

## تأثیر تمرین هوازی بر سطوح کلیوی آپلین و نیتریک اکسید بافت کلیه رت های نر مواجه شده با نانو اکسید روی

زهرا صالحی آهنگر، معصومه حبیبیان\*

(ا) گروه تربیت بدنی، واحد ساری، دانشگاه آزاد اسلامی، ساری، ایران  
(ب) گروه تربیت بدنی، واحد قائم شهر، دانشگاه آزاد اسلامی، قائم شهر، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۵/۱۹

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۸/۱۲

### چکیده

**مقدمه:** نانوذرات به علت کوچک بودن اندازه شان، به راحتی در اندام های بدن تجمع می یابند؛ لذا با افزایش استفاده از نانوذرات، نگرانی درباره آثار جانبی آن ها نیز بیشتر می شود؛ بنابراین، در مطالعه حاضر تأثیر تمرین هوازی بر سطوح کلیوی آپلین و نیتریک اکسید (NO) بافت کلیه رت های مواجه شده با نانو اکسید روی بررسی شد.

**مواد و روش ها:** در این پژوهش تجربی، ۳۵ سر موش صحرایی ویستار نر با دامنه وزنی ۱۵۰-۱۷۰ گرم، به طور تصادفی به گروه های کنترل، سالین، نانو اکسید روی، تمرین و تمرین + نانو اکسید روی تقسیم شدند. نانو اکسید روی (۱ میلی گرم/کیلوگرم) به صورت داخل صفاقی پنج روز در هفته، به گروه های نانو اکسید روی و تمرین + نانو اکسید روی تزریق شد. برنامه تمرین ورزشی شامل ۴ هفته دویدن فزاینده روی نوار گردان (با سرعت ۱۵ تا ۱۸ متر /دقیقه، ۲۵ تا ۴۴ دقیقه/روز و ۵ جلسه/ هفته) بود. دو روز پس از آخرین مداخله ها، رت ها معدوم شدند. بافت کلیه جدا و سطوح آپلین، NO و مالون دی آلدئید (MDA) اندازه گیری شد و از آنالیز واریانس یک راهه برای تجزیه و تحلیل داده ها استفاده گشت ( $P < 0.05$ ).

**یافته های پژوهش:** تیمار با نانو اکسید روی، با افزایش معناداری سطوح NO و MDA و کاهش سطوح کلیوی آپلین در مقایسه با گروه کنترل همراه بود. ۴ هفته فعالیت ورزشی، به کاهش MDA در گروه های تمرین و تمرین + نانو اکسید روی و افزایش آپلین در گروه تمرین منجر شد؛ همچنین ورزش هوازی به افزایش NO کلیوی در موش های سالم و کاهش سطوح آن در موش های تیمار شده با نانو ذرات انجامید.

**بحث و نتیجه گیری:** فعالیت ورزشی می تواند نقش محافظتی خود را در برابر آسیب کلیوی ناشی از نانو اکسید روی، به واسطه کاهش استرس اکسایشی، افزایش آپلین و تعدیل سطوح NO در بافت کلیه اعمال کند.

**واژه های کلیدی:** آپلین، تمرین هوازی، نیتریک اکسید، نانو اکسید روی، مالون دی آلدئید

\* نویسنده مسئول: گروه تربیت بدنی، واحد قائم شهر، دانشگاه آزاد اسلامی، قائم شهر، ایران

Email: habibian\_m@yahoo.com

Copyright © 2019 Journal of Ilam University of Medical Science. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution international 4.0 International License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>) which permits copy and redistribute the material, in any medium or format, provided the original work is properly cited.

## مقدمه

امروزه، استفاده از فناوری نانوذرات در صنایع گوناگون، به سبب طیف وسیعی از خواص شیمیایی و فیزیکی این مواد و به دنبال آن نگرانی دربارهٔ فراهمی زیستی و سمیت این مواد رو به افزایش است (۱). نانواکسید روی از پرکاربردترین نانومواد در صنایع است که انسان از طریق مسیرهای احتمالی دستگاه گوارش، پوست و مجاری هوایی، قادر به دریافت آن است. کوچک بودن اندازه، سطح فراوان و فعالیت سطحی، به افزایش ظرفیت جذب و القا بیشتر آثار سمی این مواد می‌انجامد، به طوری که این مواد می‌توانند به‌عنوان حمل‌کننده‌های مواد سمی عمل کنند و بدین ترتیب، فراهمی زیستی‌شان افزایش یابد. حلالیت بالای نانوذرات روی، یکی از مهم‌ترین عوامل ایجادکنندهٔ سمیت آن‌ها است (۲). نانواکسید روی یکی از سمی‌ترین نانومواد است که آثار سمی قرار گرفتن در معرض آن بر سلول‌های پستانداران، از جمله آسیب اکسیداتیو و مرگ سلولی مشاهده شده است. استرس اکسیداتیو به‌عنوان یکی از مهم‌ترین مکانیسم‌های آثار سمی اکسید فلزی نانواکسیدها شناخته شده است (۳). پیش از این، در مطالعات تجربی مشاهده شد که قرار گرفتن در معرض نانواکسید روی با آسیب بافتی کلیه و افزایش استرس اکسایشی در آن همراه بوده است (۵،۴).

از سوی دیگر، سیستم آپلینرژیک در بافت‌های گوناگونی از جمله قلب و کلیهٔ انسان و رت‌ها بیان می‌شود. آپلین یک پپتید فعال‌کنندهٔ عروقی است و نقش مهمی در فیزیولوژی کلیه، از جمله حفظ تعادل آب در آن را دارد. علاوه بر این، آثار محافظت‌کنندهٔ آپلین در بیماری‌های کلیوی مانند فیبروز، صدمات ناشی از ایسکمی کلیه/ خون‌رسانی مجدد و نفروپاتی دیابتی بیانگر این است که سیستم آپلینرژیک ممکن است هدف درمانی بالقوه برای بیماری‌های کلیوی باشد (۶). با تأثیرات آپلین بر روی عروق، فشارخون و هموستاز مایع برعکس آنژیوتانسین II است (۷). فعال‌سازی آنژیوتانسین II بافت کلیوی، با کاهش عملکرد کلیوی و تغییرات ساختاری آن همراه است و می‌تواند به توسعهٔ پرفشارخونی و آسیب کلیوی منجر

شود (۸). علاوه بر این، آپلین به افزایش تولید نیتریک اکسید در سلول‌های اندوتلیالی می‌انجامد که آثار محافظ بافتی را در شرایط پاتولوژیکی متعدد فیبروز کلیوی اعمال می‌کند (۷). نیتریک اکسید به‌وسیلهٔ خانواده‌ای از ایزوآنزیم‌ها موسوم به نیتریک اکسید سنتتاز و در حضور اکسیژن تولید می‌شود و در کلیه، عملکردهای مهم شناخته‌شده‌ای از قبیل تنظیم همودینامیک کلیه و تنظیم پرفیوژن ناحیهٔ مدولاری در کلیه‌ها دارد. علی‌رغم آثار مفید نیتریک اکسید، تولید بیش‌ازحد آن به علت تولید گونه‌های اکسیژن، گونه‌های نیتروژن فعال و نیتروزیلاسیون پروتئین‌ها، اثرات سمی دارد؛ از این‌رو، کنترل سطوح آن مهم است (۹).

امروزه، تأثیر تمرینات منظم ورزشی در بهبود اندوتلیال عروقی، به‌خوبی تأیید شده است. فعالیت ورزشی با افزایش جریان خون، سبب تحریک مکانیکی عروق می‌شود و در صورت سالم بودن اندوتلیال، به افزایش تولید و رهايش نیتریک اکسید منجر می‌گردد (۱۰)؛ همچنین مشاهده شد که تمرینات منظم ورزشی مانع آپوپتوز توبولی کلیه می‌شود؛ و نیز فعالیت ورزشی واکنش‌پذیری عروق کلیه را افزایش می‌دهد و اتساع عروقی مستقل و وابسته به اندوتلیوم را نه‌تنها با افزایش فراهمی نیتریک اکسید، بلکه با افزایش پاسخ‌دهی عضلات صاف عروقی کلیوی به نیتریک اکسید توسعه می‌بخشد (۱۱)؛ اما دربارهٔ تأثیر فعالیت ورزشی بر تغییرات نیتریک اکسید و آپلین کلیوی در رت‌های تحت تیمار با نانواکسید روی و اکسید روی مطالعه‌ای یافت نشد. از سوی دیگر، در عصر حاضر، ابهامات بسیاری دربارهٔ آثار سمی بالقوهٔ نانوذرات وجود دارد. نانوذرات می‌توانند از موانع بیولوژیکی عبور کنند، از طریق خون به کلیه‌ها حمل شوند و به آسیب سلول‌های کلیوی منجر گردند. باین‌حال، اطلاعات اندکی دربارهٔ تأثیرات کلیوی نانوذرات وجود دارد (۱۲). این در حالی است که امروزه تأیید شده است که به‌کارگیری مداخله‌های غیردارویی از جمله انجام فعالیت ورزشی، با آثار سودمندی بر عملکرد و ساختار اندام‌های بدن از جمله کلیه همراه است؛ بنابراین، در پژوهش حاضر سعی بر این شد تا

اثر تمرین هوازی بر سطوح کلیوی آپلین و نیتریک اکسید در موش‌های صحرایی تیمار شده با نانواکسید روی بررسی شود.

### مواد و روش‌ها

در این تحقیق تجربی که با استفاده از طرح پس‌آزمون همراه با گروه کنترل انجام شد، از ۳۵ سر موش صحرایی نر بالغ ۸-۶ هفته‌ای ویستار با میانگین وزن اولیه ۱۷۰-۱۵۰ گرم استفاده گردید. حیوانات پس از خریداری از انستیتو پاستور تهران، در مرکز پرورش و نگهداری حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساری، تحت شرایط کنترل شده (رطوبت  $5 \pm 55$  درصد و چرخه روشنایی به تاریکی ۱۲:۱۲ با تهویه مناسب) در قفس‌هایی از جنس پلی‌کربنات شفاف به ابعاد  $15 \times 15 \times 30$  نگهداری شدند. پس از سازگاری دوهفته‌ای حیوانات به محیط جدید و آشنایی با پروتکل تمرین، به صورت تصادفی، به ۵ گروه کنترل، سالی، نانواکسید روی، تمرین و تمرین + نانواکسید روی تقسیم گردیدند (۷ سر موش در هر گروه)؛ همچنین حیوانات در طول پژوهش، از غذای پلت ساخت شرکت بهپرورکرج، روزانه به میزان ۱۰ گرم به ازای هر ۱۰۰ گرم وزن بدن (با توجه به وزن کشتی هفتگی) تغذیه شدند و به صورت آزاد، از طریق بطری‌هایی به آب مصرفی دسترسی داشتند (۱۳). تحقیق حاضر با رعایت دستورالعمل‌های مربوط به مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی تأیید شده در دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساری انجام شد.

نحوه تهیه و تیمار با نانواکسید روی: پودر نانواکسید روی در اندازه ۵۰ نانومتر با درجه خلوص ۹۹ درصد، از شرکت مرک آلمان خریداری شد و پیش از شروع تحقیق، به مدت ۲-۱/۵ ساعت توسط دستگاه هیتر مگنتیک استیرر بدون گرما دادن با سالی ۰/۹ درصد کاملاً حل گردید. نانواکسید روی با دوز یک میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن، پنج روز در هفته و به مدت ۴ هفته و به صورت داخل صفاقی، به موش‌های گروه‌های نانواکسید روی با و یا بدون تمرین تزریق شد. در ضمن، گروه کنترل تحت هیچ تیماری نبودند و به گروه سالی نیز به مدت ۴ هفته،

سالی (یک میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن، پنج روز در هفته) تزریق شد.

پروتکل تمرینی: آشنایی موش‌های گروه‌های تمرینی با محیط پژوهش و نوار گردان، در یک هفته پیش از آزمایش، به مدت ۴ روز بر روی نوار گردان با شیب صفر درصد، هر روز به مدت ۵ تا ۱۰ دقیقه با سرعت ۶ تا ۸ متر بر دقیقه انجام شد. برنامه تمرینی اصلی حداقل ۳۰ دقیقه پس از دریافت نانواکسید روی و یا سالی انجام می‌شد و شامل ۲۹-۲۵ دقیقه دویدن روی نوار گردان بدون شیب و با سرعت ۱۵ متر در دقیقه برای هفته اول بود که با رعایت اصل اضافه‌بار به صورت پیش‌رونده، در هفته‌های بعدی به مدت تمرین ۴۴-۳۴ دقیقه و شدت ۱۸-۱۶ متر در دقیقه (۶۰ تا ۶۵ درصد اکسیژن مصرفی) در هفته چهارم رسید؛ همچنین پنج دقیقه زمان پیش و پس از تمرین، برای گرم و سرد کردن حیوانات اختصاص داده شد (۱۳).

بافت‌برداری و هموژنیزه: ۷۲ ساعت پس از آخرین مداخله‌ها، حیوانات با استفاده از تزریق درون صفاقی کتامین (۹۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) و زایلازین (۱۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) بیهوش شدند. پس از شکافتن حفره شکمی، بافت کلیه به دقت جدا و تا زمان بررسی‌های آزمایشگاهی، در دمای  $-70^{\circ}\text{C}$  درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. بافت فریز شده پس از پودر شدن در بافر پروتئاز (PBS, PH 7.4) هموژنیزه شد. سطوح آپلین با استفاده از کیت اندازه‌گیری آپلین (Rat Eliza kit; Biospes Co., Ltd., Chongqing, China) با حساسیت ۳/۱۳ اندازه‌گیری گردید. سطوح کلیوی نیتریک اکسید با استفاده تبدیل نیتریک اکسید به متابولیت‌های پایدار آن (احیای یون‌های نیترات به نیتريت از طریق نیترات ردوکتاز) و اندازه‌گیری غلظت نیترات/نیتريت با استفاده از روش رنگ‌سنجی بر اساس واکنش گریس ( Griess reagent) اندازه‌گیری شد. سطوح مالون‌دی‌آلدئید در بافت کلیه، به عنوان شاخص استرس اکسیداتیو، با اندازه‌گیری مواد واکنشی تیوباربیتوریک اسید توسط کیت (Cayman Chemicals CO, (TBARS)

(USA) اندازه گیری شد.

تجزیه و تحلیل‌های آماری: از آزمون‌های شاپیرو ویلک و لوین، به ترتیب برای تعیین توزیع نرمال داده‌ها و تجانس واریانس‌ها استفاده شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه (آنوا) صورت پذیرفت و در صورت معنی‌داری اختلاف میان گروه‌ها و برای روشن کردن محل اختلاف، از آزمون تعقیبی توکی استفاده گردید. تجزیه و تحلیل‌های آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS vol.20 در سطح معناداری  $P < 0.05$  انجام شد.

### یافته‌های پژوهش

در جدول شماره ۱، میانگین و انحراف معیار متغیرهای تحقیق در گروه‌های مختلف پژوهش نشان داده شده است و نتایج آزمون شاپیرو ویلک بیانگر توزیع طبیعی داده‌ها است. نتایج آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه حاکی از وجود تفاوت معنی‌دار میان گروه‌های تحقیق بوده است (جدول شماره ۱). بر اساس یافته‌های حاصل از مقایسه دوه‌دو گروه‌های تحقیق (جدول شماره ۲)، تمرین هوایی با افزایش معنادار سطوح کلیوی آپلین و نیتریک اکسید در مقایسه با گروه‌های کنترل (به ترتیب ۳۳/۴۸ درصد و ۳۰/۹۱ درصد) و سالیان (به ترتیب ۳۶/۱۴ درصد و ۳۱/۴۳ درصد) همراه بود. علاوه بر این، تیمار

موش‌های نر با نانوآکسید روی منجر به کاهش معنادار آپلین بافت کلیه در مقایسه با گروه کنترل شد (۵۰/۳۱ درصد)؛ همچنین چهار هفته تمرین هوایی، سطوح کاهش یافته آپلین کلیوی را در موش‌های تیمار شده با نانوآکسید روی (۳۱/۴۴ درصد)، افزایش غیرمعناداری داد؛ اما علی‌رغم این افزایش در سطوح آپلین کلیوی گروه تمرین + نانوآکسید روی، میانگین آن به طور معناداری پایین‌تر از گروه کنترل (۳۴/۵۶ درصد) باقی ماند (شکل شماره ۱).

همچنین مشاهده شد که سطوح کلیوی مالون‌دی‌آلدئید پس از ۴ هفته تمرین هوایی، در مقایسه با گروه‌های کنترل (۳۲/۵۷ درصد) و سالیان (۳۰/۱۶ درصد)، کاهش معنی‌داری یافت (شکل شماره ۲)، در حالی که تیمار موش‌های نر با نانوآکسید روی به افزایش معنادار سطوح کلیوی مالون‌دی‌آلدئید (۶۰/۱۵ درصد) و نیتریک اکسید (۹۷/۷۰ درصد)، در مقایسه با گروه کنترل منجر شد.

علاوه بر این، در موش‌های تمرین کرده و تیمار شده با نانوآکسید روی، سطوح کلیوی نیتریک اکسید (۱۵/۲۶) و مالون‌دی‌آلدئید (۲۶/۵۵ درصد) در مقایسه با گروه نانوآکسید روی، کاهش معناداری یافت، هرچند سطوح نیتریک اکسید به طور معنی‌داری در مقایسه با گروه کنترل، در سطح بالاتری باقی ماند (شکل شماره ۳).

جدول شماره ۱. میانگین و انحراف معیار متغیرهای تحقیق در گروه‌های مختلف پژوهش

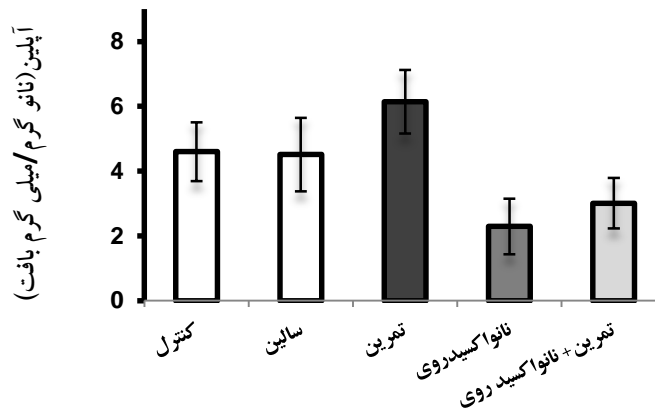
گروه‌ها	آپلین (نانوگرم/ میلی گرم بافت)	نتایج مربوط به آزمون آنوا	نتایج مربوط به آزمون آنوا	نیتریک اکسید (میکرومول/ گرم بافت)	نتایج مربوط به آزمون آنوا	نتایج مربوط به آزمون آنوا	گروه‌ها
کنترل	۴/۰ ± ۶۰/۹۱	۰/۹۱۷	۰/۹۲۲	۳۷/۵ ± ۴۳/۹۹	۰/۹۶۸	۰/۷۶۸	کنترل
سالیان	۴/۱ ± ۵۱/۱۳	۰/۵۳۰	۰/۹۶۸	۳۷/۶ ± ۲۸/۵۵	۰/۴۱۲	۰/۷۴۹	سالیان
تمرین	۶/۰ ± ۱۴/۹۸	۰/۴۹۴	۰/۴۱۲	۴۹/۵ ± ۱۴/۷۸	۰/۳۹۳	۰/۲۳۷	تمرین
نانوآکسید روی	۲/۰ ± ۲۹/۸۶	۰/۸۹۲	۰/۳۹۳	۷۴/۸ ± ۰/۸۶	۰/۶۴۳	۰/۱۲۵	نانوآکسید روی
تمرین + نانوآکسید روی	۳/۰ ± ۰/۱۷۸	۰/۵۵۵	۰/۶۴۳	۶۲/۹ ± ۷۱/۳۰		۰/۶۲۴	تمرین + نانوآکسید روی

ارزش P: مربوط به آزمون شاپیرو ویلک

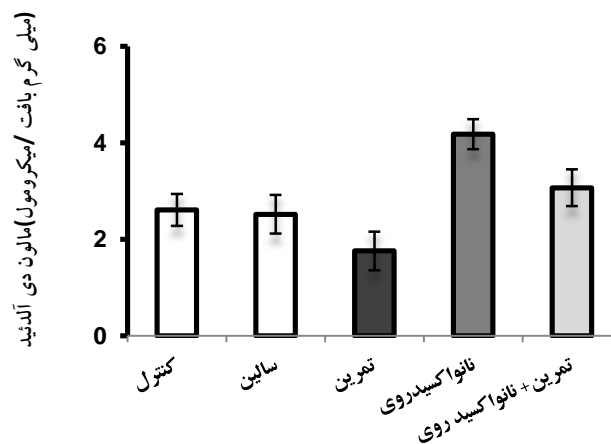
جدول شماره ۲. نتایج حاصل از آزمون تعقیبی توکی متغیرها در گروه‌های تحقیق

مقایسه گروه‌ها			ارزش P
آپلین	نیتریک اکسید	مالون دی‌آلدئید	
ارزش P	ارزش P	ارزش P	
۱/۰۰۰	۱/۰۰۰	۰/۹۹۰	کنترل
۰/۰۳۴	۰/۰۰۸	۰/۰۰۱	
۰/۰۰۱	P<0.001	P<0.001	
۰/۰۲۸	۰/۰۰۰	۰/۱۵۵	
۰/۰۲۲	۰/۰۰۷	۰/۰۰۴	
۰/۰۰۱	P<0.001	P<0.001	سالمین
۰/۰۴۲	P<0.001	۰/۰۰۶	تمرین
P<0.001	P<0.001	P<0.001	
P<0.001	۰/۰۰۱	P<0.001	
P<0.001	۰/۰۰۶	P<0.001	
۰/۶۲۱	۰/۰۰۶	P<0.001	

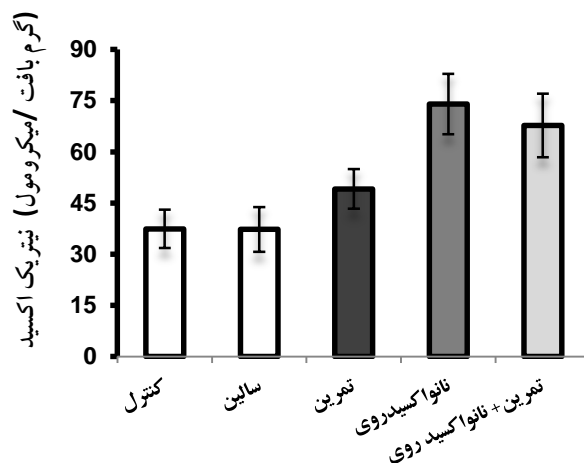
ارزش P: حاصل از آزمون تعقیبی توکی



شکل شماره ۱. مقایسه میانگین سطوح کلیوی آپلین در گروه‌های مختلف



شکل شماره ۲. مقایسه میانگین سطوح کلیوی مالون‌دی‌آلدئید در گروه‌های مختلف



شکل شماره ۳. مقایسه میانگین سطوح کلیوی نیتریک اکسید در گروه‌های مختلف

### بحث و نتیجه‌گیری

در تحقیق حاضر، اثر ۴ هفته تمرین هوازی بر سطوح کلیوی آپلین، نیتریک اکسید و شاخص پراکسیداسیون لیپیدی مالون‌دی‌آلدئید در موش‌های صحرایی مواجهه‌شده با نانواکسید بررسی شد. نتایج نشان داد که پس از ۴ هفته تیمار با نانواکسید روی، سطوح کلیوی آپلین کاهش و میزان فراهمی نیتریک اکسید و سطوح مالون‌دی‌آلدئید افزایش معناداری یافت، درحالی‌که این تغییرات، متعاقب انجام فعالیت ورزشی معکوس شد. این نتایج ممکن است بیانگر آثار نامطلوب و سمی نانواکسید روی بر بافت کلیه باشد. کلیه‌ها به علت توانایی بالا در ذخیره خون و تغلیظ سموم، به‌طور ویژه‌ای به سوپسترا شیمیایی خارجی حساس هستند. در این راستا، پوجلته و همکاران (۲۰۱۵) نشان دادند که سمیت سلولی نانوذرات وابسته به‌اندازه ذرات و حالیت فلزشان است و قرار گرفتن در معرض نانوذرات اکسید روی محلول، به مرگ سلولی وابسته به دوز مربوط به انتشار و رهایی کاتیون‌های فلزی روی منجر می‌گردد؛ بنابراین، رهایی و انتشار یون‌های فلزی عامل مهمی برای تعیین سمیت نانوذرات است (۱۲). علاوه بر این مشاهده شد که یک دوره پنج‌روزه تیمار با نانواکسید روی (۳ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم در روز)، با کاهش فعالیت آنتی‌اکسیدانتی در بخش قشری کلیوی و افزایش استرس اکسایشی در پدیوسیت‌های کلیوی همراه بوده است (۱)؛ همچنین حسینی و همکاران

(۲۰۱۸) در بررسی تأثیر ۴ هفته‌ای نانوذرات اکسید روی با دوزهای مختلف (۴، ۸، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم در روز و ۲ روز در هفته)، افزایش سطوح مالون‌آلدئید و اثرات هیستوپاتولوژیکی در بافت کلیه را مشاهده کردند که در غلظت‌های بالا تشدید شده بود (۱۴)؛ از این رو به نظر می‌رسد که قرار گرفتن رت‌های تحقیق حاضر در معرض نانواکسید روی ممکن است به آسیب بافتی کلیه این رت‌ها منجر شده باشد. این در حالی است که تمرین ورزشی با افزایش سطوح کلیوی آپلین و نیتریک اکسید و کاهش مالون‌دی‌آلدئید در موش‌های سالم همراه بود که نشان‌دهنده تأثیر حفاظتی فعالیت ورزشی، از طریق افزایش آپلین و نیتریک اکسید به‌واسطه کاهش استرس اکسایشی در شرایط فیزیولوژیکی است. این در حالی است که سطوح نیتریک اکسید کلیوی در رت‌های مواجهه‌شده با نانواکسید روی با افزایش اضافی نیتریک اکسید همراه بود. دو شاخص اصلی در استرس اکسایشی ناشی از نانوذرات، یکی خود خواص اکسیداتیو این ذرات و دیگری تأثیر متقابل نانوذرات با مواد سلولی به‌محض تولید اکسیدانت‌ها است. گونه‌های اکسیژن واکنشی ناشی از نانوذرات نیز در مکانیسم‌هایی مانند فعال‌سازی سیستم ایمنی، تنفس میتوکندریایی و سیستم NADPH اکسیداز مداخله می‌کنند. جدا از گونه‌های اکسیژن واکنشی، نانوذرات در صدمات ناشی از گونه‌های نیتروژن واکنشی نیز مشارکت دارند (۱۵).

بر اساس شواهد موجود، به هنگام تنظیم مثبت نیتریک اکسید القایی (Inducible Nitric oxide synthases) در پاسخ به سایتوکین‌های التهابی، تولید نیتریک اکسید توسط آن، ۱۰۰ تا ۱۰۰۰ برابر بیشتر از نیتریک اکسید سنتاز اندوتلیالی می‌شود. تولید اضافی این نیتریک اکسید ممکن است اثرات مخربی بر عملکرد قلبی و عروقی اعمال کند (۱۶)؛ بنابراین، تولید بیش از حد نیتریک اکسید به علت تولید گونه‌های اسیژن فعال، گونه‌های نیتروژن فعال و نیتروزیلاسیون پروتئین‌ها، با آثار سمی همراه است. در این راستا، پوناتاوی و همکاران (۲۰۱۶) نشان دادند ۴ هفته تیمار با کادمیم (۲ میلی‌گرم/کیلوگرم)، با کاهش فیلتراسیون گلومرولی، آسیب ساختاری بافت کلیه، افزایش استرس اکسایشی و نیتریک اکسید کلیوی همراه بود (۱۷). علاوه بر این، اوکاک و همکاران (۲۰۰۷) نیز نشان دادند که نفروتوکسیته ناشی از تیمار با وانکومایسین، با افزایش سطوح شاخص پراکسیداسیون لیپیدی و سطوح زیاد نیتریک اکسید کلیوی در موش‌های نر آلبینو همراه بود (۱۸). نیتریک اکسید نقش دوگانه‌ای در شرایط متفاوت فیزیولوژیکی و پاتولوژیکی (به‌عنوان گشادکننده عروقی و یا رادیکال آزاد) دارد؛ لذا تأثیر فعالیت ورزشی در تنظیم کلیوی آن در شرایط متفاوت است. اگرچه پژوهشی درباره تأثیر فعالیت ورزشی بر سطوح نیتریک اکسید کلیوی در شرایط پاتولوژیکی مشابه با تحقیق حاضر مشاهده نشد و شاخص آنتی‌اکسیدانی در بافت کلیه اندازه‌گیری نگردید که از محدودیت‌های این تحقیق نیز محسوب می‌شوند؛ اما در مطالعات غیرورزشی انجام‌شده، کاهش سطوح نیتریک اکسید کلیوی پس از ۴ هفته مصرف عصاره آنتی‌اکسیدانی (Cleistocalyx nervosum) در رت‌های تیمار شده با کادمیم (۱۷) و یا ۸ روز مصرف مکمل‌های مختلف ویتامین C، ویتامین E و اسید کافئیک فیل استر (ماده فعال اصلی تشکیل‌دهنده موم زنبورعسل) در رت‌های مبتلا به نفروتوکسیته ناشی از تیمار با وانکومایسین (۱۸) گزارش شده است. فد و همکاران (۲۰۱۲) نشان دادند که ۳ هفته مصرف خوراکی آرژنین صرف و یا ترکیب آن با کوآرستین (با خواص آنتی‌اکسیدانی بالا)، با کاهش در شاخص‌های التهابی، آتروفی، قطعه‌قطعه

شدن بافت کلیه، غیرطبیعی شدن و نکروز توبول کلیوی و افزایش سطوح آنزیم آنتی‌اکسیدانی گلوتاتیون در بافت کلیوی نفروتوکسیته شده با نانوذرات روی شد (۱۹)؛ بنابراین به نظر می‌رسد فعالیت ورزشی به‌واسطه افزایش استرس برشی، افزایش جریان خون و همچنین افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانت‌های کلیوی (۲۰) مشابه با مداخله‌های غیرورزشی (۱۹، ۱۸، ۱۷) می‌تواند به کاهش استرس اکسایشی در موش‌های تیمار شده با نانو اکسید روی و در نتیجه تنظیم رادیکال‌های اکسایشی نیتریک اکسید کلیوی منجر شود. با وجود این، ایتو و همکاران (۲۰۱۳) نیز نشان دادند که فعالیت ورزشی به افزایش معنی‌دار فعالیت نیتریک اکسید سنتاز و بیان نیتریک اکسید سنتاز اندوتلیالی (eNOS) و عصبی در بطن چپ و بافت کلیوی رت‌های مبتلا به نارسایی قلبی مزمن انجامید؛ همچنین این پژوهشگران نشان دادند که پس از ۸ هفته فعالیت ورزشی، مقادیر پلاسمایی و ادراری نیترات/نیتريت، فعالیت نیتریک اکسید سنتاز و بیان نیتریک اکسید سنتاز اندوتلیالی و عصبی در بافت کلیوی رت‌های سالم و دارای پرفشارخونی افزایش یافت (۲۱)؛ بنابراین، فعالیت ورزشی از طریق افزایش سطوح نیتریک اکسید هم می‌تواند اثر حمایتی خود در برابر بافت کلیه اعمال کند؛ بنابراین به نظر می‌رسد که فعالیت ورزشی بسته به مقادیر پایه نیتریک اکسید کلیوی می‌تواند با تأثیرات متفاوتی بر مقادیر نیتریک اکسید کلیوی همراه باشد.

از جمله یافته‌های مهم پژوهش حاضر، کاهش سطوح آپلین کلیوی پس از مواجهه با نانو اکسید روی و افزایش سطوح آن متعاقب فعالیت ورزشی در هر دو گروه موش‌های سالم و تیمار شده با نانو اکسید روی بود که بیانگر تنظیم مثبت آپلین کلیوی با فعالیت‌های ورزشی است. در راستای پژوهش حاضر، محمودی و همکاران (۲۰۱۳) گزارش دادند که سطوح آپلین کلیوی در رت‌های دچار نقص نیتریک اکسید سنتاز کاهش معناداری یافت و ۱۲ هفته فعالیت ورزشی، با افزایش سطوح آپلین کلیوی همراه بود (۲۲). زانگ و همکاران (۲۰۰۶) نیز افزایش بیان آپلین و گیرنده آن را در پلاسمای بافت‌های آئورت و بطن موش‌های مبتلا به

مواجهه شده با نانو اکسید روی منجر شود. یافته‌های پژوهش حاضر نشان داد که نانو اکسید روی می‌تواند به کاهش سطوح کلیوی آپلین و افزایش نیتریک اکسید و استرس اکسایشی در بافت کلیه منجر شود و فعالیت ورزشی ممکن است نقش محافظتی خود را در برابر آسیب کلیوی ناشی از نانو اکسید روی تا حدی از طریق افزایش آپلین و تنظیم نیتریک اکسید کلیوی از راه کاهش استرس اکسایشی اعمال کند؛ بنابراین، انجام مطالعات گسترده برای بررسی چگونگی پیشگیری و درمان آسیب بافتی حاصل از این نانوذرات پیشنهاد می‌شود.

### سپاس‌گزاری

بدین‌وسیله از همه همکارانی که در اجرای این پژوهش ما را یاری کردند، تشکر و قدردانی می‌گردد.

کد/اخلاق: ۱۳۹۵-۱۴/۶-۴۹۴۲۰۱۴-۲۰۸۲۱۴

پرفشار خونی را پس از ۹ هفته تمرین شنا مشاهده کردند (۲۳). پیش از این گزارش شد که افزایش تولید نیتریک اکسید از مسیر APJ/Akt/eNOS / آپلین می‌تواند به تقویت تأثیر لوسارتان بر فیبروزیس کلیوی ناشی از انسداد مجاری ادراری کمک کند (۷) و تیمار با آپلین منجر به کاهش زخم‌های توبولی، کاهش آپوپتوز و نرمال‌سازی اختلال عملکرد کلیه، در برابر صدمات ناشی از ایسکمی و ریزش مجدد می‌شود (۲۴). از سوی دیگر، آپلین با مهار آنژیوتانسین ۲، به کاهش آنرواسکلروزیس به‌واسطه تولید نیتریک اکسید سنتاز اندوتلیالی می‌انجامد (۲۵)؛ بنابراین به نظر می‌رسد فعالیت ورزشی به‌واسطه افزایش فعال کردن نیتریک اکسید سنتاز اندوتلیالی و عصبی در بافت کلیه (۲۱) و همچنین کاهش نیتریک اکسید سنتاز قابل القا و در نتیجه تنظیم نیتریک اکسید رادیکالی (استرس اکسایشی)، به افزایش سطوح آپلین در موش‌های

### References

- Xiao L, Liu C, Chen X, Yang. Zinc oxide nanoparticles induce renal toxicity through reactive oxygen species. *Food Chem Toxicol* 2016; 90:76-83. doi. 10.1016/j.fct.2016.02.002.
- Scherzad A, Meyer T, Kleinsasser N, Hackenberg S. Molecular mechanisms of zinc oxide nanoparticle induced genotoxicity short running title genotoxicity of ZnO NPs. *Materials* 2017; 10: 1427. doi.10.3390/ma10121427.
- Rim KT, Song SW, Kim HY. Oxidative DNA damage from nanoparticle exposure and its application to worker's health a literature review. *Saf Health Work* 2013; 4:177-86. doi.10.1016/j.shaw.2013.07.006.
- Hosseini M, Amani R, Razavimehr V, Moshrefi AH, Aghajanikhah MH. [Histopathologic and biochemical study of zinc oxide nanoparticles effect on renal tissue in Rats]. *SJIMU* 2018; 26:177-86 . (Persian) doi.10.29252/sjimu.26.3.177
- Khorsandi L, Heidarimoghadam A, Jozi Z. Nephrotoxic effects of low dose zinc oxide nanoparticles in Rats. *J Nephropathol* 2018; 7:158-65. doi. 10.15171/jnp.2018.35
- Nishida M, Hamaoka K. The apelin APJ system its role in renal physiology and potential therapeutic applications for renal disease. *Nephrology* 2013; 1:7. doi. 10.13172/2053-0293-1-1-526
- Nishida M, Okumura Y, Oka T, Toiyama K, Ozawa S, Itoi T, et al. The role of apelin on the alleviative effect of Angiotensin receptor blocker in unilateral ureteral obstruction-induced renal fibrosis. *Nephron Ext*2012; 2:39-47. doi. 10.1159/000337091
- Navar LG, Kobori H, Prieto MC. Intrarenal angiotensin II and hypertension. *Curr Hypertens Rep* 2003; 5:135-43. doi. 10.1007/s11906-003-0070-5
- Kadkhodaeiyaderani M, Malekaskar AM, Rostami M, Aberomand M, Khirollah A. [Kinetic activity of isolated nitric oxide synthase enzyme from sheep kidney]. *J Mazandaran Uni Med Sci* 2013; 22:59-69. (Persian)
- Farahati S, Atarzadehosseini SR, Bijeh N, Mahjoob O. [The effect of aerobic exercising on plasma nitric oxide level and vessel endothelium function in postmenopausal women]. *RJMS*2014; 20:78-88. (Persian)
- Podhorska M, Dziegiel P, Murawska E, Saczko J, Kulbacka J, Gomulkiewicz A, et al. Effects of adaptive exercise on apoptosis in cells of Rat renal tubuli. *Eur J Appl*



- Physiol 2007; 99:217-26. doi.10.1007/s00421-006-0335-1
12. Pujalte I, Passagne I, Daculsi R, Portal C, Ohayon Courtes C, Lazou B. Cytotoxic effects and cellular oxidative mechanisms of metallic nanoparticles on renal tubular cells. *Toxicol Im Part Sol Res* 2015;4: 409-422. (Persian) doi.10.1039/C4TX00184B
13. Fatahi B, Habibian M. [Effect of aerobic exercise on renal angiotensin ii and angiotensin type 1 receptor levels in administered rats with nano zinc oxide]. *MJMS*2018; 21:29-34. (Persian)
14. Hosseini M, Amani R, Razavimehr V, Moshrefi AH, Aghajanikhah MH. [Histopathologic and biochemical study of zinc oxide nanoparticles effect on renal tissue in rats]. *SJIMU*2018; 26:177-186. (Persian) doi.10.29252/sjimu.26.3.177
15. Manke A, Wang L, Rojanasakul Y. Mechanisms of nanoparticle-induced oxidative stress and toxicity. *Biomed Res Int* 2013; 2013:1-15. doi. 10.1155/2013/942916
16. Lee J, Bae EH, Ma SK, Kim SW. Altered nitric oxide system in cardiovascular and renal diseases. *Chonnam Med J* 2016; 52:81-90. doi.10.4068/cmj.2016.52.2.81.
17. Poontawee W, Natakankitkul O. Protective effect of cleistocalyx nervosum Var paniala fruit extract against oxidative renal damage caused by cadmium. *Molecules*2016 22; 21:133. doi.10.3390/molecules21020133
18. Ocak S, Gorur S, Hakverdi S, Celik S, Erdogan S. Protective effects of caffeic acid phenethyl ester, vitamin c, vitamin e and-acetylcysteine on vancomycin-induced nephrotoxicity in Rats. *Bas Clin Pharmacol Toxicol*2007; 100:328-33. doi. 10.1111/j.1742-7843.2007. 00051.x
19. Fadda LM, Abdelbaky NA, Alrasheed NM, Alrasheed NM, Fatani AJ, Atteya M. Role of quercetin and arginine in ameliorating nano zinc oxide induced nephrotoxicity in Rats. *BMC Complement Altern Med* 2012; 12: 60. doi. 10.1186/1472-6882-12-60
20. Peeri M, Habibian M, Azarbayjani MA, Hedayati M. Protective effect of aerobic exercise against L-NAME induced kidney damage in Rats. *Arh Hig Rada Toksikol* 2013; 64:43-9. doi. 10.2478/10004-1254-64-2013-2260.
21. Ito D, Ito O, Cao P, Mori N, Suda C, Muroya Y, et al. Effects of exercise training on nitric oxide synthase in the kidney of spontaneously hypertensive rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol*2013; 40:74-82. doi.10.1111/1440-1681.12040
22. Mahmoody AA, Dabidiroshan V, Gharakhanlou R, Hedayati M. [Effects of exercise and ferula gummosa on apelin of cardiac and kidney tissues in L-NAME induced hypertension in Rats]. *Iranian J Health Phys Act* 2013; 4:42-50. (Persian)
23. Zhang J, Ren CX, Qi YF, Lou LX, Chen L, Zhang LK, et al. Exercise training promotes expression of Apelin and APJ of cardiovascular tissues in spontaneously hypertensive rats. *Life Sci* 2006 15; 79:1153-9. doi.10.1016/j.lfs.2006.03.040
24. Chen H, Wan D, Wang L, Peng A, Xiao H, Petersen RB, et al. Apelin protects against acute renal injury by inhibiting TGF- $\beta$ 1. *Biochim Biophys Acta*2015; 1852:1278-87. doi.10.1016/j.bbadis.2015.02.013.
25. Lv D, Li H, Chen L. Apelin and APJ a novel critical factor and therapeutic target for atherosclerosis. *Acta Biochim Biophys Sin Shanghai* 2013;45: 527-33. doi. 10.1093/abbs/gmt040

## Effect of Aerobic Exercise on the Renal Apelin and Nitric Oxide Levels in Male Rats Exposed to Nano Zinc Oxide

Sallehiahangar Z<sup>1</sup>, Habibian M<sup>2\*</sup>

(Received: November 3, 2019

Accepted: August 9, 2020)

### Abstract

**Introduction:** Nanoparticles accumulate easily in the organs of the body due to their small size. Therefore, an increase in the use of nanoparticles leads to more concerns about their side effects. Accordingly, the present study was conducted to investigate the effect of aerobic exercise on the renal Apelin and Nitric Oxide (NO) levels in male rats exposed to zinc oxide nanoparticles.

**Materials & Methods:** In this experimental study, 35 male Wistar rats with a weight range of 150-170 g were randomly divided into five groups of seven animals per group. The groups included control, saline, zinc oxide nano, exercise, and exercise+zinc oxide nano. The zinc oxide nano (1mg/kg) was administered intraperitoneally 5 times/week to the exercise and exercise+zinc oxide nano groups. The exercise program consisted of progressive running on a treadmill (speed from 15 to 18 m/min, 25 to 44 min/day, five times per week for four weeks). The rats were euthanized two days after the last intervention. The kidney tissues were removed and homogenized to measure the levels of Apelin, NO, and Malondialdehyde

(MDA). The data were analyzed through a one-way ANOVA test ( $P<0.05$ ).

**Ethics code:** 20821404942014/6-1395

**Findings:** The results indicated that the zinc oxide nano administration significantly increased renal MDA as well as NO and significantly decreased Apelin, compared to the control group. Moreover, the 4-week exercise training was associated with a significant decrease in the renal MDA in exercise and exercise+zinc oxide nano groups and a significant increase in Apelin levels in the exercise group. Exercise also induced a significant increase in the tissue NO levels in the healthy rats; however, it reduced NO level in the kidney of rats exposed to zinc oxide nano.

**Discussions & Conclusions:** It seems that regular exercise can exert its protective role against zinc oxide nanoparticle-induced renal injury by reducing oxidative stress, increasing Apelin, and modifying NO levels in the kidney tissue.

**Keywords:** Apelin, Aerobic exercise, Kidney, Malondialdehyde, Nitric oxide, Nano zinc oxide

1. Dept of Physical Education and Sports Sciences, Sari Branch, Islamic Azad University, Sari, Iran

2. Dept of Physical Education and Sports Sciences, Qaemshahar Branch, Islamic Azad University, Qaemshahar, Iran

\*Corresponding author Email: habibian\_m@yahoo.com