مجله‌ی غدد درون‌ریز و متابولیسم ایران
دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی شهید بهشتی
دوره‌ی بیست و سوم، شماره‌ی ۱، صفحه‌های ۴۴ ـ ۳۷ (فروردین ـ اردیبهشت ۱۴۰۰)

مقاله‌ی پژوهشی

اثر تجویز طولانی‌مدت نیترات سدیم بر عملکرد کلیه در موش‌های صحرایی ماده

دکتر سجاد جدی، دکتر نصیبه یوسف‌زاده، دکتر اصغر قاسمی

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 پروانه، پلاک ۲۴، پژوهشکده علوم غدد درون‌ریز و متابولیسم،
مرکز تحقیقات فیزیولوژی غدد درون‌ریز، دکتر اصغر قاسمی؛ e-mail: Ghasemi@endocrine.ac.ir

چکیده

مقدمه: با وجود شیوع بالاتر بیماری‌های کلیوی در جنس ماده، اثرات نیترات بر عملکرد کلیه عمدتاً در جنس نر مطالعه شده است. هدف مطالعه حاضر تعیین اثرات تجویز طولانی‌مدت نیترات سدیم بر شاخص‌های عملکرد کلیه شامل میزان فیلتراسیون گلومرولی تخمینی (**eGFR**) و سطح سرمی اوره و کرآتینین در موش صحرایی ماده بالغ سالم می‌باشد. مواد و روش‌ها: موش‌های صحرایی ماده ویستار به ۲ گروه (۱۰ سر در هر گروه) تقسیم شدند: گروه شاهد که آب آشامیدنی و گروه نیترات که آب آشامیدنی حاوی ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر نیترات سدیم به مدت ۹ ماه دریافت کردند. وزن بدن، سطح سرمی اوره و کرآتینین در ابتدا و انتهای مطالعه اندازه‌گیری و **eGFR** محاسبه شد. هم‌چنین سطح متابولیت‌های اکسید نیتریک (**NOx**) در سرم و بافت کلیه موش‌های صحرایی ماده در انتهای مطالعه اندازه‌گیری شد. یافته‌ها: در انتهای مطالعه، وزن موش‌های صحرایی و هم‌چنین سطح سرمی اوره و کرآتینین در گروه شاهد به طور معنی‌دار بالاتر و سطح **eGFR** به طور معنی‌دار پایین‌تر از ابتدای مطالعه بود. نه ماه دریافت نیترات سدیم از طریق آب آشامیدنی، مانع از افزایش وزن و هم‌چنین افزایش سطح سرمی اوره و کرآتینین و کاهش سطح **eGFR** گردید. هم‌چنین گروه تیمار شده با نیترات سدیم دارای سطح بالاتر سرمی و کلیوی **NOx** در انتهای مطالعه بودند. نتیجه‌گیری: تجویز نیترات منجر به بهبود عملکرد کلیه در موش‌های صحرایی ماده بالغ سالم گردید. این اثرات مفید می‌تواند ناشی از افزایش سطح سرمی و بافتی **NOx** باشد.

واژگان کلیدی: عملکرد کلیه، نیترات، اکسید نیتریک، میزان فیلتراسیون گلومرولی تخمینی

دریافت مقاله: ۱۴۰۰/۶/۱۳ـ دریافت اصلاحیه: ۱۴۰۰/۸/۳ ـ پذیرش مقاله: ۱۴۰۰/۸/۱۹

مقدمه

بیماری مزمن کلیه[i] (CKD) یک مشکل جهانی با هزینه اقتصادی بالا برای سیستم بهداشتی است و با افزایش خطر بیماری‌های قلبی عروقی، مرگ و کاهش کیفیت زندگی همراه است.[۱] بیماری مزمن کلیه بیش از ۱۰ درصد جمعیت جهان را درگیر کرده و بر اساس گزارش سازمان بهداشت جهانی[ii]، در سال ۱۹۹۰ رتبه ۲۷ را در بین علل مرگ و میر در سراسر جهان دارا بوده که در سال ۲۰۱۰ به رتبه ۱۸ در سال ۲۰۱۹ به رتبه ۱۰ رسیده است.[۲،۳] داروهای مختلفی برای بهبود CKD و کاهش عوارض ناشی از آن وجود دارد که برخی از آن‌ها دارای عوارض جانبی نامطلوب می‌باشند و بنابراین انجام تحقیقات بیشتر برای ارائه درمان‌های مؤثرتر ضرورت دارد.[۴]

اکسید نیتریک[iii] (NO) یک مولکول بیولوژیک ساده با نقش‌های متعدد در کلیه است.[۵] کاهش فراهم زیستی[iv] NO به علت آسیب یا اختلال در عملکرد سلول‌های اندوتلیال کلیه و هم‌چنین کاهش تولید آن، یک عامل خطر برای CKD می-

i -Chronic kidney disease
ii- Global Burden of Disease
iii- Nitric oxide
iv- Bioavailability

[Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir on 2025-07-04]
[DOR: 20.1001.1.16834844.1400.23.1.5.9]

باشد.[۶] بنابراین، مداخلاتی که بتوانند فراهم زیستی NO را افزایش دهند، می‌توانند به عنوان یک رویکرد درمانی مناسب برای CKD ارائه شوند. در مطالعات انسانی و حیوانی مختلف گزارش شده است که تجویز نیترات و نیتریت معدنی سطوح کاهش یافته NO در شرایطی مثل چاقی و دیابت را هم در سرم و هم در بافت کلیه جبران می‌کند.[۷-۹] هم‌چنین مطالعات نشان دادند که تجویز نیتریت و نیترات اثرات حفاظتی در عملکرد کلیه در موش‌های صحرایی نر مبتلا به سندروم متابولیک،[۱۰] دیابت نوع ۱ [۱۱]و دیابت نوع ۲ [۱۲] دارند که با کاهش سطح سرمی اوره و کرآتینین و افزایش میزان فیلتراسیون گلومرولی (GFR[i]) نشان داده می‌شوند.

در یک مطالعه‌ی متاآنالیز نشان داده شده است که شیوع CKD در دو سوم مطالعاتی که به طور همزمان هر دو جنس را بررسی کردند، در زنان شایع تر از مردان می‌باشد.[۱] با وجود شیوع بیشتر بیماری کلیوی در جنس ماده، اثرات مفید نیترات و نیتریت بیشتر در جنس نر مورد مطالعه قرار گرفته است. هم‌چنین در مطالعات حیوانی[۱۳] و انسانی[۱۴] گزارش شده است که با افزایش سن، GFR که به عنوان شاخص عملکرد کلیه مطرح است، کاهش می‌یابد. این کاهش GFR ناشی از افزایش سن در افراد بدون بیماری کلیوی نیز گزارش شده است.[۱۵،۱۶] با توجه به محدود بدون مطالعات در مورد اثرات نیترات و نیتریت در جنس ماده و این که برخی از جنبه‌های تجویز نیترات و نیتریت مثل مدت زمان تجویز و اثر آن بر تغییرات ناشی از افزایش سن به خوبی مشخص نشده است،[۱۷] هدف این مطالعه بررسی اثر تجویز نیترات سدیم به مدت ۹ ماه بر شاخص‌های عملکرد کلیه در موش صحرایی ماده بود.

مواد و روش‌ها

حیوانات

موش‌های صحرایی ماده از نژاد ویستار[ii] در حیوان‌خانه‌ی پژوهشکده‌ی غدد درون‌ریز و متابولیسم دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی در دمای ۱±۲۲ درجه‌ی سلسیوس و چرخه‌ی روشنایی- تاریکی ۱۲ ساعته نگه‌داری شدند. استانداردهای لازم اخلاقی در مورد روش کار حیوانات آزمایشگاهی رعایت گردید[۱۸]و مطالعه به تایید کمیته سازمانی اخلاق در پژوهشکده علوم غدد درون‌ریز و متابولیسم دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی رسید (کد اخلاق: IR.SBMU.ENDOCRINE.REC.1398.111).

مراحل اجرای مطالعه

در این مطالعه، موش‌های صحرایی ماده (نژاد ویستار با سن ۸ ماه) به ۲ گروه تقسیم شدند (۱۰ سر در هر گروه): گروه شاهد (گروه ۱) که آب آشامیدنی معمولی دریافت کردند و گروه نیترات (گروه ۲) که به مدت ۹ ماه آب آشامیدنی حاوی ۱۰۰ میلی‌گرم نیترات سدیم در لیتر دریافت می‌کردند. وزن بدن (گرم)، سطح سرمی اوره (میلی‌گرم در دسی‌لیتر) و کرآتینین (میلی‌گرم در دسی‌لیتر) در ابتدای مطالعه و هم‌چنین ۹ ماه بعد از تجویز نیترات سدیم در انتهای مطالعه اندازه‌گیری شد و میزان فیلتراسیون گلومرولی تخمینی (eGFR) به عنوان شاخص عملکرد کلیه محاسبه گردید. هم‌چنین سطح سرمی و بافتی متابولیت‌های اکسید نیتریک (NO_X) در گروه‌های مورد مطالعه در انتهای مطالعه اندازه‌گیری شد.

اندازه‌گیری سطح سرمی اوره و کرآتینین

پس از ۱۲ ساعت ناشتایی، حیوانات با استفاده از پنتوباربیتال سدیم (۶۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم) بیهوش شدند و نمونه‌های خون از دُم موش‌های صحرایی در همه گروه‌ها جمع‌آوری شد. نمونه خون به مدت ۱۰ دقیقه با ۵۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ و سرم برای اندازه‌گیری اوره و کرآتینین جدا شد. سرم‌ها تا زمان اندازه‌گیری در دمای ۸۰- درجه سلسیوس نگه‌داری شدند. اوره و کرآتینین سرم در ابتدا و انتهای مطالعه، با استفاده از دستگاه اتوآنالایزر Selectra E و کیت‌های شرکت پارس آزمون اندازه‌گیری شد.

محاسبه شاخص eGFR

پس از اندازه‌گیری وزن بدن و غلظت‌های کراتینین و اوره سرم، مقدار eGFR با استفاده از فرمول‌های زیر محاسبه شد.[۱۹]

اگر کرآتینین سرم کمتر از ۵۲ میکرومول در لیتر باشد:

i -Glomerular filtration rate
ii -Wistar

[Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir on 2025-07-04]
[DOR: 20.1001.1.16834844.1400.23.1.5.9]

eGFR (میکرولیتر در دقیقه) = ۸۸۰× وزن بدن (گرم)$^{۰/۶۹۵}$ × غلظت کرآتینین (میکرومول در لیتر)$^{-۰/۶۶۰}$ × غلظت اوره (میلی‌مول در لیتر)$^{-۰/۳۹۱}$

اگر کرآتینین سرم بالاتر از ۵۲ میکرو مول بر لیتر باشد:

eGFR (میکرولیتر در دقیقه) = ۵۸۶۲× وزن بدن (گرم)$^{۰/۶۹۵}$ × غلظت کرآتینین (میکرومول در لیتر)$^{-۱/۱۵}$ × غلظت اوره (میلی‌مول در لیتر)$^{-۰/۳۹۱}$

اندازه‌گیری سطح سرمی و بافتی متابولیت‌های اکسید نیتریک

در انتهای مطالعه، پس از ۱۲ ساعت ناشتایی، نمونه‌های سرمی و بافت کلیه از موش‌های صحرایی جمع‌آوری شد. برای اندازه‌گیری NO_X سرمی و بافتی از روش رنگ‌سنجی گریس[i] استفاده گردید. به طور خلاصه، ۱۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر سولفات روی[ii] جهت پروتئین‌زدایی به نمونه‌های کلیوی هوموژن شده و یا نمونه‌های سرمی اضافه شد و پس از مخلوط کردن؛ نمونه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در ۱۰۰۰۰ دور سانتریفوژ شدند. سپس به ۱۰۰ میکرولیتر از محلول بالایی، ۱۰۰ میکرولیتر وانادیوم کلرید III[iii] (۸ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) اضافه شد تا نیترات را به نیتریت احیاء کند. سپس ۵۰ میکرولیتر سولفانیل آمید[iv] (۲٪) و ۵۰ میکرولیتر اتیلین دی آمید دی هیدروکلرید[v] (۰/۱٪) به محول اضافه گردید و ۳۰ دقیقه در ۳۷ درجه‌ی سلسیوس انکوبه شد. جذب نوری محلول به دست آمده در طول موج ۵۴۰ نانومتر اندازه‌گیری و با استفاده از منحنی استاندارد (۰ تا ۱۰۰ میکرومولار نیترات سدیم)، غلظت نمونه‌ها محاسبه شد.

آنالیز آماری

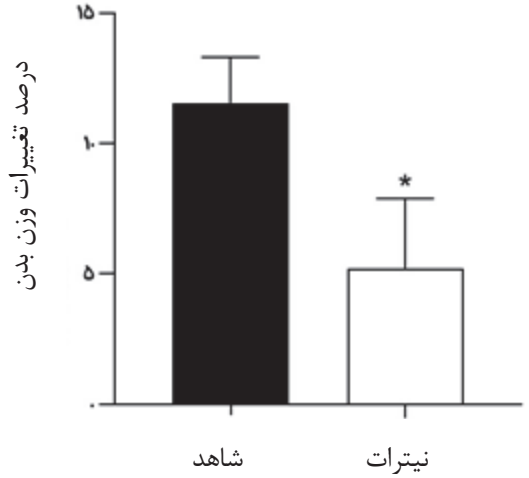
آنالیز آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار GraphPad Prism نسخه ٦ انجام شد. یافته‌های کمی به صورت میانگین±انحراف استاندارد میانگین بیان شده‌اند. جهت مقایسه‌ی درصد تغییرات سطح سرمی اوره و کرآتینین، وزن بدن، سطح NO_X سرمی و کلیوی و eGFR بین دو گروه؛ از آزمون تی -مستقل استفاده شد. P کمتر از ۰/۰۵ به عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد.

i -Griess
ii -Zinc sulfate
iii -Vanadium (III) chloride
iv- Sulfanilamide
v -N-1-(naphthyl) ethylenediamine

یافته‌ها

اثر تجویز نیترات سدیم بر وزن بدن در موش‌های صحرایی ماده

نتایج مطالعه نشان داد که وزن موش‌های صحرایی در انتهای مطالعه در گروه شاهد ۱۱ درصد (۴/۵±۲۴۴/۰ گرم در انتهای مطالعه) و نیترات ۵ درصد (۳/۹±۲۳۵/۴ گرم در انتهای مطالعه) بالاتر از ابتدای مطالعه بود که این درصد تغییرات در گروه نیترات به طور معنی‌دار کمتر از گروه شاهد بود (نمودار ۱).

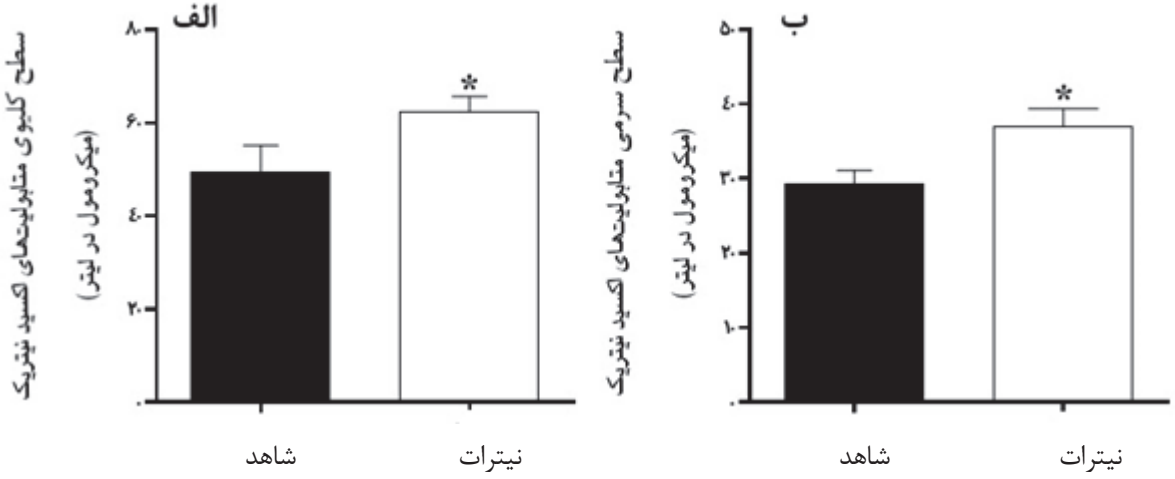


نمودار ۱- درصد تغییرات وزن بدن در موش‌های صحرایی ماده به دنبال ۹ ماه تجویز نیترات سدیم در مقایسه با گروه شاهد. تعداد موش صحرایی در هر گروه ۱۰ سر می‌باشد. *تفاوت با گروه شاهد، P<۰/۰۵ از نظر آماری معنی‌دار است.

اثر تجویز نیترات سدیم بر سطح سرمی و بافتی متابولیت‌های اکسید نیتریک در موش‌های صحرایی ماده

مصرف نیترات سدیم به مدت ۹ ماه در دوز ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر منجر به افزایش معنی‌دار سطح NO_X در سرم (۲۱ درصد) و بافت کلیه (۲٦ درصد) در موش‌های صحرایی ماده در انتهای مطالعه گردید (نمودار ۲).

[Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir on 2025-07-04]
[DOR: 20.1001.1.16834844.1400.23.1.5.9]

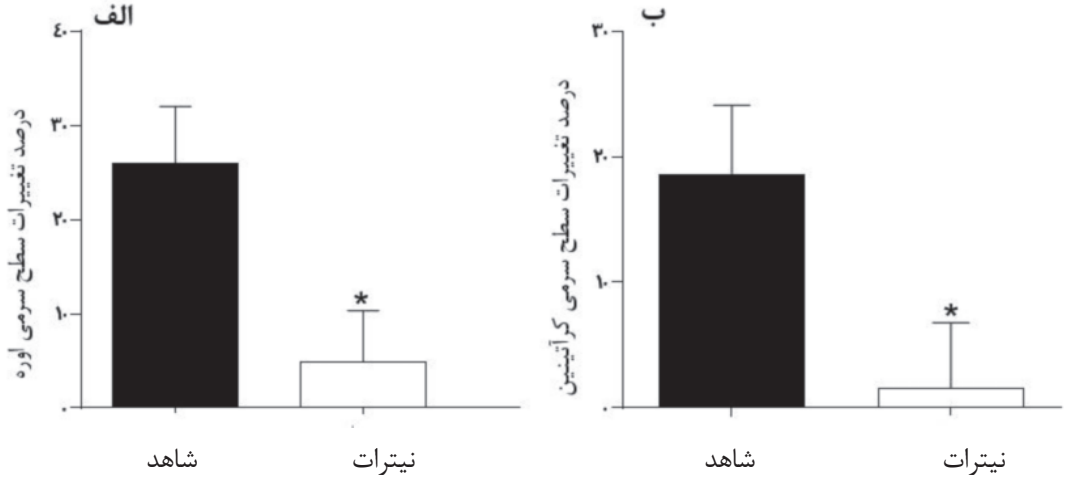


نمودار ۲- اثر تجویز نیترات سدیم بر غلظت متابولیت‌های اکسید نیتریک در بافت کلیه (الف) و سرم (ب) در موش‌های صحرایی ماده. تعداد موش صحرایی در هر گروه ۱۰ سر می‌باشد. * تفاوت با گروه شاهد، P<۰/۰۵ از نظر آماری معنی‌دار است.

اثر تجویز نیترات سدیم بر سطوح سرمی اوره و کرآتینین در موش‌های صحرایی ماده

در انتهای مطالعه سطوح سرمی اوره و کرآتینین موش‌های صحرایی در گروه شاهد به ترتیب ۲۵/۶ درصد (P=۰/۰۰۱) و ۱۷/۰ درصد (P=۰/۰۴۶) بالاتر از ابتدای مطالعه بود (سطح سرمی اوره: ۱/۴۶±۳۰/۴ میلی‌گرم در دسی‌لیتر در انتهای مطالعه در مقابل ۰/۶۸±۲۴/۲ میلی‌گرم در دسی‌لیتر در ابتدای مطالعه، سطح سرمی کرآتینین: ۰/۰۳±۰/۶۲ میلی‌گرم در دسی‌لیتر در انتهای مطالعه در مقابل ۰/۰۳±۰/۵۳ میلی‌گرم در دسی‌لیتر در ابتدای مطالعه).

در گروه نیترات در انتهای مطالعه سطوح سرمی اوره و کرآتینین تفاوت معنی‌دار با ابتدای مطالعه نشان نداند (سطح سرمی اوره: ۱/۵۹±۲۵/۹۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر در انتهای مطالعه در مقابل ۱/۴۸±۲۵/۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر در ابتدای مطالعه، سطح سرمی کرآتینین: ۰/۰۳±۰/۵۷ میلی‌گرم در دسی‌لیتر در انتهای مطالعه در مقابل ۰/۰۲±۰/۵۶ میلی‌گرم در دسی‌لیتر در ابتدای مطالعه). تجویز نیترات منجر به کاهش معنی‌دار در درصد تغییرات سطوح سرمی اوره (P=۰/۰۱۸) و کرآتینین (P=۰/۰۳۸) در گروه نیترات نسبت به گروه شاهد گردید (نمودار ۳).

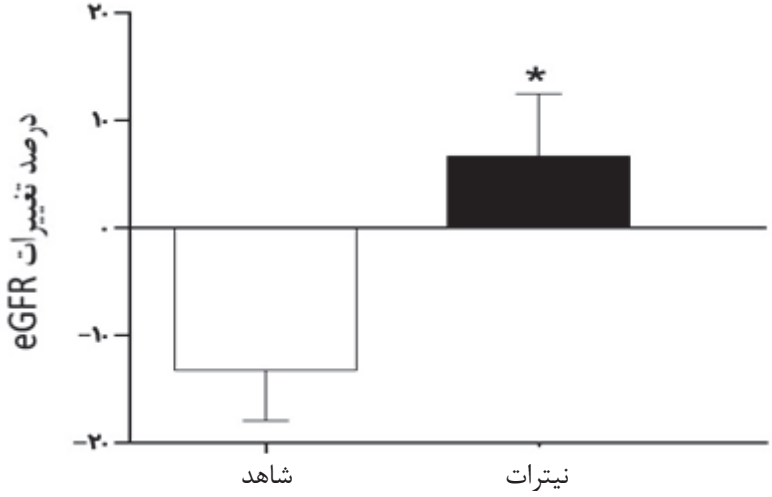


نمودار ۳- اثر تجویز نیترات سدیم بر درصد تغییرات سطح سرمی اوره (الف) و کرآتینین (ب) در موش‌های صحرایی ماده. تعداد موش‌های صحرایی در هر گروه ۱۰ سر می‌باشد. * تفاوت با گروه شاهد ، P<۰/۰۵ از نظر آماری معنی‌دار است.

[Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir on 2025-07-04]
[DOR: 20.1001.1.16834844.1400.23.1.5.9]

اثر تجویز نیترات سدیم بر eGFR در موش‌های صحرایی ماده

در انتهای مطالعه سطح eGFR موش‌های صحرایی در گروه شاهد ۱۴/۶ درصد کمتر از ابتدای مطالعه بود (۱۰۷۲±۴۵ میکرولیتر در دقیقه در انتهای مطالعه در مقابل ۱۲۵۶±۶۲ میکرولیتر در دقیقه در ابتدای مطالعه (P=۰/۰۲۸)) ولی در گروه نیترات تاثیر معنی‌دار مشاهده نشد (۱۲۵۲±۵۶ میکرولیتر در دقیقه در انتهای مطالعه در مقابل ۱۱۹۷±۷۳ میکرولیتر در دقیقه در ابتدای مطالعه (P=۰/۵۵۳)). تجویز نیترات منجر به افزایش معنی‌دار (P=۰/۰۱۵) در درصد تغییرات eGFR در گروه نیترات نسبت به گروه شاهد گردید (نمودار ٤).



نمودار ۴- اثر تجویز نیترات سدیم بر درصد تغییرات eGFR در موش‌های صحرایی ماده. تعداد موش‌های صحرایی در هر گروه ۱۰ سر می‌باشد. * تفاوت با گروه شاهد، P<۰/۰۵ از نظر آماری معنی‌دار است.

بحث

نتایج مطالعه‌ی حاضر نشان داد که تجویز طولانی مدت نیترات سدیم منجر به بهبود عملکرد کلیه در موش‌های صحرایی ماده می‌گردد که با افزایش eGFR و کاهش سطح سرمی اوره و کرآتینین همراه می‌باشد. این اثرات مفید نیترات تا حدی می‌تواند ناشی از افزایش سطح سرمی و سطح کلیوی NOx باشد.

در مطالعه حاضر، تجویز نیترات سدیم به مدت ۹ ماه با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر از افزایش وزن مشاهده شده در گروه شاهد جلوگیری کرد. موافق نتایج حاضر، کاهش وزن بدن به دنبال تجویز نیترات به مدت ۵ ماه (دوز ۵۰ تا ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر)[۲۰]، ٦ ماه (دوز ۵۰ تا ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر)[۲۱] و ۲ سال (دوز ٤۰ تا ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر)[۲۲] به صورت وابسته به دوز در موش‌های صحرایی ماده گزارش شده است. خلاف نتاج حاضر؛ در مطالعه‌ی تیل و همکاران، تجویز نیتریت سدیم با دوز ۸۱ و ۲٤۳۲ میلی‌گرم در لیتر به مدت ۱۳ هفته تاثیری بر وزن بدن موش‌های صحرایی ماده نداشت.[۲۳] به نظر می‌رسد تفاوت‌های موجود بر وزن بدن در مطالعات مختلف وابسته به دوز نیترات مصرفی و هم‌چنین مدت زمان تجویز آن باشد. این نتیجه‌گیری در مطالعه متآنالیز اخیر در موش‌های صحرایی نر نیز به اثبات رسیده است؛ به این صورت که تجویز نیترات دارای اثرات ضد چاقی بوده و این اثرات وابسته به سن موش‌های صحرایی، مدت زمان مطالعه و هم‌چنین دوز نیترات مصرفی می‌باشد.[۲٤] نیترات و نیتریت اثرات ضد چاقی خود را با کاهش وزن بدن و بهبود هومئوستاز گلوکز و انسولین اعمال می‌کنند؛[۸،۲۵] هم‌چنین کاهش مقدار چربی احشایی[۲٦] و نیز افزایش تبدیل بافت چربی سفید به قهوه‌ای در مطالعات گذشته در حیوانات نر به دنبال تجویز نیترات و نیتریت گزارش شده است.[۲۷،۲۸]

با افزایش سن موش‌های صحرایی گروه شاهد در مطالعه ی حاضر، سطوح سرمی اوره و کرآتینین افزایش یافت، که با کاهش eGFR همراه شد. موافق با نتایج حاضر، سطوح سرمی افزایش یافته‌ی کرآتینین در موش‌های صحرایی ماده در سن ۱۲ ماهگی در مقایسه با سن ۱، ۳، ٦ و ۹ ماهگی، گزارش شده است.[۱۳] افزایش مشابه در سطح سرمی اوره در موش‌های صحرایی ماده ۹ ماهه نسبت به ۱، ۳، و ٦ ماهه نیز مشاهده شده است.[۱۳] هم‌چنین غلظت سرمی اوره و کرآتینین در موش‌های صحرایی ماده با سن ۱۰۸ هفته در مقایسه با سن کمتر (۱۷ هفته) به طور قابل توجهی

[Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir on 2025-07-04]
[DOR: 20.1001.1.16834844.1400.23.1.5.9]

بیشتر بود.[۲۹] در مطالعات انسانی نیز گزارش شده است که با افزایش سن از ۳۰ تا ۴۰ سالگی کاهش عملکرد کلیه مشاهده می‌گردد؛ که از سن ۵۰ تا ۶۰ سالگی این کاهش سرعت بیشتری می‌گیرد.[۱۴] عواملی که عملکرد کلیه را با افزایش سن به خطر می‌اندازند شامل؛ کاهش پیشرونده جریان خون کلیوی و همچنین تغییرات ساختاری در کلیه می‌باشد.[۳۰،۳۱] GFR به تدریج با افزایش سن در افراد بدون بیماری کلیوی نیز کاهش می‌یابد که به طور کلی با کاهش تعداد نفرون‌ها و گلومرول‌های فعال همراه است.[۱۵،۱۶] همچنین تغییر متابولیسم عضله (محل ذخیره کرآتینین) و افزایش جذب مجدد اوره در مجرای جمع‌کننده و انتشار آن به فضای بین بافتی مدولا و خون نیز می‌تواند در این کاهش عملکرد کلیه با افزایش سن نقش داشته باشد.[۱۳،۳۲] مطالعات گذشته نشان داده‌اند که به علت احتمال عفونت مجاری ادراری بیشتر در جنس ماده، شیوع بیماری کلیوی در جنس ماده بیشتر از جنس نر است، همچنین این شیوع با افزایش سن در جنس ماده بیشتر افزایش می‌یابد (حدود ٤ درصد در دوران قبل از یائسگی که به حدود ۲۰ درصد بعد از یائسگی می‌رسد[۳۳]). دلیل این تفاوت مشاهده شده در دو جنس به طور کامل مشخص نشده است ولی برخی از مطالعات تفاوت در هورمون‌های جنسی به ویژه استروژن و همچنین عوامل خطر مربوط به بیماری کلیه (مثل شیوع بالاتر چاقی و فشار خون در زنان بعد از یائسگی) را به عنوان دلایل اصلی پیشنهاد می‌کنند.[۳٤] مشخص شده است که استروژن با مهار سیستم‌های رنین- آنژیوتانسین ۲ و همچنین تحریک سیستم NO و متالوپروتئازها در کلیه دارای نقش حفاظتی می‌باشد. به این صورت که استروژن سطوح بافتی و فعالیت آنژیوتانسین ۲ و آنزیم مبدل آنژیوتانسین و همچنین بیان گیرنده آنژیوتانسین ۱ را در کلیه کاهش می‌دهد.[۳۵] استروژن بیان NO سنتاز اندوتلیالی (eNOS) و متالوپروتئازها را افزایش (عناصر کلیدی در جلوگیری از پیشرفت CKD)، آسیمتریک دی متیل آرژینین (مهارکننده تولید NO) و استرس اکسیداتیو را کاهش می‌دهد.[۳۶-۳۸]

تجویز نیترات سدیم عملکرد کلیه را با افزایش eGFR و کاهش سطح سرمی اوره و کرآتینین در موش‌های صحرایی ماده بهبود می‌بخشد. اگرچه مطالعه‌ای وجود ندارد که اثرات تجویز ۹ ماه نیترات سدیم را بر عملکرد کلیه در موش‌های صحرایی ۱۷ ماهه ماده نشان دهد، مطابق با نتایج حاضر، گزارش شده است که تجویز نیتریت سدیم به مدت ٤ هفته منجر به بهبود عملکرد کلیه در موش‌های صحرایی نر با دیابت نوع ۱ می‌گردد.[۱۱] اثر مفید تجویز نیترات سدیم (۱۰ هفته با دوز ۱۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم در هر روز) بر عملکرد کلیه در موش‌های صحرایی نر مبتلا به سندروم متابولیک نیز گزارش شده است که این اثر با کاهش سطح سرمی اوره و کرآتینین نشان داده شده است.[۱۰] در مطالعه انجام شده در موش‌های صحرایی نر با دیابت نوع ۲ نیز بهبود عملکرد کلیه (افزایش در eGFR و کاهش سطح سرمی اوره و کرآتینین) به دنبال تجویز نیتریت سدیم (۹ هفته با دوز ۵۰ میلی‌گرم در لیتر) گزارش شده است.[۱۲] این اثرات مفید نیترات بر عملکرد کلیه می‌تواند ناشی از کاهش اسید اوریک خون و همچنین افزایش NO در دسترس باشد.[۱۰]

مطالعات نشان داده‌اند که مصرف نیتریت به عنوان‌دهنده NO از آسیب کلیوی ایجاد شده به علت استفاده از L-NAME (مهارکننده NOS) در موش صحرایی نر جلوگیری می‌کند.[۳۹] همچنین مصرف مهارکننده NOS منجر به پر فشاری خون و آسیب گلومرولی در کلیه می‌شود.[٤۰] اثرات محافظتی NO بر عملکرد کلیه حداقل تا حدی به دلیل اثرات ضد اکسیداتیو و ضد التهابی NO است.[٤۱] تجویز آنتی‌اکسیدان‌ها در موش‌های سوری که دچار اختلال در عملکرد کلیه بودند منجر به افزایش در دسترس بودن NO و به دنبال آن بهبود عملکرد کلیه (افزایش GFR) می‌گردد و این اثر حفاظتی در حضور مهارکننده NO از بین می‌رود.[٤۲] گشاد شدن عروق شریانچه آوران کلیه عمدتاً منجر به افزایش GFR می‌شود که توسط NO صورت می‌گیرد.[٤۳]

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که تجویز نیترات سدیم منجر به افزایش سطح سرمی و بافتی NO_X در موش‌های صحرایی ماده می‌گردد؛ که مشابه با مطالعات گذشته در جنس ماده[۲۱] و نر[۸] بود. بنابراین با توجه به بحث صورت گرفته، سازوکار احتمالی برای اثر نیترات بر بهبود عملکرد کلیه در مطالعه حاضر؛ می‌تواند ناشی از افزایش سطح سرمی و بافتی NO_X در موش‌های صحرایی ماده باشد. به این صورت که نیترات بعد از ورود به سلول به نیتریت و سپس به NO احیاء می‌شود و NO تولید شده سبب افزایش cGMP[i] از طریق فعال کردن گوانیلیل سیکلاز محلول می‌شود.[۲۸] cGMP با افزایش GFR موجب بهبود عملکرد کلیه می‌گردد.[٤٤]

i -Cyclic Guanosine Monophosphate

[Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir on 2025-07-04]

[DOR: 20.1001.1.16834844.1400.23.1.5.9]

از یافته‌های این مطالعه نتیجه‌گیری می‌شود که تجویز نیترات در موش صحرایی سالم ماده سبب بهبود عملکرد کلیه می‌گردد؛ این اثرات مفید می‌تواند ناشی از افزایش سطح سرمی و بافتی NOx باشد. این یافته‌ها ممکن است به طور بالقوه برای کاهش بیماری‌های کلیوی و بیماری‌های مرتبط با آن در انسان دارای کاربرد باشد.

سپاسگزاری: نویسندگان مقاله مراتب تشکر و قدردانی خود را از مساعدت و همکاری مرکز تحقیقات فیزیولوژی غدد، پژوهشکده‌ی علوم غدد درون‌ریز و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی در انجام این پژوهش ابراز می‌دارند. مطالعه حاضر حاصل طرح تحقیقاتی مصوب پژوهشکده علوم غدد درون‌ریز و متابولیسم دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی با کد پژوهان ۲۰۲۵۹ و کد طرح ۹۸۰۹۶ است.

References

1. Hill NR, Fatoba ST, Oke JL, Hirst JA, O'Callaghan CA, Lasserson DS, et al. Global Prevalence of Chronic Kid ney Disease - A Systematic Review and Meta-Analysis. PLoS One 2016; 11: e0158765-e.
2. Duan J, Wang C, Liu D, Qiao Y, Pan Sh, Jiang D, et al. Prevalence and risk factors of chronic kidney disease and diabetic kidney disease in Chinese rural residents: a cross-sectional survey. Sci Rep 2019; 9: 10408.
3. Jager KJ, Fraser SDS. The ascending rank of chronic kidney disease in the global burden of disease study. Nephrol Dial Transplant 2017; 32(suppl_2): ii121-ii8.
4. Whittaker CF, Miklich MA, Patel RS, Fink JC. Med ication Safety Principles and Practice in CKD. Clin J Am Soc Nephrol 2018; 13: 1738-46.
5. Lee J. Nitric oxide in the kidney : its physiological role and pathophysiological implications. Electrolyte Blood Press 2008; 6: 27-34.
6. Baylis C. Nitric oxide deficiency in chronic kidney dis ease. Am J Physiol Renal Physiol 2008; 294: F1-9.
7. Jeddi S, Gheibi S, Carlström M, Kashfi K, Ghasemi A. Long-term co-administration of sodium nitrite and sodi um hydrosulfide inhibits hepatic gluconeogenesis in male type 2 diabetic rats: Role of PI3K-Akt-eNOS path way. Life Sciences 2021; 265: 118770.
8. Varzandi T, Abdollahifar MA, Rohani SAH, 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.
9. Gilchrist M, Winyard PG, Fulford J, Anning C, Shore AC, Benjamin N. Dietary nitrate supplementation impr oves reaction time in type 2 diabetes: development and application of a novel nitrate-depleted beetroot juice pla cebo. Nitric oxide 2014; 40: 67-74.
10. Essawy SS, Abdel-Sater KA, Elbaz AA. Comparing the effects of inorganic nitrate and allopurinol in renov ascular complications of metabolic syndrome in rats: ro le of nitric oxide and uric acid. Arch Med Sci 2014; 10: 537-45.
11. Ohtake K, Ishiyama Y, Uchida H, Muraki E, Kobayashi J. Dietary nitrite inhibits early glomerular injury in stre ptozotocin-induced diabetic nephropathy in rats. Nitric oxide 2007; 17: 75-81.
12. Jeddi S, Gheibi S, Kashfi K, Ghasemi A. Sodium hyd rosulfide has no additive effects on nitrite-inhibited renal gluconeogenesis in type 2 diabetic rats. Life Sci 2021; 283: 119870.
13. Olukiran OS, Akomolafe RO, Ilesanmi OS, Imafidon CE, Alabi QK. Age-related changes in urinary protein excretion in relation to indices of renal function in Wistar rats. Animal Model Exp Med 2018; 1: 295-304.
14. Glassock RJ, Winearls C. Ageing and the glomerular filtration rate: truths and consequences. Trans Am Clin Climatol Assoc 2009; 120: 419-28.
15. Darmady EM, Offer J, Woodhouse MA. The parameters of the ageing kidney. J Pathol 1973; 109: 195-207.
16. Zhou XJ, Rakheja D, Yu X, Saxena R, Vaziri ND, Silva FG. The aging kidney. Kidney Int 2008; 74: 710-20.
17. Ghasemi A, Jeddi S. Anti-obesity and anti-diabetic eff ects of nitrate and nitrite. Nitric Oxide 2017; 70: 9-24
18. Ahmadi-Noorbakhsh S, Mirabzadeh Ardakani E, Sadig-hi J, Aldavood SJ, Farajli Abbasi M, Farzad-Mohajeri S. Guideline for the Care and Use of Laboratory Animals in Iran. Lab Amin(NY) 2021; 50: 303-5.
19. 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-f24.
20. 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.
21. Bakhtiarzadeh F, Siavoshi F, Gheibi S, Kashfi K, Sa madi 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.
22. program NT. Toxicology and carcinogenesis studies of sodium nitrite (CAS NO. 7632-00-0) in F344/N rats and B6C3F1 mice (drinking water studies). National Tox icology Program technical report series 2001; 495: 7.
23. Til HP, Kuper CF, Falke HE. Nitrite-induced adrenal effects in rats and the consequences for the no-observed-effect level. Food Chem Toxicol 1997; 35: 349-55.
24. Bahadoran Z, Jeddi S, Gheibi S, Mirmiran P, Kashfi K, Ghasemi A. Inorganic nitrate, a natural anti-obesity ag ent: A systematic review and meta-analysis of animal studies. EXCLI J 2020; 19: 972-83.
25. Kapil V MA, Okorie M, Maleki-Toyserkani S, Akram F, Rehman F, Arghandawi S, et al. Inorganic nitrate sup ple- mentation lowers blood pressure in humans: role for nitrite-derived NO. Hypertension 2010; 56: 274-81.
26. Carlstrom M, Larsen FJ, Nystrom T, Hezel M, Bor niquel 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.
27. 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 Sciences 2018; 207: 219-26.
28. Roberts LD, Ashmore T, Kotwica AO, Murfitt SA, Fer nandez 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.

[Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir on 2025-07-04]

[DOR: 20.1001.1.16834844.1400.23.1.5.9]

29. Owen RA, Heywood R. Age-related variations in renal structure and function in Sprague-Dawley rats. Toxicol Pathol 1986; 14: 158-67.
30. Friedman SA, Raizner AE, Rosen H, Solomon NA, Sy W. Functional defects in the aging kidney. Ann Int Med 1972; 76: 41-5.
31. Anderson S, Brenner BM. Effects of aging on the renal glomerulus. Am J Med 1986; 80: 435-42.
32. Peake M, Whiting M. Measurement of serum creatinine--current status and future goals. Clin Biochem Rev 2006; 27: 173-84.
33. Park YJ, Kim J-M. Klotho and Postmenopausal Hor mone Replacement Therapy in Women with Chronic Kidney Disease. J Menopausal Med 2018; 24: 75-80.
34. Carrero JJ, Hecking M, Chesnaye NC, Jager KJ. Sex and gender disparities in the epidemiology and outcomes of chronic kidney disease. Nature Reviews Nephrology 2018; 14: 151-64.
35. Rogers JL, Mitchell AR, Maric C, Sandberg K, Myers A, Mulroney SE. Effect of sex hormones on renal estro gen and angiotensin type 1 receptors in female and male rats. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol 2007; 292: R794-9.
36. Baylis C. Sexual dimorphism in the aging kidney: diffe rences in the nitric oxide system. Nat Rev Nephrol 2009; 5: 384-96.
37. Schulze F, Maas R, Freese R, Schwedhelm E, Silbe rhorn E, Böger RH. Determination of a reference value for N(G), N(G)-dimethyl-L-arginine in 500 subjects. Eur J Clin Invest 2005; 35: 622-6.
38. Reckelhoff JF, Baylis C. Glomerular metalloprotease activity in the aging rat kidney: inverse correlation with injury. J Am Soc Nephrol 1993; 3: 1835-8.
39. 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-F62.
40. Baylis C, Mitruka B, Deng A. Chronic blockade of nitric oxide synthesis in the rat produces systemic hype rtension and glomerular damage. J Clin Invest 1992; 90: 278-81.
41. Zhao W, Zhang J, Lu Y, Wang R. The vasorelaxant effe ct of H(2)S as a novel endogenous gaseous K(ATP) channel opener. EMBO J 2001; 20: 6008-16.
42. Wang W, Jittikanont S, Falk SA, Li P, Feng L, Gengaro PE, et al. Interaction among nitric oxide, reactive oxy gen species, and antioxidants during endotoxemia-rela ted acute renal failure. Am J Physiol Renal Physiol 2003; 284: F532-7.
43. Delles C, Klingbeil AU, Schneider MP, Handrock R, Sc häufele T, Schmieder RE. The role of nitric oxide in the regulation of glomerular haemodynamics in humans. Nephrol Dial Transplant 2004; 19: 1392-7.
44. Jin XH, Siragy HM, Carey RM. Renal interstitial cGMP mediates natriuresis by direct tubule mechanism. Hype rtension 2001; 38: 309-16.

[Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir on 2025-07-04]

[DOR: 20.1001.1.16834844.1400.23.1.5.9]

Original Article

Effect of Long-term Nitrate Administration on Kidney Function in Female Rats

Jeddi S, Yousefzadeh N, 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: 19/12/2021 **Accepted**: 23/08/2021

Abstract

Introduction: Despite the higher prevalence of kidney dysfunction in females, the effects of nitrate have mainly been studied in males. This study aimed to determine the effects of long-term sodium nitrate administration on kidney function in normal adult female rats by assessing estimated Glomerular Filtration Rate (eGFR), serum urea, and serum creatinine. Materials and Methods: Female Wistar rats were divided into two groups (n = 10 per group). The control group received tap water, and the nitrate group received tap water containing 100 mg/L sodium nitrate for nine months. Bodyweight, serum urea, and serum creatinine were measured at the beginning and end of the study, and eGFR was calculated. The nitric oxide metabolites (NOx) levels were also measured at the end of the study in serum and kidney tissue. Results: The body weight, serum urea, and creatinine levels of rats in the control group were significantly higher, and eGFR was significantly lower at the end of the study compared to the beginning of the study. Nitrate administration for nine months prevented increases in body weight, serum urea, and creatinine and decreases in eGFR. Nitrate-treated female rats also had higher NOx levels in serum and kidney tissue. Conclusion: Nitrate administration improved kidney function in female normal adult rats. These beneficial effects may be associated with increased serum and kidney levels of NOx.

Keywords: Kidney Function, Nitrate, Nitric Oxide, Estimated Glomerular Filtration Rate

[Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir on 2025-07-04]

[DOR: 20.1001.1.16834844.1400.23.1.5.9]