

# دانشور پژشکی

## تأثیر تمرین شنا بر فعالیت متالوپروتئیناز ۲ و سطوح فاکتور نکروز دهنده تومور آلفا بافت کبد موش‌های صحرایی دیابتی شده با آلوکسان

نویسندگان: معصومه حبیبیان<sup>\*</sup>، انیسه امانیان<sup>۲</sup>

۱. گروه تربیت بدنی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد قائم‌شهر، قائم‌شهر، ایران

۲. گروه تربیت بدنی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساری، ساری، ایران

E-mail: habibian\_m@yahoo.com

\* نویسنده مسئول: معصومه حبیبیان

### چکیده

مقدمه و هدف: بیماری کبدی در دیابت نوع ۲ رواج دارد و فعالیت ورزشی در پیشگیری و درمان آسیب کبدی ناشی از دیابت مؤثر است. لذا هدف از مطالعه حاضر بررسی تأثیر تمرین شنا بر فعالیت ماتریکس متالوپروتئیناز ۲ (MMP-2) و سطوح فاکتور نکروز دهنده تومور آلفا (TNF- $\alpha$ ) در بافت کبد موش‌های صحرایی دیابتی شده با آلوکسان بود.

مواد و روش‌ها: در این تحقیق تجربی، ۲۸ سر موش صحرایی نر ویستار به صورت تصادفی به ۴ گروه (۷ تایی) کنترل، دیابت، تمرین، دیابت+تمرین تقسیم شدند. دیابت با تزریق درون صفاقی آلوکسان (یک دوز، ۹۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) القا شد. حیوانات با تمرین شنا به مدت ۶ تا ۳۰ دقیقه در روز به مدت ۸ هفته ورزش داده شدند و ۴۸ ساعت پس از آخرین مداخله‌ها کشته شدند و فعالیت کبدی MMP-2 و سطوح TNF- $\alpha$  به ترتیب به روش‌های زیموگرافی و الیزا تعیین شد. از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه برای تجزیه و تحلیل داده‌ها استفاده شد ( $p < 0/05$ ).

نتایج: یافته‌ها نشان داد متعاقب القای دیابت، فعالیت MMP-2 و سطوح TNF- $\alpha$  کبدی در موش‌های صحرایی افزایش یافت ( $p < 0/05$ ) در حالی که ۸ هفته تمرین شنا منجر به کاهش معنی‌دار سطوح TNF- $\alpha$  و فعالیت MMP-2 در بافت کبد موش‌های صحرایی دیابتی شد ( $p < 0/05$ ).

نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد تمرین منظم شنا می‌تواند به واسطه کاستن از فعالیت MMP-2 و سطح بیان TNF- $\alpha$  در موش‌های صحرایی دیابتی تا حدودی از آسیب کبدی ناشی از دیابت جلوگیری کند.

واژگان کلیدی: دیابت ملیتوس، ماتریکس متالوپروتئیناز ۲، تمرین ورزشی، فاکتور نکروز دهنده تومور آلفا.

دوماهنامه علمی-پژوهشی  
دانشگاه شاهد  
سال بیست و پنجم-شماره ۱۳۳  
اسفند ۱۳۹۶

دریافت: ۱۳۹۶/۰۹/۲۵  
آخرین اصلاح‌ها: ۱۳۹۶/۱۱/۰۹  
پذیرش: ۱۳۹۶/۱۱/۱۷

## مقدمه

شیوع کبد غیر چرب الکلی در افراد پیش دیابتی و یا مبتلا به دیابت نوع ۲ رو به افزایش است (۱). بیماری کبدی یکی از علل مهم مرگ‌ومیر در افراد مبتلا به دیابت نوع ۲ است به طوری که سیروز کبدی چهارمین دلیل منجر شونده به مرگ و هم چنین علت ۴/۴ درصد از مرگ‌ومیر در افراد دیابتی شناخته شده است (۲). مقاومت انسولینی نقش مهمی در توسعه دیابت نوع ۲ و در نتیجه فیروز هپاتیکی دارد از این جهت سرکوب دیابت و سندرم متابولیک می‌تواند از اندام کبد در مقابل فیروز هپاتیکی حمایت نماید (۳). هیپرگلیسمی نیز تشکیل محصولات انتهایی گلیکوزیله شدن پیشرفته Advanced glycation end products (AGEs) را در دیابت نوع ۲ تسهیل می‌کند و سیگنال‌های AGEs از طریق گیرنده‌های AGE منجر به هیپرگلیسمی کبدی می‌شوند (۴). از سوی دیگر کبد توانایی قابل توجهی برای ترمیم و بازسازی خود پس از آسیب‌دیدگی دارد. تخریب طبیعی اجزاء ماتریکس خارج سلولی از ویژگی‌های مهم ترمیم بافت و بازسازی است و در بازگردش (turn over) نامنظم ماتریکس خارج سلولی به انواع بیماری‌های کبدی نقش دارد. کبد سالم دارای یک باز گردش متوسط ماتریکس خارج سلولی است که به نظر می‌رسد به مقدار نسبتاً کم متالوپروتئینازهای Matrix metalloproteinase (MMP) تشکیل دهنده آن‌ها بستگی داشته باشد (۵). در طول آسیب کبدی سلول‌های ماهواره‌ای کبدی فعال شده در یک فنوتیپ میوفیبروبلاستیک، قادر به سنتز پروتئین ماتریکس خارج سلولی، تکثیر و تشکیل اسکار می‌باشند. MMP-2 یا ژلاتیناز A، یک کلاژناز نوع IV، ۷۲ کیلودالتونی وابسته به روی است که به عنوان پروآنزیم از انواع سلول‌ها از جمله سلول‌های ماهواره‌ای کبدی ترشح می‌شود و می‌تواند محیط خارج سلولی را تعدیل نماید (۶). افزایش بیان (۷) و سطوح (۸) MMP-2، در بافت کبدی به ترتیب رت‌های دیابتی و مبتلا به سیروز کبدی مشاهده شد. هم چنین MMP-2 نقش مهمی در حفظ هموستاز عروق کبدی دارد و علاوه بر میانجی‌گری در

فعال‌سازی شاخص فیروژنز فاکتور رشد تغییر شکل-بتا ۱، قادر به تعدیل فعال‌سازی شاخص‌های التهابی از جمله فاکتور نکروز دهنده تومور آلفا Tumor necrosis factor alpha (TNF- $\alpha$ ) می‌باشد (۵). TNF- $\alpha$  یک سایتوکاین‌های پیش التهابی است و نقش مهمی در توسعه کبد چرب غیرالکلی دیابتی ناشی از رژیم غذایی با چربی و قند زیاد دارد. سلول‌های کوپفر جمعیت اصلی لیگاندهای ماکروفاژ مونوسیت در کبد را تشکیل می‌دهند و TNF- $\alpha$  به طور عمده توسط این لیگاندها تولید می‌شود. بدین ترتیب، فعال شدن سلول‌های کوپفر می‌تواند تولید TNF- $\alpha$  را افزایش دهد که ممکن است منجر به کبد چرب غیرالکلی به واسطه القا فیروز و آسیب کبدی شود (۹، ۱۰). در مطالعات قبلی افزایش سطوح کبدی TNF- $\alpha$  در موش‌های صحرایی مبتلا به دیابت (۱۱) و یا کبد چرب غیرالکلی (۱۲) مشاهده شد.

بر اساس شواهد استفاده از مداخله‌های ضدالتهابی می‌تواند در درمان دیابت مؤثر باشند (۱۳) و فعالیت ورزشی منظم می‌تواند منجر به کاهش التهاب، فیروز و آسیب کبدی از طریق سرکوب ماکروفاژها گردد (۱۰). بررسی‌های اخیر در خصوص ارتباط بین فعالیت ورزشی و کبد و هم چنین نتایج حاصل از درمان اختلالات کبد چرب نشان داد که فعالیت ورزشی با اثرات بسیار مطلوبی بر کاهش چربی کبدی در مقایسه با درمان دارویی در دسترس است (۱۴). فعالیت‌های ورزشی اثرات مثبتی در پیشگیری از استئاتوز کبدی دارد. تأثیر این مداخله غیر دارویی بر کاهش هیپرانسولینی با مقاومت انسولینی، هیپرگلیسمی، هیپرتروفی بافت چربی، دیس لیپیدمی، پروتئین‌های استرسی و کاهش سایتوکاین التهابی TNF- $\alpha$  در مطالعات تجربی مشاهده شد (۱۵). اگرچه کاهش مقادیر افزایش یافته MMP-2 (۱۳) و TNF- $\alpha$  (۱۶) کبدی در شرایط آسیب کبدی، متعاقب مداخله‌های گیاهی و دارویی گزارش شده است (۷) اما در خصوص تأثیر ورزش منظم شنا بر متغیرهای مورد بحث در بافت کبد

تزریق آلوکسان و با گرفتن یک قطره خون از سینوس چشم در حالت ناشتایی، سطوح گلوکز خون رت ها با استفاده از دستگاه گلوکومتر (مدل Accu-Chek ساخت شرکت Roche diagnostics آلمان) اندازه‌گیری شد. غلظت گلوکز خون بیشتر از ۲۵۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر به عنوان شاخص دیابتی شدن موش‌های صحرایی در نظر گرفته شد (۱۷). به گروه‌های کنترل و تمرین نیز سالین ۰/۹٪ با همان حجم تزریق شد.

برنامه تمرینی: قبل از شروع پروتکل اصلی، به منظور آشنایی رت ها با آب، حیوانات پنج روز و به مدت پنج دقیقه در هر روز، تمرین داده شدند. برنامه تمرینی اصلی شامل شنا کردن در تانکر ویژه جوندگان (مخزن آب ویژه شنا به ابعاد ۷۰ × ۹۰ × ۱۵۰ سانتی‌متر از جنس پلاستیک) به مدت ۶ هفته و ۵ جلسه در هفته، بود که در هفته اول با ۵ دقیقه تمرین شروع شد و با افزایش تدریجی زمان شنا به ۳۰ دقیقه در ابتدای هفته چهارم رسید و تا هفته هشتم ادامه یافت (۱۸). پروتکل تمرینی شنا در ساعات ۱۰ تا ۱۲ صبح اجرا شد و پس از اتمام تمرینات شنا در هر جلسه، حیوانات پس از قرار گرفتن در معرض جریان هوای گرم هیتر مخصوص جوندگان با دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد خشک می‌شدند. تحقیق حاضر با رعایت قوانین بین‌المللی کار بر روی حیوانات آزمایشگاهی انجام شد.

بافت‌برداری و هموژنیزه: ۷۲ ساعت بعد از آخرین مداخله‌ها حیوانات با استفاده از تزریق درون صفاقی کتامین (۹۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) و زایلازین (۱۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) بی‌هوش و سپس فدا شدند. پس از شکافتن حفره شکمی بافت کبد به دقت جدا و تا زمان بررسی‌های آزمایشگاهی در دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. بافت فریز شده پس از پودر شدن در بافر پروتاز (PBS, PH 7.4 هموژنیزه شد (۱۷)). سطوح TNF- $\alpha$  بافت کبدی، با استفاده از کیت تجاری‌های ویژه (Rat Eliza kit, Assaypro co, USA) به روش الیزا با حساسیت کمتر از ۵/۳ پیکوگرم/میلی‌لیتر سنجیده شد. فعالیت MMP-2 قلبی به روش زیموگرافی

دیابتی تحقیقی یافت نشد. با توجه به ارتباط موجود بین التهاب مزمن و عوارض دیابت از جمله آسیب کبدی، شناسایی اهداف درمانی قادر به تنظیم منفی پاسخ‌های پیش التهابی و هم چنین استراتژی‌های امیدبخش در مدیریت دیابت مهم است (۱۱). لذا با توجه به ضرورت کنترل دیابت منظور داشتن یک زندگی طولانی همراه با کیفیت بالا و هم چنین شیوع روزافزون دیابت و هراس از عوارض مختلف ناشی از آن هم چون کبد چرب غیرالکلی، سیروز و نارسایی کبدی؛ تحقیق حاضر به منظور بررسی تأثیر تمرین شنا بر فعالیت MMP-2 و سطوح TNF- $\alpha$  بافت کبد در موش‌های صحرایی دیابتی انجام شد.

### مواد و روش‌ها

آزمودنی‌ها: این پژوهش تجربی با استفاده از طرح پس‌آزمون همراه با گروه کنترل، بر روی ۲۸ سر موش صحرایی نر بالغ ۸ هفته‌ای با نژاد ویستار و میانگین وزنی ۱۹۵ - ۲۲۰ گرم انجام شد. حیوانات خریداری شده از انستیتو پاستور تهران، به آزمایشگاه حیوانات انتقال یافتند و پس از سازگاری دوهفته‌ای با محیط جدید به صورت تصادفی به ۴ گروه کنترل، دیابت، تمرین و تمرین-دیابت تقسیم شدند (۷ سر موش در هر گروه). در طی پژوهش، حیوانات به صورت ۴ سر رت در قفس پلی اتیلنی ۱۵×۱۵×۳۰، در دمای ۲±۲۲ درجه سانتی‌گراد، رطوبت ۵±۵۵ درصد و چرخه روشنایی به تاریکی ۱۲:۱۲ نگهداری شدند و آزادانه به آب و غذای پلت (ساخت شرکت بهپرور کرج، به مقدار ۱۰ گرم به ازای هر ۱۰۰ گرم وزن بدن) دسترسی داشتند که با توجه به وزن‌کشی هفتگی، غذای مصرفی در اختیار حیوانات قرار می‌گرفت. کلیه مراحل تحقیق فوق با تأیید کمیته اخلاق با مجوز شماره ۱۷-۱۳۹۴ در دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساری انجام شد.

القای دیابت: حیوانات گروه‌های دیابت و تمرین-دیابت، با تزریق داخل صفاقی یک دوز آلوکسان مونوهیدرات (۹۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن موش، پس از حل نمودن در سالین ۰/۹٪) در شرایط ۱۲ ساعت ناشتایی به دیابت مبتلا شدند. ۷۲ ساعت از

بین میانگین‌های  $MMP-2$ ،  $TNF-\alpha$  و گلوکز در پس‌آزمون بود ( $P=0/000$ ).

القای دیابت با افزایش معنی‌دار فعالیت  $MMP-2$  کبدی ( $92/86\%$ ،  $P=0/000$ ؛ شکل ۱) و سطوح  $TNF-\alpha$  ( $66/99\%$ ،  $P=0/000$ ؛ شکل ۲) و هم چنین افزایش گلوکز سرمی ( $289/14\%$ ،  $P<0/001$ ) همراه بود. بعلاوه ۸ هفته تمرین مزمن شنا منجر به کاهش معنی‌دار در فعالیت  $MMP-2$  ( $24/07\%$ ،  $P=0/016$ ) و سطوح  $TNF-\alpha$  ( $27/9941\%$ ،  $P=0/000$ ) در بافت کبد و همچنین کاهش گلوکز سرمی ( $72/19\%$ ،  $P=0/0001$ ) موش‌های دیابتی تمرین کرده شد. این در حالی بود که فعالیت  $MMP-2$  ( $46/43\%$ ،  $P=0/007$ ) و سطوح  $TNF-\alpha$  ( $21/22\%$ ،  $P=0/039$ ) کبدی در موش‌های دیابتی تمرین کرده در مقایسه با گروه کنترل، هم چنان به طور معنی‌داری بالاتر باقی ماند.

علاوه بر این تمرین شنای منظم با عدم تغییر در فعالیت  $MMP-2$  ( $P=0/990$ ) و کاهش سطوح  $TNF-\alpha$  ( $41/28\%$ ،  $P=0/000$ ) بافت کبدی و هم چنین عدم تغییر در سطوح گلوکز سرمی ( $P=0/380$ ) در موش‌های سالم همراه بود (شکل ۳).

تعیین شد و بر اساس میزان دانسیته نوری (optical density: OD) در  $1\text{ mg/mL}$  گزارش شد (۱۹). سطوح گلوکز ناشتا سرمی به روش رنگ سنجی آنزیماتیک، فن‌آوری گلوکز اکسیداز و کیت ویژه ساخت شرکت پارس آزمون اندازه‌گیری شد.

#### تجزیه و تحلیل‌های آماری

از آزمون‌های شاپیروویلیک و لوین به ترتیب برای تعیین توزیع نرمال داده‌ها و تجانس واریانس‌ها استفاده شد. علاوه بر این برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه و در صورت معنی‌داری اختلاف بین گروه‌ها و جهت روشن نمودن محل اختلاف از آزمون تعقیبی توکی استفاده گردید. تجزیه و تحلیل‌های آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۰ در سطح معناداری  $P < 0/05$  انجام شد.

#### یافته‌ها

میانگین و انحراف معیار فعالیت  $MMP-2$  و سطوح  $TNF-\alpha$  کبدی گروه‌های مختلف پژوهش در جدول ۱، توصیف شده است. نتایج حاصل از تحلیل واریانس یک‌طرفه و ارزش F محاسبه شده (به ترتیب  $20/934$ ،  $74/481$  و  $2993/18$ )، بیانگر وجود تفاوت معنی‌دار

جدول ۱. میانگین و انحراف معیار فعالیت  $MMP-2$  و سطوح  $TNF-\alpha$  کبدی گروه‌های مختلف پژوهش

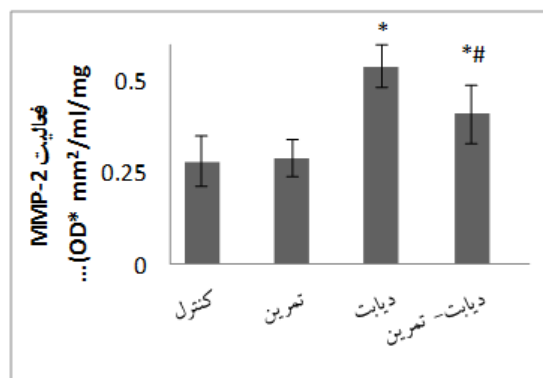
متغیر	*فعالیت $MMP-2$	ارزش P	$TNF-\alpha$ (پیکو گرم / گرم پروتئین)	ارزش P
کنترل	$0/28 \pm 0/07$	$0/916$	$18/24 \pm 2/47$	$0/603$
دیابت	$0/54 \pm 0/06$	$0/643$	$30/46 \pm 2/81$	$0/238$
تمرین	$0/29 \pm 0/05$	$0/981$	$10/71 \pm 1/63$	$0/708$
دیابت-تمرین	$0/41 \pm 0/08$	$0/318$	$22/11 \pm 2/95$	$0/542$

ارزش P: مربوط به آزمون شاپیروویلیک

\*: (OD \*mm<sup>2</sup>/mg/mL protein)

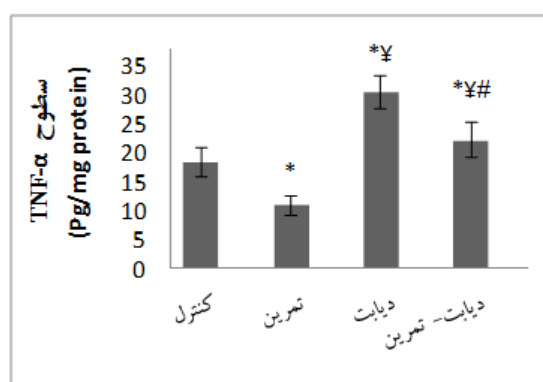
## بحث

براساس یافته‌های پژوهش القای دیابت با افزایش معنی‌دار سطوح TNF- $\alpha$  و فعالیت MMP-2 کبدی همراه بود و ۸ هفته تمرین منجر به کاهش معنی‌دار سطوح TNF- $\alpha$  و فعالیت MMP-2 بافت کبدی در موش‌های صحرایی دیابتی شد که بیانگر تأثیر حمایتی تمرینات هوازی شنا در کاهش التهاب کبدی و سرکوب عوارض احتمالی ناشی از آن از طریق کاهش فعالیت MMP-2 و سطوح TNF- $\alpha$  در موش‌های صحرایی دیابتی است؛ اما ۸ هفته تمرین شنا با عدم تغییر در فعالیت MMP-2 و کاهش سطوح TNF- $\alpha$  بافت کبدی موش‌های سالم همراه بود. پروتکل تمرینی در تحقیق حاضر، با در نظر گرفتن الفا شرایط دیابت، به مدت زمان ۵ دقیقه در هفته اول شروع و تا ۳۰ دقیقه در هفته سوم افزایش یافت و سپس به مدت ۸ هفته ادامه یافت. به نظر می‌رسد تمرین هوازی با شدت متوسط می‌تواند نقش حمایتی بر کاهش شاخص‌های التهاب زبا بافت کبد در شرایط غیر پاتولوژیکی نیز اعمال نماید. در این زمینه کاوانیشی و همکاران نشان دادند که پس از ۱۶ هفته دوییدن روی نوارگردان بیان TNF- $\alpha$  mRNA در بافت کبد موش‌های کوچک نر C57BL/6J با رژیم غذایی پرچرب و آب حاوی فروکتوز زیاد کاهش یافت (۱۰). هم چنین کاهش تنظیم مثبت بیان TNF- $\alpha$  mRNA بافت کبد و سطوح TNF- $\alpha$  سرمی، پس از ۱۲ هفته تمرین در یک مدل حیوانی از استئاتوز هپاتیت غیرالکلی توسط محققین دیگر گزارش شد (۲۰). TNF- $\alpha$  با تحریک لیپولیز منجر به افزایش اسیدهای چرب آزاد سرمی می‌شود که می‌تواند موجب افزایش مقاومت انسولینی در بافت کبد شود. افزایش مقاومت انسولینی کبدی نیز منجر به افزایش تولید گلوکز کبدی می‌شود (۲۱). ماکروفاژهای فیلتراسیون شده و سلول‌های کوپفر منابع تولید TNF- $\alpha$  در کبد هستند (۲۲). از سوی دیگر افزایش سطوح TNF- $\alpha$  در بافت کبدی رت‌های دیابتی شده با تنظیم مثبت Nuclear factor kappa-light-chain enhancer of activated B cells (NF $\kappa$ B) همراه است که یک فاکتور کلیدی رونویسی در تحریک آبتشاری از



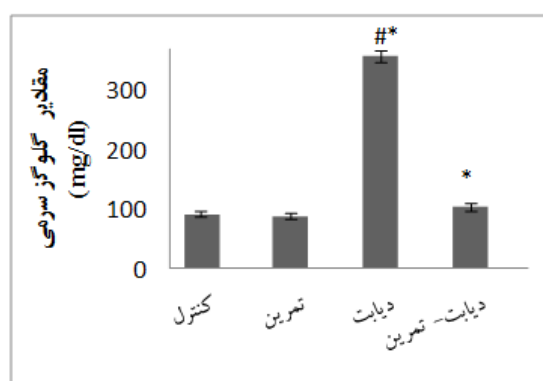
شکل ۱. مقایسه میانگین فعالیت MMP-2 بافت کبدی در گروه‌های مختلف

\*: معنی‌داری تفاوت نسبت به گروه‌های کنترل و تمرین  
#: معنی‌داری تفاوت نسبت به گروه دیابت



شکل ۲. مقایسه میانگین TNF- $\alpha$  بافت کبدی در گروه‌های مختلف

\*: معنی‌داری تفاوت نسبت به گروه کنترل  
#: معنی‌داری تفاوت نسبت به گروه دیابت-تمرین  
 $\gamma$ : معنی‌داری تفاوت نسبت به گروه تمرین



شکل ۳. مقایسه میانگین سرمی گلوکز در گروه‌های مختلف

\*: معنی‌داری تفاوت نسبت به گروه‌های تمرین و کنترل  
#: معنی‌داری تفاوت نسبت به گروه دیابت-تمرین

وقایعی است که منجر به افزایش التهاب می‌شود (۲۳). فعالیت ورزشی مزمن دارای اثرات آنتی‌اکسیدانی است و می‌تواند التهاب، فیروز و آسیب کبدی را از طریق سرکوب فیلتراسیون ماکروفاژها و در نتیجه کاهش القا  $TNF-\alpha$  از ماکروفاژهای باقیمانده کبدی، کاهش بخشد (۱۰). اگرچه تحقیقات انجام شده در خصوص تأثیر فعالیت ورزشی بر سطوح کبدی اندک است که می‌تواند از محدودیت‌های این تحقیق نیز محسوب شد اما در خصوص مطالعات غیرورزشی زنانگ و همکاران گزارش دادند افزایش بیان  $TNF-\alpha$  مقاومت انسولینی در یک مدل موش‌های صحرایی دیابتی شده با مصرف چربی، متعاقب ۶ هفته درمان دارویی با پروبوکل (پایین آورنده لیپید و استرس اکسایشی با اثرات آنتی‌اکسیدانی) کاهش یافت (۲۵). پکتاز و همکاران نیز نشان دادند که پس از ۴ هفته تیمار با رزوراترل که دارای نقش ضدالتهابی، آنتی‌اکسیدانی و حفاظت سلول‌ها از آسیب است سطوح  $TNF-\alpha$  در بافت کبد موش‌های سالم و دیابتی کاهش یافت (۲۶). علاوه بر این نیز افزایش بیان کبدی  $TNF-\alpha$  در موش‌های دارای کبد چرب غیرالکلی ناشی از رژیم غذایی و هم چنین معکوس شدن این تغییرات پس از تیمار با اولئیل اتانل آمین (داروی تعدیل‌کننده متابولیسم چربی) توسط لی و همکاران گزارش شد (۱۲). به نظر می‌رسد فعالیت ورزشی ممکن است به واسطه افزایش خواص آنتی‌اکسیدانی، کاهش استرس اکسایشی و تعدیل سطوح چربی نیز موجب تنظیم منفی میانجی‌گر پیش التهابی  $TNF-\alpha$  در بافت کبد دیابتی شود.

از جمله یافته‌های مهم تحقیق حاضر کاهش فعالیت  $MMP-2$  کبدی رت‌های دیابتی و عدم تغییرات آن در موش‌های سالم پس از ۸ هفته تمرین شنا بود. در این زمینه سالاما و همکاران نشان دادند که القای سیروز کبدی ناشی از تیواستامید با آسیب کبدی، افزایش در استرس اکسایشی و سطوح  $MMP-2$  بافت کبدی موش‌های اسپراگ داوولی همراه بود و ۸ هفته تیمار با ریزوم گیاه زنجبیل منجر به کاهش  $MMP-2$  کبدی

واسطه افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی شد (۸). هم چنین تای و همکاران نیز نشان دادند که AGEs منجر به فعال شدن سلول‌های ماهواره‌ای کبدی می‌شوند (که به محض آسیب سلول کبدی شروع به تجمع چربی می‌کنند) و تیمار با یک عصاره گیاهی (*Solanum nigrum*) دارای خواص ضد سرطان) منجر به مهار بیان افزایش یافته  $MMP-2$  ناشی از AGEs شد (۱۳). علاوه بر این افزایش سطوح پلاسمایی،  $TNF-\alpha$ ، افزایش بیان  $MMP-2$  و  $TGF\beta$ ، لیپوژنز و شاخص‌های فیروزی در بافت کبد موش‌های کوچک C57B16 پس از ۸ هفته رژیم غذایی حاوی فروکتوز زیاد نیز مشاهده شد (۲۷)؛ بنابراین به نظر می‌رسد که فعالیت ورزشی با کاهش سطوح  $MMP-2$  می‌تواند نقش حمایتی خود را در مقابل آسیب ناشی از دیابت بافت کبدی اعمال نماید. این در حالی است که در تحقیقات دیگر افزایش معنی‌دار فعالیت  $MMP-2$  قلبی (۱۷) و کلیوی (۲۸) همراه با کاهش سطوح شاخص فیروژنز فاکتور رشد تغییر شکل - بتا ۱، پس از ۸ هفته تمرین شنای مداوم در موش‌های دیابتی مشاهده شد. هم چنین افزایش فعالیت  $MMP-2$  در بافت بطن چپ موش‌های مسن پس از ۱۲ هفته تمرین (۲۹)، کاهش سطوح سرمی  $MMP-2$  پس از ۱۱ هفته تمرین هوازی) در رت‌های مبتلا به نفروپاتی با القای دوکسی روبیسی (۱۸) مشاهده شد. نتایج تحقیقات مورد بحث نشان می‌دهند که تأثیر فعالیت ورزشی بر تنظیم  $MMP-2$  در پلاسما و اندام‌های مختلف در شرایط پاتولوژیکی ممکن است متفاوت باشد. در تأیید این پیشنهاد، ابوی و همکاران نشان دادند که القای دیابت با افزایش فعالیت پلاسمایی، افزایش بیان کبدی  $MMP-2$  و کاهش بیان کلیوی  $MMP-2$  در موش‌های نر اسپراگ داوولی همراه بود و ۴ هفته رژیم غذایی حاوی چای سبز منجر به کاهش غیر معنی‌دار بیان کبدی  $MMP-2$  و افزایش معنی‌دار بیان کلیوی  $MMP-2$  شد (۳۰). علاوه بر این کاهش شاخص‌های فیروز و  $MMP-2$  بافت کبدی و مهار فعال‌سازی سلول‌های ماهواره‌ای کبدی پس از مداخله درمانی با نوعی چای توسط پنگ و همکاران مشاهده شد (۳۱). اگرچه مکانیسم‌های واضح تأثیر

که دیابت با اختلال در شاخص‌های تنظیم التهاب و فیروز کبدی مانند افزایش سطوح  $TNF-\alpha$  و افزایش فعالیت MMP-2 همراه است و مزایای بالقوه ورزش شنا در کاهش عوارض کبدی ناشی از دیابت، ممکن است تا اندازه‌ای از طریق کاهش در سطوح  $TNF-\alpha$  و فعالیت MMP-2 کبدی میانجی‌گری می‌شود. لذا نیاز به مطالعات بیشتری برای درک بهتر این مکانیسم‌ها در جهت رسیدن به اهداف درمانی در مدیریت عوارض کبدی ناشی از دیابت است.

#### تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از کلیه همکارانی که در اجرای این تحقیق ما را یاری نمودند تشکر و قدردانی می‌گردد.

#### منابع

- Bhatt HB, Smith RJ. Fatty liver disease in diabetes mellitus. *Hepatobiliary Surgery and Nutrition* 2015;4(2):101-108.
- Tolman KG, Fonseca V, Dalpiaz A, Tan MH. Spectrum of liver disease in type 2 diabetes and management of patients with diabetes and liver disease. *Diabetes Care* 2007;30(3):734-43.
- Lee BH, Hsu WH, Hsu YW, Pan TM. Suppression of dimeric acid on hepatic fibrosis caused from carboxymethyl-lysine (CML) by attenuating oxidative stress depends on Nrf2 activation in hepatic stellate cells (HSCs). *Food and Chemical Toxicology* 2013;62:413-9.
- Hsu WH, Lee BH, Hsu YW, Pan TM. Peroxisome proliferator-activated receptor- $\gamma$  activators monascin and rosiglitazone attenuate carboxymethyllysine-induced fibrosis in hepatic stellate cells through regulating the oxidative stress pathway but independent of the receptor for advanced glycation end products signaling. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2013;61(28):6873-9.
- Duarte S, Baber J, Fujii T, Coito AJ. Matrix metalloproteinases in liver injury, repair and fibrosis. *Matrix Biology* 2015;44-46:147-56.
- Radbill BD, Gupta R, Ramirez MC, DiFeo A, Martignetti JA, Alvarez CE, et al. Loss of matrix metalloproteinase-2 amplifies murine toxin-induced liver fibrosis by upregulating collagen I expression. *Digestive Diseases and Sciences* 2011;56(2):406-16.
- Iway S, Kamiya Y, Tsujiyama K, Murayama M, Tsuchiya H, Tomita Y, et al. Effect of Green Tea on the mRNA Expression of Matrix Metalloproteinases in the Liver and Kidney of Diabetic Rats. *The Showa University Journal of Medical Sciences* 2008;20(1): 11-20.
- Salama SM, Abdull MA, AlRashdi AS, Hadi AH. Mechanism of Hepatoprotective Effect of *Boesenbergia rotunda* in Thioacetamide-Induced Liver Damage in Rats. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* 2013;2013:157456.
- He Q, Li JK, Li F, Li RG, Zhan GQ, Li G, et al. Mechanism of action of gypenosides on type 2 diabetes and non-alcoholic fatty liver disease in rats. *World Journal of Gastroenterology* 2015;21(7):2058-66.
- Kawanishi N, Yano H, Mizokami T, Takahashi M, Oyanagi E, Suzuki K. Exercise training attenuates hepatic inflammation, fibrosis and macrophage infiltration during diet induced-obesity in mice. *Brain, Behavior, and Immunity* 2012;26(6):931-41.
- Ayepola OR, Chegou NN, Brooks NL, Oguntibeju OO. Kolaviron, a *Garcinia biflavonoid* complex ameliorates hyperglycemia-mediated hepatic injury in rats via suppression of inflammatory responses. *BMC Complementary and Alternative Medicine* 2013(363); 13:1-9.
- Li L, Li L, Chen L, Lin X, Xu Y, Ren J, et al. Effect of oleoylethanolamide on diet-induced nonalcoholic fatty liver in rats. *Journal of Pharmacological Sciences* 2015;127(3):244-50.
- Tai CJ, Choong CY, Shi YC, Lin YC, Wang CW, Lee BH, et al. *Solanum nigrum* Protects against Hepatic Fibrosis via Suppression of Hyperglycemia in High-Fat/Ethanol Diet-Induced Rats. *Molecules* 2016;21(3):269.
- Johnson NA, Keating SE, George J. Exercise and the liver: implications for therapy in fatty liver disorders. *Seminars in Liver Disease* 2012;32(1):65-79.

فعالیت ورزشی بر کاهش فعالیت MMP-2 به خوبی مشخص نیست. ولی سطوح افزایش یافته سایتوکاین‌های پیش التهابی ناشی از آسیب کبدی مانند  $TNF-\alpha$ ، می‌توانند بواسطه افزایش MMP-2 منجر به سنتز و نوآرایی ماتریکس خارج سلولی و افزایش فیروز کبدی شود (۳۲). بنابراین فعالیت ورزشی مزمن، ممکن است از طریق کاهش فیلتراسیون ماکروفاژهای التهابی کبدی، کاهش چربی کبد و سرکوب مولکول‌های چسبان و کموکاین، تنظیم مثبت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی منجر به کاهش سطوح  $TNF-\alpha$  و تنظیم منفی فعالیت MMP-2 در بافت کبد دیابتی گردد (۳۳).  
به طور خلاصه یافته‌های پژوهش حاضر نشان داد

15. Schultz A, Mendonca LS, Aguila MB, Mandarim-de-Lacerda CA. Swimming training beneficial effects in a mice model of nonalcoholic fatty liver disease. *Experimental and Toxicologic Pathology* 2012;64(4):273-8210.
16. Esposito E, Iacono A, Bianco G, Autore G, Cuzzocrea S, Vajro P, et al. Probiotics reduce the inflammatory response induced by a high-fat diet in the liver of young rats. *Journal of Nutrition* 2009;139(5):905-11.
17. Khosravi M, Habibian M. The effect of 8 weeks regular swimming exercise on the cardiac levels of Matrix metalloproteinase-2 and transforming growth factor- $\beta$ 1 in diabetic rats. *Iranian Journal of Diabetes and Metabolism* 2016; 15(2):67-84. (Persian).
18. Peng CC, Chen KC, Hsieh CL, Peng RY. Swimming Exercise Prevents Fibrogenesis in Chronic Kidney Disease by Inhibiting the Myofibroblast Transdifferentiation. *PLoS ONE* 2012; 7(6): e37388:1-17.
19. Palladini G, Ferrigno A, Rizzo V, Tarantola E, Bertone V, Freitas I, et al. Lung Matrix Metalloproteinase Activation following Partial Hepatic Ischemia/Reperfusion Injury in Rats. *Scientific World Journal* 2014;2014:867548.
20. Zhang H, He Y, Chung PK, Tong TK, Fu FH, Chen Y, et al. Effects of 12 Weeks of Exercise on Hepatic TNF- $\alpha$  and PPAR $\alpha$  in an Animal Model of High-Fat Diet-Induced Nonalcoholic Steatohepatitis. *Journal of Exercise Science & Fitness* 2009;7(1): 18-23.
21. Knobler H, Schattner A. TNF- $\alpha$ , chronic hepatitis C and diabetes: a novel triad. *Quarterly Journal of Medicine* 2005;98(1):1-6.
22. Tilg H, Diehl AM. Cytokines in alcoholic and nonalcoholic steatohepatitis. *The New England Journal of Medicine* 2000; 343(20):1467-1476.
23. Boden G, Song W, Kresge K, Mozzoli M, Cheung P. Effects of hyperinsulinemia on hepatic metalloproteinases and their tissue inhibitors. *American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism* 2008; 295(3): E692-E697.
24. Romagnoli M, Gomez-Cabrera MC, Perrelli MG, Biasi F, Pallardó FV, Sastre J, et al. Xanthine oxidase-induced oxidative stress causes activation of NF-kappaB and inflammation in the liver of type I diabetic rats. *Free Radical Biology & Medicine* 2010;49(2):171-7.
25. Zhang X, Li Z, Liu D, Xu X, Shen W, Mei Z. Effects of probucol on hepatic tumor necrosis factor-alpha, interleukin-6 and adiponectin receptor-2 expression in diabetic rats. *Journal of Gastroenterology and Hepatology* 2009;24(6):1058-63.
26. Pektaş MB, Sadi G, Koca HB, Yuksel Y, Vurmaz A, Koca T, et al. Resveratrol Ameliorates the Components of Hepatic Inflammation and Apoptosis in a Rat Model of Streptozotocin-Induced Diabetes. *Drug Development Research* 2016;77(1):12-9.
27. Sodhi K, Puri N, Favero G, Stevens S, Meadows C, Abraham NG, et al. Fructose Mediated Non-Alcoholic Fatty Liver Is Attenuated by HO-1-SIRT1 Module in Murine Hepatocytes and Mice Fed a High Fructose Diet. *PLoS One* 2015;10(6):e0128648.
28. Habibian M, Saghafi MR, Farzanegi P. The Effect of Regular Swimming Exercise on the Levels of Renal Matrix Metalloproteinase-2 and Transforming Growth Factor- $\beta$ 1 in Rats with Diabetes. *Journal of Kerman University of Medical Sciences* 2016; 23(4): 446-456. (Persian).
29. Kwak HB, Kim JH, Joshi K, Yeh A, Martinez DA, Lawler JM. Exercise training reduces fibrosis and matrix metalloproteinase dysregulation in the aging rat heart. *Federation of American Societies for Experimental Biology Journal* 2011;25(3):1106-17.
30. Iway S, Kamiya Y, Tsujiyama K, Murayama M, Tsuchiya H, Tomita Y, et al. Effect of Green Tea on the mRNA Expression of Matrix Metalloproteinases in the Liver and Kidney of Diabetic Rats. *The Showa University Journal of Medical Sciences* 2009;20(1): 11-20.
31. Peng J, Li X, Feng Q, Chen L, Xu L, Hu Y. Anti-fibrotic effect of Cordyceps sinensis polysaccharide: Inhibiting HSC activation, TGF- $\beta$ 1/Smad signalling, MMPs and TIMPs. *Experimental Biology and Medicine* 2013;238(6):668-77.
32. Palladini G, Ferrigno A, Richelmi P, Perlini S, Vairetti M. Role of matrix metalloproteinases in cholestasis and hepatic ischemia/reperfusion injury: A review. *World Journal of Gastroenterology* 2015; 21(42): 12114-12124.
33. Guo R, Liang EC, So KF, Fung ML, Tipoe GL. Beneficial mechanisms of aerobic exercise on hepatic lipid metabolism in non-alcoholic fatty liver disease. *Hepatobiliary & Pancreatic Diseases International* 2015;14(2):139-44.



## The effect of swimming exercise on matrix metalloproteinase 2 activity and tumor necrosis factor- $\alpha$ level of liver tissue in alloxan-induced diabetic rats

Masoumeh Habibian<sup>1\*</sup>, Anickeh Amanian<sup>2</sup>

1. Department of Physical Education and Sports Sciences, Qaemshahar Branch, Islamic Azad University, Qaemshahar, Iran.
2. Department of Physical Education and Sports Sciences ,Sari Branch, Islamic Azad University, Sari, Iran.

\*Corresponding Author e-mail: [habibian\\_m@yahoo.com](mailto:habibian_m@yahoo.com)

### Abstract

**Background and Objective:** liver disease is highly prevalent in type 2 diabetes mellitus (T2DM) and exercise training is effective in preventing and treating diabetes-induced hepatic injury. Therefore, the aim of this study was to assess the effect of chronic swimming exercise on the hepatic matrix metalloproteinase 2 (MMP-2) activity and tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) level of liver tissue in alloxan-induced diabetic rats.

**Materials and Methods:** In this study, 28 male Wistar rats were randomly divided into 4 groups (7 rats per group) of control, diabetes, exercise, and diabetes-exercise. Diabetes was induced by alloxan (90 mg/kg, i.p.). The animals exercised by swimming training at 5 min to 30 min per day, five days a week over 8 weeks. The rats were killed 48 h after the last treatments and liver MMP-2 and TNF- $\alpha$  level were evaluated by zymography and ELISA methods. One-way analysis of variance was used for data analysis.

**Results:** Findings showed that the diabetes significantly increases MMP-2 activity and TNF- $\alpha$  level in animals ( $p < 0.05$ ). In addition, 8 weeks swimming training were associated with a significant decrease of TNF- $\alpha$  level and MMP-2 activity in the liver tissue of diabetic rats ( $p < 0.05$ ).

**Conclusion:** It seems that regular swimming training can partially prevent diabetes-induced liver injury via decreasing MMP-2 activity and TNF- $\alpha$  level in diabetic rats.

**Keywords:** Diabetes mellitus, Matrix metalloproteinase 2, Exercise, Tumor necrosis factor- $\alpha$ .