همراه با آسیب کلیوی، توسعه فیلتراسیون مونوسیت/ماکروفازها (۹و۳۹و۳۰) و لنفوسیت T (۹و۳۱)، ارتقاء فعالیت فاکتور هسته ای NF-κB - فاکتور سخنه برداری سایتوکاین های پیش التهابی - (۹و۱۱و۳۹) تنظیم مشت آنژیوتانسین II (۲۴و۳۱)، افزایش فاکتور نکروز دهنده تومورآلفا و ایتر لوکین-۶ (۹و۱۱) و استرس اکسیداتیو بالا (۹و۲۹) بافت کلیوی در انواع مدل های تجربی گزارش شده است.

به اعتقاد پژوهشگران توسعه آنرواسکلروز شریان آوران ممکن است با اختلال در خود تنظیمی گلومرولی همراه باشد. در حالی که از دست رفتن مویرگهای دور تبویل ممکن است سبب ایسکمی موضعی گردد. این تعییرات برای استقرار سلول های T و ماکروفازها درون ماده بینیانی 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 مosh های سالم، فعال سازی سلول های T موجود در بافت چربی دور عروقی و تولید فاکتور نکروز دهنده تومورآلفا در لنفوسیت T را افزایش داد (۳۳). سلول T به واسطه دارا بودن یک سیستم رینین-آنژیوتانسین داخلی، قادر به تولید سطوح فیزیولوژیکی از آنژیوتانسین II می باشد 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 ماکروفازها و لنفوسیت های T 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 ایتر لوکین-۶ مشابه با سایر مدل های تحریبی پرفشارخونی شوند. با توجه به اینکه در این مطالعه کاهش معنی دار سطوح فاکتور نکروز دهنده تومورآلفا و ایتر لوکین-۶ کلیوی پس از هفته تمرینات هوایی منظم، همراه با افزایش قابل ملاحظه (۱۶٪) سطوح نیتریک اکسید پلاسمایی در مقایسه با گروه های تیمار شده با مهار کننده نیتریک اکسید

با نیترو‌ال-آرژین مدل است. بنابراین تمرین هوازی بلند مدت ممکن است از طریق تنظیم منفی سایتوکاین‌های پیش‌التهابی کلیوی مانند فاکتور نکروز دهنده تومور‌آلفا و ایتر لوكین-۶ و هم‌چنین افزایش سطوح نیتریک اکسید پلاسمایی، آسیب کلیوی ناشی از عملکرد بد اندوتیوم را در بیماری‌های قلبی عروقی از جمله پرفشارخونی کاهش بخشد. با توجه به نقش حمایت کلیوی تمرین منظم ورزشی، به نظر می‌رسد 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 می‌گردد.

توسعه می‌بخشد، هم‌چنین تأثیر فعالیت‌های ورزشی بر افزایش پاسخ به استیل کولین و شل شدگی وابسته به نیتریک اکسید و کاهش فشارخون در مدل‌های با نقص نیتریک اکسید تایید شده است (۲۵ و ۲۳۰ و ۱۹۰). Husain در تحقیقی مشابه نشان داد که ۸ هفته تزریق نیترو-ال-آرژین مدل است با دوز ۱۰۰ میلی گرم /کیلو گرم منجر به کاهش سطوح نیتریک اکسید پلاسمایی و افزایش معنی‌دار 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 مزمون، 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 فعالیت‌های هوازی با شدت متوسط در مقابل صدمات التهابی کلیوی، ناشی از مهار نیتریک اکسید ستیاز

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

M. Habibian (MA)<sup>1\*</sup>, M. Peeri (PhD)<sup>1</sup>, M.A. Azarbayjani (PhD)<sup>1</sup>, M. Hedayati (PhD)<sup>2</sup>

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 3<sup>rd</sup> 2012, Revised: Jul 4<sup>th</sup> 2012, Accepted: Aug 29<sup>th</sup> 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 N $\omega$ -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- $\alpha$ ) 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- $\alpha$  ( $2.53 \pm 0.52$  pg/mg) and IL-6 ( $4.15 \pm 0.88$  pg/mg) levels ( $p=0.000$ ). Conversely, aerobic exercise significantly decreased ( $p=0.045$ ) this proinflammatory cytokines levels ( $1.97 \pm 0.37$ ,  $3.46 \pm 0.80$  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

## References

- 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.
- 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.
- 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.
- Edwards KM, Ziegler MG, Mills PJ. The potential anti-inflammatory benefits of improving physical fitness in hypertension. *J Hypertens* 2007;25(8):1533-42.
- 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.
- 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.
- Sanz-Rosa D, Oubina MP, Cedie E, et al. Effect of AT<sub>1</sub> 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- Matavelli LC, Huang J, Siragy HM. Angiotensin AT<sub>2</sub> receptor stimulation inhibits early renal inflammation in renovascular hypertension. *Hypertension* 2011;57(2):308-13.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.

- 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.