

مجله‌ی غدد درون‌ریز و متابولیسم ایران
 دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی شهید بهشتی
 دوره‌ی بیست و سوم، شماره‌ی ۲، صفحه‌های ۱۸۹ - ۱۸۲ (مرداد - شهریور ۱۴۰۰)

اثر تجویز طولانی مدت دوزهای مختلف نیترات بر عملکرد کلیه در موش‌های صحرایی ماده

مجید شکری^{ID}، دکتر سجاد جدی^{ID}، دکتر اصغر قاسمی^{ID}

مرکز تحقیقات فیزیولوژی غدد درون‌ریز، پژوهشکده علوم غدد درون‌ریز و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران.
 نشانی مکاتبه‌ی نویسنده‌ی مسئول: تهران، ولنجک، خیابان یمن، خیابان شهید اعرابی، پلاک ۲۴، مرکز تحقیقات فیزیولوژی غدد درون‌ریز، پژوهشکده علوم غدد درون‌ریز و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران، دکتر اصغر قاسمی؛
 e-mail: Ghasemi@endocrine.ac.ir

چکیده

مقدمه: تجویز نیترات، به عنوان دهنده‌ی اکسید نیتریک (NO) منجر به بهبود عملکرد کلیه در جنس نر می‌گردد. هدف این مطالعه تعیین اثر تجویز طولانی مدت دوزهای مختلف نیترات سدیم بر عملکرد کلیه موش‌های صحرایی ماده با اندازه‌گیری سطح سرمی اوره و کراتینین و میزان فیلتراسیون گلومرولی تخمین زده شده (eGFR) می‌باشد. **مواد و روش‌ها:** موش‌های صحرایی ماده دو ماهه به ۶ گروه تقسیم شدند (n=۱۰): گروه شاهد، آب آشامیدنی دریافت کرد و ۵ گروه درمان، آب آشامیدنی حاوی نیترات سدیم با دوزهای ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۵۰، ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر را به مدت ۶ ماه دریافت کردند. در پایان مطالعه، وزن بدن، اوره و کراتینین سرمی اندازه‌گیری شد و eGFR محاسبه گردید. یافته‌ها: تجویز نیترات با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر موجب کاهش ۱۶/۹ درصدی (P=۰/۰۳۷) و با دوزهای ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر موجب افزایش ۱۵ (P=۰/۰۶۴) و ۲۴/۷ (P=۰/۰۰۳) درصدی سطح سرمی اوره گردید. به علاوه تجویز نیترات فقط در دوز ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر با کاهش کراتینین سرم به میزان ۱۶/۳ درصد (P=۰/۰۰۲) همراه بود. در دوز ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر؛ افزایش ۱۱/۵ درصدی (P=۰/۰۴۶) و در دوز ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر؛ کاهش ۱۳/۸ (P=۰/۰۱۸) و ۱۶/۹ (P=۰/۰۰۴) درصدی eGFR مشاهده شد. تجویز نیترات با دوزهای ۵۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر اثری بر eGFR نداشت. نتیجه‌گیری: تجویز طولانی مدت نیترات بر عملکرد کلیه موش‌های صحرایی ماده اثرات چندگانه نشان می‌دهد، به طوری که در دوزهای کم اثری نداشت و در دوز متوسط اثر بهبوددهنده و در دوز بالا اثر مخرب بر عملکرد کلیه نشان داد.

واژگان کلیدی: موش صحرایی ماده، نیترات سدیم، عملکرد کلیوی، اکسید نیتریک

دریافت مقاله: ۱۴۰۰/۷/۱۰ - دریافت اصلاحیه: ۱۴۰۰/۹/۲۸ - پذیرش مقاله: ۱۴۰۰/۱۰/۱۲

مقدمه

عمده داروهای موجود تفاوت جنسی بین بیماران را در نظر نمی‌گیرند.^۱ بنابراین نیاز به تحقیقات بیشتر برای ارائه درمان‌های مؤثرتر ضروری است. علی‌رغم توصیه موسسه ملی بهداشت آمریکا^۲ برای ایجاد تعادل جنسی در مطالعات حیوانی، اثرات نیترات بر عملکرد کلیه عمدتاً در جنس نر مورد مطالعه قرار گرفته است.^۳ اثرات نیتريت و نیترات بر عملکرد کلیه در مطالعات انسانی^۴ و حیوانی^{۵،۶} مختلف گزارش شده است. نیتريت و نیترات با کاهش آسیب گلومرولی،

شیوع جهانی بیماری مزمن کلیوی (CKDⁱ) در سال ۲۰۱۷، ۹/۱ درصد (۶۹۷/۵ میلیون نفر) بوده است.^۱ CKD دوازدهمین عامل مرگ در سال^۱ ۲۰۱۷ بوده و تخمین زده می‌شود که در سال ۲۰۴۰ به پنجمین علت شایع مرگ تبدیل گردد.^۲ داروهای مختلفی برای بهبود بیماری کلیوی بررسی شده که دارای عوارض جانبی نامطلوب بوده^۳ و هم‌چنین

لیتر) به مدت ۶ ماه (مزمین) بر شاخص‌های عملکرد کلیه در موش‌های صحرایی ماده است.

مواد و روش‌ها

موش‌های صحرایی ماده نژاد ویستار با سن دو ماه و وزن ۱۴۰-۱۳۰ گرم تحت شرایط استاندارد (دما 21 ± 2 درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی $60 \pm 5\%$ و چرخه تاریکی - روشنایی ۱۲ ساعته) با دسترسی آزاد به آب و غذای استاندارد (غذای شرکت خوراک دام پارس، تهران، ایران) در خانه حیوانات پژوهشگاه علوم غدد درون‌ریز و متابولیسم دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی نگهداری شدند. ملاحظات لازم اخلاقی برای کار با حیوانات آزمایشگاهی رعایت گردید و مطالعه به تأیید کمیته سازمانی اخلاق در پژوهشگاه علوم غدد درون‌ریز و متابولیسم دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی رسید. (کد اخلاق: (IR.SBMU.ENDOCRINE.REC.1400.009).

گروه‌بندی حیوانات

شصت سر موش صحرایی ماده به صورت تصادفی، با استفاده از نرم‌افزار اکسل، به ۶ گروه ($n=10$) تقسیم شدند. گروه شاهد آب آشامیدنی و ۵ گروه درمان دیگر به ترتیب آب آشامیدنی حاوی ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم نیترا سدیم در لیتر را به مدت ۶ ماه دریافت کردند (با توجه به میزان آب مصرفی و وزن هر موش صحرایی، میانگین دریافت روزانه نیترا حدود ۱۱ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن موش صحرایی بود). طبق یک مطالعه‌ی اخیر^{۲۰} در مورد اثر تجویز نیترا سدیم بر عملکرد کلیه، انحراف معیار میزان فیلتراسیون گلومرولی تخمین زده شده ($eGFR^i$) در گروه شاهد و نیترا به ترتیب $14/29$ و $12/27$ در نظر گرفته شد. با در نظر گرفتن سطح α دو طرفه $0/05$ ، توان 80% درصد و همچنین اختلاف میانگین 200 میکرولیتر در دقیقه برای $eGFR$ ، حجم نمونه در هر گروه بر اساس فرمول^{۲۱} زیر 10 سر موش صحرایی در هر گروه محاسبه شد:

$$n = \frac{(z_{1-\alpha/2} + z_{1-\beta})^2 \times (s_1^2 + s_2^2)}{d^2} = \frac{(1/96 + 1/83)^2 \times (132^2 + 176^2)}{(200)^2} \cong 10$$

کاهش فاکتورهای التهابی، کاهش استرس اکسیداتیو^۸ و کاهش سطح سرمی اوره و کراتینین^{۹،۱۰} منجر به بهبود عملکرد کلیه در جنس نر می‌گردند. علاوه بر اثرات حفاظتی نیترا^{۸،۹،۱۱} بر عملکرد کلیه در جنس نر، اثرات تخریبی^{۱۲} و همچنین عدم اثر^{۱۳} آن نیز گزارش شده است که می‌تواند به دلیل تفاوت در دوز تجویزی و طول مدت تجویز باشد.^{۱۴} تجویز نیترا در جوندگان نر سالم با دوز کم (100 میلی‌گرم در لیتر و کمتر)، اثرات حفاظتی^{۸،۱۰} و در دوز بالا (729 میلی‌گرم در لیتر)،^{۱۲} اثرات تخریبی بر عملکرد کلیه داشته است. همچنین نیترا و نیتريت در کوتاه مدت (60 ، 120 و 240 میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن نیتريت سدیم به مدت 2 ساعت^۱ و تجویز 450 میلی‌گرم نیترا پتاسیم در هر روز به مدت 7 روز در انسان) اثری بر عملکرد کلیه نداشته ولی در بلند مدت ($8/8$ سال در انسان^{۱۵} و 2 ماه در موش صحرایی نر^۱) منجر به کاهش خطر CKD و بهبود عملکرد کلیه گردیده است.

مطالعات نشان داده‌اند که جنس نر و ماده ممکن است پاسخ‌های مشابهی به تجویز نیترا نداشته باشند.^{۱۶} زنان در مقایسه با مردان دارای توانایی تولید و فعالیت بالاتر NO در کل بدن،^{۱۶} ظرفیت بالاتر احیای نیترا به نیتريت در دهان،^{۱۷} سطوح بالاتر نیتريت سرمی و همچنین افزایش بیشتر سطح نیتريت سرم پس از تجویز نیترا هستند.^{۱۸} همچنین طبق مطالعات متاآنالیز صورت گرفته،^{۱۹} شیوع بالاتر CKD در جنس ماده در دو سوم مطالعاتی که به طور هم‌زمان هر دو جنس را بررسی کردند، گزارش شده است. از سوی دیگر، جنس ماده بیشتر از جنس نر مستعد بیماری‌های کلیوی می‌باشد، چرا که عفونت‌های مجاری ادراری آنان بیشتر بوده^{۲۰} و نیز با افزایش سن؛ اثر حفاظتی استروژن بر عملکرد کلیه^{۲۱-۲۳} کاهش می‌یابد، که می‌تواند منجر به افزایش بیشتر در شیوع CKD در جنس ماده بعد از یائسگی (حدود 5 برابر^{۲۴}) گردد. بنابراین هدف این مطالعه تعیین اثر تجویز نیترا سدیم با دوزهای مختلف (50 تا 500 میلی‌گرم در

خون‌گیری از حیوانات و اندازه‌گیری سطح سرمی اوره و کراتینین

پس از ۱۲ ساعت ناشتایی، حیوانات با استفاده از پنتوباریتال (۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن) بیهوش شدند و نمونه‌های خون از دم آن‌ها جمع‌آوری شد. نمونه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۵۰۰۰ سانتریفیوژ شد و و سرم جدا شده جهت اندازه‌گیری اوره و کراتینین استفاده گردید. در پایان مطالعه (بعد از ۶ ماه مداخله با نیترات سدیم)، سطح سرمی اوره با استفاده از کیت آزمایشگاهی شرکت من^۱

روش محاسبه برای کراتینین کمتر از ۵۲ میکرومول در لیتر پلاسما:

$$\text{غلظت اوره (میلی مول بر لیتر)} \times 1.754 \times \text{غلظت کراتینین (میکرو مول بر لیتر)} \times \text{وزن بدن (گرم)} = 88.0 \times \text{eGFR (میکرو لیتر بر دقیقه)}$$

روش محاسبه برای کراتینین بیشتر از ۵۲ میکرومول در لیتر پلاسما:

$$\text{غلظت اوره (میلی مول بر لیتر)} \times 1.754 \times \text{غلظت کراتینین (میکرو مول بر لیتر)} \times \text{وزن بدن (گرم)} = 86.2 \times \text{eGFR (میکرو لیتر بر دقیقه)}$$

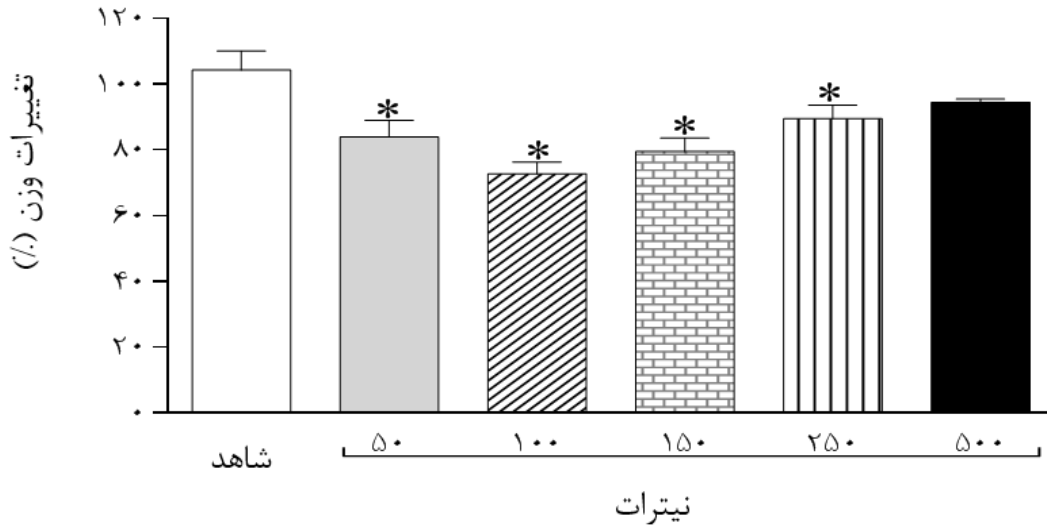
آنالیز آماری

آنالیز آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار GraphPad Prism نسخه ۶ انجام شد. یافته‌های کمی به صورت میانگین \pm انحراف استاندارد میانگین بیان شده‌اند. جهت مقایسه تغییرات سطح سرمی اوره و کراتینین، وزن بدن و eGFR بین ۶ گروه از آزمون آنالیز واریانس یکطرفه استفاده شد و جهت تعیین اختلاف معنی‌دار در بین گروه‌های مختلف از آزمون تعقیبی فیشر استفاده شد. هم‌چنین P کمتر از ۰/۰۵ به عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

اثر تجویز نیترات سدیم بر وزن بدن موش‌های صحرایی ماده

نتایج مطالعه‌ی حاضر نشان داد که وزن بدن موش‌های صحرایی ماده در ابتدای مطالعه (قبل از تجویز نیترات) بین گروه‌ها یکسان است. وزن موش‌های صحرایی در انتهای مطالعه در گروه شاهد، ۱۰۴/۴ درصد ($134/0 \pm 1$) گرم در ابتدای مطالعه، نیترات ۵۰، ۸۳/۹۷ درصد ($135/8 \pm 0/9$) گرم در ابتدای مطالعه، نیترات ۱۰۰، ۷۲/۷ درصد ($134/4 \pm 1/1$) گرم در ابتدای مطالعه، نیترات ۱۵۰، ۷۹/۵۱ درصد ($133/9 \pm 1$) گرم در ابتدای مطالعه، نیترات ۲۵۰، ۸۹/۵۱ درصد ($134/2 \pm 0/8$) گرم در ابتدای مطالعه، نیترات ۵۰۰، ۹۴/۵۴ درصد ($135/6 \pm 0/5$) گرم در ابتدای مطالعه) بالاتر از ابتدای مطالعه بود که این درصد تغییرات در گروه‌های نیترات ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۵۰ به طور معنی‌داری کمتر از گروه شاهد می‌باشد (نمودار ۱).

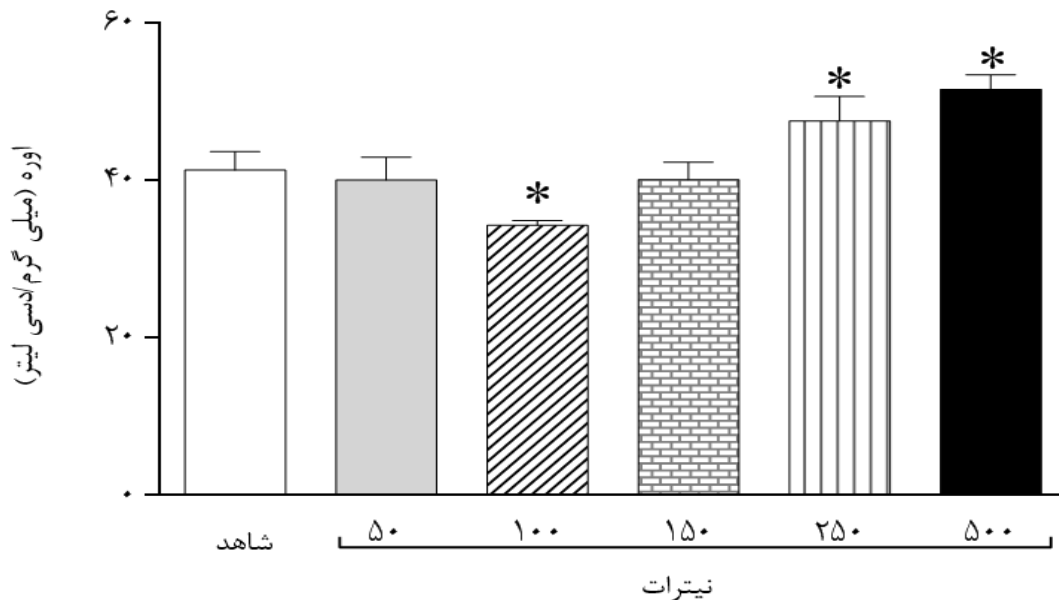


نمودار ۱- اثر تجویز نیترات سدیم بر تغییرات وزن بدن در موش‌های صحرائی ماده. تعداد موش صحرائی در هر گروه ۱۰ سر می‌باشد. * تفاوت معنی‌دار با گروه شاهد، یافته‌ها به صورت میانگین \pm انحراف از معیار بیان شده‌اند.

گروه شاهد در انتهای مطالعه شد. همچنین تجویز نیترات با دوز ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر آب آشامیدنی باعث افزایش سطح سرمی اوره به ترتیب به میزان ۱۵ درصد ($P=0/064$) و ۲۴/۷ درصد ($P=0/003$) نسبت به گروه شاهد در انتهای مطالعه شد. تجویز نیترات در دوز ۵۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر تأثیری بر این شاخص نداشت.

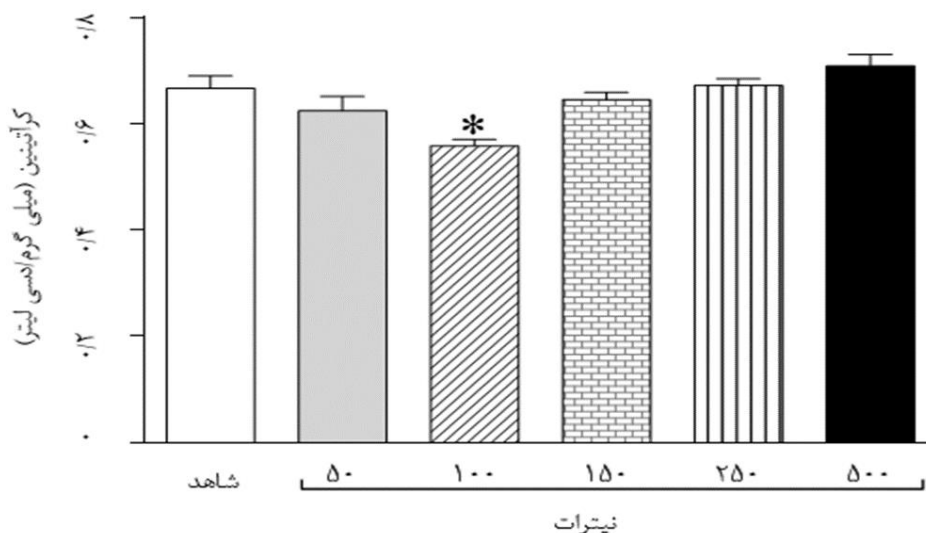
اثر تجویز نیترات سدیم بر سطح سرمی اوره در موش‌های صحرائی ماده

همان‌طور که در نمودار شماره ۲ نشان داده شده است، یافته‌های این مطالعه نشان دادند که تجویز نیترات با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر آب آشامیدنی موجب کاهش سطح سرمی اوره به میزان ۱۶/۹ درصد ($P=0/037$) نسبت به



نمودار ۲- اثر تجویز نیترات سدیم بر سطح سرمی اوره در موش‌های صحرائی ماده در انتهای مطالعه. تعداد موش صحرائی در هر گروه ۱۰ سر می‌باشد. * تفاوت معنی‌دار با گروه شاهد، یافته‌ها به صورت میانگین \pm انحراف از معیار بیان شده‌اند.

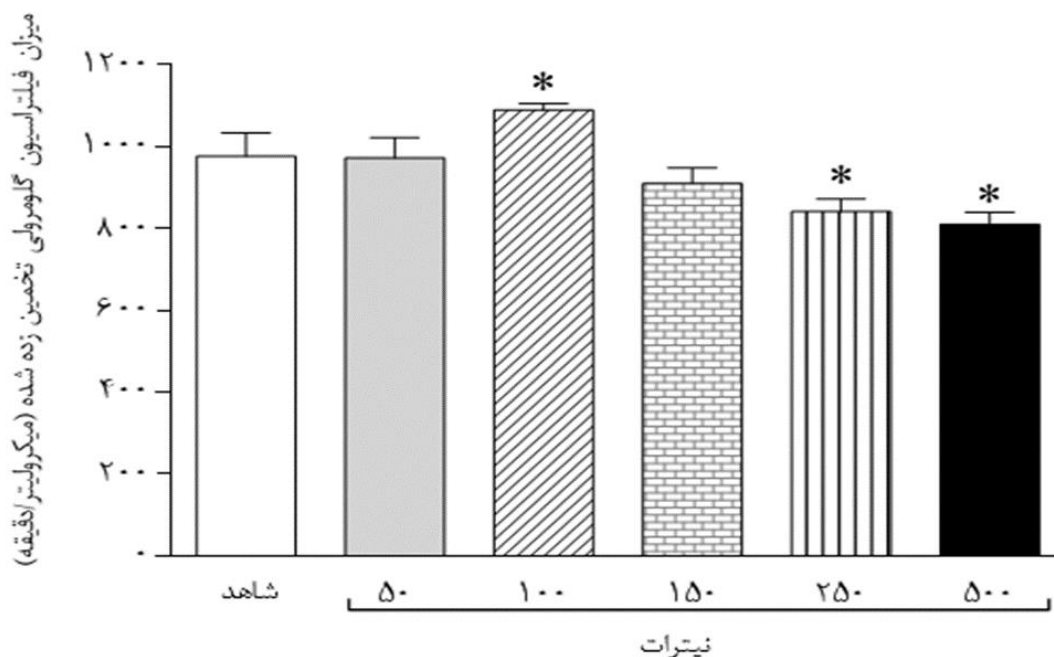
میزان ۱۶/۳ درصد ($P=0/002$) نسبت به گروه شاهد در انتهای مطالعه شد. سایر دوزهای تجویزی تأثیری بر این شاخص نداشتند (نمودار ۳).



نمودار ۳- اثر تجویز نیترات سدیم بر سطح سرمی کراتینین در موش‌های صحرایی ماده در انتهای مطالعه. تعداد موش صحرایی در هر گروه ۱۰ سر می‌باشد. * تفاوت معنی دار با گروه شاهد، یافته‌ها به صورت میانگین \pm انحراف از معیار بیان شده‌اند.

نیترات با دوز ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر آب آشامیدنی باعث کاهش eGFR به ترتیب به میزان ۱۳/۸ درصد ($P=0/004$) و ۱۶/۹ درصد ($P=0/018$) در انتهای مطالعه شد (نمودار ۴).

اثر تجویز نیترات سدیم بر سطح eGFR در موش‌های صحرایی ماده
تجویز نیترات با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر آب آشامیدنی موجب افزایش eGFR به میزان ۱۱/۵ درصد ($P=0/046$) نسبت به گروه شاهد در انتهای مطالعه شد. همچنین تجویز



نمودار ۴- اثر تجویز نیترات سدیم بر سطح eGFR در موش‌های صحرایی ماده در انتهای مطالعه. تعداد موش صحرایی در هر گروه ۱۰ سر می‌باشد. * تفاوت معنی دار با گروه شاهد، یافته‌ها به صورت میانگین \pm انحراف از معیار بیان شده‌اند.

بحث

یافته‌های این مطالعه نشان‌دهنده‌ی بهبود عملکرد کلیه به دنبال تجویز نیترا سدیم با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر می‌باشد؛ که با کاهش سطح سرمی اوره و کراتینین و همچنین افزایش eGFR همراه است. تجویز نیترا با دوزهای بالا (۲۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر)، منجر به اختلال در عملکرد کلیه می‌گردد، که با افزایش غلظت سرمی اوره و همچنین کاهش eGFR همراه است. مشابه با نتایج پژوهش حاضر؛ کاهش غلظت سرمی اوره و کراتینین در موش‌های سوری نر با مدل ایسکمی-ریپرفیوژن^{۱۱} و موش‌های صحرایی نر پیر^۱، به دنبال تجویز نیترا در دوزهای کم (دوز ۸۵ میلی‌گرم در لیتر و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) گزارش شده است. همچنین، افزایش GFR در اثر تجویز نیترا با دوز ۸۵ میلی‌گرم در لیتر، در موش‌های سوری نر^۸ مشاهده شده است. تجویز نیترا در دوزهای بالا (دوز ۷۲۹ میلی‌گرم در لیتر)، با افزایش غلظت اوره در پلاسما^{۱۲} و خرگوش‌های نر همراه بوده است.

دلیل اثر چندگانه تجویز نیترا بر عملکرد کلیه در دوزهای مختلف مشخص نشده است. با این حال گزارش شده است که اثرات مفید نیترا بر عملکرد کلیه به واسطه‌ی کاهش فشار خون، کاهش استرس اکسیداتیو^۸، کاهش التهاب^۸ (کاهش اینترلوکین‌های ۱، ۶ و ۱۲ در پلاسما و قشر و مرکز کلیه) و افزایش cGMP می‌باشد. نیترا با تبدیل شدن به NO در بافت کلیه، منجر به افزایش cGMP^{۳۷} و در نتیجه افزایش GFR می‌شود.^{۳۸} تجویز نیترا باعث کاهش آنژیوتانسین II شده، که موجب کاهش فعالیت آنزیم NADPHⁱⁱⁱ اکسیداز (و لذا کاهش تولید آنیون سوپر اکسید) در قشر کلیه و عضلات صاف عروق می‌شود.^{۳۹} افزون بر این، در مورد سازوکار اثرات تخریبی دوز بالای نیترا می‌توان ذکر کرد که مصرف نیترا با دوز ۷۲۹ میلی‌گرم در لیتر آب آشامیدنی منجر به افزایش تولید ماده سمی به اسم پراکسی نیتريت در کلیه می‌شود.^{۴۰} این ماده منجر به اختلال در عملکرد کلیه می‌گردد که با کاهش پروتیین تام، گلوبین و آلبومین در سرم همراه است.^{۱۲}

از نقاط قوت مطالعه‌ی حاضر؛ تجویز طولانی مدت نیترا (به مدت ۶ ماه) می‌باشد. با توجه به بررسی متون صورت گرفته، اکثر مطالعات در مدت زمان کوتاه انجام شده بودند. از محدودیت‌های مطالعه‌ی حاضر می‌توان به عدم

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که تاثیر تجویز نیترا بر عملکرد کلیه موش‌های صحرایی ماده متغیر و وابسته مقادیر تجویز شده می‌باشد؛ به طوری که در دوزهای کم (دوز ۵۰ میلی‌گرم در لیتر) بی‌اثر، در دوز متوسط (۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر) اثر مفید و در دوزهای بالا (۲۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر) اثر مخرب دارد. این اثرات مفید یا مخرب نیترا بر عملکرد کلیه با تغییرات سطح سرمی اوره و کراتینین و همچنین eGFR نشان داده شد.

مطالعه‌ی حاضر نشان داد که تجویز نیترا به مدت ۶ ماه با دوزهای ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر آب آشامیدنی؛ سبب کاهش وزن‌گیری حیوانات به میزان ۱۹/۵، ۲۰/۲، ۲۳/۸، ۱۴/۲ درصد نسبت به گروه شاهد گردید. در راستای این یافته، نتایج یک متآنالیز نشان می‌دهد که تجویز نیترا باعث کاهش وزن موش‌های صحرایی نر سالم می‌شود.^{۲۸} در پژوهش‌های دیگر، تجویز نیترا با دوزهای پایین تا متوسط (۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر) به مدت ۵ و ۶ ماه^{۲۹} منجر به کاهش وزن در موش‌های صحرایی ماده گردیده است، که بیشترین اثر در دوز ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر مشاهده شده است.^{۳۰} به علاوه، تجویز نیترا با دوز بالا (۸۵۰ میلی‌گرم در لیتر) اثری بر وزن بدن موش‌های سوری ماده نداشته است.^{۳۱} مخالف با نتایج پژوهش حاضر، تجویز نیترا با دوز بالا (۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر) به مدت ۵ ماه^{۲۹} منجر به کاهش وزن بدن در موش‌های صحرایی ماده گردید. همچنین اثرات ضد چاقی نیترا در دیابت نوع ۲،^{۳۲،۳۳} سندرم متابولیک (موش‌های سوری ماده فاقد eNOSⁱ)^۳ و موش‌های سوری مدل اورکتومی تغذیه شده با غذای پر چرب^{۳۰} نیز گزارش شده است. به نظر می‌رسد اثر متناقض نیترا بر وزن بدن به دلیل تفاوت در دوز مصرفی و مدت زمان مداخله باشد.^{۲۸} به این صورت که در دوزهای بالا و هم چنین در کوتاه مدت بدون اثر می‌باشد. مطالعات نشان داده‌اند نیتريت^{۳۶} و نیترا^{۳۷} با تبدیل شدن به NO موجب افزایش cGMPⁱⁱⁱ می‌شود که به نوبه خود باعث افزایش تبدیل بافت چربی سفید به بافت چربی قهوه‌ای و کاهش چربی احشایی می‌گردد، که از عوامل مهم کاهش وزن بدن است.

i -Endothelial Nitric Oxide Synthase
ii -Cyclic Guanosine Monophosphate

iii -Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate

دوز ۵۰ میلی‌گرم در لیتر)، اثری بر عملکرد کلیه نداشت. این اثرات چندگانه‌ی تجویز طولانی مدت نیترات بر عملکرد کلیه در مطالعه‌ی حاضر؛ با تغییرات سطح سرمی اوره و کراتینین و همچنین eGFR نشان داده شد.

سپاسگزاری: نویسندگان این مقاله مراتب تشکر و قدردانی خود را از مساعدت و همکاری مرکز تحقیقات فیزیولوژی غدد درون ریز و متابولیسم، پژوهشکده علوم غدد درون‌ریز و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی در انجام این پژوهش اعلام می‌دارد. (شماره گرت: ۰-۲۶۷۰۸)

نویسندگان این مقاله اعلام می‌دارند که هیچ‌گونه تضاد منافی در پژوهش حاضر وجود ندارد.

بررسی عوامل التهابی و استرس اکسیداتیو در سرم و بافت کلیه موش‌های صحرایی اشاره کرد، چرا که این عوامل می‌توانند بر عملکرد کلیه موثر باشند. همچنین، بررسی در فاصله زمانی صفر تا ۶ ماه، که برای مشخص کردن اثرات وابسته به زمان نیترات ضروری به نظر می‌رسد، در مطالعه حاضر صورت نگرفت.

نتیجه‌گیری

نتایج مطالعه‌ی حاضر نشان داد که تجویز طولانی مدت نیترات در دوز ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر (دوز متوسط) دارای اثرات حفاظتی بر عملکرد کلیه و در دوز ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر (دوز بالا) دارای اثرات تخریبی بر عملکرد کلیه در موش‌های صحرایی ماده می‌باشد. همچنین تجویز در دوز کم

References

- GBD Chronic Kidney Disease Collaboration. Global, regional, and national burden of chronic kidney disease, 1990-2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. *Lancet* 2020; 395: 709-33.
- Li PK, Chan GC, Chen J, Chen HC, Cheng YL, Fan SL, et al. Tackling Dialysis Burden around the World: A Global Challenge. *Kidney Dis (Basel)* 2021; 7: 167-75.
- Breyer MD, Susztak K. The next generation of therapeutics for chronic kidney disease. *Nat Rev Drug Discov* 2016; 15: 568-88.
- Cobo G, Hecking M, Port FK, Exner I, Lindholm B, Stenvinkel P, et al. Sex and gender differences in chronic kidney disease: progression to end-stage renal disease and haemodialysis. *Clin Sci (Lond)* 2016; 130: 1147-63.
- Clayton JA, Collins FS. Policy: NIH to balance sex in cell and animal studies. *Nature* 2014; 509: 282-3.
- Rosenbaek JB, Al Therwani S. Effect of sodium nitrite on renal function and sodium and water excretion and brachial and central blood pressure in healthy subjects: a dose-response study. *Am J Physiol Renal Physiol* 2017; 313: F378-f87.
- Kanematsu Y, Yamaguchi K, Ohnishi H, Motobayashi Y, Ishizawa K, Izawa Y, et al. Dietary doses of nitrite restore circulating nitric oxide level and improve renal injury in L-NAME-induced hypertensive rats. *Am J Physiol Renal Physiol* 2008; 295: F1457-62.
- Yang T, Zhang X-M, Tarnawski L, Peleli M, Zhuge Z, Terrando N, et al. Dietary nitrate attenuates renal ischemia-reperfusion injuries by modulation of immune responses and reduction of oxidative stress. *Redox Biology* 2017; 13: 320-30.
- Hezel M, Peleli M, Liu M, Zollbrecht C, Jensen BL, Checa A, et al. Dietary nitrate improves age-related hypertension and metabolic abnormalities in rats via modulation of angiotensin II receptor signaling and inhibition of superoxide generation. *Free Radic Biol Med* 2016; 99: 87-98.
- Jeddi S, Gheibi S, Kashfi K, Ghasemi A. Sodium hydrosulfide has no additive effects on nitrite-inhibited renal gluconeogenesis in type 2 diabetic rats. *Life Sci* 2021; 283: 119870.
- Milsom AB, Patel NS, Mazzon E, Tripatara P, Storey A, Mota-Filipe H, et al. Role for endothelial nitric oxide synthase in nitrite-induced protection against renal ischemia-reperfusion injury in mice. *Nitric Oxide* 2010; 22: 141-8.
- Shehata S. Nitrate Detoxification of drinking water by ascorbic acid in growing rabbits. *World Rabbit Science* 2005; 13: 93-106.
- Carpentier A, Stragier S, Bréjeon C, Poortmans JR. Nitrate Supplementation, Exercise, and Kidney Function: Are There Detrimental Effects? *Med Sci Sports Exerc* 2015; 47: 1519-22.
- Carlstrom M, Montenegro MF. Therapeutic value of stimulating the nitrate-nitrite-nitric oxide pathway to attenuate oxidative stress and restore nitric oxide bioavailability in cardiorenal disease. *J Intern Med* 2019; 285: 2-18.
- Bahadoran Z, Mirmiran P, Ghasemi A, Carlström M, Azizi F, Hadaegh F. Association between Dietary Intakes of Nitrate and Nitrite and the Risk of Hypertension and Chronic Kidney Disease: Tehran Lipid and Glucose Study. *Nutrients* 2016; 8: 811.
- Forté P, Kneale BJ, Milne E, Chowienczyk PJ, Johnston A, Benjamin N, et al. Evidence for a difference in nitric oxide biosynthesis between healthy women and men. *Hypertension (Dallas, Tex : 1979)* 1998; 32: 730-4.
- Kapil V, Rathod KS, Khambata RS, Bahra M, Velmurugan S, Purba A, et al. Sex differences in the nitrate-nitrite-NO(•) pathway: Role of oral nitrate-reducing bacteria. *Free Radic Biol Med* 2018; 126: 113-21.
- Kapil V, Milsom AB, Okorie M, Maleki-Toyserkani S, Akram F, Rehman F, et al. Inorganic nitrate supplementation lowers blood pressure in humans: role for nitrite-derived NO. *Hypertension* 2010; 56: 274-81.
- Hill NR, Fatoba ST, Oke JL, Hirst JA, O'Callaghan CA, Lasserson DS, et al. Global Prevalence of Chronic Kidney Disease - A Systematic Review and Meta-Analysis. *PLoS One* 2016; 11: e0158765.
- Foxman B. Epidemiology of urinary tract infections: incidence, morbidity, and economic costs. *Am J Med* 2002; 113 Suppl 1A: 5s-13s.
- Catanuto P, Doublier S, Lupia E, Fornoni A, Berho M, Karl M, et al. 17 beta-estradiol and tamoxifen upregulate estrogen receptor beta expression and control podocyte signaling pathways in a model of type 2 diabetes. *Kidney Int* 2009; 75: 1194-201.
- Hutchens MP, Fujiyoshi T, Komers R, Herson PS, Anderson S. Estrogen protects renal endothelial barrier

- function from ischemia-reperfusion in vitro and in vivo. *Am J Physiol Renal Physiol* 2012; 303: F377-85.
23. Coggins CH, Breyer Lewis J, Caggiula AW, Castaldo LS, Klahr S, Wang SR. Differences between women and men with chronic renal disease. *Nephrol Dial Transplant* 1998; 13: 1430-7.
 24. Park YJ, Kim JM. Klotho and Postmenopausal Hormone Replacement Therapy in Women with Chronic Kidney Disease. *J Menopausal Med* 2018; 24: 75-80.
 25. Jeddi S, Yousefzadeh N, Ghasemi A. Effect of Long-term Nitrate Administration on Kidney Function in Female Rats. *Iranian Journal of Endocrinology and Metabolism* 2021; 23: 37-44.[Farsi]
 26. Rosner B. *Fundamentals of biostatistics: Cengage learning*; 2015.
 27. Besseling PJ, Pieters TT, Nguyen ITN, de Bree PM, Willekes N, Dijk AH, et al. A plasma creatinine- and urea-based equation to estimate glomerular filtration rate in rats. *Am J Physiol Renal Physiol* 2021; 320: F518-24.
 28. Bahadoran Z, Jeddi S, Gheibi S, Mirmiran P, Kashfi K, Ghasemi A. Inorganic nitrate, a natural anti-obesity agent: A systematic review and meta-analysis of animal studies. *EXCLI Journal* 2020; 19: 972-83.
 29. Chaoui AA, Zaki A, Talibi A, Chait A, Derouiche A, Aboussaouira T, et al. Effects of inorganic nitrates on thyroid gland activity and morphology in female rats. *Therapie* 2004; 59: 471-5.
 30. Bakhtiarzadeh F, Siavoshi F, Gheibi S, Kashfi K, Samadi R, Jeddi S, et al. Effects of long-term oral nitrate administration on adiposity in normal adult female rats. *Life Sci* 2018; 210: 76-85.
 31. Zhang JQJ, Saravanabavan S, Cheng KM, Raghubanshi A, Chandra AN, Munt A, et al. Long-term dietary nitrate supplementation does not reduce renal cyst growth in experimental autosomal dominant polycystic kidney disease. *PLoS One* 2021; 16: e0248400.
 32. Shokri M, Jeddi S, Faridnouri H, Khorasani V, Kashfi K, Ghasemi A. Effect of nitrate on gene and protein expression of nitric oxide synthase enzymes in insulin-sensitive tissues of type 2 diabetic male rats. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets* 2021.
 33. Khorasani V, Jeddi S, Yaghmaei P, Tohidi M, Ghasemi A. Effect of long-term sodium nitrate administration on diabetes-induced anemia and glucose homeostasis in obese type 2 diabetic male rats. *Nitric Oxide* 2019; 86: 21-30.
 34. Carlstrom M, Larsen FJ, Nystrom T, Hezel M, Borniquel S, Weitzberg E, et al. Dietary inorganic nitrate reverses features of metabolic syndrome in endothelial nitric oxide synthase-deficient mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2010; 107: 17716-20.
 35. Ohtake K, Ehara N, Chiba H, Nakano G, Sonoda K, Ito J, et al. Dietary nitrite reverses features of postmenopausal metabolic syndrome induced by high-fat diet and ovariectomy in mice. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2017; 312: E300-e8.
 36. Varzandi T, Abdollahifar MA, Haeri Rohani SA, Piryaei A, Zadeh-Vakili A, Jeddi S, et al. Effect of long-term nitrite administration on browning of white adipose tissue in type 2 diabetic rats: A stereological study. *Life Sci* 2018; 207: 219-26.
 37. Roberts LD, Ashmore T, Kotwica AO, Murfitt SA, Fernandez BO, Feelisch M, et al. Inorganic nitrate promotes the browning of white adipose tissue through the nitrate-nitrite-nitric oxide pathway. *Diabetes* 2015; 64: 471-84.
 38. Jin XH, Siragy HM, Carey RM. Renal interstitial cGMP mediates natriuresis by direct tubule mechanism. *Hypertension* 2001; 38: 309-16.
 39. Gao X, Yang T, Liu M, Peleli M, Zollbrecht C, Weitzberg E, et al. NADPH oxidase in the renal microvasculature is a primary target for blood pressure-lowering effects by inorganic nitrate and nitrite. *Hypertension* 2015; 65: 161-70.
 40. Guzik TJ, West NE, Black E, McDonald D, Ratnatunga C, Pillai R, et al. Vascular superoxide production by NAD(P)H oxidase: association with endothelial dysfunction and clinical risk factors. *Circ Res* 2000; 86: E85-90.

Original Article

Effects of Chronic Administration of Different Doses of Nitrate on Renal Function in Female Rats

Shokri M , Jeddi S , Ghasemi A 

Endocrine Physiology Research Center, Research Institute for Endocrine Sciences, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, I.R. Iran

e-mail: Ghasemi@endocrine.ac.ir

Received: 02/10/2021 Accepted: 02/01/2022

Abstract

Introduction: As a nitric oxide (NO) donor, nitrate administration improves renal function in male animals. This study aims to determine the effects of chronic administration of different doses of nitrate on kidney function in normal adult female rats by measuring serum urea and creatinine and assessing the estimated glomerular filtration rate (eGFR). **Materials and Method:** Two-month old female Wistar rats were divided into six groups (n=10/group): the control group received tap water, and five nitrate-treated groups received water containing 50, 100, 150, 250, and 500 mg/L sodium nitrate in their drinking water for six months. At the end of the study, body weight, serum urea, and serum creatinine were measured, and eGFR was calculated. **Results:** Serum urea levels decreased by 16.9% (P=0.037) at dose 100 mg/L and increased by 15% (P=0.064) and 24.7% (P=0.003) at doses 250 and 500 mg/L, respectively, after nitrate administration. Serum creatinine levels decreased only at dose 100 mg/L by 16.3% (P=0.002) after nitrate administration. Moreover, eGFR increased at dose 100 mg/L (11.5%, P=0.046), decreased at doses 250 (13.8%, P=0.018) and 500 (16.9%, P=0.004) mg/L, and remained constant at doses 50 and 150 mg/L after nitrate administration. **Conclusion:** Chronic nitrate administration exerted multiphasic effects on renal function in female rats; i.e., the low dose had no effect, the intermediate dose had a protective effect, and the high dose had detrimental effects on renal function.

Keywords: Female rat, Nitrate, Renal function, Nitric oxide