

力竭运动对大鼠肾功能和肾组织紧密连接蛋白的影响

聂梦俭¹, 李方¹, 任盼红²

(1.河南师范大学 体育学院,河南 新乡 453007;2.新乡医学院 三全学院 体育部,河南 新乡 453003)

摘要: [目的]探讨大强度力竭运动致蛋白尿负荷大鼠肾功能和肾组织紧密连接蛋白的变化及意义,为运动性肾损伤的防治及其机制研究提供新的思路.[方法]SD 雄性大鼠 18 只,其中 8 只设为正常对照组,10 只为力竭运动组,建立 4 周大强度力竭训练模型,造成大鼠持续的运动性蛋白尿负荷;检测肾功能血液指标即血清肌酐(Cre)和血尿素氮(BUN),检测肾损伤尿液指标即尿中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白(NGAL)和肾损伤分子 1(KIM-1)水平变化;苏木青-伊红(HE)染色观察大鼠肾组织病理损伤情况;采用 Western blot 及免疫组化方法检测肾组织中紧密连接蛋白 1(ZO-1)和密封蛋白 Claudin-1 的表达变化.[结果]4 周大强度力竭运动可导致大鼠运动性蛋白尿负荷,上调肾功能标志物血清 Cre($P<0.01$)和 BUN($P<0.01$),尿 NGAL($P<0.01$)和 KIM-1($P<0.01$)水平,下调 ZO-1($P<0.01$),Claudin-1($P<0.05$)在蛋白水平的表达.[结论]4 周力竭运动可造成大鼠持续的运动性蛋白尿负荷,并导致大鼠运动性肾损伤,长时间力竭运动可能通过下调肾脏紧密连接蛋白而影响肾小管上皮紧密连接结构的完整性.

关键词: 力竭运动;紧密连接蛋白;肾功能

中图分类号: G804.7

文献标志码: A

文章编号: 1000-2367(2024)05-0142-08

不科学或者挑战身体极限的运动可能会导致肌肉甚至器官损伤^[1-2].规律的中等强度运动不仅有益于健康,还被认为慢性非传染性疾病的非药物干预方式之一.作为高度血管化的器官,肾脏是大强度运动中最容易发生非创伤性损伤的器官之一.据统计,运动性蛋白尿发生率为 18%~100%,持续时间 1~6 d,受运动强度、运动项目等因素的影响^[3].一般认为,运动性蛋白尿是一种可逆的生理现象,可完全恢复.然而,长期、反复的大强度运动刺激致长期运动性蛋白尿负荷,是否会让肾脏可逆的“功能性”代偿转变为实质的“结构性”损伤?此外,蛋白尿是肾小球滤过率受损的重要标志,同时还是肾小管间质损伤的独立致病因素,长期的运动性蛋白尿负荷是否会引起肾的实质损伤?相关研究鲜有报道.因此,本研究在前期关于大强度运动致肾的炎症反应的基础上^[4-5],以力竭运动大鼠为研究对象,进一步探讨力竭运动致运动性蛋白尿负荷大鼠的肾功能和肾小管紧密连接蛋白的变化,为运动性肾损伤机制研究提供数据.

1 材料和方法

1.1 动物

18 只 SPF 级 SD 雄性大鼠,体质量(329.5 ± 10.6) g,8 周龄,购于北京维通利华动物实验中心,动物许可证号:SCXK(京)2018-0006.北京体育大学 SPF 级动物实验室饲养,实验获得北京体育大学动物实验伦理委员会的批准.恒温(22 ± 1) °C 和恒湿(相对湿度 $60\%\pm 5\%$),正常昼夜节律,国家标准固体饲料喂养,自由

收稿日期: 2024-01-17; **修回日期:** 2024-03-20.

基金项目: 国家社科基金(22BTY091);河南省重点研发与推广专项(232102321127);河南省高等学校智库研究项目(2024ZKYJ09).

作者简介(通信作者): 聂梦俭(1989-),男,河南焦作人,河南师范大学讲师,博士,研究方向为运动训练与康复,E-mail: nmj1989@163.com.

引用本文: 聂梦俭,李方,任盼红.力竭运动对大鼠肾功能和肾组织紧密连接蛋白的影响[J].河南师范大学学报(自然科学版),2024,52(5):142-149.(Nie Mengjian, Li Fang, Ren Panhong. The influence of exhaustive exercise on renal function and renal tight junction protein in rats[J]. Journal of Henan Normal University(Natural Science Edition), 2024, 52(5): 142-149. DOI: 10.16366/j.cnki.1000-2367.2024.01.17.0001.)

摄食摄水。

1.2 主要试剂

尿蛋白(total protein, TP)、尿白蛋白(albumin, Alb)、肌酐(creatinine, Cre)、血尿素氮(BUN)试剂盒购于上海科华生物工程股份有限公司,中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白(NGAL)和肾损伤分子1(KIM-1)酶联免疫试剂盒购于北京金海科隅生物科技发展有限公司;Western blot 抗体为 ZO-1(NOVUS, NBP1-85047)兔单克隆抗体,稀释比例为 1 : 1 000;Claudin-1(NOVUS, NBP1-77036)兔单克隆抗体,稀释比例为 1 : 1 000; β -actin(CST, 4967)兔单克隆抗体,稀释比例为 1 : 1 000.免疫组化抗体以及稀释比例为 Claudin-1 (ImmunoWay, YT0942)兔单克隆抗体,稀释比例 1 : 200; ZO-1(Santa, sc-33725)鼠单克隆抗体,稀释比例为 1 : 500.

1.3 方法

1.3.1 大鼠力竭运动模型的建立.大鼠适应性饲养 1 周后,按照数字随机表法将 18 只 SD 大鼠分为安静对照组(Con 组)8 只和力竭运动组(Ex 组)10 只. Con 组正常饲养, Ex 组大鼠首先进行 3 d 运动预适应,即每天以速度为 10 m/min、坡度为 0°的动物跑台(SANS, SA 101, 中国江苏)上训练 30 min. 正式训练方案根据前期研究基础^[4-5],进行大强度力竭跑台训练,正式训练方案持续 4 周,每周一至周五训练,跑台坡度为 10°,起始速度为 10 m/min,速度逐渐递增,每 5 min 速度增加 5 m/min,最大速度为 35 m/min,并以最大速度运动致力竭,即用毛刷驱赶大鼠不能坚持运动,放回饲养笼后 30 min 内不主动站起。

1.3.2 样本的采集与处理.对运动组大鼠分别于运动前、运动期间第 5 d、12 d、19 d、26 d 后 2 h 取随机尿;最后一次训练 24 h 后,用体积分数 2%戊巴比妥钠腹腔注射麻醉,腹主动脉取血,静置 2 h,放入 4 °C 的低温离心机离心 15 min,转速为 3 000 r/min,取上层血清并置于 -20 °C 冰箱中保存待测.迅速取出肾脏并在预冷的生理盐水中洗净血污,冰上剔除筋膜,左侧肾脏纵切浸入体积分数 4%多聚甲醛固定液中,右侧肾脏用锡纸包裹并迅速投入液氮中,转移至 -80 °C 冰箱中冻存待测。

1.3.3 生化检测.全自动生化分析仪检测尿蛋白、尿微量白蛋白和尿肌酐以及血清肌酐,血尿素氮水平,双抗体夹心法酶联免疫吸附(ELISA)法检测大鼠尿 NGAL 和 KIM-1 水平,均按照试剂盒说明书进行。

1.3.4 组织学观察.将肾脏从固定液中取出,流水洗涤 12 h,梯度酒精脱水至透明状态,石蜡包埋后制成 4 μ m 切片,用苏木精-伊红(HE)进行染色,在 400 倍光镜下观察肾脏组织结构变化。

1.3.5 免疫组化检测.肾组织石蜡切片,每片约 4 μ m,依次脱蜡、入水,抗原修复液修复,加封闭液,37 °C 封闭 1 h,加 ZO-1、Claudin-1 I 抗 4 °C 过夜,37 °C 封闭 1 h,加 II 抗,37 °C 孵育 1 h;加 SABC,37 °C 孵育 2 h;DAB 显色,苏木素复染,中性树脂胶封片观察。

1.3.6 Western blot 检测.将保存于 -80 °C 冰箱的肾组织样品取出,研磨匀浆,将均质样品在 4 °C、14 000 r/min 下离心 30 min,BCA 蛋白质测定试剂,测定上清液中的蛋白质浓度.每孔道加等量蛋白质经质量分数 6% SDS-PAGE 分离凝胶电泳,转至聚偏二氯乙烯膜. BSA 封闭后一抗孵育过夜,洗涤后再二抗孵育. Thermo Pierce ECL 化学发光液显色, X 光暴露成像,采用软件 Image Lab 4.0 进行灰度分析。

1.4 统计学处理

使用 SPSS 21.0 统计软件进行数据处理,所有实验结果用平均值 \pm 标准差表示,组间分析采用独立样本 *T* 检验. $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 大鼠体质量变化和力竭运动时间

对照组大鼠饮食、饮水状况正常,毛皮有光泽,精神良好,体质量均匀增长,无死亡;力竭组大鼠均出现不同程度的毛色枯黄、体形消瘦、嗜睡等表现,体质量增长缓慢,运动第 18 d 意外死亡 1 只,取材麻醉过程中死亡 1 只.大鼠的体质量变化(图 1)和力竭时间(图 2)。

大鼠力竭时间统计结果显示,运动组大鼠的力竭时间在(89.3 \pm 8.1) min 至(180.0 \pm 4.6) min,第 1 周到第 3 周逐渐增加,第 4 周有所下降.体质量统计结果显示,2 组大鼠初始体质量无显著差异,大鼠体质量增长

趋势平缓,但运动组大鼠体质量增长缓慢.第 2 周力竭运动组比安静对照组体质量显著降低($P < 0.05$),第 3 和 4 周,运动组大鼠体质量比安静组进一步降低,力竭运动组比安静对照组体质量显著降低($P < 0.01$).

2.2 力竭运动对大鼠蛋白尿的影响

运动组大鼠尿蛋白和尿肌酐的比值 TP/Cre 在力竭运动第 12 d 显著高于对照组($P < 0.05$),并持续增加,第 19 d 和 26 d 显著高于对照组($P < 0.01$),尿微量白蛋白和尿肌酐比值 Alb/Cre 在第 5 d 即显著高于对照组($P < 0.05$),第 19 d 和 26 d 显著高于对照组($P < 0.01$),见图 3.

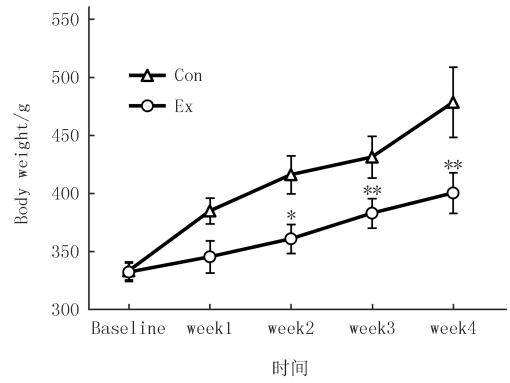


图1 大鼠体质量变化

Fig.1 Body weight changes of rats

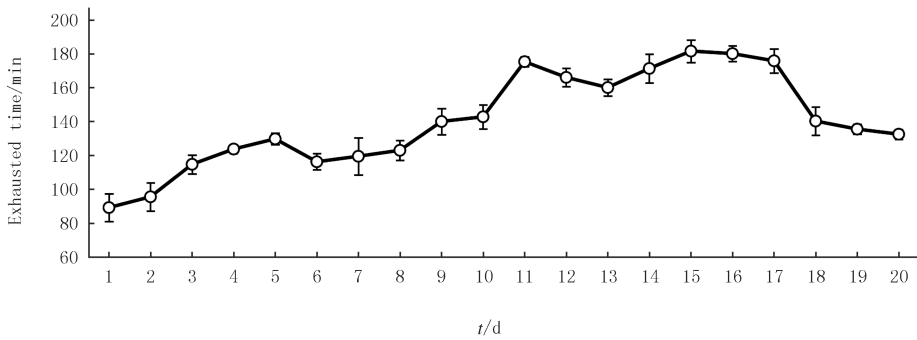
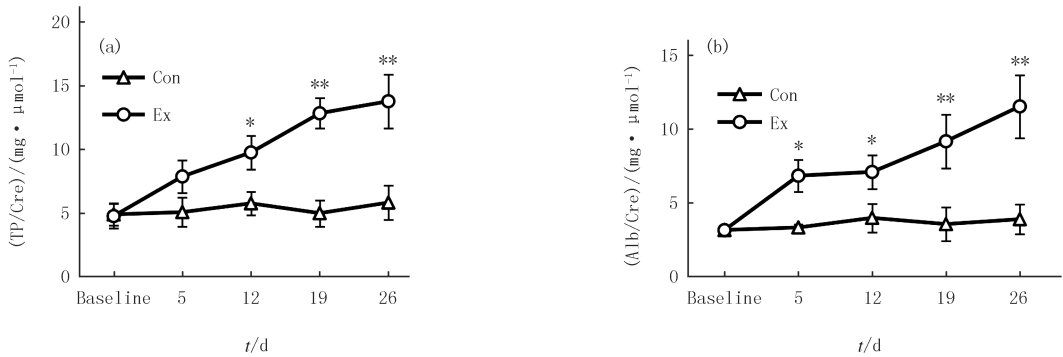


图2 运动组大鼠力竭时间

Fig.2 Exhausted time of rats in exercise group



* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

图3 力竭运动大鼠尿蛋白肌酐比的变化(a)和力竭运动大鼠尿蛋白肌酐比的变化(b)

Fig.3 Urine TP/Cre changes of exhausted exercise rats(a) and Urine Alb/Cre changes of exhausted exercise rats(b)

2.3 力竭运动对大鼠肾组织形态的影响

HE 染色显示(图 4),正常组大鼠肾小球系膜细胞、内皮细胞、肾小管等结构均正常,无明显变化.力竭运动组大鼠肾小球囊腔变得狭窄,血管球与囊腔壁界限不清楚,小管上皮细胞出现水肿、空泡变性等较为明显的变化,肾小管管腔扩张、管腔有少量脱落绒毛和上皮细胞,出现各种管型.

2.4 力竭运动对大鼠肾功能生物标志物的影响

与安静对照组比较,力竭训练组大鼠各项肾功能指标均显著升高.力竭训练组大鼠的传统肾功能生物标志物血清 Cre 和 BUN 均显著高于安静对照组($P < 0.01$),新型肾功能生物标志物尿 NGEL 和 KIM-1 均显著高于安静对照组($P < 0.01$),见表 1.

2.5 力竭运动对大鼠肾组织 ZO-1 蛋白表达的影响

与安静对照组相比,力竭运动组大鼠 ZO-1 在蛋白水平的表达显著降低($P < 0.01$),ZO-1 在正常大鼠肾组织中呈广泛棕褐色染色,主要集中在肾小管细胞膜,在力竭运动大鼠肾组织中无着色或呈棕黄色染色,见图 5。

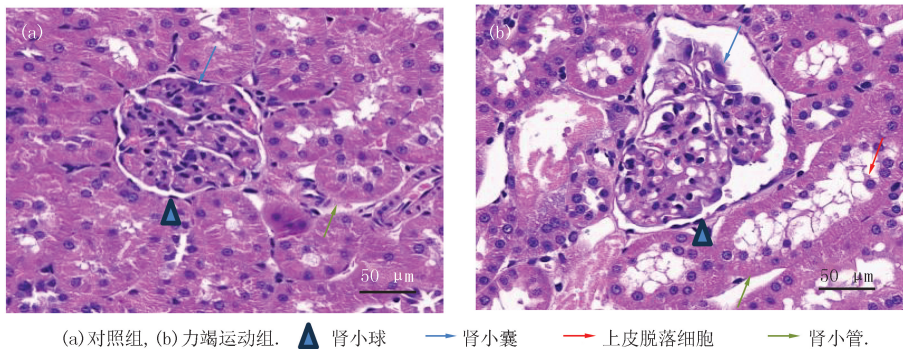


图4 各组大鼠肾组织病理变化

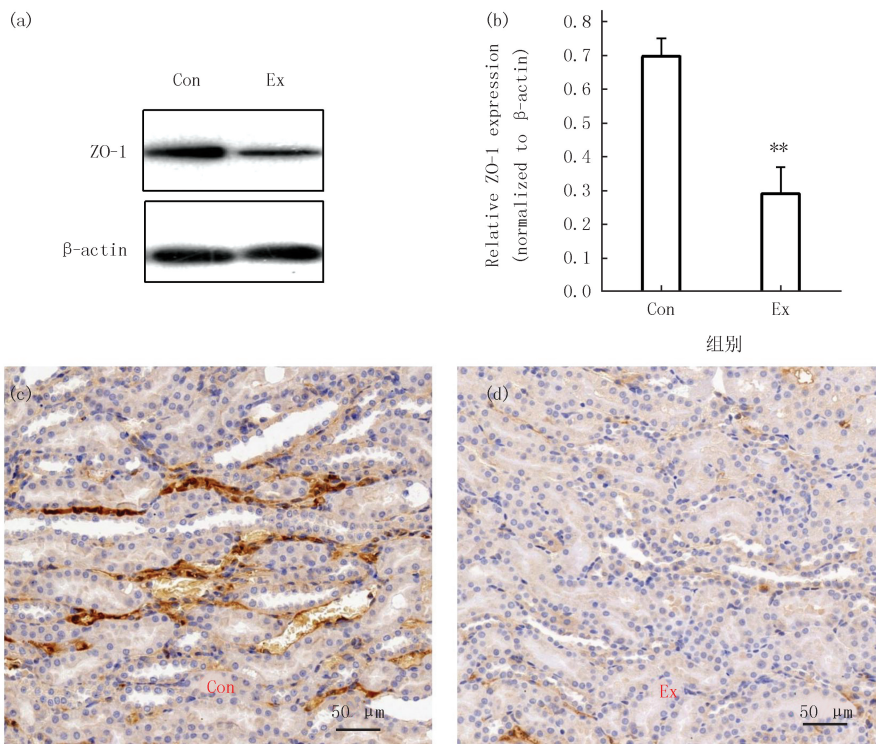
Fig.4 The pathological changes of the kidney of rats

表 1 各组大鼠肾功能生物标志物变化

Tab. 1 Changes in renal function biomarkers of rats in each group

Biomarkers	Cre/($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	BUN/($\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)	NGEL/($\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$)	KIM-1/($\text{pg} \cdot \text{mL}^{-1}$)
Con	154.34 ± 8.67	5.27 ± 0.21	7.46 ± 0.29	2.71 ± 0.33
Ex	176.66 ± 16.08**	6.68 ± 0.51**	9.11 ± 0.18**	10.01 ± 2.71**

注: Mean ± SD, $n = 8$, ** $P < 0.01$ (Ex vs. Con).



(a)The levels of ZO-1 in the renal of rats were analyzed by Western blot;(b)The histograms show that the quantified data of ZO-1 protein levels normalized to β -actin was significantly reduced in Ex group. Mean ± SD, $n = 3$, ** $P < 0.01$ (Ex vs. Con); (c)The expression of ZO-1 in Con group by immunohistochemistry staining;(d)The expression of ZO-1 in Ex group by immunohistochemistry staining.

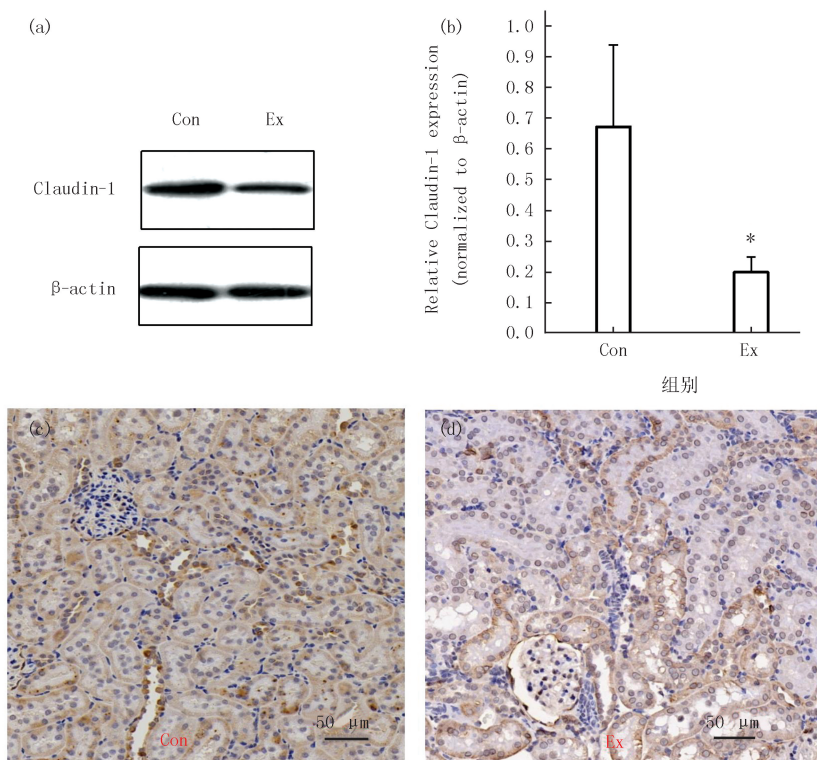
图5 大鼠肾脏组织ZO-1蛋白的表达

Fig.5 The expression of ZO-1 protein in each group

2.6 力竭运动对大鼠肾组织 Claudin-1 的影响

与安静对照组相比,力竭运动组大鼠 Claudin-1 蛋白水平的相对表达量显著降低($P < 0.05$),Claudin-1

在正常大鼠肾组织中,呈广泛棕色染色,部分呈现褐色,主要集中在细胞膜/质,在力竭运动大鼠肾组织中无着色或呈棕黄色染色,见图 6.



(a)The levels of Claudin-1 in the renal of rats were analyzed by Western blot;(b)The histograms show that the quantified data of Claudin-1 protein levels normalized to β -actin was significantly reduced in Ex group. Mean \pm SD, $n=3$, $*P<0.05$ (Ex vs. Con); (c)The expression of Claudin-1 in Con group by immunohistochemistry staining; (d)The expression of Claudin-1 in Ex group by immunohistochemistry staining.

图6 肾脏组织Claudin-1蛋白的表达

Fig. 6 The expression of Claudin-1 protein in each group

3 讨论

蛋白尿通常是由肾小球滤过率改变、肾小管重吸收功能受损或机体蛋白质产生过多所致.健康人在静息状态下,每分钟大约有 1 200 mL 血液流经肾脏,肾小球每分钟产生 120 mL 滤液(每天约 180 L),肾小管重吸收后,最终生成 1.5~2.5 L 尿液.健康个体运动期间,内脏血管收缩,肾血流量随运动强度和时间的增加而降低,肾血流量大幅下降会导致肾小球滤过率降低,肾小球滤过屏障受损,白蛋白等大分子物质自由通过滤过膜,导致蛋白尿形成^[6].肾脏是对缺血、缺氧极为敏感的器官,运动过程中血液重新分配,导致肾灌注减少,肾小球通透性增加、滤过率降低^[7],从而出现运动后蛋白尿现象.研究表明,超过 50% 的跑步者在剧烈运动后出现严重的肾灌注不足,肾血流动力学的变化可能是运动后蛋白尿的一个重要因素^[8].本研究中,4 周力竭运动使大鼠尿 TP/Cre 和 Alb/Cre 显著升高,并随着运动时间的增加而持续升高.

血清 Cre 和 BUN 是常用的检测肾功能的传统指标,各种实质性肾损伤或肾功能不全均可引起血清 Cre 和 BUN 的显著升高.根据相关研究,大约 40% 的马拉松^[9-10]和 30%~85% 的超级马拉松^[11]参与者可能会出现暂时性的血清肌酐升高或肾小球滤过率降低,这符合急性肾损伤的诊断的标准^[12].尿 NGAL 和 KIM-1 是肾损伤的新型生物标志物,NGAL 的增加来源于肾脏远端单位 NGAL 合成增加和近端肾小管重吸收功能受损,急性肾损伤时,在远端肾单位髓袢粗段小管和集合管细胞中 NGAL 表达迅速上调,其定量平行于尿 NGAL^[13].KIM-1 是近端肾小管损伤的特异性和敏感性生物标志物,在缺血性损伤中,尿 KIM-1 水平与肾损伤程度正相关,10 min 缺血引起的肾损伤即可检测到尿 KIM-1^[14].多项研究表明,大强度运动后,急性肾损

伤的敏感标志物如 KIM-1、NGAL、尿肝型脂肪酸结合蛋白等增加,表明大强度运动可能引起了肾小球或肾小管间质损伤^[15]。本研究中,4 周力竭运动使大鼠的新型肾功能生物标志物 NGAL 和 KIM-1 的水平显著升高,并使其传统标志物血清 Cre 和 BUN 的水平显著升高,结合力竭运动大鼠的肾组织病理学变化,表明 4 周力竭运动导致大鼠出现实质性肾损伤。

大强度运动导致急性肾损伤的机制尚未完全明确,其可能的机制包括激素调节异常、炎症级联反应、局部缺血缺氧、乳酸堆积等。最近的一项研究表明,急性肾损伤伴随着肾小管上皮细胞紧密连接结构破坏和紧密连接蛋白表达异常^[16],表明运动性急性肾损伤可能与近端肾小管上皮细胞之间的紧密连接结构受损有关。TJs(tight junctions)是位于最靠近顶端膜的侧膜结构域上形成连续的带状结构^[16]。FARQUHA 等^[17]于 1963 年使用透射电子显微镜首次在相邻上皮细胞之间的区域观察到紧密连接,TJs 通过维持细胞极性和体内稳态并调节上皮细胞的旁透性而发挥屏障功能^[18],它将两个细胞紧密连接在一起,阻止细菌、大分子物质通过细胞间隙进入结缔组织,同时阻止组织液外渗。TJs 是一个动态调节结构,由大量不同的蛋白质组成,包括小带闭合蛋白(zonula occludens,ZO),封闭蛋白(claudins)和咬合蛋白(occludins),这些蛋白质封闭了顶膜附近相邻细胞之间的细胞旁空间,蛋白质复合物解离或某些蛋白质的下调将导致紧密连接的破坏,从而进一步导致感染和炎症^[19]。完整的 TJs 是肾小管离子运输和废物排泄所必需的,肾小管上皮细胞之间的 TJs 在上皮屏障中发挥重要作用,是维持肾小管结构完整性及其功能的重要因素,TJs 损伤是上皮损伤的最早标志之一^[20],TJs 的破坏可能导致肾小管原尿返漏,进而降低肾小球滤过率^[11]。紧密连接可能被各种刺激破坏,包括氧化应激^[21]、病原体^[22]和促炎细胞因子^[23]等。各种损伤引起的 TJs 破坏已在不同的细胞和动物模型中进行了深入研究,KANG 等^[24]在 LPS 介导的 AKI 的大鼠模型中报道了电子显微镜下 TJs 的病理学超微结构异常。本研究通过肾组织紧密连接蛋白的表达变化进一步探究力竭运动对大鼠肾脏结构和功能的影响。

紧密连接蛋白(ZO-1)和 Claudin-1 通常被用于证明紧密连接结构的破坏,ZO-1 属于膜相关鸟苷酸激酶家族蛋白的成员,是第一个被发现的 TJs 蛋白,它可作为组织跨膜 TJs 蛋白的支架并向 TJs 募集各种信号分子^[25],ZO-1 缺陷细胞中,其他紧密连接蛋白的募集存在延迟^[26]。LPS 暴露 24 h 后,肾脏中 ZO-1 蛋白的表达显著降低^[27]。长期暴露于环孢菌素后,在没有明显肾脏疾病情况下,ZO-1 表达降低^[28]。Claudins 是紧密连接膜蛋白大家族的成员。该家族于 1998 年由 FURUSE 等^[29]首次发现。Claudins 通过其细胞质区域与 ZO 家族支架蛋白相互作用,是 TJs 调节组装和通透性的重要组成部分。Claudin-1 在肾单位的屏障功能有重要作用,可为电解质(如钠、钾、镁、钙和氯化物)形成屏障^[30],若表达不足可使远端肾小管中管腔毒素浓缩、堆积,进而降低清除率。研究表明,Claudin-1 的表达与糖尿病患者人肾活检样本中蛋白尿水平相关^[31]。最近一项研究表明,COM 晶体可导致肾小管上皮细胞紧密连接的破坏,并伴有其屏障和栅栏功能的损害^[32]。本研究中,4 周力竭运动下调大鼠肾组织 ZO-1 和 Claudin-1 在蛋白水平的表达,紧密连接蛋白的定位和表达水平发生改变,导致肾小管的屏障受损,进而影响肾脏的生理功能。运动期间,肾脏血流动力学改变,活动肌肉血液灌注增加,而内脏血管收缩,肾血流量降低,最高可降低 70% 以上^[33]。在肾脏缺血的情况下,近端肾小管细胞之间的 TJs 受损,超滤液通过细胞旁渗漏进入间质,加重肾灌注不足^[34]。本研究结果与相关研究中小鼠近端肾小管细胞中白蛋白随时间依赖性下调 ZO-1 和 claudin-1 的表达结果一致^[31],提示力竭运动导致的大鼠肾 TJs 的损伤机制可能与蛋白尿有关。

综上所述,4 周力竭运动可造成大鼠持续的运动性蛋白尿负荷,并导致大鼠运动性肾损伤,力竭运动可能通过蛋白尿损伤肾小管上皮 TJs 而影响肾小管完整性,进而影响其肾功能。目前关于运动性肾损伤的机制尚不明确,其损伤可能是通过多种途径调节实现的。

参 考 文 献

- [1] CERQUEIRA É, MARINHO D A, NEIVA H P, et al. Inflammatory effects of high and moderate intensity exercise—a systematic review [J]. *Frontiers in Physiology*, 2019, 10: 1550.
- [2] SCHOENFELD J, ROEH A, HOLDENRIEDER S, et al. High-mobility group box 1 protein, receptor for advanced glycation end products and nucleosomes increases after marathon [J]. *Frontiers in Physiology*, 2023, 14: 1118127.
- [3] SHEPHARD R J. Exercise proteinuria and hematuria: current knowledge and future directions [J]. *The Journal of Sports Medicine and*

- Physical Fitness, 2016, 56(9):1060-1076.
- [4] 李方,曹建民,王传军,等.白藜芦醇通过调节 SIRT1/NF- κ B 通路减轻力竭训练致大鼠肾的炎症反应[J].中国生物化学与分子生物学报, 2019, 35(7):773-779.
- LI F, CAO J M, WANG C J, et al. Resveratrol reduces renal inflammatory response induced by exhaustive exercise in rats by regulating SIRT1/NF- κ B pathway[J]. Chinese Journal of Biochemistry and Molecular Biology, 2019, 35(7):773-779.
- [5] 李方,曹建民,翟鹏飞,等.白藜芦醇调节 NLRP3 炎性小体改善力竭运动大鼠肾组织炎症损伤[J].陆军军医大学学报, 2022, 8(12):1229-1236.
- LI F, CAO J M, ZHAI P F, et al. Resveratrol improves renal inflammatory injury in exhaustive exercise rats by regulating NOD-like receptor protein 3 inflammasome[J]. Journal of Army Medical University, 2022, 8(12):1229-1236.
- [6] CHAPMAN C L, JOHNSON B D, PARKER M D, et al. Kidney physiology and pathophysiology during heat stress and the modification by exercise, dehydration, heat acclimation and aging[J]. Temperature, 2021, 8(2):108-159.
- [7] BONGERS C C W G, ALSADY M, NIJENHUIS T, et al. Impact of acute versus repetitive moderate intensity endurance exercise on kidney injury markers[J]. Physiological Reports, 2017, 5(24):e13544.
- [8] WOLYNIEC W, KASPROWICZ K, RITA-TKACHENKO P, et al. Biochemical markers of renal hypoperfusion, hemoconcentration, and proteinuria after extreme physical exercise[J]. Medicina, 2019, 55(5):154.
- [9] MCCULLOUGH P A, CHINNAIYAN K M, GALLAGHER M J, et al. Changes in renal markers and acute kidney injury after marathon running[J]. Nephrology, 2011, 16(2):194-199.
- [10] ROJAS-VALVERDE D, SÁNCHEZ-UREÑA B, CROWE J, et al. Exertional rhabdomyolysis and acute kidney injury in endurance sports: a systematic review[J]. European Journal of Sport Science, 2021, 21(2):261-274.
- [11] HODGSON L E, WALTER E, VENN R M, et al. Acute kidney injury associated with endurance events—is it a cause for concern? A systematic review[J]. BMJ Open Sport & Exercise Medicine, 2017, 3(1):e000093.
- [12] HOPPEL F, CALABRIA E, PESTA D, et al. Physiological and pathophysiological responses to ultramarathon running in non-elite runners[J]. Frontiers in Physiology, 2019, 10:1300.
- [13] SCHREZENMEIER E, BARASCH J, BUDDER K, et al. Biomarkers in acute kidney injury pathophysiological basis and clinical performance[J]. Acta Physiologica, 2017, 219(3):554-572.
- [14] BRILLAND B, BOUDHORS C, WACRENIER S, et al. Kidney injury molecule 1 (KIM-1): a potential biomarker of acute kidney injury and tubulointerstitial injury in patients with ANCA-glomerulonephritis[J]. Clin Kidney J, 2023, 16(9):1521-1533.
- [15] POUSSEL M, TOUZÉ C, ALLADO E, et al. Ultramarathon and renal function: does exercise-induced acute kidney injury really exist in common conditions?[J]. Frontiers in Sports and Active Living, 2019, 1:71.
- [16] ROBLES-OSORIO M L, SABATH E. Tight junction disruption and the pathogenesis of the chronic complications of diabetes mellitus: a narrative review[J]. World Journal of Diabetes, 2023, 14(7):1013-1026.
- [17] FARQUHAR M G, PALADE G E. Junctional complexes in various epithelia[J]. The Journal of Cell Biology, 1963, 17(2):375-412.
- [18] MITIC L L, VAN ITALLIE C M, ANDERSON J M. Molecular physiology and pathophysiology of tight junctions I. Tight junction structure and function: lessons from mutant animals and proteins[J]. American Journal of Physiology Gastrointestinal and Liver Physiology, 2000, 279(2):G250-G254.
- [19] YU L, GAN X G, LIU X K, et al. Calcium oxalate crystals induces tight junction disruption in distal renal tubular epithelial cells by activating ROS/Akt/p38 MAPK signaling pathway[J]. Renal Failure, 2017, 39(1):440-451.
- [20] ZHUANG Y B, HU C Y, DING G X, et al. Albumin impairs renal tubular tight junctions via targeting the NLRP3 inflammasome[J]. American Journal of Physiology Renal Physiology, 2015, 308(9):F1012-F1019.
- [21] ROSAS-MARTÍNEZ L, RODRÍGUEZ-MUÑOZ R, DEL CARMEN NAMORADO-TONIX M, et al. Hyperglycemic levels in early stage of diabetic nephropathy affect differentially renal expression of claudins-2 and -5 by oxidative stress[J]. Life Sciences, 2021, 268:119003.
- [22] TUGIZOV S. Virus-associated disruption of mucosal epithelial tight junctions and its role in viral transmission and spread[J]. Tissue Barriers, 2021, 9(4):1943274.
- [23] LI Y L, LIU J, PONGKORPSAKOL P, et al. Relief effects of icariin on inflammation-induced decrease of tight junctions in intestinal epithelial cells[J]. Frontiers in Pharmacology, 2022, 13:903762.
- [24] KANG Y H, FALK M C, BENTLEY T B, et al. Distribution and role of lipopolysaccharide in the pathogenesis of acute renal proximal tubule injury[J]. Shock, 1995, 4(6):441-449.
- [25] LYNN K S, PETERSON R J, KOVAL M. Ruffles and spikes: control of tight junction morphology and permeability by claudins[J]. Biochimica et Biophysica Acta Biomembranes, 2020, 1862(9):183339.
- [26] MACIEL R A P, CUNHA R S, BUSATO V, et al. Uremia impacts VE-cadherin and ZO-1 expression in human endothelial cell-to-cell junctions[J]. Toxins, 2018, 10(10):404.
- [27] EADON M T, HACK B K, XU C, et al. Endotoxemia alters tight junction gene and protein expression in the kidney[J]. American Journal

- of Physiology Renal Physiology, 2012, 303(6): F821-F830.
- [28] LEE C H, KIM S, KANG C M, et al. Altered expression of tight junction proteins in cyclosporine nephrotoxicity[J]. American Journal of Nephrology, 2011, 33(1): 7-16.
- [29] FURUSE M, SASAKI H, FUJIMOTO K, et al. A single gene product, claudin-1 or -2, reconstitutes tight junction strands and recruits occludin in fibroblasts[J]. The Journal of Cell Biology, 1998, 143(2): 391-401.
- [30] MUTO S. Physiological roles of claudins in kidney tubule paracellular transport[J]. American Journal of Physiology Renal Physiology, 2017, 312(1): F9-F24.
- [31] HASEGAWA K, WAKINO S, SIMIC P, et al. Renal tubular Sirt1 attenuates diabetic albuminuria by epigenetically suppressing Claudin-1 overexpression in podocytes[J]. Nature Medicine, 2013, 19(11): 1496-1504.
- [32] HADPECH S, PEERAPEN P, THONGBOONKERD V. The upregulation of lamin A/C as a compensatory mechanism during tight junction disruption in renal tubular cells mediated by calcium oxalate crystals[J]. Current Research in Toxicology, 2024, 6: 100145.
- [33] BONGERS C C W G, ALSADY M, NIJENHUIS T, et al. Impact of acute versus prolonged exercise and dehydration on kidney function and injury[J]. Physiological Reports, 2018, 6(11): e13734.
- [34] KWON O, NELSON W J, SIBLEY R, et al. Backleak, tight junctions, and cell-cell adhesion in postischemic injury to the renal allograft[J]. The Journal of Clinical Investigation, 1998, 101(10): 2054-2064.

The influence of exhaustive exercise on renal function and renal tight junction protein in rats

Nie Mengjian¹, Li Fang¹, Ren Panhong², Meng Guozheng¹

(1. School of Physical Education, Henan Normal University, Xinxiang 453007, China; 2. Department of Physical Education, Sanquan College of Xinxiang Medical University, Xinxiang 453003, China)

Abstract: [Objective] To investigate the changes and significance of renal function and tight junction proteins in rats with high-intensity exhaustive exercise-induced proteinuria, providing new insights for the prevention and treatment of exercise-induced kidney injury and its mechanism study. [Methods] Eighteen male SD rats were divided into a normal control group ($n=8$) and an exhaustive exercise group ($n=10$). A 4-week high-intensity exhaustive training model was established to induce sustained exercise-induced proteinuria in rats. Blood indicators of renal function, including serum creatinine (Cre) and blood urea nitrogen (BUN), as well as urine indicators of renal damage, such as neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) and kidney injury molecule 1 (KIM-1) levels, were measured. Hematoxylin-eosin (HE) staining was performed to observe pathological changes in rat kidney tissues. Western blot and immunohistochemistry methods were used to detect the expression changes of tight junction protein 1 (ZO-1) and sealing protein Claudin-1 in kidney tissues. [Results] Four weeks of high-intensity exhaustive exercise induced exercise-induced proteinuria in rats, upregulated renal function markers serum Cre ($P<0.01$) and BUN ($P<0.01$), urine NGAL ($P<0.01$) and KIM-1 ($P<0.01$) levels, and downregulated the expression of ZO-1 ($P<0.01$) and Claudin-1 ($P<0.05$) at the protein level in kidney tissues. [Conclusion] Four weeks of exhaustive exercise can cause sustained exercise-induced proteinuria in rats and lead to exercise-induced kidney injury in rats. Long-term exhaustive exercise may affect the integrity of renal tubular epithelial tight junction structure by down regulating renal tight junction proteins.

Keywords: exhaustive exercise; tight junction protein; renal function

[责任编辑 刘洋 杨浦]