

## تغییرات فیبرونکتین در ماتریکس خارج سلولی کلیه به دنبال دریافت نیکوتین در دوره زندگی جنینی

حسن پاهنگ<sup>۱</sup>، مرتضی بهنام فر<sup>۲</sup>، محمد رضا نیکروش<sup>۳\*</sup>، مهدی جلالی<sup>۳</sup>

<sup>۱</sup>استادیار گروه علوم تشریح دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی، بجنورد، ایران

<sup>۲</sup>دانشجوی پزشکی دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی، بجنورد، ایران

<sup>۳</sup>آستاد گروه علوم تشریح دانشگاه علوم پزشکی مشهد، ایران

\*نویسنده مسئول: دانشگاه علوم پزشکی مشهد، ایران

پست الکترونیک: Nikraveshmr@mums.ac.i

### چکیده

**زمینه و هدف:** با وجود هشدارهای فراوان هنوز هم ۲۵ تا ۳۰٪ زنان باردار به سیگار کشیدن علاقه دارند. مطالعات نشان داده اند نیکوتین از سد جفتی می گذرد و روند تکامل طبیعی اندامها را مختل می کند. با انجام این مطالعه سعی شده است تا اثرات دریافت نیکوتین بر تغییرات بیان فیبرونکتین موجود در ماتریکس خارج سلولی کلیه نوزادان یک روزه موش بررسی شود.

**مواد و روش کار:** در این مطالعه از هجده سر موش نژاد *balb/c* استفاده شد که تا روز ششم بارداری تحت نظر بودند و پس از آن موشهای گروه آزمون  $3\text{mg/kg/day}$  نیکوتین و موشهای گروه کنترل  $3\text{ml/kg/day}$  نرمال سالیین به صورت داخل صفاقی دریافت کردند. سپس در اولین روز زایمان از بافت کلیه نوزادان آنها طی عمل جراحی نمونه برداری صورت گرفت. آزمون ایمنووهیستوشیمی برای تعیین شدت واکنش فیبرونکتین در مناطق مختلف کلیه سمت چپ و کلیه سمت راست، جهت تعیین میزان بیان ژن فیبرونکتین در آزمون واکنش زنجیره ای پلیمرز-RT (PCR) استفاده گردید.

**یافته ها:** آنالیز نتایج آزمون ایمنووهیستوشیمی با آزمون اماری کروسکال والیس نشان داد نیکوتین تجمع فیبرونکتین را به طور معنی داری در ماتریکس گلمرول ولوله پیچیده پروگزیمال افزایش می دهد ( $p < 0.05$ ) و نتایج آزمون RT-PCR نیز این یافته را به اثبات رساند.

**نتیجه گیری:** نیکوتین با القاء فیبرونکتین در ماتریکس خارج سلولی احتمال کاهش میزان فیلتراسیون گلمرولار (GFR) و اسکرولز گلمرولار را به دنبال دارد.

**واژه های کلیدی:** نیکوتین، فیبرونکتین، کلیه، ماتریکس خارج سلولی.

وصول: ۹۳/۸/۲۰

اصلاح: ۹۳/۱۰/۱۰

پذیرش: ۹۳/۱۰/۱۰

## مقدمه

## روش کار

علی رغم تلاشهای صورت گرفته و افزایش سطح آگاهی مردم در زمینه اثرات سوء سیگار در دوران زندگی جنینی سیگار کشیدن همچنان یکی از عادت هایی است که سلامت نوزادان را به خطر می اندازد. هر چند مکانیسم دقیق ارتباط بین سیگار کشیدن مادر و بیماریهای متعدد حاصله از آن به خوبی کشف نشده است [۱]. ولی تاکنون مشخص شده است که بین سیگار کشیدن مادر در دوره باردای و سیگاری شدن نوزادان ارتباط معنی داری وجود دارد و نوزادانی که از مادران سیگاری متولد می شوند مستعد افسردگی و کاهش ضریب هوشی هستند و زمینه پرخاشگری در آنها افزایش می یابد [۲]. در مطالعات دیگری اثرات ترانوژنیک نیکوتین در دوره بارداری به اثبات رسیده و نیکوتین منجر به نقیصی از جمله شکاف کام و لب شده است و پس از بررسی بیان ژنهای متعدد و مسیرهای سیگنالینگ مشخص شد ماتریکس خارج سلولی نقش عمده ای در این فرایند ایفا می کند [۳]. و در پاره ای از مطالعات تاثیر سیگار در دوره حاملگی بر عدم رونویسی ژنهای مولکول های اتصال موجود در ماتریکس خارج سلولی و آپوپتوز، انعقاد خون و متابولیسم چربی به اثبات رسیده است [۴]. همچنین با تشخیص گیرنده های استیل کولینی در فیبروبلاستها انتظار می رود نیکوتین با تغییر در بیان گلیکوپروتئین های متعدد سنتز شده توسط این سلول ها تکامل ارگان ها را تحت تاثیر قرار دهد [۵].

مثلا تحقیقات گذشته نشان داده اند نیکوتین مادری بیان فیبرونکتین را در پارانشم ریه نوزادان کاهش می دهد [۶]. و با توجه به اینکه اجزاء ماتریکس خارج سلولی از قبیل فیبرونکتین، کلاژن و لامینین در شکل گیری ساختمان کلیه در طی ارگانوژنز نقش به سزایی دارند و ساختمان نفرونی و لوله ای کلیه را حمایت می کنند [۷] و با اطلاع از این موضوع که عوارضی مثل ضخیم شدن غشاء پایه گلومرولار تغییرات پاتولوژیک کلیه را در پی دارد و منجر به اسکروز گلومرول و فیبروز اینترستیشیال می شود [۸] که سلامت انسان را به خطر می اندازد لذا در این مطالعه سعی شده است تا اثرات دریافت نیکوتین در دوره زندگی جنینی بر روند تغییرات فیبرونکتین موجود در ماتریکس خارج سلولی کلیه در دوره تکامل مورد بررسی قرار گیرد.

جهت انجام این پژوهش از ۱۸ سر موش ماده بالغ نژاد balb/c باروراستفاده شد که پس از اطمینان از صحت جفت گیری آنها با مشاهده پلاک واژینال به دو گروه آزمون و کنترل تقسیم شدند و از روز ششم بارداری به موشهای گروه آزمون روزانه 3mg/kg نیکوتین و به موشهایی که در گروه کنترل قرار داشتند 3ml/kg نرمال سالین به صورت داخل صفاقی تا پایان دوره بارداری تزریق شد [۹] و پس از زایمان از نوزدان یک روزه آنها نمونه برداری صورت گرفت به طوری که کلیه سمت راست آنها به فرمالین ۱۰٪ جهت آزمون ایمونوهیستوشیمی و کلیه سمت چپ آنها به محلول RNAlater جهت آزمون واکنش زنجیره ای پلی مرز (RT-PCR) منتقل شد.

آزمون ایمونوهیستوشیمی: برشهای ۵ میکرومتری تهیه شده از بافت کلیه سمت چپ نوزادان پس از دپارافینه شدن در گزلیل در اتانول با درجات نزولی آب دهی شدند سپس به مدت ۱۵ دقیقه در محلول پراکسید هیدروژن ۳٪ انکوبه شدند و پس از سه بار شستشو در PBS جهت بازیافت آنتی ژن از روش گرمایی در محلول PBS به مدت ۱۵ دقیقه استفاده شد و در مرحله بعد به مدت یک ساعت در معرض آنتی بادی آنتی فیبرونکتین قرار گرفتند و پس از شستشو در معرض آنتی بادی ثانویه که با HRP<sup>۱</sup> کونژوگه شده بود به مدت ده دقیقه در دمای اتاق قرار گرفتند و وقتی که در معرض DAB<sup>۲</sup> قرار گرفتند محل های واکنش به رنگ قهوه ای نمایان شد و جهت جلوگیری از واکنش بیش از حد دو بار در آب مقطر شستشو داده شدند و برای ایجاد رنگ زمینه از هماتوکسیلین استفاده شد. تصاویر به دست آمده در آزمون ایمونوهیستوشیمیایی با متد رتبه ای کیفی طبق جدول زیر آنالیز شدند:

آزمون واکنش زنجیره ای پلی مرز در زمان واقعی: بیان ژن بر روی کلیه های سمت چپ با تکنیک RT-PCR انجام شد. برای این کار پس از اینکه نمونه کلیه های سمت چپ کاملاً هموژنیزه شدند RNA از بافت هر کلیه توسط RNX-plus طبق دستور شرکت سازنده استخراج

1 - horseradish peroxidase

2- diaminobenzidin

شدت رنگ	بدون رنگ	رنگ ضعیف	رنگ متوسط	رنگ قوی	رنگ بسیار قوی
رتبه	۰	۱	۲	۳	۴

با مشاهده احشاء نوزدان مورد مطالعه هیچ گونه ناهنجاری ماکروسکوپی قابل رویت نبود. با مقایسه مقاطع ایمونوهیستوشیمیایی بافت کلیه در دو گروه مشاهده شد بیشترین تغییرات واکنش فیبرونکتین در ناحیه گلوبومرول و لوله پیچیده پروگزیمال به دنبال دریافت نیکوتین مادری اتفاق می افتد و همچنین در خارجی ترین ناحیه کورتکس کلیه که بلافاصله در زیر کپسول قرار دارد نیز تغییرات واضحی قابل رویت بود (نمودار ۲- شکل ۱).

با مشاهده نتایج حاصل از آزمون RT-PCR در گروه های مورد مطالعه شاهد افزایش بیان mRNA فیبرونکتین در گروه نیکوتینی بودیم که این یافته با نتایج آزمون ایمونوهیستوشیمی مطابقت داشت (نمودار ۳).

### بحث

مطالعه حاضر نشان داد نوزادان موشهایی که در معرض نیکوتینی قرار گیرند که از طریق جفت به آنها رسیده نه تنها وزن کمتری دارند بلکه میزان فیبرونکتین در ماتریکس خارج سلولی کلیه افزایش می یابد. مطالعات متعددی در گذشته اثرات نیکوتین را بر کاهش وزن هنگام تولد به اثبات رساندند از جمله فنگ<sup>۱</sup> و همکاران دریافتند نوزادانی که در دوره حاملگی نیکوتین دریافت کردند وزن هنگام تولد کمتری داشتند و مشاهده شد نیکوتین سطح کورتیکواسترون را هم در پلاسمای مادران و هم در پلاسمای نوزادان افزایش می دهد و یک ارتباط مستقیم بین این دو وجود دارد [۱۱]. در همین زمینه دنگ<sup>۲</sup> و همکاران نیز متوجه شدند نیکوتین در طی حاملگی سطح کورتیکواسترون خون جنین را افزایش می دهد و باعث

شد و پس از اطمینان از خلوص RNA به کمک الکتروفورز روی ژل آگاروز رونویسی معکوس با استفاده از کیت سنتز cDNA انجام شد و در نهایت واکنش زنجیره ای پلیمرز با دستگاه ABI PRISM در پلیت های اپتیکال ۴۸ چاهکی صورت گرفت. به طوری که محلول اصلی RT-PCR حاوی یک ماکرولیتر cDNA، دو دهم ماکرولیتر پرایمر آغازی و دو دهم ماکرولیتر پرایمر معکوس و سه و شش دهم ماکرولیتر آب دیونیزه و پنج ماکرولیتر سایبر گرین بود و با استفاده از متد CT مقایسه میزان بیان mRNA فیبرونکتین نسبت به ژن اندوژنوس GAPDH انجام شد [۱۰].

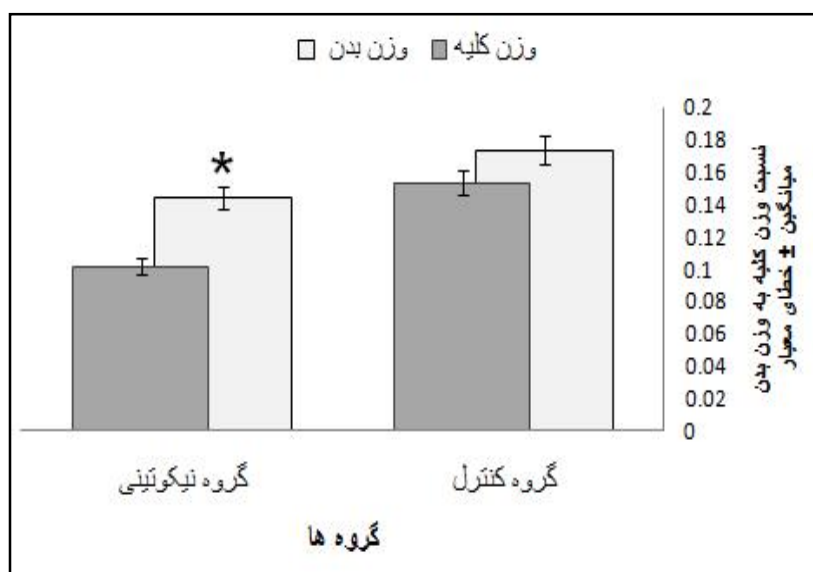
آنالیز آماری: جهت تحلیل نتایج از نسخه ۱۱/۵ نرم افزار SPSS استفاده شد و آزمون نان پارامتریک کروسکال والیس برای آنالیز نتایج به دست آمده از مطالعه کیفی ایمونوهیستوشیمی بکار رفت و برای مقایسه نتایج مطالعه کمی RT-PCR از تست آماری t-test استفاده شد. P-Value کمتر از ۰/۰۵ از نظر آماری به عنوان معنی دار در نظر گرفته شد و داده ها به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار نمایش داده شدند.

### یافته ها

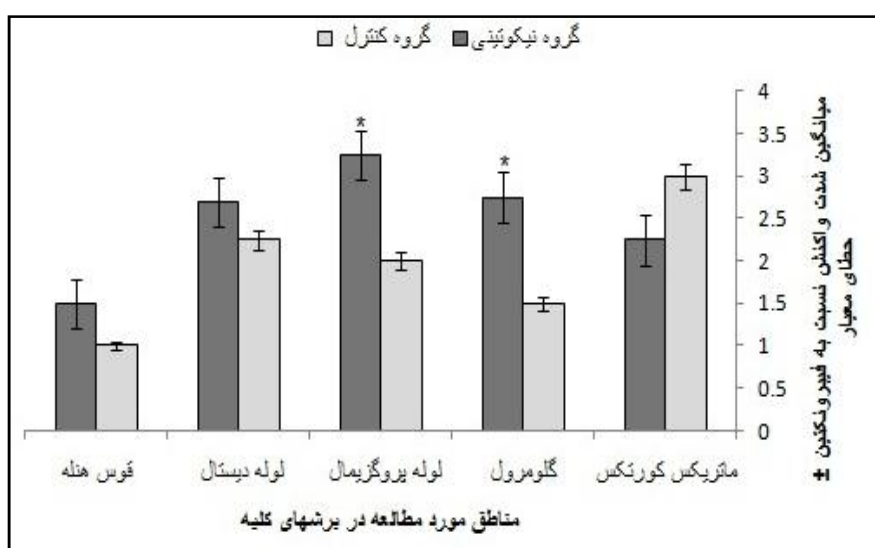
با مقایسه میانگین وزن نوزادان یک روزه در گروه آزمون نسبت به گروه کنترل با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه و تست تعقیبی توکی مشخص شد مصرف نیکوتین در دوره بارداری به طور معنی داری وزن نوزادان را کاهش می دهد (P=۰/۰۱۲). با وجود اینکه وزن کلیه کاهش یافت ولی اختلاف معنی داری بین دو گروه مشاهده نشد (P=۰/۰۵۳). با مقایسه نسبت وزن کلیه به وزن بدن مشخص شد گروه نیکوتینی کاهش معنی داری را نسبت به گروه کنترل دارد (نمودار ۱).

1-Feng

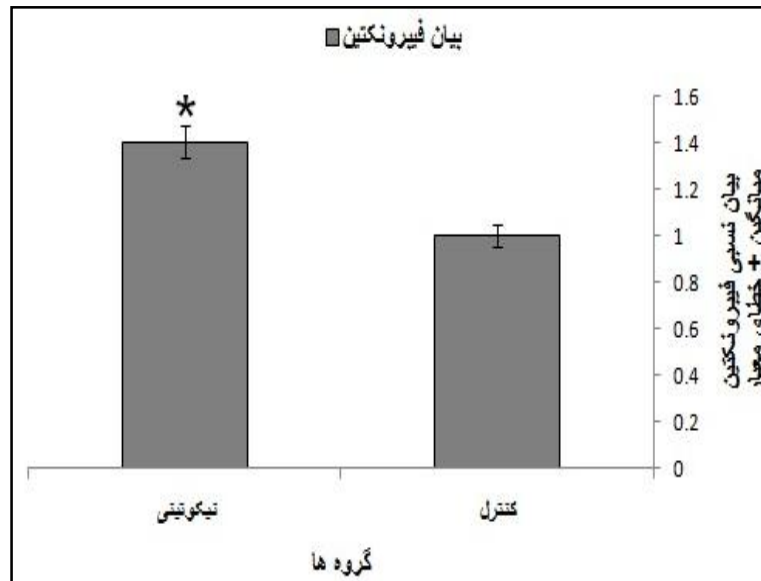
2-Deng



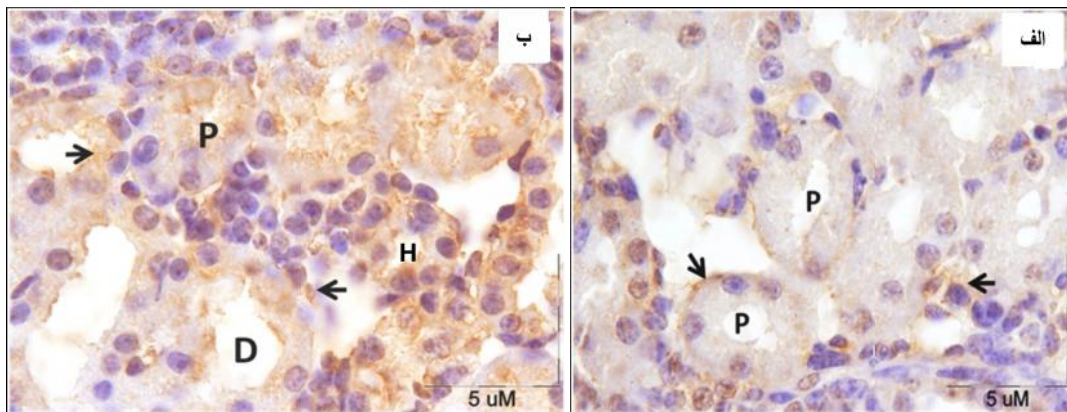
نمودار ۱: اثرات مصرف نیکوتین در دوره بارداری بر تغییرات نسبت وزن کلیه به وزن بدن در نوزادان یک روزه که مادرانشان ۳ mg/kg/day نیکوتین دریافت کرده بودند نسبت به گروه کنترل. داده ها به صورت میانگین  $\pm$  انحراف از معیار نشان داده شده اند. \* افزایش معنی دار بودن را در گروه نیکوتینی نسبت به گروه کنترل نشان می دهد (N=۹).



نمودار ۲: اثرات نیکوتین بر شدت واکنش فیبرونکتین موجود در ماتریکس خارج سلولی نواحی مختلف برشهای کلیه در موش یک روزه که مادرانشان ۳ mg/kg/day نیکوتین دریافت کرده بودند. ۰/۰۵ < P نسبت به گروه کنترل. داده ها به صورت میانگین  $\pm$  انحراف از معیار نشان داده شده اند (N=۹).



نمودار ۳: اثرات نیکوتین بر بیان فیبرونکتین موجود در بافت کلیه در موش یک روزه که مادرانشان ۳ mg/kg/day نیکوتین دریافت کرده بودند.  $p < 0.05$  \* نسبت به گروه کنترل. داده ها به صورت میانگین  $\pm$  انحراف از معیار نشان داده شده اند (N=۹).



شکل ۱: تصویر الف مقطع عرضی کلیه یک روزه در گروه کنترل را نشان می دهد و تصویر ب مقطع عرضی از کلیه یک روزه ای را نشان می دهد که مادرانشان ۳ mg/kg/day نیکوتین دریافت کرده بودند که بیشترین شدت واکنش در ماتریکس اطراف لوله پروگزیمال (p) مشاهده می شود.

کاهش رشد اسکلت جنین می شود و از سنتز ماتریکس در صفحه غضروفی جلوگیری می کند و بیان فاکتور رشد شبه انسولینی (IGF-1) را کاهش می دهد و بدین طریق با تاخیر در فرایند کوندروژنز باعث کاهش رشد و در نتیجه کاهش وزن هنگام تولد می شود [۵]. که نتایج مطالعه حاضر نیز با یافته های آنها مطابقت داشت.

از آنجایی که فیبروز کلیه با فعال شدن و تکثیر فیبروبلاست های بینابینی و سنتز بیش از حد اجزاء ماتریکس خارج سلولی همراه است این امر باعث القاء فاکتور TGF-1 می شود که با فعال کردن فیبروبلاست های بینابینی و تجمع بیش از حد اجزاء ماتریکس خارج سلولی از قبیل فیبرونکتین و کلاژن اتفاق می افتد. اثرات بیولوژیک این فاکتور از طریق سیگنال های پایین دست که به خانواده پروتئین های Smads تعلق دارند اعمال می شود و فعالیت خود را با فسفوریلاسیون Smad2/3 آغاز می کند [۱۲]. مطالعات متعددی نشان دادند بیماریهای وابسته به نیکوتین با تغییر در ساختار بافت و افزایش رسوب ماتریکس خارج سلولی همراه است. از جمله نیکوتین بیان فاکتور رشد مبدل بتا و رسوب کلاژن را در قلب نوزادانی که نیکوتین را در دوره زندگی جنینی دریافت کرده بودند افزایش داد [۱۳]. در بین مولکول های ماتریکس فیبرونکتین به نسبت زیادی در افراد سیگاری بیان می شود و نیکوتین بیان فیبرونکتین را در فیبروبلاست ها با فعال کردن سیگنال های داخل سلولی منجر به افزایش بیان ژن فیبرونکتین می شود. و اثرات تحریکی نیکوتین با اکتیواسیون پروتئین کیناز C و پروتئین کیناز فعال کننده میتوز همراه است که سطح داخل سلولی cAMP و فسفوریلاسیون DNA را افزایش می دهد و افزایش رونویسی ژن به عناصر پاسخ دهنده به cAMP که در انتهای 5' ژن پروموتور وابسته است. از طرفی نیکوتین بیان گیرنده استیل کولین نیکوتینیک را روی فیبروبلاست ها افزایش می دهد [۱۴]. همچنین تجویز نیکوتین به موشهای صحرایی بیان گیرنده نیکوتینی در سلول های کبدی و کلاژیوسیت ها بیان فاکتورهای پیش فیبروزی و فیبرونکتین افزایش یافت [۱۵]. به نظر می رسد نیکوتین با تکثیر سلول های مزانژیال و افزایش بیان سیتوکین های پیش فیبروزی از قبیل فاکتور رشد

مبدل بتا و پروتئین های ماتریکس خارج سلولی مثل فیبرونکتین و کلاژن روند زمینه نوروباتی را القاء می کند. و تکامل کلیه را با تبدیل سلول های اپی تلیال به مزانشیم و بیان فاکتور رشد بافت همبند در اپی تلیوم کلیوی تحت تاثیر قرار می دهد و آسیب توبولار و مجموع محتویات کلاژن را در نوزادانی که از مادران نیکوتینی متولد شدند به طور معنی داری افزایش می دهد [۱۶]. هر چند در مطالعه حاضر فقط فیبرونکتین مورد ارزیابی قرار گرفت با این وجود به نظر می رسد با افزایش فیبرونکتین که خود یکی از فاکتورهای پیش فیبروزی است احتمال فیبروز دور از انتظار نیست. زیرا بر اساس مطالعات انجام شده تجمع فیبرونکتین رابطه مستقیمی با افزایش کلاژن دارد و با مهار فیبرونکتین از رسوب کلاژن جلوگیری شد [۱۷]. از مکانیسم های دیگری که به نظر می رسد نیکوتین عامل افزایش سطح فیبرونکتین باشد این است که طبق مطالعات انجام شده سطح فاکتورهای التهابی سرورم رابطه مستقیمی با دوز دریافتی نیکوتین دارد به طوری که با افزایش دوز نیکوتین نه تنها میانگین وزن هنگام تولد نوزادان کاهش می یابد بلکه فاکتورهای التهابی مثل اینترلوکین-۶ و فاکتور نکروز تومور-آلفا نیز با افزایش دوز نیکوتین هم خوانی دارد و سطح سرومی فاکتور TGF- و اکسید نیتریک نیز افزایش قابل ملاحظه ای را در دوز 6 mg/kg نشان داد [۱۸]. در همین راستا آنالیز بافت ریه از موشهایی که در دوره حاملگی در معرض دریافت نیکوتین بودند افزایش سطح اینترلوکین-۱۳ و فاکتور TGF-1 را نشان داد که فعالیت فاگوسیتی کاهش یافت با این وجود فعالیت ماکروفاژها در موشهایی که فاقد گیرنده استیل کولین نیکوتینیک آلفا بودند بهبود یافت [۱۹].

#### نتیجه گیری

به نظر می رسد نیکوتین موجود در سیگار با تحریک فیبروبلاست ها منجر به القاء فیبرونکتین در ماتریکس خارج سلولی کلیه می شود که خود احتمال کاهش میزان فیلتراسیون گلومرولار (و اسکروز گلومرولار را به دنبال دارد. لذا پیشنهاد می شود تا با استفاده از ترکیبات آنتی فیبروزی، آنتی اکسیدان و ضد التهابی راههای مناسبی جهت پیشگیری از اثرات فیبروتیک نیکوتین مادری کشف شود.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی مشهد که حمایت مالی این طرح را بر اساس طرح

پژوهشی به شماره ۹۰۰۶۲۹ به عهده داشتند تقدیر و تشکر به عمل می آید.

## References

1. Nielsen C.H., A. Larsen, A.L. Nielsen, DNA methylation alterations in response to prenatal exposure of maternal cigarette smoking: A persistent epigenetic impact on health from maternal lifestyle? *Arch Toxicol*, 2014.
2. Biederman J., "et al", Is Maternal Smoking During Pregnancy a Risk Factor for Cigarette Smoking in Offspring? A Longitudinal Controlled Study of ADHD Children Grown Up, *J Atten Disord*, 2014.
3. Baroni, T., "et al", Human cleft lip and palate fibroblasts and normal nicotine-treated fibroblasts show altered in vitro expressions of genes related to molecular signaling pathways and extracellular matrix metabolism, *J Cell Physiol*, 2010, 222(3): p. 748-56.
4. Votavova H., "et al", Deregulation of gene expression induced by environmental tobacco smoke exposure in pregnancy, *Nicotine Tob Res*, 2012, 14(9): p. 1073-82.
5. Deng Y., "et al", Nicotine-induced retardation of chondrogenesis through down-regulation of IGF-1 signaling pathway to inhibit matrix synthesis of growth plate chondrocytes in fetal rats, *Toxicol Appl Pharmacol*, 2013, 269(1): p. 25-33.
6. Mahdi Shariati K., "et al", Effects of maternal nicotine exposure on expression of laminin alpha 5 in lung tissue of newborn, *Pak J Biol Sci*, 2012, 15(24): p. 1168-75 [Persian].
7. Sebinger D.D., "et al", ECM modulated early kidney development in embryonic organ culture, *Biomaterials*, 2013, 34(28): p. 6670-82.
8. Chakkarwar V.A., Smoking in diabetic nephropathy: sparks in the fuel tank? *World J Diabetes*, 2012; 3(12): p. 186-95.
9. Jalali M., "et al", Effects of Maternal Nicotine Exposure on Expression of Collagen Type IV and its Roles on Pulmonary Bronchogenesis and Alveolarization in Newborn Mice, *Iran J Allergy Asthma Immunol*, 2010. 9(3): p. 169-73 [Persian].
10. Jung D.S., "et al", FR167653 inhibits fibronectin expression and apoptosis in diabetic glomeruli and in high-glucose-stimulated mesangial cells, *Am J Physiol Renal Physiol*, 2008;295(2): p. F595-604.
11. Feng J.H., "et al", Maternal and fetal metabonomic alterations in prenatal nicotine exposure-induced rat intrauterine growth retardation, *Mol Cell Endocrinol*, 2014; 394(1-2): p. 59-69.
12. Zhou X., "et al", Curcumin Ameliorates Renal Fibrosis by Inhibiting Local Fibroblast Proliferation and Extracellular Matrix Deposition, *J Pharmacol Sci*, 2014.
13. Chou H.C, C.M. Chen, Maternal nicotine exposure during gestation and lactation induces cardiac remodeling in rat offspring, *Reprod Toxicol*, 2014. 50: p. 4-10.
14. Roman J., "et al", Nicotine and fibronectin expression in lung fibroblasts: implications for tobacco-related lung tissue remodeling, *FASEB J*, 2004;18(12): p. 1436-8.
15. Jensen K., "et al", Chronic nicotine exposure stimulates biliary growth and fibrosis in normal rats, *Dig Liver Dis*, 2013; 45(9): p. 754-61.
16. Chen C.M., H.C. Chou, L.T. Huang, Maternal nicotine exposure during gestation and lactation induces kidney injury and fibrosis in rat offspring, *Pediatr Res*, 2015; 77(1-1): p. 56-63.
17. Miller C.G., "et al", Effects of high glucose on integrin activity and fibronectin matrix assembly by mesangial cells, *Mol Biol Cell*, 2014; 25(16): p. 2342-50.
18. Mohsenzadeh Y., "et al", Prenatal exposure to nicotine in pregnant rat increased inflammatory marker in newborn rat, *Mediators Inflamm*, 2014; 2014: p. 274048 [Persian].
19. Wongtrakool C., "et al", In utero nicotine exposure promotes M2 activation in neonatal mouse alveolar macrophages, *Pediatr Res*, 2012; 72(2): p. 147-53.

## Effect of prenatal nicotine exposure on fibronectin changes of extracellular matrix in kidney

Pahang H<sup>1</sup>, Behnamfar M<sup>2</sup>, Nikravesh M<sup>3\*</sup>, jalali M<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Ph.D of anatomy, Department of Anatomy, Faculty of Medicine, North Khorasan University of Medical Sciences, Bojnord, Iran.

<sup>2</sup> students of medicines, Faculty of Medicine, North Khorasan University of Medical Sciences, Bojnord, Iran.

<sup>3</sup> PhD of anatomy, Department of Anatomy and cell biology, Faculty of Medicine, Mashhad University of Medical Sciences, mashhad, Iran.

\*Corresponding author : Mohammad Reza Nikravesh, Department of Anatomy and Cell Biology, Medical Faculty, Mashhad University of Medical Sciences in Iran.

E-mail: Nikraveshmr@mums.ac.ir

### Abstract

**Background & Objectives:** Despite the serious effects of smoking, about 25 to 30% of women interest to smoke during pregnancy. Nicotine interfere the developmental process. The aim of this study was to evaluate the maternal nicotine effects on fibronectine expressions in newborn kidney extracellular matrix.

**Material and Method:** eighteen pregnant mice were used for this study that followed to the E6 day. To mice in experimental group 3mg/kg /day nicotine and to ones in control 3ml/kg/day normal saline administrated intraperitoneally. On the first day of delivery the left Neonatal kidney tissue was used for Immunohistochemistry(IHC) examination and right kidney for RT-PCR test.

**Results:** THE IHC results that analyzing with kruskal walis showed fibronectine accumulated significantly in glomerule and proximal convoluted tubule matrix in mice received nicotine( $P<0.05$ ). The RT-PCR results proved this finding.

**Conclusion:** Nicotine induces the production of Fibronectin in kidney extracellular matrix that reduce the Possibility of Glomerular filtration rate and glomerular sclerosis.

**Key words:** nicotine, fibronectine, kidney, extracellular matrix