

## Evaluation of the effect of high intensity interval training (HIIT) and melatonin supplement on oxidative stress in rats with renal ischemia-reperfusion

Fariba Pourasghar<sup>1</sup>, Jabbar Bashiri<sup>1\*</sup>, Roghayeh Poozesh Jadidi<sup>1</sup>, Hassan Pourrazi<sup>2</sup>,

Mir Aireza NourAzar<sup>3</sup>

Receive 2023 February 24; Accepted 2023 April 30

### Abstract

**Aim:** This research investigated the effect of high intensity interval training (HIIT) and melatonin supplementation on oxidative stress markers, antioxidant enzyme activity, creatinine (Cr) and blood urea nitrogen (BUN) concentrations, as well as histopathological changes to evaluate kidney function in male rats with ischemia renal reperfusion. **Methods:** 30 male Wistar rats were randomly divided into 5 groups, healthy, Ischemia/Reperfusion (IR), IR + intense interval training, IR + melatonin supplement and IR + high intensive interval training + melatonin supplement. Except for the healthy group, the animals were subjected to ischemia-reperfusion. The HIIT protocol was implemented for 12 weeks (5 days per week). Oxidative indicators of SOD, GPX and MDA were measured by spectrophotometric method and for BUN and Cr indicators; urea was quantitatively detected by Urease-GLDH and creatinine by JAFFE method in plasma serum using photometric method. Because of normal distribution of parameters, the data were analysed by one-way analysis of variance and comparison test of two populations at significance level of ( $p < 0.05$ ). **Results:** A decrease in kidney function after IR was observed with an increase in Cr, BUN and MDA levels and a decrease in GPX and SOD ( $P < 0.05$ ). Melatonin consumption decreased BUN, Cr and MDA and increased SOD, GPX ( $P < 0.05$ ) compared to the ischemic group. In the intense interval training group, BUN decreased and GPX increased compared to the ischemic group ( $P < 0.05$ ). Performing intense interval training along with melatonin supplementation decreased BUN and Cr levels and increased SOD and GPX levels ( $P < 0.05$ ). The histopathological results showed that intense interval training along with melatonin consumption had the least damage to the kidney tissue. **Conclusions:** The high-intensity interval training and melatonin supplementation are effective in protecting kidney tissue against apoptotic damage and inflammation caused by renal ischemia.

**Keywords:** Intense interval training, melatonin, ischemia reperfusion, oxidative stress.

Scan this QR code to see the accompanying video, or visit [jahssp.azaruniv.ac.ir](http://jahssp.azaruniv.ac.ir)

1. Department of Physical Education and Sport Science, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran.
2. Department of Physical Education and Sport Science, Imam Khomeini international University, Qazvin, Iran.
3. Assistant Professor, Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Tabriz Medical Sciences, Islamic Azad University, Tabriz, Iran.  
\*(corresponding author)  
(bashiri.jabbar@gmail.com)

*Cite as:* Pourasghar, Fariba, Bashiri, Jabbar, Poozesh Jadidi, Roghayeh, Pourrazi, Hassan, NourAzar, Mir Alirezar. Evaluation of the effect of high intensity interval training (HIIT) and melatonin supplement on oxidative stress in rats with renal ischemia-reperfusion. *Applied Health Studies in Sport Physiology*. ????; ?(In press): ?-??.

**Owner and Publisher:** Azarbaijan Shahid Madani University

**Journal ISSN (online):** 2676-6507

**Access Type:** Open Access

**DOI:** 10.22049/JAHSSP.2023.28273.1543

**DOR:**



## Extended abstract

### Background

Acute kidney injury caused by ischemia-reperfusion is a common kidney disease in clinical practice, occurring in many clinical cases, and its mortality is high mainly due to its complications. Ischemia compromises the continuous supply of oxygen needed by tissues to survive and maintain their physiological function. This includes the creation of oxidative stress or the reduction of antioxidant defense, which has a definite role in the development of ischemic kidney damage. Molecular biological evidences suggest that apoptosis is the primary mechanism of cell death during renal ischemia-reperfusion. In previous studies, exercise and melatonin have been mentioned as two anti-apoptotic and antioxidant elements, therefore, this study aimed to investigate the effect of intense intermittent exercise and melatonin supplementation on oxidative stress markers and the activity of antioxidant enzymes of kidney tissue in male rats with Ischemic reperfusion injury.

### Materials and Methods

Thirty male Wistar rats (weight:  $270 \pm 30$  g) were randomly divided into 5 groups of six rats: 1) Healthy group: no exercise protocol, no supplements and ischemia, 2) Ischemia group: In this group, ischemia reperfusion was performed on animals, 3) Ischemia group + intense intermittent exercise: In this group, reperfusion was performed on animals and they were subjected to an intense intermittent exercise protocol, 4) Ischemia group + melatonin supplement: In this group, reperfusion was performed on animals and the animals received melatonin supplement, 5) Ischemia group + intense intermittent exercise + melatonin supplement: In this group, reperfusion was performed on animals and they were subjected to intense intermittent exercise protocol, the animals received melatonin supplement, melatonin powder at the rate of 10 mg/kg of rat body weight (2.5 mg for each rat) and intensive interval training protocol was implemented for 12 weeks (5 days per week). Oxidative indices of SOD, GPX, MDA were analyzed by spectrophotometric method and comparison of absorbance with standard curve using Alcyon 300 automatic analyzer using Randox kit. Also, for BUN and creatinine (Cr) indices, quantitative detection of urea using the GLDH urease method and creatinine using the JAFFE method was performed in the plasma serum sample using photometric method with Pars test kit. Histopathological findings of kidney tissue were analyzed according to the extent of histopathological damage. Microscopic studies were used to analyze pathological changes. The evaluation of pathological changes was investigated using a semi-quantitative scale and a double-blind approach. The groups were ranked according to the severity of kidney tissue damage according to the method provided by Bhalodia.

### Results

The result of analysis showed that the ratio of the SOD oxidant index in the test groups compared to the healthy group has decreased by 0.71, in ischemia + exercise group by 0.64 times, in ischemia + exercise + supplement by 0.94 times, and in the ischemia + supplement group by 1.08 times had increased. The difference between the ischemia + exercise groups compared to the ischemia group had decreased by 0.89 times, and the exercise, ischemia + supplement, ischemia + exercise + supplement groups had increased by 1.50 and 1.31 times, respectively. The GPX index had also decreased in the test groups compared to the healthy group, for instance in the ischemia group had decreased by 0.55, in ischemia + exercise group had decreased by 0.73, in ischemia + exercise + supplement had decreased by 0.98 times, and the ischemia + supplement group had increased 1.1 times. While this difference in the ischemia group + exercise had increased 1.31 times, in ischemia + supplement 1.98 times and ischemia + exercise + supplement had increased 1.72 times compared to the ischemia group. The highest increase was in the ischemia + supplement group, which are statistically significant. The ratio of MDA index in the study groups compared to the healthy group had increased: ischemia group 1.44 times, ischemia + exercise 1.54 times, ischemia + supplement 1.24 times and ischemia + exercise + supplement 1.42 times increased, and this difference in all groups were statistically significant. The amount of BUN in ischemia group, ischemia + exercise, ischemia + exercise + supplement increased by 1.67, 1.1, 1.21 and 1.31, respectively. Also, the amount of BUN in the ischemia + exercise, ischemia + supplement and ischemia + exercise + supplement groups decreased 0.65, 0.72, and 0.68 times respectively compared to the ischemia group, which is statistically significant in the three groups. The amount of Cr in ischemia, ischemia + exercise, ischemia + supplement and ischemia + exercise + supplement groups had increased by 2.21, 1.12, 1.63 and 1.19 times respectively compared to the healthy group. In the ischemia + exercise, ischemia + supplement and ischemia + exercise + supplement groups, compared to the ischemia group, there was a decrease of 0.5, 0.73, and 0.54 times respectively, which is significant in all groups. The largest decrease was observed in the group Ischemia + exercise. The results of the pathological evaluation showed that the ischemia, ischemia + intense intermittent

exercise, ischemia + melatonin and ischemia + intense intermittent exercise + melatonin supplement groups had the most severe, mild to moderate and least damage, respectively.

### Discussion

A decrease in kidney function after IR was observed with a significant increase in Cr, BUN and MDA levels and a significant decrease in GPX and SOD. A significant decrease in BUN and Cr levels was observed in all three groups, and the largest decrease was in the intense interval training group. The use of melatonin has caused a significant decrease in MDA level compared to the group of intense intermittent exercise with melatonin supplementation. Intense intermittent training with melatonin consumption caused a significant increase in SOD and GPX levels, which is the highest increase in the melatonin consumption group. The production of free oxygen radicals during the reperfusion period following ischemia are prevented by free radical attracting and antioxidant activity of melatonin. Exercise and melatonin supplementation reduce oxidative stress and provide adaptation to oxidative stress, and this is another confirmation of the supportive role of exercise along with supplementation through increasing antioxidant defense in the body.

### Article message

Our research proves that high-intensity interval training along with melatonin supplementation can be effective in protecting kidney tissue against damage caused by renal ischemia, which means improving the antioxidant capabilities of kidney tissue. Overall, our findings provide new insight into the benefits of intense interval training and melatonin supplementation as a non-invasive and efficient intervention with minimal side effects in reducing renal complications in patients and pave the way for further research for identifying the best combinations of exercise characteristics and melatonin supplement for patients.

**Keywords:** Intensive interval training, Melatonin, Kidney ischemia reperfusion, Oxidative stress

Unpublished

## مطالعات کاربردی تندرستی در فیزیولوژی ورزش

سال؟، شماره؟

؟ و ؟؟؟؟؟ صفحات؟-؟

Open Access

مقاله پژوهشی

## اثر تمرین تناوبی شدید و مکمل ملاتونین بر استرس اکسیداتیو در موش‌های صحرایی با ایسکمی ریپرفیوژن کلیوی

فریبا پوراصغر<sup>۱</sup>، جبار بشیری<sup>۱\*</sup>، رقیه پوزش جدیدی<sup>۱</sup>، حسن پوررضی<sup>۲</sup>، میرعلیرضا نور آذر<sup>۳</sup>

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۲/۱۰

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۲/۰۵

## چکیده

**هدف:** این پژوهش با هدف بررسی تاثیر تمرین تناوبی شدید و مکمل ملاتونین بر مارکرهای استرس اکسیداتیو، کراتینین (Cr)، اوره (BUN) و نیز تغییرات هیستوپاتولوژیک بر عملکرد کلیه در موش‌های نر با ایسکمی ریپرفیوژن کلیوی صورت گرفت. **روش پژوهش:** ۳۰ سر موش صحرایی نر از نژاد ویستار در ۵ گروه سالم، ایسکمی IR، IR + تمرین تناوبی شدید، IR + مکمل ملاتونین و IR + تمرین تناوبی شدید + مکمل ملاتونین تقسیم شدند. به غیر از گروه سالم در دیگر گروه‌های آزمون، حیوانات مورد ایسکمی-ریپرفیوژن قرار گرفتند. پروتکل تمرین تناوبی شدید به مدت ۱۲ هفته اجرا شد. اندازه‌گیری شاخص‌های اکسیداتیو، سوپر اکسید دیسموتاز (SOD)، گلوکاتیون پراکسیداز (GPX) و مالون دی‌الدئید (MDA) باروش اسپکتروفتومتری و شاخص‌های BUN و Cr در نمونه سرم پلاسما به روش فتومتریک با کیت پارس آزمون انجام گردید. با توجه به توزیع نرمال داده‌ها از آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون مقایسه میانگین دو جامعه‌ای برای مقایسه بین گروه‌ها استفاده شد. **یافته‌ها:** کاهش عملکرد کلیه پس از IR با افزایش سطح Cr، BUN و MDA و کاهش GPX و SOD ( $P < 0.05$ ) مشاهده شد. مصرف ملاتونین باعث کاهش BUN، Cr و MDA و افزایش SOD، GPX ( $P < 0.05$ ) نسبت به گروه ایسکمی شده است. در گروه تمرین تناوبی شدید کاهش BUN و افزایش GPX نسبت به گروه ایسکمی ( $P < 0.05$ ) مشاهده گردید. انجام تمرین تناوبی شدید به همراه مصرف مکمل ملاتونین باعث کاهش سطح BUN و Cr و افزایش SOD و GPX ( $P < 0.05$ ) شده است. نتایج هیستوپاتولوژیک نشان داد که تمرین تناوبی شدید به همراه مصرف ملاتونین کمترین آسیب را به بافت کلیه داشته است. **نتیجه‌گیری:** به نظر می‌رسد تمرین تناوبی شدید و مصرف مکمل ملاتونین در حفاظت از بافت کلیه در برابر استرس اکسیداتیو ناشی از ایسکمی ریپرفیوژن کلیوی و آسیب آپوپتوز موثر باشد.

**واژه‌های کلیدی:** تمرین تناوبی شدید، ملاتونین، ایسکمی ریپرفیوژن کلیه، استرس اکسیداتیو.

**نحوه ارجاع:** پوراصغر، فریبا، بشیری، جبار، پوزش جدیدی، رقیه، پوررضی، حسن، میرعلیرضا نورآذر. "اثر تمرین تناوبی شدید و مکمل ملاتونین بر استرس اکسیداتیو در موش‌های صحرایی با ایسکمی ریپرفیوژن کلیوی". مطالعات کاربردی تندرستی در فیزیولوژی ورزش. ؟؟؟؟؟؟، ؟ (؟)-؟؟.

صاحب امتیاز و ناشر: دانشگاه شهید مدنی آذربایجان

شاپای الکترونیکی: ۶۵۰۷-۲۶۷۶

نوع دسترسی: آزاد

DOI: 10.22049/JAHSSP.2023.28273.1543

DOR: 20.1001.

با اسکن QR فوق می‌توانید جزئیات مقاله حاضر را در سایت [www.jahssp.azaruniv.ac.ir](http://www.jahssp.azaruniv.ac.ir) مشاهده کنید.

۱. گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشکده علوم انسانی و تربیتی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران
۲. گروه علوم ورزشی، دانشکده علوم اجتماعی، دانشگاه بین‌المللی امام خمینی، قزوین، ایران
۳. استادیار گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، علوم پزشکی تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران (نویسنده مسئول): (bashiri.jabbar@gmail.com)



## مقدمه

نارسایی حاد کلیه (ARF<sup>۱</sup>) به عنوان یک مشکل عمده بالینی بیش از نیمی از بیماران ارجاع شده به ICU را شامل می‌شود که مرگ و میر ناشی از آن بسیار بالاست (۱، ۲). اکثر مرگ و میر ناشی از آسیب حاد کلیوی (AKI) عمدتاً به دلیل عوارض آن، حتی در سایر قسمت‌های بدن و خارج از کلیه است که می‌تواند شامل ادم ریوی، افزایش پتاسیم خون، التهاب پری‌کارد و بروز اسیدوز شدید باشد (۳، ۴). اما غیر از این مکانیسم‌های شناخته شده کلاسیک، عوامل مهمی دیگری از قبیل پاسخ سیستمیک عمومی، فعال سازی سیستم عصبی سمپاتیک، سیستم رنین-آنژیوتنسن-آلدوسترون (RAAS<sup>۲</sup>) و افزایش استرس اکسایشی نیز بر روی قلب اثرات مستقیم و فوری دارند (۵). ایسکمی تامین مداوم اکسیژن مورد نیاز بافت‌ها برای بقا و حفظ عملکرد فیزیولوژیکی خود را به خطر می‌اندازد. این شامل ایجاد استرس اکسیداتیو از طریق تولید آنیون‌های سوپراکسید (O<sub>2</sub><sup>-</sup>) است (۶). تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) مانند O<sub>2</sub><sup>-</sup> و رادیکال هیدروکسیل (OH) و همچنین گونه‌های نیتروژن فعال (RNS) مانند اکسید نیتریک (NO) و پراکسی نیتريت (OONO<sup>-</sup>) یا کاهش دفاع آنتی‌اکسیدانی منجر به استرس اکسیداتیو می‌شود، که نقش قطعی در ایجاد آسیب خونرسانی مجدد ایسکمی کلیوی (IR) و نارسایی حاد ایسکمیک کلیه (ARF) دارد. تعامل O<sub>2</sub> با NO باعث تولید OONO<sup>-</sup> می‌شود که سبب آسیب سلولی از طریق شکستن رشته DNA و نیتراسیون باقی مانده‌های تیروزین روی پروتئین‌ها می‌گردد (۷، ۸). OONO<sup>-</sup> همچنین می‌تواند آنیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند سوپراکسید دیسموتاز (SOD) را نیترات و غیرفعال کند و با افزایش استرس اکسیداتیو به آسیب بیشتر IR کلیوی کمک کند (۹). آپوپتوز مرگ فیزیولوژیکی است که اصلی‌ترین مکانیسم در تکامل و هموستازیس بافت‌های بالغ در جهت حذف سلول‌های غیر ضروری، آلوده، چسب و یا آسیب دیده بواسطه مسیرهای خودکشی داخلی است و عوامل مختلف فیزیولوژیکی و پاتولوژیکی باعث القای آن می‌گردند. تحقیقات نشان داده است که فعالیت حاد ورزشی می‌تواند موجب تغییر روند آپوپتوز گردد. به عنوان نمونه فعالیت ورزشی شدید چندین فاکتور مربوط به آپوپتوز را تحت تاثیر قرار می‌دهد برای مثال هورمون‌ها (گلوکوکورتیکوئیدها، کاتکولامین‌ها و...)، تولید گونه‌های اکسیژن واکنش پذیر ROS، استرس اکسایشی، افزایش سطوح کلسیم داخل سلولی و مسیرهای سیگنالیک درون سلولی، سایتوکاین‌ها مثل TNF $\alpha$ ، تعدادی از عواملی هستند که با فعالیت ورزشی ارتباط داشته و می‌توانند منجر به آپوپتوز گردند (۱۰). بررسی‌های زو و همکاران نشان داد که تمرین هوازی از طریق سرکوب گسیختگی گیکوکالیکس و اتصالات محکم و چسباننده ناشی از MMPs<sup>۳</sup>، در برابر نفوذپذیری عروق اندوتلیال کلیوی و AKI ناشی از LPS اثر محافظتی دارد (۱۱). وو و همکاران مکانیسم آنتی‌اکسیدانی، اتوفازای و آپوپتوز در موش‌های صحرایی غیر نفرکتومی تحت کنترل را ارزیابی کردند (۱۲). نتایج نشان داد که ۶۰ دقیقه ایسکمی کلیوی باعث افزایش استرس اکسیداتیو توبولار کلیوی، پرو آپوپتوز و اتوفازای در کلیه موش صحرایی شد. دو مرحله ایسکمی ۳۰ دقیقه‌ای با خونرسانی مجدد ۳ دقیقه به طور قابل توجهی محتوای ATP کلیوی را حفظ، مکانیسم‌های دفاعی آنتی‌اکسیدانی را افزایش

و ایسکمی خونرسانی مجدد کلیوی، استرس اکسیداتیو لوله‌ای، آزادسازی سیتوکروم C سیتوزولی، آپوپتوز و اتوفازای در کلیه را کاهش می‌دهد. احمدی اصل و همکاران اثر تجویز همزمان ملاتونین (MEL) و اریتروپویتین (EPO)، عوامل آنتی‌اکسیدانی و ضد التهابی قوی، بر آسیب کلیوی ناشی از IR در موش صحرایی را مطالعه کردند. موش‌های صحرایی و بستار به‌طور یک‌طرفه نفرکتومی شدند و تحت ۴۵ دقیقه انسداد ساقه کلیه قرار گرفتند و سپس خون‌رسانی مجدد ۲۴ ساعته انجام شد (۱۳). ملاتونین ۱۰ mg/kg و اریتروپویتین ۵۰۰۰ U/kg قبل از ایسکمی تجویز شد. نتایج نشان داد که خون‌رسانی مجدد ایسکمی به طور قابل توجهی سطوح اوره و MDA را افزایش و فعالیت‌های CAT و SOD را کاهش می‌دهد. یافته‌های هیستوپاتولوژیک گروه IR تایید کرد که نارسایی کلیوی در اپیتلیوم لوله‌ای وجود دارد. درمان با EPO و MEL به طور قابل توجهی باعث کاهش سطح اوره و افزایش فعالیت SOD و GPX می‌شود. از طرفی اثربخشی ملاتونین در درمان بیماری کلیوی (IR) مطالعه شده است (۱۴-۱۶). ملاتونین هورمونی است که از غده صنوبری و اندام‌های غنی از میتوکندری از قبیل قلب و مغز ترشح می‌شود و عمدتاً مسئول کنترل چرخه شبانه روزی است (۱۷، ۱۸). ملاتونین دارای اثرات ضد التهابی و ضد آپوپتوز و همچنین سایر خواص قابل توجه محافظ سلولی است (۱۹). ملاتونین به دلیل توانایی قوی در کاهش ROS به عنوان یک آنتی‌اکسیدان عالی نشان داده شده است. با توجه به اینکه در تحقیقات زیاد از ورزش و ملاتونین به عنوان دو عنصر آنتی‌آپوپتوزی و آنتی‌اکسیدانی اشاره می‌شود اما اثر بخشی تمرینات ورزشی و مصرف مکمل‌ها از جمله ملاتونین بر پیش آماده سازی در برابر بیماری‌های کلیوی و یا درمان بیماران مبتلا به کلیه جای مطالعه دارد. لذا این پژوهش با هدف بررسی تاثیر تمرینات ورزشی تناوبی شدید و مکمل ملاتونین بر مارکرهای استرس اکسیداتیو و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و همچنین غلظت کراتینین سرم و نیتروژن اوره خون (BUN) به عنوان شاخص‌های کلاسیک برای ارزیابی عملکرد کلیه و نیز تغییرات هیستوپاتولوژیک بافت کلیه به دنبال ۱۲ هفته تمرین تناوبی پر شدت و مصرف مکمل ملاتونین در رت‌های نر با ایسکمی ریپرفیوژن کلیوی صورت می‌گیرد.

## روش پژوهش

مطالعه بر روی ۳۰ سر موش صحرایی نر در محدوده وزنی  $270 \pm 30$  گرم از نژاد ویستار از مرکز انسیستیتو پاستور کرج تهیه و در شرایط استاندارد (دمای  $22 \pm 2$  درجه سانتیگراد و رطوبت نسبی  $50 \pm 5$  درصد و چرخه تاریکی و روشنایی ۱۲:۱۲ ساعته) در قفسی از مواد پلی‌کربنات شفاف و قابلیت اتوکلاو با اندازه  $21 \times 22 \times 54$  در آزمایشگاه دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد تبریز نگهداری شدند. با استفاده از محاسبه حجم نمونه به روش کوهن بر اساس شاخص اندازه اثر و توان آزمون برای هر گروه (۵ گروه) با توجه به متوسط اندازه اثر ۱۳ متغیر (۰/۴۵) و حداقل توان آزمون ۸۰ درصد تعداد نمونه‌های لازم برای هر متغیر در این تحقیق ۶ نمونه در نظر گرفته شد. کلیه اصول اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی در این پژوهش بر اساس دستورالعمل کمیته اخلاق و قوانین حمایت از حیوانات آزمایشگاهی پژوهش‌های زیست پزشکی رعایت شد (کد اخلاق در پژوهش‌های زیست پزشکی IR.IAU.TABRIZ.REC.1402.133).

<sup>۳</sup> MMPs-mediated disruption of glyocalyx and tight and adherens junctions

<sup>۱</sup> Acute Renal Failure

<sup>۲</sup> Renin-Angiotensin-Aldosterone system



نوارگردان صفر درصد، سرعت در ابتدای دوره ۱۵-۱۰ متر بر دقیقه و در انتهای دوره ۲۵-۲۰ متر بر دقیقه و مدت تمرین ۱۰-۵ دقیقه در روز بود. پس از دوره آشناسازی، همه حیوانات یک آزمون فزاینده و آماده ساز را برای محاسبه سرعت بیشینه (Vmax) اجرا کردند. در این آزمون، سرعت دویدن با ۱۰ متر بر دقیقه شروع و هر دو دقیقه یکبار، سرعتی معادل با سه متر بر دقیقه به آن اضافه شد تا زمانی که موش‌ها به حالت واماندگی برسند (ملاک ۳ بار افتادن روی شوک یا خروج از نوار تردمیل است). پروتکل اصلی تمرین (جدول ۱) سرعت دویدن در تناوب‌های با شدت بالا حدود ۹۰-۸۵ درصد سرعت بیشینه و در تناوب‌های با شدت پایین (استراحت فعال) حدود ۵۰-۴۵ درصد سرعت بیشینه بود و برای رعایت اصل اضافه بار، هر هفته حدود پنج درصد به میانگین سرعت نوارگردان اضافه شد. برنامه‌های گرم و سرد کردن در ابتدا و انتهای هر تمرین به مدت ۵ دقیقه با سرعت ۱۰ متر بر دقیقه برابر با ۴۰-۳۰٪ Vo2max برای موش‌ها در نظر گرفته شد (۲۳).

### سنجش متغیرها

پس از ۳ ماه تجویز، در نهایت رت‌ها ۲۴ ساعت پس از پایان پروتکل تمرینی (طبق استاندارد کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی) با بیهوشی با اثر کشته و کالبد شکافی انجام گردید. بعد از برداشتن نمونه خون و جداسازی سرم، سر جدا شده و کلیه‌ها خارج شد و بخشی از بافت کلیه در فرمالین ده درصد تثبیت و بخش‌های دیگر تا زمان تحلیل در نیترژن مایع منجمد شده و تا زمان تحلیل در ۷۰- درجه فریز شد. از نمونه های بافتی با استفاده از روش های معمول پاساژ بافت و تهیه مقاطع آسیب شناسی برش های متوالی با ضخامت ۵ میکرون و با رنگ آمیزی هماتوکسلین/ئوزین (H&E) آماده شده و برای آنالیز تغییرات پاتولوژیک داده ها از مطالعات میکروسکوپی استفاده گردید. بافت کلیه با توجه به میزان آسیب هیستوپاتولوژیک بررسی و مقاطع آسیب شناسی بافتی توسط یک مقیاس نیمه کمی و به صورت دوسو کور (Semi quantitative scale) جهت ارزیابی از لحاظ تغییرات پاتولوژیک مورد مطالعه قرار گرفتند و گروه‌ها از لحاظ شدت آسیب بافت کلیه بر اساس روش ارائه شده توسط رتبه بهالودیا رتبه بندی شدند (۲۴). اندازه گیری شاخص های اکسیداسیو SOD، GPX، MDA، باروش اسپکتروفتومتری و مقایسه جذب با منحنی استاندارد که تمام محاسبات فوق توسط دستگاه اتوآنالیزور Alcyon 300 با کیت رندوکس به صورت اتوماتیک انجام شد و همچنین برای شاخص‌های Cr، BUN، Cr، تشخیص کمی اوره به روش (Urease- GLDH) در نمونه‌ی سرم، پلاسما به روش فتومتریک و تشخیص کمی کراتینین به روش (JAFFE) در نمونه‌ی سرم، پلاسما به

جهت ایجاد مدل نفروکتومی یک طرفه ابتدا حیوانات در گروه‌های ایسکمی رپرفیوژن به وسیله تزریق درون صفاقی (زایلازین ۵ mg/kg و محلول کتامین ۴۰ mg/kg) بیهوش شدند. در حین جراحی موش‌ها روی پد گرم (با دمای ۳۵ تا ۳۷ درجه) قرار داده شدند. پس از ضد عفونی کردن برش طولی بر روی شکم ایجاد و عروقی که وارد کلیه چپ حیوان می‌شود به وسیله کلمپ بوداک به طور غیرتروماتیک به مدت ۴۵ دقیقه مسدود شده، سپس کلمپ به آرامی برداشته و جریان برقرار شد و پس از کسب اطمینان از برقراری جریان خون مجدد، محل برش جراحی با نخ سیلک جذبی ۳ صفر دوخته شده و پس از پانسمان، موش‌ها در حین دوره ریکاوری در حیوانخانه در شرایط استریل به قفس‌های مجزا انتقال یافته و تیمار شدند. پس از گذشت ۱۵ روز از ایجاد عمل نفروکتومی یک طرفه، حیوانات دسترسی آزاد به چیره استاندارد پلت و آب آشامیدنی قرار گرفتند. پس از یک دوره سازگاری ۶ روزه، حیوانات به طور تصادفی به پنج گروه ۶ حیوانی تقسیم بندی شدند: ۱- گروه سالم: بدون پروتکل تمرین ورزشی، دریافت مکمل و ایسکمی و فقط از آب و غذای معمولی و استاندارد استفاده نمودند. ۲- گروه ایسکمی: در این گروه بر روی حیوانات ایسکمی رپرفیوژن انجام شد و حیوانات از آب و غذای معمولی استفاده کردند، ۳- گروه ایسکمی + تمرین تناوبی شدید: در این گروه بر روی حیوانات ایسکمی رپرفیوژن انجام شد و تحت پروتکل تمرین با تناوب شدید قرار گرفتند. حیوانات فقط از آب و غذای معمولی استفاده کردند، ۴- گروه ایسکمی + مکمل ملاتونین: در این گروه بر روی حیوانات ایسکمی رپرفیوژن انجام شد و حیوانات از آب و غذا و مکمل ملاتونین استفاده کردند، ۵- گروه ایسکمی + تمرین تناوبی شدید+ مکمل ملاتونین: در این گروه بر روی حیوانات ایسکمی رپرفیوژن انجام شد و تحت پروتکل تمرین ورزشی با تناوب شدید قرار گرفتند. حیوانات از آب و مکمل ملاتونین استفاده کردند.

### پروتکل مکمل دهی

پودر ملاتونین به میزان ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن رت (۲/۵ میلی گرم برای هر رت) ابتدا با ترازوی دیجیتال وزن شد و با محلول سالین رقیق و نیم سی سی از این محلول آماده شده بصورت روزانه به مدت ۱۲ هفته در گروه ایسکمی + مکمل ملاتونین، و گروه ایسکمی + تمرین تناوبی شدید + مکمل ملاتونین (بعد از تمرین) با سرنگ ونیدل گاواژ انجام گرفت (۲۰-۲۲).

### پروتکل تمرینات ورزشی

پروتکل تمرین با تناوب شدید به مدت ۳ ماه با ۵ جلسه در هفته انجام شد. در ابتدا تمامی موش‌های صحرایی به مدت ۷ روز تحت برنامه‌ی آشنایی با نحوه فعالیت روی نوارگردان قرار گرفتند. در طی این دوره، شیب

های آزمایشی در جدول ۲ ارائه شده است. نتایج تحلیل‌ها نشان داد که نسبت شاخص اکسیدان SOD در گروه‌های آزمایشی نسبت به گروه سالم به ترتیب گروه ایسکمی (0/71) ( $P < 0/05$ )، ایسکمی + تمرین 0/64 ( $P < 0/05$ ) و گروه ایسکمی + تمرین + مکمل 0/94 برابر کاهش و در گروه ایسکمی + مکمل 1/08 برابر افزایش داشته است. اختلاف گروه های ایسکمی + تمرین نسبت به گروه ایسکمی 0/89 برابر کاهش و گروه تمرین، ایسکمی + مکمل، ایسکمی + تمرین + مکمل نسبت به گروه ایسکمی به ترتیب 1/50 ( $P < 0/05$ ) و 1/31 ( $P < 0/05$ ) برابر افزایش داشته است.

شاخص GPX نیز در گروه‌های آزمایشی نسبت به گروه سالم به ترتیب گروه ایسکمی 0/55 ( $P < 0/05$ )، ایسکمی + تمرین 0/73 ( $P < 0/05$ ) و ایسکمی + تمرین + مکمل 0/98 برابر کاهش و گروه ایسکمی + مکمل 1/11 برابر افزایش داشته است. در حالی که این اختلاف در گروه ایسکمی + تمرین 1/31، ایسکمی + مکمل 1/98 و ایسکمی + تمرین + مکمل 1/72 برابر نسبت به گروه ایسکمی افزایش داشته‌اند که بیشترین افزایش در گروه ایسکمی + مکمل بوده و این اختلاف در تمامی گروه‌ها معنی‌دار ( $P < 0/05$ ) است.

نسبت شاخص MDA در گروه‌های مطالعه نسبت به گروه سالم، گروه ایسکمی 1/44، ایسکمی + تمرین 1/54، ایسکمی + مکمل 1/24 و ایسکمی + تمرین + مکمل 1/42 برابر افزایش داشته و این اختلاف در تمامی گروه‌ها معنی‌دار ( $P < 0/05$ ) است. در حالی که نسبت گروه‌های آزمایشی نسبت به گروه ایسکمی در گروه ایسکمی + مکمل 0/86، ایسکمی + تمرین + مکمل 0/98 ( $P < 0/05$ ) برابر کاهش و در گروه ایسکمی + تمرین 1/06 برابر افزایش داشته است.

نتایج تحلیل نشان داد که میزان BUN در گروه ایسکمی، ایسکمی + تمرین، ایسکمی + تمرین + مکمل نسبت به گروه سالم به ترتیب 1/67 ( $P < 0/05$ )، 1/1، 1/21 و 1/31 ( $P < 0/05$ ) افزایش داشته است. همچنین میزان BUN در گروه ایسکمی + تمرین، ایسکمی + مکمل و ایسکمی + تمرین + مکمل به طور قابل توجهی نسبت به گروه ایسکمی، 0/65، 0/72، 0/68 برابر کاهش یافته که این اختلاف در سه گروه معنی‌دار ( $P < 0/05$ ) است.

مقدار کراتینین (Cr) در گروه ایسکمی، ایسکمی + تمرین، ایسکمی + مکمل و ایسکمی + تمرین + مکمل نسبت به گروه سالم به ترتیب 2/21 ( $P < 0/05$ )، 1/12، 1/63 و 1/19 ( $P < 0/05$ ) برابر افزایش داشته است. در مقایسه گروه‌های ایسکمی + تمرین، ایسکمی + مکمل و ایسکمی + تمرین + مکمل نسبت به گروه ایسکمی به ترتیب 0/5، 0/73 و 0/54 برابر کاهش داشته است که این اختلاف در همه گروه‌ها معنی‌دار ( $P < 0/05$ ) است و بیشترین کاهش در گروه ایسکمی + تمرین مشاهده می‌شود.

روش فتومتریک با کیت پارس آزمون انجام گردید. تحلیل آماری جهت تحلیل اعداد خام بدست آمده از پارامترهای تحقیق از روش  $mean \pm SEM$  و برای نرمالیت از آزمون شاپیروویلیک و برای بررسی تاثیر گروه‌های آزمایشی برای هر متغیر از روش آماری آنالیز یک طرفه و برای مقایسه بین گروه‌های آزمایشی از آزمون مقایسه میانگین دو جامعه‌ای در سطح معنی داری 0/05 استفاده شد. نتایج با توجه به توزیع نرمال متغیرهای SOD، GPX، MDA، BUN و Cr جهت بررسی تاثیر گروه‌های آزمایشی بر این متغیرها از روش آماری آنالیز واریانس و آزمون مقایسه میانگین دو جامعه‌ای استفاده شد. میانگین و خطای استاندارد شاخص‌های مورد بررسی در گروه‌های آزمایشی در جدول ۲ ارائه شده است. نتایج تحلیل‌ها نشان داد که نسبت شاخص اکسیدان SOD در گروه‌های آزمایشی نسبت به گروه سالم به ترتیب گروه ایسکمی 0/71 ( $P < 0/05$ )، ایسکمی + تمرین 0/64 ( $P < 0/05$ ) و گروه ایسکمی + تمرین + مکمل 0/94 برابر کاهش و در گروه ایسکمی + مکمل 1/08 برابر افزایش داشته است. اختلاف گروه‌های ایسکمی + تمرین نسبت به گروه ایسکمی 0/89 برابر کاهش و گروه تمرین، ایسکمی + مکمل، ایسکمی + تمرین + مکمل نسبت به گروه ایسکمی به ترتیب 1/50 ( $P < 0/05$ ) و 1/31 ( $P < 0/05$ ) برابر افزایش داشته است. شاخص GPX نیز در گروه‌های آزمایشی نسبت به گروه سالم به ترتیب گروه ایسکمی 0/55 ( $P < 0/05$ )، ایسکمی + تمرین 0/73 ( $P < 0/05$ ) و ایسکمی + تمرین + مکمل 0/98 برابر کاهش و گروه ایسکمی + مکمل 1/11 برابر افزایش داشته است. در حالی که این اختلاف در گروه ایسکمی + تمرین 1/31، ایسکمی + مکمل 1/98 و ایسکمی + تمرین + مکمل 1/72 برابر نسبت به گروه ایسکمی افزایش داشته‌اند که بیشترین افزایش در گروه ایسکمی + مکمل بوده و این اختلاف در تمامی گروه‌ها معنی‌دار ( $P < 0/05$ ) است.

نسبت شاخص MDA در گروه‌های مطالعه نسبت به گروه سالم، گروه ایسکمی 1/44، ایسکمی + تمرین 1/54، ایسکمی + مکمل 1/24 و ایسکمی + تمرین + مکمل 1/42 برابر افزایش داشته و این اختلاف در تمامی گروه‌ها معنی‌دار ( $P < 0/05$ ) است. در حالی که نسبت گروه‌های آزمایشی نسبت به گروه ایسکمی در گروه ایسکمی + مکمل 0/86، ایسکمی + تمرین + مکمل 0/98 ( $P < 0/05$ ) برابر کاهش و در گروه ایسکمی + تمرین 1/06 برابر افزایش داشته است.

#### یافته‌ها

با توجه به توزیع نرمال متغیرهای SOD، GPX، MDA، BUN و Cr جهت بررسی تاثیر گروه‌های آزمایشی بر این متغیرها از روش آماری آنالیز واریانس و آزمون مقایسه میانگین دو جامعه‌ای استفاده شد. میانگین و خطای استاندارد شاخص‌های مورد بررسی در گروه

گلومرول مشاهده می‌شود. در گروه ایسکمی+ تمرین + مکمل (شکل ۲) از بروز تغییرات پاتولوژیک در بافت کلیه به شدت کاسته شده بود و تغییرات بافتی عمدتاً به شکل پرخونی و ادم خفیف واکوتولاسیون خفیف سیتوپلاسم سلول‌های پوششی توبولی (نوک پیکان) و همچنین پرخونی، ادم و ارتشاح خفیف تک‌هسته‌ای‌ها در فضای میان بافتی بود. آسیب‌های گلومرولی (پیکان) نیز در حد جزئی قابل مشاهده بود از تغییرات بافت بینابینی نیز به شدت کاسته شده و ادم و پرخونی خفیفی (پیکان ضخیم) در آن قابل مشاهده می‌باشد. شکل ۳ نمودار تاثیر تمرین تناوبی شدید و مصرف مکمل ملاتونین بر آسیب ایسکمی بافت کلیه در تمامی گروه‌های مورد مطالعه را نشان می‌دهد. در گروه‌های آزمایشی ایسکمی، ایسکمی+ تمرین تناوبی شدید، ایسکمی+ ملاتونین و ایسکمی + تمرین تناوبی شدید+ مکمل ملاتونین به ترتیب شدیدترین، ملایم تا متوسط و کمترین آسیب را به بافت کلیه موش‌های صحرایی داشته است.

بررسی آسیب شناسی بافت کلیه و مشاهدات ریزینی (میکروسکوپی) از منطقه قشری بافت کلیه موش‌های گروه سالم ساختار کاملاً سالم و طبیعی را نشان می‌دهد (شکل ۲الف). در گروه ایسکمی-بازخونسازی (شکل ۲ب) واکوتولاسیون و نکروز شدید و گسترده سلول‌های اپیتلیال توبولی (نوک پیکان) و همچنین تغییرات شدید نکروز و آتروفی گلومرولی همراه پرخونی و خونریزی در کلافه مویرگی گلومرولی (پیکان نازک) و ادم و آماس شدید در فضای بافت بینابینی بافت کلیه (پیکان ضخیم) مشاهده می‌گردد. شکل ۳ج نمای ریزینی از قسمت قشری بافت کلیه یک موش صحرایی از گروه ایسکمی-بازخونسازی به‌علاوه انجام تمرین تناوبی شدید را نشان می‌دهد که در آن تغییرات متوسط دژنراتیو همراه با نکروز متوسط سلول‌های اپیتلیال توبولی و تغییرات آتروفیک در گلومرول‌ها و همچنین ارتشاح متوسط تک‌هسته‌ای‌ها در فضای بینابینی است. در نمونه‌های بافتی متعلق به گروه ایسکمی+ تیمار با مکمل ملاتونین (شکل ۳ج) آسیب بافتی عمدتاً به شکل تغییرات ملایم تا متوسط دژنراتیو همراه با نکروز ملایم تا متوسط سلول‌های اپیتلیال توبولی (نوک پیکان) و تغییرات خفیف تا ملایم دژنراتیو در گلومرول‌ها همراه با اتساع ملایم فضای ادراری (پیکان نازک) و همچنین ارتشاح ملایم تک‌هسته‌ای‌ها در فضای بینابینی و اطراف

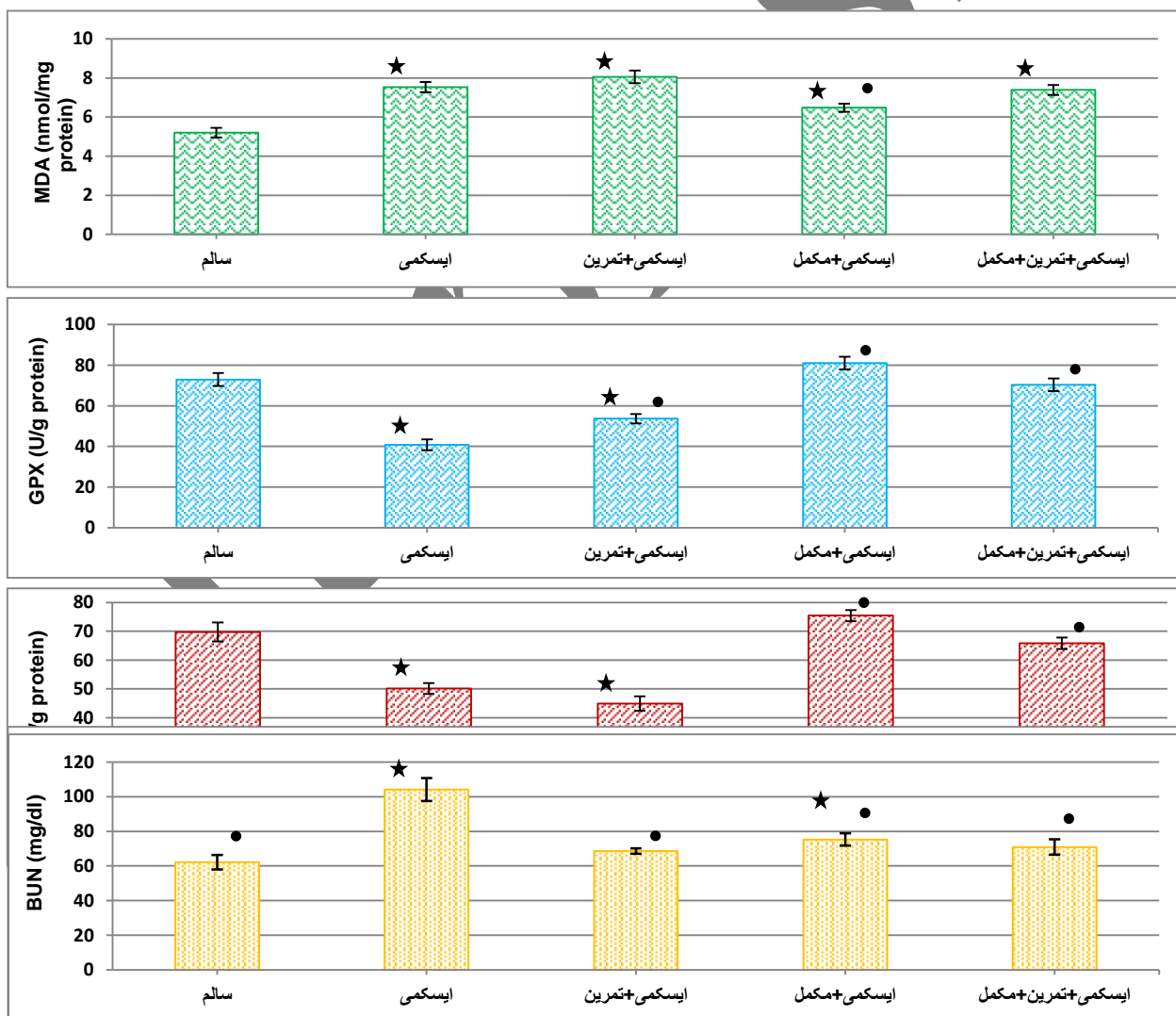
جدول ۱: پروتکل تمرین موش‌های صحرایی

هفته	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸	۹	۱۰	۱۱	۱۲
تناوب شدید Vo2max ۸۵-۹۰ %	سرعت نوارگردان (متر بر دقیقه)	۲۶	۲۷	۲۸	۲۹	۳۰	۳۱	۳۲	۳۳	۳۴	۳۵	۳۶
	زمان تناوب (دقیقه)	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲
تناوب سبک (استراحت فعال) Vo2max ۴۵-۵۰ %	سرعت نوارگردان (متر بر دقیقه)	۱۰	۱۱	۱۲	۱۳	۱۴	۱۵	۱۶	۱۷	۱۸	۱۹	۲۰
	زمان تناوب (دقیقه)	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲
تعداد تکرار	۵	۶	۷	۸	۹	۱۰	۱۱	۱۲	۱۳	۱۴	۱۵	۱۶
شیب نوار گردان	۳	۳	۳	۳	۳	۳	۳	۳	۳	۳	۳	۳
مدت کل تمرین (دقیقه در روز)	۲۰	۲۴	۲۸	۳۲	۳۶	۴۰	۴۴	۴۸	۵۲	۵۶	۶۰	۶۴

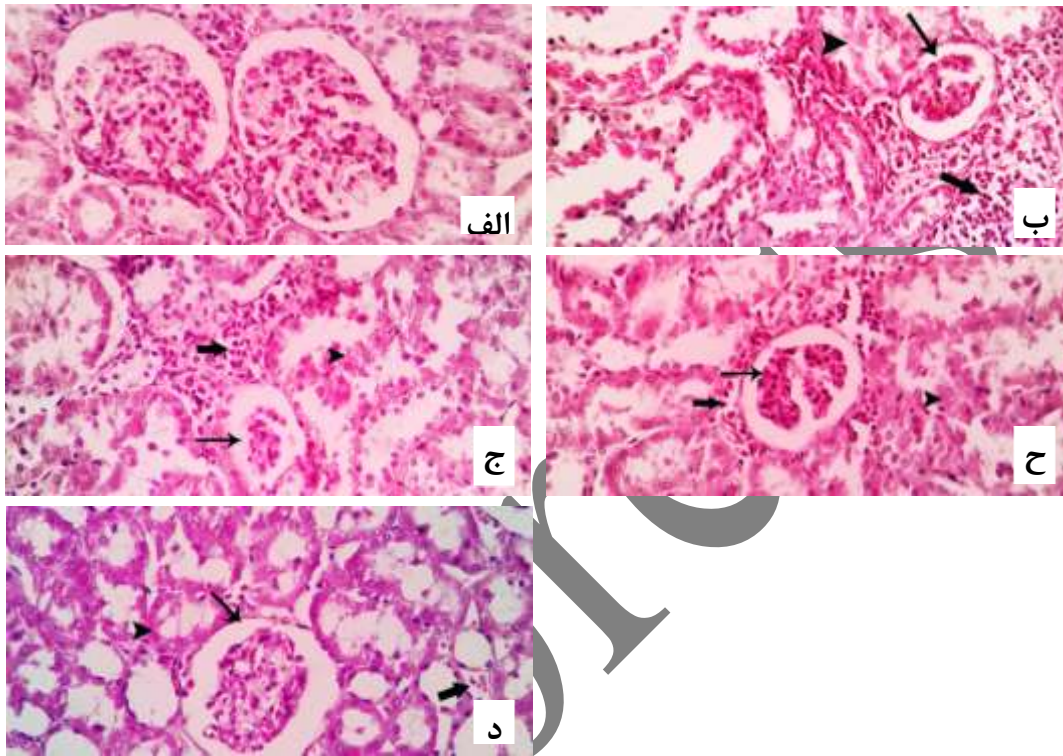


جدول ۲- میانگین و انحراف معیار متغیرها در گروه‌های آزمایشی و نتایج آزمون مقایسه‌های دودویی گروه‌های آزمایشی

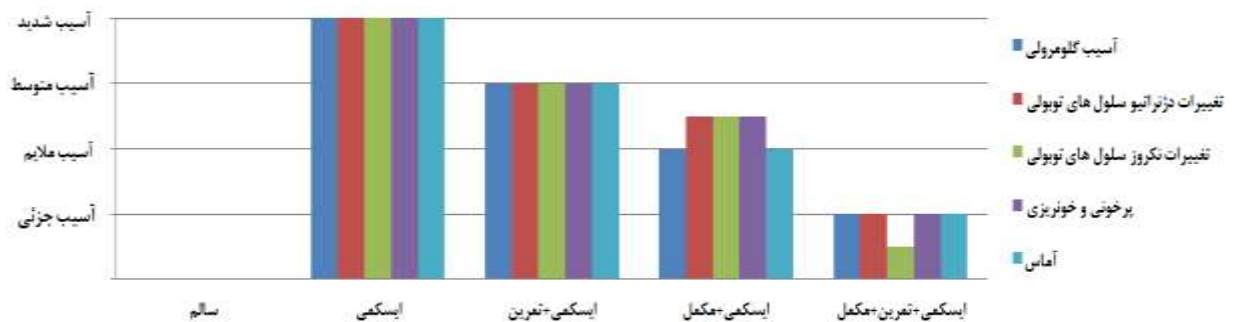
گروه آزمایشی متغیر	سالم	ایسکمی	ایسکمی + تمرین	ایسکمی + مکمل	ایسکمی + تمرین + مکمل
SOD (U/g protein)	۶۹/۷۵±۳/۲۷	۵۰/۱±۱/۸۹*	۴۴/۸۷±۲/۴۹*	۷۵/۴۳±۱/۹۳°	۶۵/۸۲±۱/۹۷°
GPX (U/g protein)	۷۲/۹±۳/۱۸	۴۰/۸±۲/۶۳*	۵۳/۶۴±۲/۲۳*	۸۱±۳/۱۳°	۷۰/۳±۳/۱۳°
MDA (nmol/mg)	۵/۲±۰/۲۵	۷/۵۳±۰/۲۶*	۸/۰۵±۰/۳۲*	۶/۴۸±۰/۲۰°	۷/۳۹±۰/۲۵*
BUN (mg/dl)	۶۲/۲±۱۰/۱۵°	۱۰۴/۱۴±۱۶/۰۳*	۶۸/۶۵±۳/۷۷°	۷۵/۳±۸/۶۹°	۷۰/۹±۱۰/۸۵°
Cratinin (mg/dl)	۰/۶۶±۰/۱۲°	۱/۴۶±۰/۲۴*	۰/۷۴±۰/۰۹°	۱/۰۸±۰/۳۱°	۰/۷۹±۰/۱۲°



شکل ۱: نمودار میانگین و خطای استاندارد متغیرها و نتایج آزمون مقایسه‌های دودویی گروه‌های آزمایشی. علامت \* نشانگر اختلاف معنی دار گروه‌ها با گروه سالم و علامت ° نشانگر اختلاف معنی دار گروه‌ها با گروه فقط ایسکمی در سطح معنی داری ۰/۰۵



شکل ۲: نمای ریز بینی از قسمت قشری بافت کلیه یک موش صحرایی از گروه الف) سالم، ب) ایسکمی، ج) ایسکمی+تمرین تناوبی شدید، ح) ایسکمی+مکمل ملاتونین، د) ایسکمی+تمرین تناوبی شدید+مکمل ملاتونین



شکل ۳: نمودار تاثیر تمرین تناوبی شدید و مصرف مکمل ملاتونین بر آسیب ایسکمی بافت کلیه در موش صحرایی

## بحث

سایر آنتی اکسیدان‌ها مانند ویتامین C و E، پاک سازی رادیکال‌های پر اکسیدی و همچنین اکسیژن‌های تکی بسیار واکنشگر، افزایش فعالیت گلوکوتاتیون پر اکسیداز و سوپر اکسید دیسموتاز شود (۳۱). افزایش سطح SOD و GPX با انجام تمرین تناوبی شدید و مصرف ملاتونین بعد از IR نشان دهنده کاهش استرس اکسایشی و همچنین افزایش دفاع آنتی اکسیدانی و سازگاری با استرس اکسیداتیو می‌باشد. افزایش ظرفیت آنتی اکسیدانی موجب محافظت سلول‌ها شده و این مسئله تأیید دیگری بر نقش حمایتی ورزش همراه با مکمل از طریق کاهش روند آپوپتوز در سلول‌های بدن است. البته شدت و مدت تمرین عامل مهمی در به حداکثر رساندن آثار تمرینات و سازگاری بیشتر تمرینی و کاهش آسیب‌های ملکولی و اجزای کلیدی سلولی می‌باشد. تمرینات ورزشی شدید می‌تواند تولید گونه‌های اکسیژن واکنش پذیر ROS، افزایش سطوح کلسیم داخل سلولی و مسیره‌های سیگنالیک درون سلولی، سایتوکاین‌ها مثل TNF $\alpha$  را تحت تأثیر قرار دهد و باعث افزایش استرس اکسایشی و رادیکال آزاد شود. در حالیکه ورزش طولانی مدت و منظم ممکن است اثرات حاصل از استرس اکسایشی را توسط آنزیم‌های آنتی اکسیدانی جبران کند. بنابراین ورزش به عنوان یک عامل محافظت کننده از آسیب‌های بیشتر ناشی از AKI نیز مطرح شده است (۳۲). به علاوه، تأثیر مفید ورزش بر عوارض ناشی از سالمندی در کلیه‌ها نیز، به اثرات ضد اکسایشی، ضد التهابی و افزایش دهنده آنژیوژن و القای اتوفازی توسط تمرین ورزشی ربط داده شده است (۳۳) که به نظر می‌رسد در مورد AKI نیز اثرات مشابهی روی دهد. همچنین اثر محافظت کننده تمرین ورزشی در برابر AKI می‌تواند به واسطه دستکاری جریان خون کلیوی و نیمرخ اکسایشی نیز روی دهد (۳۴).

## نتیجه گیری:

تمرین تناوبی شدید و مصرف ملاتونین در افزایش SOD و GPX و کاهش MDA، BUN، Cr موثر بوده که به معنی بهبود قابلیت‌های ضد اکسایشی بافت کلیه در اثر مصرف توام ملاتونین و تمرین شدید می‌باشد و بیانگر آن است که تمرین ورزشی به تنهایی در ایجاد بهبود قابلیت‌های ضد اکسایشی رت‌های با ایسکمی کلیوی موثر نخواهد بود. پیشنهاد می‌شود که در آسیب‌های کلیوی همواره تمرین بدنی منظم و استفاده از مکمل‌های آنتی اکسیدانی به ویژه ملاتونین در نظر گرفته شود. با توجه به محدودیت‌های پژوهش حاضر مانند عدم اندازه گیری تغییرات مرفولوژیکی، سنجش و بررسی متغیرهای دیگر مرتبط با استرس اکسیداتیو در ارزیابی عملکرد کلیوی، اظهار نظر قطعی در مورد رابطه این شاخص‌ها و نحوه تأثیر پذیری آنها از شرایط مختلف منوط به انجام تحقیقات و مطالعات بیشتر در این زمینه می‌باشد با توجه به اینکه تاکنون اطلاعات مستقیمی در این زمینه فراهم نشده است و قطعاً بررسی این نکته با توجه به شیوع بالای بروز ARF و عواقب آن در دیگر اندام‌ها در

کاهش عملکرد کلیه پس از IR با افزایش معنی‌دار سطح Cr، BUN و MDA و کاهش معنی‌دار GPX و SOD مشاهده شد. در هر سه مورد مصرف ملاتونین، تمرین تناوبی شدید و همچنین تمرین تناوبی شدید همراه با مصرف ملاتونین موجب کاهش معنی‌دار سطح BUN و Cr می‌گردد که بیشترین کاهش در گروه تمرین تناوبی شدید بوده است. در حالی که مصرف ملاتونین نسبت به انجام تمرین تناوبی شدید همراه با مصرف ملاتونین باعث کاهش معنی‌دار بیشتر سطح MDA شده است. مصرف ملاتونین و تمرین تناوبی شدید به همراه مصرف ملاتونین باعث افزایش معنی‌دار سطح SOD و GPX می‌شود که بیشترین افزایش در مصرف ملاتونین است. نتایج این تحقیق با مطالعات (باسمن و همکاران (۲۵)، زانگ و همکاران (۳۶)، گلن و همکاران (۲۷)، کفاشی و همکاران (۳۵)، لی و همکاران (۲۸)، ابوطالب و همکاران (۲۹) همسو است. آسیب ایسکمی باعث ایجاد واکنش‌های التهابی و انتشار رادیکال‌های آزاد می‌شود که در نهایت منجر به افزایش غلظت Cr و BUN می‌گردد (۲۵). احتباس ترکیبات زائد نیتروژنی از قبیل BUN و Cr و برهم خوردن توازن مایعات و الکترولیت‌ها بارزترین پیامد بالینی AKI می‌باشد و مرتبط با اختلال عملکرد کلیه و دیگر اندام‌ها هستند. استرس اکسیداتیو در اثر عدم تعادل میان تولید رادیکال‌های آزاد و مکانیسم‌های دفاعی آنتی اکسیدانی در بدن بوجود می‌آید در واقع ایسکمی IR باعث تجمع رادیکال‌های آزاد و کاهش آنزیم‌های آنتی اکسیدانی می‌شود که اثرات مضر بر غشای سلولی DNA و پروتئین دارند. فعالیت SOD و کاتالاز به طور قابل توجهی در طول ایسکمی کلیوی کاهش می‌یابد که عامل اصلی آن زمان قرار گرفتن در معرض ایسکمی است (۲۶). ملاتونین باعث کاهش سطح اوره و افزایش فعالیت SOD، GPX شده و تأثیر مفیدی بر کاهش اثر آسیب IR دارد (۱۳). در واقع آسیب کلیوی که به واسطه رادیکال آزاد اکسیژن در طول دوره خون‌رسانی مجدد بدن با ایسکمی ایجاد شده بود توسط جذب کننده‌های رادیکال آزاد و فعالیت آنتی اکسیدانی ملاتونین جلوگیری می‌شود (۳۰). بنا بر این مکمل ملاتونین با عوامل آنتی اکسیدان در استرس اکسیداتیو ناشی از IR اثر محافظتی دارد. همچنین ملاتونین می‌تواند التهاب حاد را کاهش دهد و آثار باز دارنده بالقوه‌ای در آسیب‌های اکسایشی حین فعالیت ورزشی و خستگی عضلانی ناشی از فعالیت ورزشی را دارد. در گروه ایسکمی و مکمل، به نظر می‌رسد مصرف ملاتونین باعث کاهش شاخص آسیب اکسیداتیو (MDA) و سایر فرآورده‌های به دست آمده از پر اکسیداسیون چربی غشا، که شاخص‌های آسیب هستند می‌شود. زیرا ملاتونین قادر هست به تمام اجزای داخل سلولی برسد و از آسیب دیواره‌های سلولی و ارگان‌ها و هسته محافظت کند و به سبب دارا بودن ویژگی‌هایی همچون محلول بودن در چربی، پاک سازی رادیکال‌های آزاد هیدروکسیل، افزایش کارایی

تجویزی و مکمل ملاتونین برای این بیماران در کنار داروهای مصرفی و مکمل‌های غذایی دیگر باشد.

### تعارض منافع

در انجام مطالعه‌ی حاضر نویسندگان هیچ‌گونه تضاد منافی نداشتند.

activity: potential mechanisms for protection. Applied physiology, nutrition, and metabolism. 2011;36(5):608-11.

11. Xu, Q. F., et al. (2023). "Increased R-spondin 3 contributes to aerobic exercise-induced protection against renal vascular endothelial hyperpermeability and acute kidney injury." *Acta Physiologica* 239(4): e14036.

12. Yun Y, Duan W, Chen P, Wu H, Shen Z, Qian Z, Wang D, editors. Down-regulation of cyclooxygenase-2 is involved in ischemic postconditioning protection against renal ischemia reperfusion injury in rats. Transplantation proceedings; 2009: Elsevier.

13. Ahmadiasl N, Banaei S, Alihemmati A. Combination antioxidant effect of erythropoietin and melatonin on renal ischemia-reperfusion injury in rats. Iranian journal of basic medical sciences. 2013;16(12):1209.[In Persian]

14. Hadj Ayed Tka K, Mahfoudh Boussaid A, Zaouali MA, Kammoun R, Bejaoui M, Ghouli Mazgar S, et al. Melatonin modulates endoplasmic reticulum stress and Akt/GSK3-beta signaling pathway in a rat model of renal warm ischemia reperfusion. Analytical Cellular Pathology. 2015;2015.

15. Potić M, Ignjatović I, Ničković VP, Živković JB, Krdžić JD, Mitić JS, et al. Two different melatonin treatment regimens prevent an increase in kidney injury marker-1 induced by carbon tetrachloride in rat kidneys. Canadian Journal of Physiology and Pharmacology. 2019;97(5):422-8.

16. Bermudez-Gonzalez JL, Sanchez-Quintero D, Proaño-Bernal L, Santana-Apreza R, Jimenez-Chavarria MA, Luna-Alvarez-Amezquita JA, et al. Role of the antioxidant activity of melatonin in myocardial ischemia-reperfusion injury. Antioxidants. 2022;11(4):627.

17. Tan DX, Manchester LC, Liu X, Rosales-Corral SA, Acuna-Castroviejo D, Reiter RJ. Mitochondria and chloroplasts as the original sites of melatonin

کنار اثرات مورد انتظار از ملاتونین به عنوان یک انتخاب درمانی در کنار تمرینات تناوبی شدید بداعت داشته و قطعاً می‌تواند هدفی برای انجام تحقیقات بیشتر در آینده باشد. زیرا احتمال اثرات تعاملی حاصل از این دو مداخله می‌تواند فواید نوید بخشی داشته باشد. تعیین کارایی مداخلات مختلف در مطالعات فرا تحلیلی آینده و تاثیر متغیرهای مختلف موثر بر نتایج این تحقیق نیز بسیار ارزشمند بوده و می‌تواند زمینه ساز و پیشرو انجام تحقیقات بیشتر در مورد انواع جمعیت بیماران با منشاء ایسکمی کلیه و شناسایی بهترین جزئیات مربوط به ویژگی‌های تمرینی

### Reference

1. Trof RJ, Di Maggio F, Leemreis J, Groeneveld AJ. Biomarkers of acute renal injury and renal failure. Shock. 2006;26(3):245-53.

2. Ortega AE, de Azúa López ZR, Pérez RH, Millón CF, Martín AD, Palomo YC, Gallé EL, editors. Kidney failure after heart transplantation. Transplantation Proceedings; 2010: Elsevier.

3. Kelly K, editor Acute renal failure: much more than a kidney disease. Seminars in nephrology; 2006: Elsevier.

4. Brouns R, De Deyn P. Neurological complications in renal failure: a review. Clinical neurology and neurosurgery. 2004;107(1):1-16.

5. Grams ME, Rabb H. The distant organ effects of acute kidney injury. Kidney international. 2012;81(10):942-8.

6. Masztalerz M, Włodarczyk Z, Czuczejko J, Słupski M, Kedziora J, editors. Superoxide anion as a marker of ischemia-reperfusion injury of the transplanted kidney. Transplantation proceedings; 2006: Elsevier.

7. Radi R, Beckman JS, Bush KM, Freeman BA. Peroxynitrite-induced membrane lipid peroxidation: the cytotoxic potential of superoxide and nitric oxide. Archives of biochemistry and biophysics. 1991;288(2):481-7.

8. Szabó C, Zingarelli B, O'Connor M, SALZMAN AL. DNA strand breakage, activation of poly (ADP-ribose) synthetase, and cellular energy depletion are involved in the cytotoxicity of macrophages and smooth muscle cells exposed to peroxynitrite. Proceedings of the National Academy of Sciences. 1996;93(5):1753-8.

9. Yamakura F, Taka H, Fujimura T, Murayama K. Inactivation of human manganese-superoxide dismutase by peroxynitrite is caused by exclusive nitration of tyrosine 34 to 3-nitrotyrosine. Journal of Biological Chemistry. 1998;273(23):14085-9.

10. Quadrilatero J, Alway SE, Dupont-Versteegden EE. Skeletal muscle apoptotic response to physical

- reperfusion in rats. *Journal of Surgical Research*. (1) 1577;2009:e7-e13.
28. Li Y, Hou D, Chen X, Zhu J, Zhang R, Sun W, et al. Hydralazine protects against renal ischemia-reperfusion injury in rats. *European journal of pharmacology*. 2019;843:199-209.
29. Aboutaleb N, Jamali H, Abolhasani M, Toroudi HP. Lavender oil (*Lavandula angustifolia*) attenuates renal ischemia/reperfusion injury in rats through suppression of inflammation, oxidative stress and apoptosis. *Biomedicine & pharmacotherapy*. 2019;110:9-19.
30. Sahna E, Parlakpinar H, Ozturk F, Cigremis Y, Acet A. The protective effects of physiological and pharmacological concentrations of melatonin on renal ischemia-reperfusion injury in rats. *Urological Research*. 2003;31(3):188-93.
31. Col C, Dinler K, Hasdemir O, Buyukasik O, Bugdayci G. Oxidative stress and lipid peroxidation products: effect of pinealectomy or exogenous melatonin injections on biomarkers of tissue damage during acute pancreatitis. *Hepatobiliary & pancreatic diseases international: HBPD INT*. 2010;9(1):78-82.
32. Oliveira C, Rodrigues A, Nogueira G, Nascimento M, Punaro G, Higa E. Moderate aerobic exercise on the recovery phase of gentamicin-induced acute kidney injury in rats. *Life Sciences*. 2017;169:37-42.
33. Salem HR, Faried MA. Treadmill exercise training ameliorates functional and structural age-associated kidney changes in male albino rats. *The Scientific World Journal*. 2021;2021.
34. Couto SM, Machado DI, Conde C, Silva VC, Souza AA, Peres KB, et al. Physical training is a potential modifier of risk for contrast-induced acute kidney injury in diabetes mellitus. *BioMed Research International*. 2020;2020.
35. Kafashi, M., Parnow, A., Kafashian, M. R., Knechtle, B. Resistance training enhances renal function in experimental renal ischemia-reperfusion. *Sports and Exercise Medicine Switzerland (SEMS) Journal*, 2021  
<https://doi.org/10.34045/SEMS/2021/33>.
36. Zhang C, Suo M, Liu L, Qi Y, Zhang C, Xie L, Zheng X, Ma C, Li J, Yang J, Bu P. Melatonin alleviates contrast-Induced Acute Kidney Injury by activation of Sirt3. *Oxidative Medicine and cellular Longevity*, 25;2021:6668887.  
<https://doi.org/10.1155/2021/6668887>.
- synthesis: a hypothesis related to melatonin's primary function and evolution in eukaryotes. *Journal of pineal research*. 2013;54(2):127-38.
18. Sehajpal J, Kaur T, Bhatti R, Singh AP. Role of progesterone in melatonin-mediated protection against acute kidney injury. *Journal of Surgical Research*. 2014;191(2):441-7.
19. Lochner A, Huisamen B, Nduhirabandi F. Cardioprotective effect of melatonin against ischaemia/reperfusion damage. *Frontiers in Bioscience-Elite*. 2013;5(1):305-15.
20. Eybl V, Kotyzová D, Černá P, Koutenský J. Effect of melatonin, curcumin, quercetin, and resveratrol on acute ferric nitrilotriacetate (Fe-NTA)-induced renal oxidative damage in rats. *Human & experimental toxicology*. 2008;27(4):347-53.
21. Aydın G, Özçelik N, Cicek E, Soyöz M. Histopathologic changes in liver and renal tissues induced by Ochratoxin A and melatonin in rats. *Human & experimental toxicology*. 2003;22(7):383-91.
22. Aouichat S, Navarro-Alarcon M, Alarcón-Guijo P, Salagre D, Ncir M, Zourgui L, Agil A. Melatonin improves endoplasmic reticulum stress-mediated IRE1 $\alpha$  pathway in Zucker diabetic fatty rat. *Pharmaceuticals*. 2021;14(3):232.
23. Ghiasi S, Bashiri J, Pourrazi H, Jadidi RP. The effect of high-intensity interval training and CoQ10 administration on hepatic CEACAM1 and PDGFA proteins in diet-induced obese rats. *Sport Sciences for Health*. 2023;19(2):581-8. [In Persian]
24. Bhalodia Y, Kanzariya N, Patel R, Patel N, Vaghasiya J, Jivani N, Raval H. Renoprotective activity of benincasa cerifera fruit extract on ischemia/reperfusion-induced renal damage in rat. 2009.
25. Bussmann AR, Marton Filho MA, Módolo MP, Módolo RP, Amado P, Domingues MAC, et al. Effect of allopurinol on the kidney function, histology and injury biomarker (NGAL, IL 18) levels in uninephrectomized rats subjected to ischaemia-reperfusion injury. *Acta Cirúrgica Brasileira*. 2014;29:515-21.
26. Li Z, Nickkholgh A, Yi X, Bruns H, Gross ML, Hoffmann K, et al. Melatonin protects kidney grafts from ischemia/reperfusion injury through inhibition of NF- $\kappa$ B and apoptosis after experimental kidney transplantation. *Journal of Pineal Research*. 2009;46(4):365-72.
27. Gulmen S, Kiris I, Narin C, Ceylan BG, Mermi B, Sutcu R, Meteoglu I. Tezosentan reduces the renal injury induced by abdominal aortic ischemia-