

Effects of Aerobic Training on Markers of Renal Oxidative Stress and Serum NOX4 Level in Rats with Myocardial Infarction Model

Shiva Ghadirzad Bashman¹ , Roghayeh Pouzesh Jadidi^{2✉} , Jabbar Bashiri³ ,
Karim Azali Alamdari⁴ 

1. Department of Physical Education, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran. E-mail: Shiva.ghadirzad2@gmail.com
2. Corresponding Author, Department of Physical Education, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran.
E-mail: pouzesh@iaut.ac.ir
3. Department of Physical Education, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran. E-mail: bashiri.jabbar@iau.ac.ir
4. Department of Sport Sciences, Faculty of Psychology and Educational Sciences, Azarbaijan Shahid Madani University, Tabriz, Iran. Email: k.azali@azaruniv.ac.ir

Article Info	ABSTRACT
Article type: Research	Introduction: Oxidative stress-induced renal injuries are intensified following myocardial infarction (MI) which are associated with a change in Nox4 expression rate. On the other hand, physical training has beneficial effects on renal structure and function. In this study, the effects of aerobic training on serum Nox4 and renal oxidative stress markers were investigated following MI.
Article history: Received: 2 November 2021 Received in revised form: 5 February 2022 Accepted: 8 February 2022 Published online: 21 November 2022	Methods: Twenty-four male Wistar rats were randomly divided into three groups (n=8) of Healthy Control, MI Control, and MI Training. Eight weeks of treadmill running training (with an inclination of 0°) at moderate intensity (initiated with 15 min/session running speed at 10 m/min intensity in the first week and progressed to 25 min/session running speed at 30 m/min intensity in the last week) was conducted following MI induction by injections of Isoproterenol (100 mg/kg.day) on two consecutive days. Nox4 Serum level was measured using the flow cytometry method, while renal MDA, carbonylated protein (CP), and 8-OHdG levels were measured via spectrophotometry and colorimetry. The data were analyzed by one-way ANOVA.
Keywords: <i>aerobic training,</i> <i>Cardio-Renal syndrome,</i> <i>kidney,</i> <i>oxidative stress</i>	Results: While MI induction remarkably increased serum Nox4 as well as renal MDA, CP, and 8-OHdG levels compared to the Healthy Control group, physical training in the MI Training group significantly decreased the amount of these indices (except for CP, P=0.056) compared to Healthy Control group (p=0.001). However, all indices including serum Nox4 (p=0.029) and renal MDA (p=0.001), CP (p=0.001), and 8-OHdG (p=0.019) levels in the MI Training group, despite a dramatic improvement following physical training were still higher than Healthy Control group. Conclusion: MI can increase serum Nox4 levels and cause renal oxidative stress. However, aerobic training could not fully ameliorate these hazardous effects of MI, despite the significant reversal of this trend. It seems that there is a need to identify the best effective training protocols in this field in addition to eliminating the limitations of this study.

Cite this article: Ghadirzad B. S., Pouzesh Jadidi R., Bashiri J., Azali Alamdari K. (2022). Effects of Aerobic Training on Markers of Renal Oxidative Stress and Serum NOX4 Level in Rat Model of Myocardial Infarction. *Journal of Sport Biosciences*. 2022; 14 (3): 15-29. DOI: <https://doi.org/10.22059/jsb.2022.333340.1495>



Extended Abstract

Introduction

Cardiovascular diseases and acute or chronic renal damage cause mutual risk for each other (1) and in the case of heart or kidney disorder, the interaction of the two organs worsens the existing conditions (2). Also, following a myocardial infarction (MI), a decrease in cardiac output causes a decrease in the function of peripheral organs, including the kidney (3), and as a result, acute and chronic renal damage increases (4). In addition, MI patients are generally transferred too quickly to the catheterization unit and injected with contrast media, which worsens the renal complications of MI due to the rapid toxic effects of these agents on the kidneys (5). Therefore, the occurrence of renal damage in MI patients is quite expected and common (6). In kidney disease (KD), several factors are released into the bloodstream that can induce a series of changes in the heart, leading to a wide variety of clinical situations called cardiorenal syndrome (CRS). Reactive oxygen species (ROS) play an important role in the signaling and progression of systemic inflammatory conditions, as observed in KD (7). Oxidative stress-induced renal injuries are intensified following MI which are associated with a change in NADPH oxidase 4 (Nox4) expression rate. Nox4 is expressed at high levels in kidney tubular cells, and at lower levels in endothelial cells, cardiomyocytes, and other cell types under physiological conditions (14). On the other hand, physical training has beneficial effects on renal structure and function. But so far, the effect of aerobic training on the amount of circulating Nox4 and other indices related to renal oxidative damage has not been investigated directly in rats with an MI-induced model.

Methods

Twenty-four male Wistar rats were randomly divided into three groups (n=8) of Healthy Control, MI Control, and MI Training. Eight weeks of treadmill running training (with an inclination of 0°) at moderate intensity (initiated with 15 min/session running speed at 10 m/min intensity in the first week and progressed to 25 min/session running speed at 30 m/min intensity in the last week) was conducted following MI induction by injections of Isoproterenol (100 mg/kg.day) on two consecutive days. Nox4 Serum level was measured using the flow cytometry method, while renal MDA, carbonylated protein (CP), and 8-OHdG levels were measured via spectrophotometry and colorimetry. The data were analyzed by one-way ANOVA.

Results

While MI induction significantly increased serum Nox4 as well as renal MDA, CP, and 8-OHdG levels compared to the Healthy Control group, physical training in the MI Training

group significantly decreased the amount of these indices (except for CP, $P=0.056$) compared to Healthy Control group ($p=0.001$). However, all indices including serum Nox4 ($p=0.029$) and renal MDA ($p=0.001$), CP ($p=0.001$), and 8-OHdG ($p=0.019$) levels in the MI Training group, despite a dramatic improvement following physical training were still higher than Healthy Control group.

Conclusion

MI can increase serum Nox4 levels and cause renal oxidative stress. However, aerobic training could not fully ameliorate these hazardous effects of MI, despite the significant reversal of this trend. It seems that there is a need to identify the best effective training protocols in this field in addition to eliminating the limitations of this study.

Acknowledgments: We appreciate the cooperation of dear professors and all those who helped us in this research.

Ethical Considerations

Compliance with ethical guidelines: The present study was conducted following ethical principles.

Funding: The research was done without using financial resources.

Authors' contribution: Every author contributes to the research equally.

Conflict of interest: No conflict of interest is declared.

Acknowledgments: Thanks to all people help us to conduct the research.



تأثیرات تمرین هوازی بر شاخص‌های استرس اکسایشی کلیه و مقدار NOX4 سرم موش‌های صحرایی مدل سکتة قلبی

شیوا قدیرزاد بضمن^۱، رقیه پوزش جدیدی^۲، جبار بشیری^۳، کریم آزالى علمدارى^۴

۱. گروه تربیت بدنی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران. رایانامه: Shiva.ghadirzad2@gmail.com

۲. نویسنده مسؤؤل، گروه تربیت بدنی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران. رایانامه: poozesh@iaut.ac.ir

۳. گروه تربیت بدنی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران. رایانامه: bashiri.jabbar@gmail.com

۴. گروه علوم ورزشی، دانشکده علوم تربیتی و روان‌شناسی، دانشگاه شهید مدنی آذربایجان، تبریز، ایران. رایانامه: k.azali@azaruniv.ac.ir

چکیده

اطلاعات مقاله

مقدمه: در پی سکتة قلبی (MI) آسیب‌های کلیوی ناشی از استرس اکسایشی شدت می‌گیرند که با تغییر بیان NOX4 همراه است. از سویی، تمرین بدنی تأثیرات مثبتی بر ساختار و عملکرد کلیه دارد. در این تحقیق تأثیر تمرین هوازی بر مقدار NOX4 سرم و شاخص‌های آسیب اکسایشی کلیه متعاقب MI بررسی شد.

نوع مقاله: پژوهشی

روش پژوهش: ۲۴ موش صحرایی نر به‌طور تصادفی به سه گروه (n=۸) شامل سالم کنترل، سکتة کنترل و سکتة تمرین تقسیم شدند. پس از القای سکتة قلبی توسط تزریق ایزوپروتونول (۱۰۰ mg/kg.day) در دو روز متوالی، ۸ هفته تمرین دویدن (با شیب صفر) با شدت متوسط روی نوار گردان انجام گرفت که از ۱۰ متر در دقیقه با مدت ۱۵ دقیقه در هفته اول، به ۲۵ متر در دقیقه و مدت ۳۰ دقیقه در هفته آخر رسید. مقدار NOX4 سرم به روش فلوسیتومتری، مقدار MDA، پروتئین کربونیل (CP) و OHdG کلیه به روش طیف‌سنجی و رنگ‌سنجی انجام گرفت و داده‌ها با تحلیل واریانس تکراره تحلیل شدند.

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۸/۱۱

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۰/۱۱/۱۶

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۱/۱۹

تاریخ انتشار: ۱۴۰۱/۰۸/۳۰

یافته‌ها: درحالی‌که القای MI سبب افزایش معنادار مقدار NOX4 سرم و همچنین CP، MDA و 8OHdG کلیه نسبت به گروه سالم کنترل شد، اما انجام تمرین در گروه سکتة تمرین سبب کمتر شدن مقدار این شاخص‌ها به‌جز CP ($P=۰/۰۵۶$) نسبت به گروه سکتة کنترل شد ($P=۰/۰۰۱$). با این حال، مقدار هر چهار شاخص شامل NOX4 سرم ($P=۰/۰۲۹$) و همچنین MDA ($P=۰/۰۰۱$)، CP ($P=۰/۰۰۱$) و 8OHdG ($P=۰/۰۱۹$) کلیه در گروه سکتة تمرین (با وجود بهبود چشمگیر)، هنوز هم بیشتر از گروه سالم کنترل بود.

کلیدواژه‌ها:

استرس اکسایشی،

تمرین هوازی،

سندروم قلبی-کلیوی،

کلیه

نتیجه‌گیری: MI می‌تواند سبب افزایش NOX4 سرم و بروز استرس اکسایشی در کلیه شود. با این حال، تمرین هوازی با وجود معکوس کردن قابل ملاحظه این روند، قادر به رفع کامل این تأثیرات MI نبود. به‌نظر می‌رسد که در تحقیقات آینده علاوه بر رفع محدودیت‌های تحقیق حاضر، نیاز به شناسایی بهترین پروتکل‌های تمرینی مؤثر در این زمینه باقی است.

استناد: قدیرزاد بضمن، شیوا؛ پوزش جدیدی، رقیه؛ بشیری، جبار و آزالى علمدارى؛ کریم. تأثیرات تمرین هوازی بر شاخص‌های استرس اکسایشی کلیه و مقدار NOX4

سرم موش‌های صحرایی مدل سکتة قلبی. نشریه علوم زیستی ورزشی. ۱۴۰۱؛ ۱۴(۳): ۱۵-۲۹.

DOI: <https://doi.org/10.22059/jsb.2022.333340.1495>



مقدمه

بیماری‌های قلبی- عروقی و آسیب‌های حاد یا مزمن کلیه عامل ایجاد خطر متقابل برای یکدیگرند (۱) و در زمان بروز اختلال قلبی یا کلیوی، برهمکنش دو اندام سبب تشدید شرایط موجود می‌شود (۲). همچنین در پی سکتۀ قلبی (MI) هم، کاهش برنده قلب سبب کاهش عملکرد اندام‌های پیرامونی از جمله کلیه می‌شود (۳) و بنابراین آسیب‌های حاد و مزمن کلیه شدت می‌گیرند (۴). افزون‌بر این عموماً بیماران MI خیلی سریع به بخش کاتریزاسیون^۲ انتقال داده شده و تحت تزریق مادهٔ حاجب^۳ قرار می‌گیرند که به دلیل دارا بودن تأثیرات سمی خیلی سریع این مواد بر کلیه‌ها (۵)، عوارض ناشی از سکتۀ قلبی بر کلیه‌ها وخیم‌تر هم می‌شود. بنابراین بروز آسیب‌های کلیوی در بیماران MI کاملاً مورد انتظار و متداول است (۶). ولی در آسیب‌ها و بیماری‌های کلیوی چندین عامل از جمله گونه‌های فعال اکسیژن می‌توانند سبب ایجاد یک سری موقعیت‌های متنوع بالینی موسوم به سندروم قلبی-کلیوی^۴ (CRS) شوند. برای مثال در سندروم CRF، اکسیژن رادیکال توسط آنزیم NADPH اکسیداز (NOX) کاتالیزه می‌شود و می‌تواند با نیتریک اکسید^۵ (NO) برای تشکیل پراکسی نیتريت^۶ و واکنش دهد که مسئول چندین جنبه از آسیب ایسکمی-تزریق مجدد کلیوی است (۷).

در کلیه نیز، NADPH اکسیدازها (NOXNOxs) منابع اصلی استرس اکسیداتیو هستند (۸)، اما در پیام‌رسانی بیان ژن، آپوپتوز، تمایز و تکثیر سلول‌های کلیه نیز بسیار اهمیت دارند (۹). حداقل سه ایزوفرم متفاوت NOX شامل NOX2، NOX4 و NOX1 در کلیه بیان می‌شود (۱۰). هر چند هیچ مقایسهٔ دقیقی انجام نگرفته است، اما به نظر می‌رسد NOX4 بیشترین ایزوفرم موجود در کلیه است و به همین دلیل ابتدا به نام اکسیداز کلیوی (RENOX)^۷ شناخته می‌شد (۱۰). NOX4 اغلب در سلول‌های توبولی کلیه قرار دارد (۱۰)، اما در سایر سلول‌ها از جمله سلول‌های مزانژیال گلومرولی^۸ نیز به مقدار کمتر یافت می‌شود (۱۱). در شرایط فیزیولوژیک بیشترین بیان NOX4 جوندگان در سلول‌های توبولی پروگزیمال (نزدیک به تنه) اتفاق می‌افتد (۱۰). با این حال حذف ژنتیکی عملکرد NOX4 به فوتوپ بارزی در ریخت‌شناسی عروقی و توبولی موش منجر نمی‌شود و فیلتراسیون کلیوی^۹ ثابت می‌ماند (۱۲) و اصولاً تاکنون هیچ‌گونه جهش ژنتیکی NOX4 منجرشونده به بیماری مشاهده نشده است (۱۳). اما چندین وضعیت مانند هیپوکسی (در اثر کاهش برنده قلبی به کلیه‌ها متعاقب MI)، التهاب (که در MI در کلیه‌ها هم مشاهده می‌شود) و عوامل پروفیبروتیک^{۱۱} مانند TGFβ^{۱۱}، به افزایش مقدار بیان NOX4 منجر می‌شوند (۱۴). همچنین در برخی تحقیقات افزایش بیان یا فعالیت NOX4 به چندین وضعیت پاتولوژیک مرتبط دانسته شده است و بر مبنای نظریۀ استرس اکسایشی تصور می‌شود که افزایش NOX4 سبب افزایش آسیب سلولی و پیشرفت برخی بیماری‌ها می‌شود و شدت آسیب‌های وارده توسط انفارکتوس میوکارد به بافت کلیه با استرس اکسایشی و التهاب ارتباط مستقیم و نزدیکی دارد (۱۵). در تحقیقی در موش‌های مدل سکتۀ قلبی حاد که از نظر ژنتیکی فاقد NOX4 بودند، از ضایعات ایسکمیک جلوگیری شد (۱۶)، درحالی‌که در تحقیقی دیگر با پروتکل یکسان، تأثیری مشاهده نشد (۱۷).

در ضمن، در شرایط متعاقب آسیب ایسکمی-تزریق مجدد، عدم توازن بین آنتی‌اکسیدان‌ها و اکسیدان‌ها هم محتمل است (۱۸) که از طریق آسیب به پروتئین‌ها، چربی‌ها و DNA، سرانجام سبب پیشرفت بیشتر آسیب سلولی خواهد شد (۱۹) که با اندازه‌گیری محصولات

1. Myocardial infarction

2. Catheterization

3. contrast media

4. cardiorenal syndrome- Cardiorenal Syndrome

5. Nitric Oxide

6. Peroxynitrite

7. Renal Oxidase (RENOX)

8. Glomerular Mesangial cells

9. Renal filtration

10. Profibrotic

11. Transforming Growth Factor Beta

مختلف مشتق از پروتئین‌ها، لیپیدها و DNA قابل بررسی است. برای مثال 8-OHdG^۱ یکی از مارکرهای زیستی بسیار حساس است که حتی قادر به انعکاس سطح بسیار پایین آسیب اکسیداتیو DNA است (۲۰). با این حال، تاکنون مقدار 8-OHdG بافت کلیه متعاقب MI بررسی نشده است. گروه‌های پروتئین کربونیل^۲ (CP) نیز به‌عنوان نشانگر آسیب اکسیداتیو پروتئین‌ها در آسیب حاد کلیه افزایش می‌یابند و نسبت به محصولات پراکسیداسیون لیپیدی مانند MDA پایدارترند (۲۱). با این حال، تاکنون غلظت پروتئین کربونیل^۳ به‌عنوان نشانگر زیستی استرس اکسایشی کلیوی ناشی از سکتة قلبی ارزیابی نشده است.

ضمن اینکه هنوز هم نقش دقیق NOX4 در کلیه نسبتاً ناشناخته است، شواهد موجود حاکی از نقش دوگانه NOX4 در کلیه‌ها و قلب هستند (۱۳) و به‌نظر می‌رسد که بررسی مقدار NOX4 سرم در بیماران MI هم‌زمان با کسب اطلاع از شاخص‌های مربوط به آسیب اکسایشی بافت کلیه اهمیت بسیار زیادی در رفع این ابهامات داشته باشد.

از سویی فعالیت بدنی یک عامل ضروری در بازتوانی قلبی متعاقب سکتة قلبی است (۲۲) و در این زمینه تأثیر تمرینات تناوبی شدید بر بازسازی توده بطن چپ بیماران دچار MI (۲۳)، کاهش شاخص‌های سکتة قلبی در حیوانات MI (۲۴) و یا تأثیر تمرینات کم‌حجم شدید، بر بهبود آمادگی قلبی تنفسی این بیماران (۲۵) تأیید شده است. ولی با اینکه تمرینات هوازی پس از سکتة قلبی تأثیرات بسیار مثبتی بر هر دوی کلیه (۲۶) و قلب (۲۲، ۲۹-۲۷) داشته‌اند، اما تاکنون تأثیر تمرینات هوازی به‌طور مستقیم بر مقدار NOX4 گردش خون همراه با سایر شاخص‌های مربوط به آسیب اکسایشی کلیوی در موش‌های مدل القایی MI بررسی نشده است. تنها در مورد تأثیر تمرین هوازی بر بازسازی توده قلبی و بیان NOX4 در قلب موش‌های دچار MI خفیف (۳۰)، تأثیر تمرین تناوبی بر مقدار پروتئین NOX4 و MDA و سطوح گونه‌های فعال اکسیژن قلب موش‌های دچار MI (۳۱)، تأثیر تمرین هوازی و مقاومتی بر بازسازی توده بطنی و شاخص‌های استرس اکسایشی عضله دوقلو در موش‌های متعاقب MI (۳۲) و تأثیر تمرین دویدن بر آریتمی بطنی^۴ موش‌های دچار MI (۳۳) بررسی مستقیم انجام گرفته است. به‌نظر می‌رسد که نیاز به بررسی تأثیر تمرین هوازی بر مقدار NOX4 سرم همراه با مقدار شاخص‌های آسیب اکسایشی کلیه در پی بروز MI کاملاً ضروری باشد. انتظار می‌رود که این تحقیق، ضمن دارا بودن بداعت ویژه، بتواند اطلاعات مناسبی از تأثیر تمرین هوازی بر عوارض ناشی از MI در کلیه‌ها به دست دهد و زمینه‌ساز انجام تحقیقات بیشتر در این زمینه باشد.

روش‌شناسی پژوهش

در این تحقیق تجربی که پروتکل آن توسط کمیته اخلاق دانشگاه تبریز با شناسه IR.TABRIZU.REC.1399.054 تأیید شد، ۲۴ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار ۱۶ هفته‌ای با وزن ۳۰۰ تا ۳۷۰ گرم که به تعداد سه سر در هر قفس با دسترسی آزاد به آب و غذا و طبق چرخه ۱۲ ساعت خواب و بیداری در حیوان‌خانه دانشکده دامپزشکی دانشگاه علوم پزشکی تبریز نگهداری می‌شدند، به‌طور تصادفی به سه گروه (هشت‌تایی) شامل سالم کنترل، سکتة کنترل، سکتة تمرین تقسیم شدند و به‌غیر از گروه سالم کنترل، بقیه موش‌های صحرایی شامل ۱۶ سر طی دو روز متوالی تحت تزریق درون‌صفاقی ایزوپروتونول با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر هر کیلوگرم وزن بدن در روز قرار گرفتند. دو روز بعد از تزریق ایزوپروتونول، مشابه با مطالعات گذشته (۳۴) از گوشه چشم گروه‌های کنترل سالم و کنترل سکتة نمونه خونی اخذ شد و تأیید بروز سکتة از طریق مقایسه بین گروهی سطوح تروپونین و همچنین فعالیت آنزیم‌های کراتین کیناز و لاکتات دهیدروژناز قلبی گردش خون انجام گرفت.

¹ 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG) or 8-oxo-7,8-dihydro-2'-deoxyguanosine (8-oxodG)

² Carbonylated proteins

³ Carbonylated Proteine

⁴ Ventricular Arrhythmias

جدول ۱. فعالیت آنزیم‌های قلبی به‌منظور تأیید بروز انفارکتوس میوکارد

گروه	فعالیت کراتین کیناز (واحد بین‌المللی بر لیتر)	فعالیت لاکتات دهیدروژناز (واحد بین‌المللی بر لیتر)	تروپونین (نانوگرم بر میلی‌لیتر)
کنترل سالم	۲۸۶/۳۷ ± ۱۶/۲۰	۲۳۶/۷۵ ± ۱۳/۰۶	۰/۷۷ ± ۰/۱۰
کنترل سکت	۳۲۴/۵ ± ۱۶/۵۱	۲۸۶/۸۷ ± ۱۶/۰۷	۰/۹۰ ± ۰/۱۲
P بین گروهی	* ۰/۰۰۱	* ۰/۰۰۱	* ۰/۰۳۹

* تفاوت معنادار ($P < 0.05$).

در ادامه موش‌های صحرایی گروه‌های تمرین شامل سکت‌تمرین و سکت‌توأم پروتکل ورزشی طی یک هفته (شامل ۵ جلسه دویدن روی نوار گردان با سرعت ۵ تا ۱۰ متر بر دقیقه) آشنا شدند. بدین‌منظور موش‌های صحرایی در دو جلسه اول به مدت ۱۰ دقیقه فقط در داخل نوار گردان قرار گرفتند؛ در سه جلسه بعدی به تدریج شروع به فعالیت کردند که در دو جلسه پایانی با شیب ۵ درصد همراه بود و با سرعت ۵ تا ۱۰ متر در دقیقه انجام گرفت. سپس برنامه تمرین به مدت ۸ هفته آغاز شد که ۵ روز در هفته حوالی ساعت ۱۶، انجام گرفت. دویدن در دو هفته اول با سرعت ۱۰ متر در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه انجام گرفت. در هفته‌های بعدی به تدریج هر دو هفته شدت و مدت تمرین افزایش داده شد، تا اینکه در دو هفته آخر شدت تمرین هوازی به ۲۵ متر در دقیقه و مدت فعالیت به ۳۰ دقیقه رسید. شیب تردمیل از ابتدا تا انتهای دوره تمرین ۵ درصد ثابت ماند (جدول ۲). افزون‌بر این، در هر جلسه تمرین، ۵ دقیقه گرم کردن و سرد کردن با سرعت ۵ تا ۱۰ متر در دقیقه انجام گرفت (۳۵).

جدول ۲. جزئیات برنامه تمرین طی دوره مداخله

شاخص	هفته								
	آشنایی	اول	دوم	سوم	چهارم	پنجم	ششم	هفتم	هشتم
سرعت (متر در دقیقه)	۵-۱۰	۱۰	۱۰	۱۵	۱۵	۲۰	۲۰	۲۵	۲۵
مدت (دقیقه)	۱۰	۱۵	۱۵	۲۰	۲۰	۲۵	۲۵	۳۰	۳۰
شیب (درصد)	۵	۵	۵	۵	۵	۵	۵	۵	۵

پس از پایان مداخله، موش‌های صحرایی با کتامین (۱۵۰ mg/kg) و زایلازین (۱۵ mg/kg) بی‌هوش و تشریح شدند. نمونه خون لخته برای اندازه‌گیری مقدار NOX4 جمع‌آوری شد. سپس بافت کلیه پس از تزریق PBS سرد، از خون پاکسازی شد و در ادامه پس از تقسیم به قطعات کوچک‌تر در داخل ۵ - ۱۰ لیتر PBS سرد شده با یخ توسط هموژنایزر (SR30 model ps 80) به‌صورت هموژن در آمد. سوسپانسیون نهایی در سانتریفیوژ یخچال‌دار به مدت ۵ دقیقه با سرعت ۵۰۰۰ قرار گرفت و سپس سوپرناتان نهایی تا زمان ارزیابی در دمای ۸۰- منجمد شد.

مقدار مالون دی‌آلدهید (MDA) به‌عنوان شاخص پراکسیداسیون لیپیدی بازتاب‌دهنده مقدار استرس اکسایشی چربی‌ها) با استفاده از روش رنگ‌سنجی توسط کیت ویژه ساخت چین (MDA; Biodiagnostic, Cat Number: MD 2529) و طبق دستورالعمل شرکت سازنده توسط دستگاه ریدر در طیف ۵۳۲ نانومتر اندازه‌گیری شد (۳۶).

غلظت پروتئین کربونیل (CP) به‌عنوان سطح پروتئین‌های اکسایش‌یافته ناشی از استرس اکسایشی، توسط اسپکتروفتومتری (طیف‌سنجی) و با استفاده از ماده ۲ و ۴ دی نیتروفنیل هیدرازین^۱ اندازه‌گیری شد. مشتقات کربونیل واکنش‌یافته با استفاده از ضریب DPNH در طیف ۳۷۰ نانومتر (22×103 L/mol/cm) اندازه‌گیری شد و برحسب نانومول بر میلی‌گرم پروتئین بیان شد (۳۷).

برای اندازه‌گیری مقدار 8-OHdG بافت کلیه تازه جداسازی‌شده در ۵ میلی‌لیتر بافر تریس با غلظت ۵۰ میلی‌مول بر لیتر (pH=۷/۴) هموزنایز شد. سپس نمونه‌های هموزن ۸۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه تا رسوب هسته سانتریفیوژ شدند و سپس یک میلی‌لیتر محلول حاوی ۱۰ میلی‌مول بر لیتر EDTA، ۱۰ میلی‌مول بر لیتر بافر تریس (pH=۸)، ۱۵۰ میلی‌مول بر لیتر NaCl و SDS با غلظت دو درصد اضافه شد. سپس مخلوط به مدت ۷۰ دقیقه در دمای ۵۶ درجه سلسیوس با پروتئیناز K (۷۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) انکوبه شد و سپس به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سلسیوس حرارت داده شد. در ادامه DNA با حجم‌های مساوی فنول، کلروفرم و ایزوآمیل الکل (1 : 24 : 25) جداسازی شد و سپس دوباره کلروفرم اضافه شد. سپس DNA در دمای ۲۰- سلسیوس به مدت دو ساعت در داخل اتانول ۷۰ درصد رسوب داده شد. در ادامه DNA دوباره در داخل بافر تریس (۱۰ میلی‌مول بر لیتر) همراه با EDTA (۰/۱ میلی‌مول بر لیتر) با pH=۸ تعلیق شد. پنج میکرولیتر بافر سدیم استات (۲۰۰ میلی‌مول بر لیتر) با pH=۴/۸ و ۵ میکروگرم نوکلئاز P1 (Invitrogen, CA, USA) به ۴۵ میکرولیتر از نمونه‌های DNA اضافه شد. مخلوط به مدت یک ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس انکوبه شد تا DNA به نوکلوتیدها شکسته شود. سپس پنج میکرولیتر بافر تریس با غلظت ۵۰۰ میلی‌مول بر لیتر (pH=۸)، ۱۰ میلی‌مول بر لیتر دی کلرید منیزیم و ۰/۶ واحد آلکالین فسفاتاز به نمونه‌ها اضافه شد. دوباره مخلوط به مدت یک ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس انکوبه شد تا نوکلوتیدها به نوکلئوزید شکسته شوند (۳۸). در نهایت نمونه‌های نوکلئوزید برای تعیین مقدار 8-OHdG توسط کیت الیزا ساخت شرکت کوزابو چین CSB-E10140h و طبق دستورالعمل شرکت سازنده با حساسیت ۳/۱۲ نانوگرم بر میلی‌لیتر و در طیف ۴۵۰ نانومتر استفاده شدند (۳۹).

نمونه خون محیطی پس از اخذ ابتدا به مدت ۲۰ دقیقه با آنتی‌بادی NOx4 (سیگما آلدریج آلمان) و سپس به مدت ۳۰ دقیقه با آنتی‌بادی ثانویه^۲ کوئزوکس شده^۳ با ایزوتیوسیانات^۳ (سیگما آلدریج آلمان) انکوبه شد. سپس نمونه بعد از سه بار شست‌وشو با PBS، سانتریفیوژ شدند و سرم جداسازی شد. در نهایت مولکول NOX4 در سرم به‌دست‌آمده توسط دستگاه فلوسیتومتر اندازه‌گیری شد (۴۰).

روش آماری

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

یافته‌های پژوهش

وزن قلب و بدن موش‌ها در زمان کشتار در جدول ۳ ارائه شده است.

جدول ۳. وزن قلب و بدن گروه‌ها هنگام کشتار

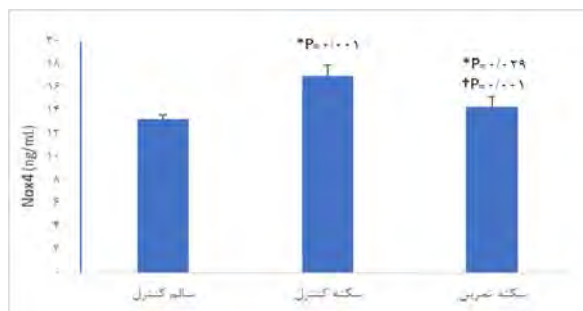
گروه	وزن بدن (گرم)	وزن قلب (گرم)
سالم کنترل	۳۰۰/۷۸ ± ۲۷/۱۸	۲/۱ ± ۰/۱۱
سکتة کنترل	۳۳۴/۰۶ ± ۱۶/۵۴	۱/۹۳ ± ۰/۲۱
سکتة تمرین	۳۳۸/۲۰ ± ۱۶/۰۴	۱/۹۱ ± ۰/۲۲

^۱ Dinitrophenylhydrazine

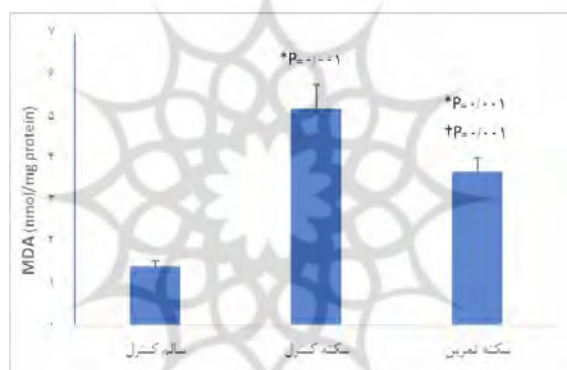
^۲ Congogated Antibody

^۳ Isothiosyanate- Isothiocyanate

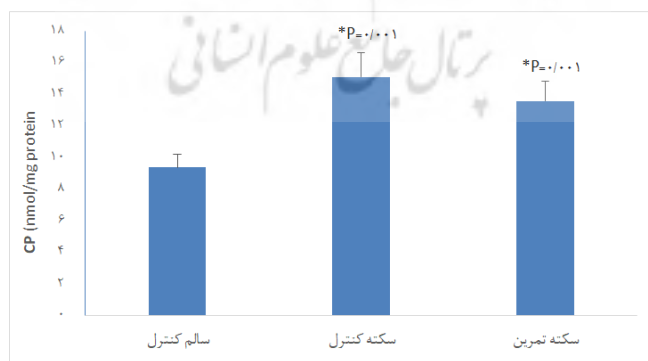
نتایج تحلیل واریانس تکراهه در مورد مقایسه بین گروهی مقدار NOx4 سرم ($F_{2, 21}=48/79, P=0/001$) و مقدار MDA ($F_{2, 21}=191/76, P=0/001$)، پروتئین کربونیل ($F_{2, 21}=45/49, P=0/001$) و OHdG ($F_{2, 21}=121/95, P=0/001$) کلیه نشان داد که تفاوت‌های معناداری در بین گروه‌ها وجود دارد (شکل‌های ۱ - ۴).



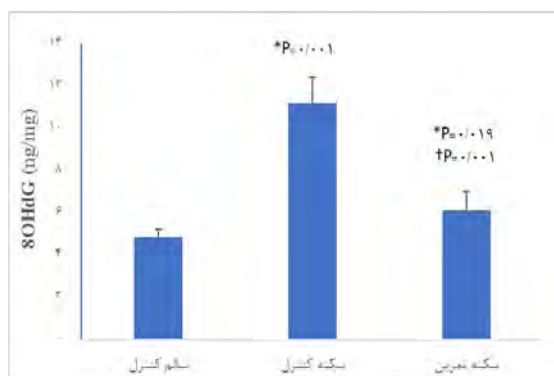
شکل ۱. مقدار NOx4 سرم در موش‌های مدل سکته قلبی حاد
* و †: نمایانگر تفاوت معنادار نسبت به گروه سالم کنترل و سکته کنترل ($P < 0/05$)



شکل ۲. مقدار MDA کلیه موش‌های مدل سکته قلبی حاد
* و †: نمایانگر تفاوت معنادار نسبت به گروه سالم کنترل و سکته کنترل ($P < 0/05$)



شکل ۳. مقدار CP کلیه موش‌های مدل سکته قلبی حاد
* و †: نمایانگر تفاوت معنادار نسبت به گروه سالم کنترل و سکته کنترل ($P < 0/05$)



شکل ۴. مقدار 8OHdG کلیه موش‌های مدل سکته قلبی حاد

* و †: نمایانگر تفاوت معنادار نسبت به گروه سالم کنترل و سکته کنترل ($P<0/05$)

بدین ترتیب مشاهده شد (شکل‌های ۱-۴) القای MI سبب افزایش معنادار مقدار NOX4 سرم و همچنین MDA، CP و 8-OHdG کلیه ($P=0/001$ در همه موارد) نسبت به گروه سالم کنترل شد، اما انجام تمرین در گروه سکته تمرین سبب کمتر شدن مقدار این شاخص‌ها ($P=0/001$ در همه موارد به جز CP ($P=0/056$)) نسبت به گروه سکته کنترل شد ($P=0/001$ در همه موارد). با این حال، مقدار هر چهار شاخص شامل NOX4 سرم ($P=0/029$) و همچنین MDA ($P=0/001$)، CP ($P=0/001$)، پروتئین کربونیل‌شده ($P=0/001$) و 8OHdG ($P=0/019$) کلیه در گروه سکته تمرین (با وجود تغییرات چشمگیر) سکته تمرین، هنوز هم بیشتر از گروه سالم کنترل بود که نشان می‌دهد با وجود مؤثر بودن چشمگیر تمرین در این زمینه، آثار سکته بر قلب پس از انجام این پروتکل کاملاً برطرف نشده است.

بحث و نتیجه‌گیری

مهم‌ترین یافته ما نشان داد که MI سبب افزایش NOX4 سرم شد که با افزایش مقدار NOX4 قلبی پس از MI در تحقیقات گذشته (۳۱، ۴۱) همخوانی دارد. با این حال، با وجود تأثیر چشمگیر تمرین هوازی بر کاهش NOX4 سرم در موش‌های دچار MI، هنوز مقدار آن به‌طور کامل به سطوح معادل با گروه سالم کنترل برگشت نکرده بود که بیان می‌کند در این زمینه نمی‌توان تنها به تمرین هوازی اتکا نکرد و باید به تأثیر مداخلات دیگری امیدوار بود. اما شاید هم با دستکاری جزئیات برنامه تمرین از جمله مدت، شدت و نوع تمرین بتوان به نتایج بهتری دست یافت که نیاز به شناسایی بهترین جزئیات مربوط به تمرین بدنی در این زمینه است.

NOX4 در استئوکلاست‌ها، سلول‌های اندوتلیال، کراتینوسیت‌ها و سلول‌های عضلات صاف هم بیان می‌شود (۱۳) و به دلیل احتمال کاهش برونده قلبی پس از MI و امکان کاهش تدارک خون و بروز هیپوکسی و استرس اکسایشی در سایر بافت‌های بدن (۴۲)، این احتمال نیز باقی است که NOX4 گردش خون از بافت‌های دیگری نیز تولید شده باشد. همچنین افزایش NOX4 در چندین بیماری مانند آترواسکلروز، فیبروز ریوی، پرفشارخونی، نارسایی قلبی و سکته ایسکمیک هم مشاهده شده است (۴۳). بنابراین پس از بروز MI به دلیل شدت گرفتن روند بروز همه این عوامل مذکور در موش‌ها، احتمال افزایش NOX4 در گردش خون از منشأهای مختلف وجود دارد، بنابراین شاید افزایش NOX4 سرم، فقط نمی‌تواند به کلیه‌ها مربوط باشد. بدین ترتیب به نظر می‌رسد که تعیین منشأ دقیق NOX4 گردش خون و یا تعیین مقدار پروتئین NOX4 در کلیه می‌تواند پیشنهاد بسیار جالبی برای تحقیقات آینده باشد.

تاکنون در مورد مقدار NOX4 سرم همراه با سایر شاخص‌های مربوط به آسیب کلیه در موش‌های مدل MI و به‌ویژه در پاسخ به تمرین اطلاعات بسیار کمی حاصل شده است. گنگ^۱ و همکاران (۳۱) در قلب موش‌های دچار MI (و نه در خون)، افزایش مقدار پروتئین NOX4 و کاهش مقدار MDA و سطوح گونه‌های فعال اکسیژن را مشاهده کردند که مقدار این متغیرها پس از تمرین تناوبی هوازی، روند معکوسی به خود گرفتند. آن محققان این پاسخ را به‌عنوان کاهش استرس اکسایشی و التهاب در قلب دچار سکته قلمداد کردند که به‌نظر می‌رسد در تحقیق حاضر نیز به همین نکته دلالت می‌کند.

NOX4 دارای اثر محافظت‌کننده عروقی نیز است (۴۴)، بنابراین شاید افزایش NOX4 سرم متعاقب MI در جهت حفاظت از عروق موجود روی داده است. همچنین شاید به‌دلیل بهبود سلامت عروق موجود در اثر تمرین (۴۱) و نیاز کمتر به NOX4، پس از تمرین هوازی کاهش آن مشاهده شده است.

NOX4 از طریق افزایش آنژیوژنز، در برابر استرس ناشی از تحمیل بار مزمن به قلب نیز نقش محافظتی دارد (۴۵). با توجه به افزایش بار کار قلب و همچنین وجود هیپوکسی موضعی در قلب دچار سکته، به‌نظر می‌رسد افزایش NOX4 سرم در موش‌های گروه سکته کنترل، در جهت افزایش آنژیوژنز و بهبود خون‌رسانی و ترمیم قلبی عمل کرده است. اگرچه افزایش NOX4 سرم متعاقب MI، شاید در سایر بافت‌های بدن مانند چشم و کلیه‌ها هم آنژیوژنز را افزایش دهد که لزوماً این افزایش مشابه با شرایط رتینوپاتی در چشم، به معنای یک پاسخ مفید هم نباشد. بنابراین شفاف‌سازی آن نیازمند بررسی‌های بیشتر در آینده است. اما در گروه‌های سکته تمرین، سکته کنترل، به‌نظر می‌رسد که همراه با بهبود توأم وضعیت طی گذشت زمان، دیگر نیاز بیشتری به افزایش شدید NOX4 وجود نداشته است. بنابراین رفته‌رفته روند نزولی در مقدار NOX4 سرم مشاهده شده است.

پس از MI احتمال بروز پرفشارخونی نیز وجود دارد که حتی می‌تواند زمینه‌ساز نارسایی قلبی نیز باشد (۴۶). ولی NOX4 با افزایش اتساع عروقی سبب کاهش فشار خون می‌شود (۴۷). بنابراین یک دلیل افزایش NOX4 پس از MI هم می‌تواند تلاش بدن برای کاهش فشار خون متعاقب MI باشد که به‌دلیل کاهش فشار خون پس از تمرین هوازی در شرایط متعاقب MI (۴۸)، همین مسئله کاهش NOX4 گردش خون پس از تمرین هوازی را نیز توجیه می‌کند. اما چون در این تحقیق فشار خون موش‌ها متعاقب MI یا تمرین هوازی اندازه‌گیری نشد، انجام بررسی‌های بیشتر در این زمینه نیز پیشنهاد می‌شود. همچنین پس از MI احتمال بروز پرفشارخونی نیز وجود دارد (۴۶). ولی NOX4 با افزایش اتساع عروقی سبب کاهش فشار خون می‌شود (۴۷). بنابراین یک دلیل افزایش NOX4 پس از MI هم می‌تواند تلاش بدن برای کاهش فشار خون متعاقب MI باشد و با در نظر گرفتن احتمال کاهش فشار خون پس از تمرین هوازی در شرایط متعاقب MI (۴۸)، کاهش NOX4 سرم پس از تمرین هوازی نیز توجیه می‌شود. اما تأیید دقیق این مسئله نیازمند اندازه‌گیری فشار خون است.

آنژیوتنسین II همچنین سبب افزایش فعال‌سازی NOX4 به‌عنوان منبع اصلی استرس اکسایشی درون‌زاد در سلول‌های کلیه می‌شود (۴۹) و در شرایط متعاقب MI نیز افزایش نسخه‌برداری ژن و بیان پروتئین گیرنده‌های آنژیوتنسین I و II در قلب تأیید شده است (۵۰). بنابراین اگرچه ما مقدار دقیق نسخه‌برداری ژنی و بیان پروتئین گیرنده‌های آنژیوتنسین I و II در قلب را اندازه‌گیری نکردیم، اما با توجه به اینکه آنژیوتنسین II از طریق دستکاری NOX4، سبب افزایش آسیب پودوسیت‌ها^۲ (سلول‌های اپیتلیال ویژه سطح خارجی مویرگ‌های گلومرولی) می‌شود (۵۱)، تصور می‌شود که کاهش مقدار NOX4 گردش خون پس از تمرین هوازی احتمالاً در کلیه به معنای کاهش خطر آسیب سلولی و از جمله پودوسیت‌ها خواهد بود.

¹ Geng

² Podocytes are specialized epithelial cells that cover the outer surfaces of glomerular capillaries

برخی محققان (۱۳) اشاره کرده‌اند که نبود NOX4 می‌تواند کلیه‌ها را در معرض آسیب توبولی قرار دهد. بنابراین شاید افزایش NOX4 سرم پس از MI می‌توانسته است از آسیب‌های احتمالی توبولی متعاقب MI جلوگیری کند. ولی معمولاً کاهش NOX4 در کلیه مشکل خاصی ایجاد نمی‌کند و احتمالاً نقش آنزیم‌های NOX4 و NOX2 در کلیه توسط سیستم‌های دیگری جبران می‌شود (۵۲).

همچنین NOX4 در حس کردن سطح اکسیژن، کنترل وازوموتور، تکثیر، تمایز و مهاجرت سلولی، آپوپتوز، فیبروز و آنژیوژنز هم درگیر است و افزایش NOX4 در چندین بیماری مانند آترواسکلروز، فیبروز ریوی، پرفشارخونی، نارسایی قلبی و سکتة ایسکمیک هم مشاهده شده است (۴۳). بنابراین پس از بروز MI به دلیل شدت گرفتن روند بروز همه عوامل مذکور در موش‌ها، احتمال افزایش NOX4 سرم از منشأهای مختلف وجود دارد، بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که افزایش NOX4 سرم هم، فقط نمی‌تواند به کلیه‌ها مربوط باشد. بدین ترتیب به نظر می‌رسد که برای تحقیقات آینده تعیین منشأ دقیق NOX4 سرم و یا استفاده از مدل‌های ناک‌آوت‌شده در بافت‌های بدن به غیر از کلیه و یا تعیین مقدار پروتئین NOX4 دقیقاً در بافت کلیه هم می‌تواند پیشنهاد بسیار جالبی برای بررسی بیشتر در این زمینه باشد.

احیا نشدن کامل مقدار NOX4 سرم موش‌های دچار MI پس از تمرین هوازی شاید می‌تواند بیانگر آن باشد که احتمالاً تأثیر MI بر مقدار NOX4 گردش خون در اثر تمرین هوازی کاملاً قابل برطرف شدن نیست و باید به تأثیر مداخلات دیگری امیدوار بود. همچنین شاید هم برای احیای کامل مقدار NOX4 سرم به مقادیر مشابه با موش‌های سالم به دوره زمانی طولانی‌تری از تمرین هوازی نیاز باشد. شاید هم این پروتکل تمرین در این مورد به صورت بهینه عمل نکرده است و احتمالاً با دستکاری جزئیات برنامه تمرین از جمله مدت، شدت و نوع تمرین بتوان به نتایج بهتری نیز دست یافت. به هر حال، تمام موارد مذکور در حد گمانه‌زنی هستند و به دلیل کمبود شواهد در این زمینه، امکان مقایسه نتایج و یا اشاره به سازوکارهای توجیه‌کننده وجود ندارد و همچنان که باید اطلاعات بیشتری در مورد شناسایی بهترین جزئیات مربوط به تمرین بدنی در این زمینه فراهم شود.

افزون بر این یک نکته دیگر هم مربوط به فعالیت واقعی آنزیم NOX4 به شکل فعال شده به جای تعیین مقدار آن در بافت‌ها یا خون است. به بیان دیگر شاید در این تحقیق افزایش NOX4 گردش خون لزوماً به معنای افزایش پیامدهای ناشی از فعالیت کاتالیزی آن نباشد (۴۳). از سویی، شواهد موجود حاکی از نقش دوگانه NOX4 در کلیه‌ها و قلب هستند و به نظر می‌رسد که این نقش‌ها علاوه بر مقدار بیان فیزیولوژیک NOX4، همچنین به نوع سلول هم مرتبط است که در شکل ۲ نمایش داده شده است (۱۳).

در این زمینه مسیرهای دخیل در نقش‌های محافظت‌کننده و مخرب سلولی NOX4 در بیماری‌های کلیوی و قلبی عروقی در تحقیق راجارام و همکاران (۱۳) به طور مفصل ارائه شده است که بیانگر نیاز به ارزیابی دقیق تأثیرات بالقوه مفید و مخرب ناشی از NOX4 در شرایط متعاقب MI به صورت جداگانه در بافت‌های بدن و به ویژه در کلیه‌ها و سیستم قلبی عروقی است.

در بخش دیگر یافته‌ها مشاهده شد که مقدار هر سه شاخص استرس اکسایشی شامل MDA به عنوان شاخص پراکسیداسیون لیپیدی، پروتئین کربونیل (CP) به عنوان شاخص اکسایش پروتئین‌ها و مقدار OHdG به عنوان شاخص اکسایشی DNA در بافت کلیه در پی MI افزایش یافت. اما پس از تمرین هوازی با وجود روند کاهش معنادار هر سه آنها، هنوز تفاوت معناداری نسبت به کنترل سالم باقی بود. به هر حال، پس از سکتة قلبی احتمال کاهش برونده قلبی و تدارک ناکافی خون به کلیه‌ها و ایجاد هیپوکسی و تشدید استرس اکسایشی در بافت کلیه تأیید شده است که می‌تواند با افزایش کهولت تکثیری سلولی و پاسخ التهابی همراه باشد (۴۲). برای مثال کاهش جریان خون کلیوی پس از MI (۵۳)، می‌تواند با افزایش فشار در کپسول بومن به افزایش MDA بافت کلیه منجر شود. در کل تأثیر تمرین ورزشی بر کاهش استرس اکسایشی در بافت کلیه به دنبال سکتة قلبی می‌تواند به افزایش کارایی میتوکندری‌ها در اثر تمرین نسبت داده شود که سبب کاهش تولید مقدار رادیکال‌های آزاد از آنها خواهد شد (۵۴). اما شاید پس از تمرین هوازی، در کلیه موش‌های دچار MI، کاهش فشار خون و تسکین وضعیت التهابی روی داده است که با کاهش بروز استرس اکسایشی همراه شده است که بررسی مستقیم این موارد در تحقیقات آینده پیشنهاد می‌شود. البته رنجبر و همکاران (۵۵) هم اشاره کرده‌اند که تمرین هوازی و مکمل ال‌آرژنین

می‌توانند از طریق کاهش استرس اکسایشی، سبب جبران آسیب‌های کلیوی ناشی از MI شوند که به‌خوبی با یافته‌های تحقیق حاضر همخوانی دارد. در کل تأثیر تمرین ورزشی بر کاهش استرس اکسایشی در بافت کلیه به‌دنبال سکتۀ قلبی می‌تواند به افزایش کارایی میتوکندری‌ها در اثر تمرین نسبت داده شود که سبب کاهش تولید مقدار رادیکال‌های آزاد از آنها خواهد شد (۵۴).

معمولاً کارایی سیستم دفاع ضد اکسایشی کلیه پس از آسیب ایسکمی تزریق مجدد قابل مشاهده در شرایط MI کاهش می‌یابد (۵۶)، بنابراین تصور می‌شود که تأثیر تمرین هوازی بر کاهش استرس اکسایشی در بافت کلیه متعاقب MI اهمیت تجویز تمرین هوازی برای جلوگیری از آسیب‌های کلیوی متعاقب MI و کند کردن روند بروز سندروم قلبی کلیوی را بیشتر می‌کند.

آنژیوتنسن II و گیرنده‌های آن در تحریک تولید گونه‌های فعال اکسیژن درون سلولی در کلیه‌ها و آسیب توبولی نقش محوری دارند (۵۵)، بنابراین احتمالاً سرکوب سیستم سمپاتیکی و ترشح کمتر آنژیوتنسن II در پی کاهش بیان گیرنده‌های آن در اثر تمرین هوازی (۵۷) ممکن است در کاهش تولید گونه‌های فعال اکسیژن و در نهایت کاهش MDA، پروتئین کربونیل و OHdG در کلیۀ موش‌های دچار MI تحت تمرین هوازی دخیل باشد.

این تحقیق محدودیت‌های بسیاری مانند عدم اندازه‌گیری شاخص‌های عملکرد قلبی و کلیوی پیش و پس از MI و تمرین هوازی، عدم تعیین منشأ دقیق NOX4 موجود در گردش خون و عدم تعیین مسیرهای دقیق دخیل در نقش احتمالی NOX4 گردش خونی در دستکاری مقدار استرس اکسایشی بافت کلیه به‌دنبال القای MI داشت. اما نشان داده شد که القای MI می‌تواند سبب افزایش چشمگیر NOX4 سرم همراه با شاخص‌های استرس اکسایشی در بافت کلیه شود و تمرین هوازی با اینکه به‌طور قابل توجهی این روند را معکوس کرد، ولی این تأثیرات هنوز به‌طور کامل برطرف نشدند. به‌نظر می‌رسد در تحقیقات آینده نیاز به شناسایی بهترین جزئیات پروتکل‌های تمرینی مؤثر در این زمینه همچنان باقی است.

تقدیر و تشکر

از همکاری استادان عزیز و همچنین تمام کسانی که ما را در انجام این پژوهش یاری کردند، تقدیر و تشکر می‌شود.

References

1. Dong Z, Gong K, Huang D, Zhu W, Sun W, Zhang Y, et al. Myocardial infarction accelerates glomerular injury and microalbuminuria in diabetic rats via local hemodynamics and immunity. *International journal of cardiology*. 2015;179:397-408.
2. Vavalle JP, van Diepen S, Clare RM, Hochman JS, Weaver WD, Mehta RH, et al. Renal failure in patients with ST-segment elevation acute myocardial infarction treated with primary percutaneous coronary intervention: Predictors, clinical and angiographic features, and outcomes. *American heart journal*. 2016;173:57-66.
3. Parikh CR, Coca SG, Wang Y, Masoudi FA, Krumholz HM. Long-term prognosis of acute kidney injury after acute myocardial infarction. *Archives of internal medicine*. 2008;168(9):987-95.
4. van Dokkum RP, Eijkelpamp WB, Kluppel AC, Henning RH, van Goor H, Citgez M, et al. Myocardial infarction enhances progressive renal damage in an experimental model for cardio-renal interaction. *Journal of the American Society of Nephrology*. 2004;15(12):3103-10.
5. Liu YH, Liu Y, Tan N, Chen J-y, Chen J, Chen S-h, et al. Predictive value of GRACE risk scores for contrast-induced acute kidney injury in patients with ST-segment elevation myocardial infarction before undergoing primary percutaneous coronary intervention. *International urology and nephrology*. 2014;46(2):417-26.

6. Kaltsas E, Chalikias G, Tziakas D. The incidence and the prognostic impact of acute kidney injury in acute myocardial infarction patients: current preventive strategies. *Cardiovascular drugs and therapy*. 2018;32(1):81-98.
7. Caio-Silva W, da Silva Dias D, Junho CVC, Panico K, Neres-Santos RS, Pelegriano MT, et al. Characterization of the Oxidative Stress in Renal Ischemia/Reperfusion-Induced Cardiorenal Syndrome Type 3. *BioMed Research International*. 2020;2020.
8. Gorin Y, Cavaglieri RC, Khazim K, Lee D-Y, Bruno F, Thakur S, et al. Targeting NADPH oxidase with a novel dual Nox1/Nox4 inhibitor attenuates renal pathology in type 1 diabetes. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*. 2015;308(11):F1276-F87.
9. Li MS, Adesina SE, Ellis CL, Gooch JL, Hoover RS, Williams CR. NADPH oxidase-2 mediates zinc deficiency-induced oxidative stress and kidney damage. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*. 2017;312(1):C47-C55.
10. Geiszt M, Kopp JB, Várnai P, Leto TL. Identification of renox, an NAD (P) H oxidase in kidney. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2000;97(14):8010-4.
11. Bedard K, Krause K-H. The NOX family of ROS-generating NADPH oxidases: physiology and pathophysiology. *Physiological reviews*. 2007;87(1):245-313.
12. Babelova A, Avaniadi D, Jung O, Fork C, Beckmann J, Kosowski J, et al. Role of Nox4 in murine models of kidney disease. *Free radical biology & medicine*. 2012;53(4):842-53.
13. Rajaram RD, Dissard R, Jaquet V, de Seigneux S. Potential benefits and harms of NADPH oxidase type 4 in the kidneys and cardiovascular system. *Nephrology Dialysis Transplantation*. 2018;34(4):567-76.
14. Cucoranu I, Clempus R, Dikalova A, Phelan PJ, Ariyan S, Dikalov S, et al. NAD(P)H oxidase 4 mediates transforming growth factor-beta1-induced differentiation of cardiac fibroblasts into myofibroblasts. *Circulation research*. 2005;97(9):900-7.
15. Ghartavol MM, Gholizadeh-Ghaleh Aziz S, Babaei G, Hossein Farjah G, Hassan Khadem Ansari M. The protective impact of betaine on the tissue structure and renal function in isoproterenol-induced myocardial infarction in rat. *Molecular Genetics & Genomic Medicine*. 2019;7(4):e00579.
16. Santos CX, Hafstad AD, Beretta M, Zhang M, Molenaar C, Kopec J, et al. Targeted redox inhibition of protein phosphatase 1 by Nox4 regulates eIF2 α -mediated stress signaling. *The EMBO journal*. 2016;35(3):319-34.
17. Braunersreuther V, Montecucco F, Asrih M, Pelli G, Galan K, Frias M, et al. Role of NADPH oxidase isoforms NOX1, NOX2 and NOX4 in myocardial ischemia/reperfusion injury. *Journal of molecular and cellular cardiology*. 2013;64:99-107.
18. Wallert M, Ziegler M, Wang X, Maluenda A, Xu X, Yap ML, et al. α -Tocopherol preserves cardiac function by reducing oxidative stress and inflammation in ischemia/reperfusion injury. *Redox biology*. 2019;26:101292.
19. Ighodaro O, Akinloye O. First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. *Alexandria Journal of Medicine*. 2018;54(4):287-93.
20. Goli F, Nasri H. Association of 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine with various demographic and biochemical parameter in a group of hemodialysis patients. *Journal of Preventive Epidemiology*. 2020;5(1):e06-e.
21. Colombo G, Reggiani F, Angelini C, Finazzi S, Astori E, Garavaglia ML, et al. Plasma Protein Carbonyls as Biomarkers of Oxidative Stress in Chronic Kidney Disease, Dialysis, and Transplantation. *Oxidative medicine and cellular longevity*. 2020;2020.
22. Xing Y, Yang S-D, Wang M-M, Feng Y-S, Dong F, Zhang F. The beneficial role of exercise training for myocardial infarction treatment in elderly. *Frontiers in physiology*. 2020;11:270.
23. Trachsel LD, David LP, Gayda M, Henri C, Hayami D, Thorin-Trescases N, et al. The impact of high-intensity interval training on ventricular remodeling in patients with a recent acute myocardial infarction—A randomized training intervention pilot study. *Clinical cardiology*. 2019;42(12):1222-31.
24. Dadashzadeh A, Poozesh Jadidi R. Effect of HIIT and curcumin consumption on serum troponin I and creatine kinase levels in isopretrenol-treated male mice %J *Journal of Applied Health Studies in Sport Physiology*. 2021;8(1):44-53.

25. Jayo-Montoya JA, Maldonado-Martín S, Aispuru GR, Gorostegi-Anduaga I, Gallardo-Lobo R, Matajira-Chia T, et al. Low-Volume High-Intensity Aerobic Interval Training Is an Efficient Method to Improve Cardiorespiratory Fitness After Myocardial Infarction: PILOT STUDY FROM THE INTERFARCT PROJECT. *Journal of cardiopulmonary rehabilitation and prevention*. 2020;40(1):48-54.
26. Wu F, Li Z, Cai M, Xi Y, Xu Z, Zhang Z, et al. Aerobic exercise alleviates oxidative stress-induced apoptosis in kidneys of myocardial infarction mice by inhibiting ALCAT1 and activating FNDC5/Irisin signaling pathway. *Free Radical Biology and Medicine*. 2020;158:171-80.
27. Batista DF, Polegato BF, Da Silva RC, Claro RT, Azevedo PS, Fernandes AA, et al. Impact of Modality and Intensity of Early Exercise Training on Ventricular Remodeling after Myocardial Infarction. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2020;2020.
28. Guo Y, Chen J, Qiu H. Novel mechanisms of exercise-induced cardioprotective factors in myocardial infarction. *Frontiers in physiology*. 2020;11:199.
29. Moieni A, Hosseini SA. Effect of Resistance Training Combined with Curcumin Supplementation on Expression of Regulatory Genes Related to Myocardial Remodeling in Obese Rats. *Journal of Applied Health Studies in Sport Physiology*. 2020;7(2):45-52.
30. Souza LM, Okoshi MP, Gomes MJ, Gatto M, Rodrigues EA, Pontes TH, et al. Effects of Late Aerobic Exercise on Cardiac Remodeling of Rats with Small-Sized Myocardial Infarction. *Arquivos brasileiros de cardiologia*. 2021;116(4):784-92.
31. Geng YW, Lin QQ, Wang XY, Li RM, Tian ZJ. Effects of aerobic interval training on myocardial oxidative stress and inflammation in rats with myocardial infarction and its mechanism. *Chinese journal of applied physiology*. 2021;37(4):439-44.
32. Gomes MJ, Pagan LU, Lima AR, Reyes DR, Martinez PF, Damatto FC, et al. Effects of aerobic and resistance exercise on cardiac remodelling and skeletal muscle oxidative stress of infarcted rats. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*. 2020;24(9):5352.
33. Qin R, Murakoshi N, Xu D, Tajiri K, Feng D, Stujanna EN, et al. Exercise training reduces ventricular arrhythmias through restoring calcium handling and sympathetic tone in myocardial infarction mice. *Physiological Reports*. 2019;7(4).
34. Pouzesh Jadidi G, Seifi-Skishahr F, Bolboli L, Azali Alamdari K, Pourrahim Ghourghch A. Effect of high intensity interval training and curcumin supplementation on left ventricular miR-133 and miR-1 gene expression levels in isoproterenol induced myocardial infarction rat model %J *Journal of Practical Studies of Biosciences in Sport*. 2021;sep 13.
35. Tofighi A, Ebrahimi Kalan A, Jamali Qarakhanelou B. The effect of resveratrol supplementation and aerobic training on cardiac tissue alteration of rats with acute myocardial infarction. *Iranian Journal of Physiology and Pharmacology*. 2018;1(4):221-11.
36. Khafaga AF, Noreldin AE, Taha AEJ. The adaptogenic anti-ageing potential of resveratrol against heat stress-mediated liver injury in aged rats: Role of HSP70 and NF-kB signalling. 2019;83:8-21.
37. Randjelovic P, Veljkovic S, Stojiljkovic N, Velickovic L, Sokolovic D, Stoilkovic M, et al. Protective Effect of Selenium on Gentamicin-Induced Oxidative Stress and Nephrotoxicity in Rats. 2012;35(2):141-8.
38. Kim J, Shon E, Kim C-S, Kim JS. Renal Podocyte Injury in a Rat Model of Type 2 Diabetes Is Prevented by Metformin. 2012;2012.
39. Gholinezhad M, Aliarab A, Abbaszadeh-Goudarzi G, Yousefnia-Pasha Y, Samadaian N, Rasolpour-Roshan K, et al. Nitric oxide, 8-hydroxydeoxyguanosine, and total antioxidant capacity in human seminal plasma of infertile men and their relationship with sperm parameters. *Clinical and experimental reproductive medicine*. 2020;47(1):54.
40. Zhang W-K, Zhang L. Correlation of SOD-Mn gene polymorphism with renal function and oxidative injury in patients with diabetic nephropathy. 2018;24(14):13-7.
41. Mongue-Din H, Patel AS, Looi YH, Grieve DJ, Anilkumar N, Sirker A, et al. NADPH Oxidase-4 Driven Cardiac Macrophage Polarization Protects Against Myocardial Infarction-Induced Remodeling. *JACC Basic Transl Sci*. 2017;2(6):688-98.

42. Wen Z, Mai Z, Zhu X, Chen Y, Geng D, Wang JJRf. Comparison of renal impairment post-myocardial infarction with reduced and preserved left ventricular function in rats with normal renal function. 2020;42(1):358-68.
43. Chen F, Haigh S, Barman SA, Fulton D. From form to function: the role of Nox4 in the cardiovascular system. *Frontiers in physiology*. 2012;3:412.
44. Morawietz H. c. Cardiovascular protection by Nox4. *Cardiovascular research* 114.3 (2018): 353-355.
45. Zhang M, Brewer AC, Schröder K, Santos CXC, Grieve DJ, Wang M, et al. NADPH oxidase-4 mediates protection against chronic load-induced stress in mouse hearts by enhancing angiogenesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2010;107(42):18121-6.
46. Richards AM, Nicholls MG, Troughton Richard W, Lainchbury John G, Elliott J, Frampton C, et al. Antecedent hypertension and heart failure after myocardial infarction. *Journal of the American College of Cardiology*. 2002;39(7):1182-8.
47. Ray R, Murdoch CE, Wang M, Santos CX, Zhang M, Alom-Ruiz S, et al. Endothelial Nox4 NADPH oxidase enhances vasodilatation and reduces blood pressure in vivo. 2011;31(6):1368-76.
48. Kargarfard M, Rouzbehani R, Basati FJ. *Jopm*. Effects of exercise rehabilitation on blood pressure of patients after myocardial infarction. 2010;1(2):124.
49. [Gonzalez-Vicente A, Saikumar JH, Massey KJ, Hong NJ, Dominici FP, Carretero OA, et al. Angiotensin II stimulates superoxide production by nitric oxide synthase in thick ascending limbs. *Physiological reports*. 2016;4\(4\):e12697.](#)
50. Nio Y, Matsubara H, Murasawa S, Kanasaki M, Inada M. Regulation of gene transcription of angiotensin II receptor subtypes in myocardial infarction. *J Clin Invest*. 1995;95(1):46-54.
51. [Che G, Gao H, Hu Q, Xie H, Zhang Y. Angiotensin II promotes podocyte injury by activating Arf6-Erk1/2-Nox4 signaling pathway. *PLoS ONE*. 2020;15\(3\).](#)
52. [Nlandu Khodo S, Dizin E, Sossauer G, Szanto I, Martin PY, Feraille E, et al. NADPH-oxidase 4 protects against kidney fibrosis during chronic renal injury. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN*. 2012;23\(12\):1967-76.](#)
53. [Wright RS, Reeder GS, Herzog CA, Albright RC, Williams BA, Dvorak DL, et al. Acute myocardial infarction and renal dysfunction: a high-risk combination. 2002;137\(7\):563-70.](#)
54. [Aydin C, Ince E, Koparan S, Cangul IT, Naziroglu M, Ak F. Protective effects of long term dietary restriction on swimming exercise-induced oxidative stress in the liver, heart and kidney of rat. 2007;25\(2\):129-37.](#)
55. [Ranjbar K, Nazem F, Sabrinezhad R, Nazari AJ. Aerobic training and L-arginine supplement attenuates myocardial infarction-induced kidney and liver injury in rats via reduced oxidative stress. 2018;70\(4\):538-43.](#)
56. [Najafi H, Changizi Ashtiyani S, Sayedzadeh SA, Mohamadi Yarijani Z, Fakhri S. Therapeutic effects of curcumin on the functional disturbances and oxidative stress induced by renal ischemia/reperfusion in rats. *Avicenna journal of phytomedicine*. 2015;5\(6\):576-86.](#)
57. [Fatahi B, Habibian MJPR. Effect of Aerobic Exercise on Renal Angiotensin-II and Angiotensin Type 1 Receptor Levels in Administered Rats with Nano Zinc Oxide. 2018;21\(1\):29-34.](#)