Downloaded from daneshvarmed.shahed.ac.ir at 4:58 IRST on Wednesday November 14th 2018

دانشور پزشکی

دوماهنامه علمی-پژوهشی
دانشگاه شاهد
سال بیست‌وپنجم-شماره ۱۳۳
اسفند ۱۳۹۶

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[1*]، انیسه امانیان[2]

۱. گروه تربیت‌بدنی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد قائم‌شهر، قائم‌شهر، ایران

۲. گروه تربیت‌بدنی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساری، ساری، ایران

* نویسنده مسئول: معصومه حبیبیان **E-mail: habibian_m@yahoo.com**

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

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 متالوپروتئنیاز ۲ (MMP-2) و سطوح فاکتور نکروز دهنده تومور آلفا (TNF-α) 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-α به ترتیب به روش‌های زیموگرافی و الایزا تعیین شد. از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه برای تجزیه و تحلیل دادها استفاده شد ($p<۰/۰۵$).

نتایج: یافته‌ها نشان داد متعاقب القای دیابت، فعالیت MMP-2 و سطوح TNF-α کبدی در موش‌های صحرایی افزایش یافت ($p<۰/۰۵$) درحالی‌که ۸ هفته تمرین شنا منجر به کاهش معنی‌دار سطوح TNF-α و فعالیت MMP-2 در بافت کبد موش‌های صحرایی دیابتی شد ($p<۰/۰۵$).

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

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

Downloaded from daneshvarmed.shahed.ac.ir at 4:58 IRST on Wednesday November 14th 2018

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 ٤/٤ درصد از مرگ‌ومیر در افراد دیابتی شناخته شده است (۲). مقاومت انسولینی نقش مهمی در توسعه دیابت نوع ۲ و در نتیجه فیبروز هپاتیکی دارد از این جهت سرکوب دیابت و سندرم متابولیک می‌تواند از اندام کبد در مقابل فیبروز 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 هیپرگلسیمی کبدی می‌شوند (٤). 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 mettaloproteinase (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 (٦). افزایش بیان (۷) و سطوح (۸) MMP-2، در بافت کبدی به ترتیب رت های 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 فیبروژنز فاکتور رشد تغییر شکل-بتا ۱، قادر به تعدیل فعال‌سازی شاخص‌های التهابی از جمله فاکتور نکروز دهنده تومور آلفا Tumor necrosis factor alpha (TNF-α) می‌باشد (۵). TNF-α یک سایتوکاین های 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-α به طور عمده توسط این لیگاندها تولید می‌شود. بدین ترتیب، فعال شدن سلول‌های کوپفر می‌تواند تولید TNF-α را افزایش دهد که ممکن است منجر به کبد چرب غیرالکلی به واسطه القا فیبروز و آسیب کبدی شود (۹، ۱۰). در مطالعات قبلی افزایش سطوح کبدی TNF-α در موش‌های صحرایی مبتلا به دیابت (۱۱) و یا کبد چرب غیرالکلی (۱۲) مشاهده شد.

براساس شواهد استفاده از مداخله‌های ضدالتهابی می‌تواند در درمان دیابت مؤثر باشند (۱۳) و فعالیت ورزشی منظم می‌تواند منجر به کاهش التهاب، فیبروز 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 (١٤). فعالیت‌های ورزشی اثرات مثبتی در پیشگیری از استئاتوز کبدی دارد. تأثیر این مداخله غیر دارویی بر کاهش هیپرانسولینی با مقاومت انسولینی، هیپرگلایسیمی، هیپرتروفی بافت چربی، دیس لیپیدمی، پروتئین‌های استرسی و کاهش سایتوکاین التهابی TNF-α در مطالعات تجربی مشاهده شد (۱۵). اگرچه کاهش مقادیر افزایش یافته MMP-2 (۱۳) و TNF-α(١٦) 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

Downloaded from daneshvarmed.shahed.ac.ir at 4:58 IRST on Wednesday November 14th 2018

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-α بافت کبد در موش‌های صحرایی دیابتی انجام شد.

مواد و روش ها

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 ٤ گروه کنترل، دیابت، تمرین و تمرین- دیابت تقسیم شدند (۷ سر موش در هر گروه). در طی پژوهش، حیوانات به صورت ٤ 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 ۱۷-۱۳۹٤ 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 تزریق آلوکسان و با گرفتن یک قطره خون از سینوس چشم در حالت ناشتایی، سطوح گلوگز 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 نظرگرفته 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 ٦ 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 پروتئاز (PBS, PH 7.4)هموژنیزه شد (۱۷). سطوح TNF-α بافت کبدی، با استفاده از کیت تجاری‌های ویژه (Rat Eliza kit,Assaypro co, USA) به روش الایزا با حساسیت کمتر از ۵/۳ پیکوگرم/میلی‌لیتر سنجیده شد. فعالیت MMP-2 قلبی به روش زیموگرافی

Downloaded from daneshvarmed.shahed.ac.ir at 4:58 IRST on Wednesday November 14th 2018

تعیین شد و بر اساس میزان دانسیته نوری (optical OD:density) در ۱mg/mL گزارش شد (۱۹). سطوح گلوگز ناشتا سرمی به روش رنگ سنجی آنزیماتیک، فن‌آوری گلوگز اکسیداز و کیت ویژه ساخت شرکت پارس آزمون اندازه‌گیری شد.

تجزیه و تحلیل‌های آماری

از آزمون‌های شاپیروویلک 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 تحلیل های آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۰ در سطح معناداری P < ۰/۰۵ انجام شد.

یافته‌ها

میانگین و انحراف معیار فعالیت MMP-2 و سطوح TNF-α کبدی گروه‌های مختلف پژوهش در جدول ۱، توصیف شده است. نتایج حاصل از تحلیل واریانس یک‌طرفه و ارزش F محاسبه شده (به ترتیب ۲۰/۹۳٤، ۷٤/٤۸۱ و ۲۹۹۳/۱۸)، بیانگر وجود تفاوت معنی‌دار بین میانگین‌های MMP-2، TNF-α و گلوگز در پس‌آزمون بود (P=۰/۰۰۰).

القای دیابت با افزایش معنی‌دار فعالیت MMP-2 کبدی (۹۲/۸٦٪، P=۰/۰۰۰؛ شکل ۱) و سطوح TNF-α (٦٦/۹۹٪، P=۰/۰۰۰؛ شکل ۲) و هم چنین افزایش گلوگز سرمی (۲۸۹/۱٤٪، P<۰/۰۰۱) همراه بود. بعلاوه ۸ هفته تمرین مزمن شنا منجر به کاهش معنی‌دار در فعالیت MMP-2 (۲٤/۰۷٪، P=۰/۰۱٦) و سطوح TNF-α(۲۷/۹۹٤۱٪، P=۰/۰۰۰) در بافت کبد و همچنین کاهش گلوگز سرمی (۷۲/۱۹٪، P=۰/۰۰۰۱) موش‌های دیابتی تمرین کرده شد. این در حالی بود که فعالیت MMP-2 (٤٦/٤۳٪، P=۰/۰۰۷) و سطوح TNF-α (۲۱/۲۲٪، P=۰/۰۳۹) 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=۰/۹۹۰) و کاهش سطوح TNF-α (٤۱/۲۸٪، P=۰/۰۰۰) بافت کبدی و هم چنین عدم تغییر در سطوح گلوگز سرمی (P=۰/۳۸۰) در موش‌های سالم همراه بود (شکل ۳).

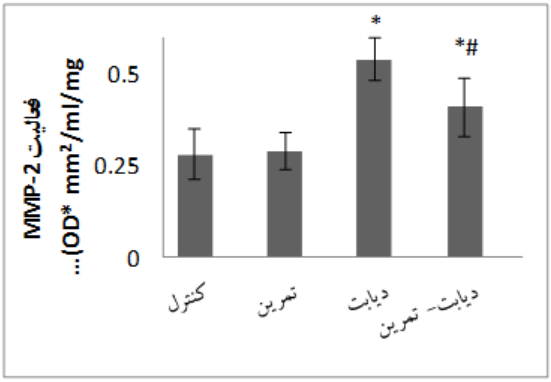
جدول ۱. میانگین و انحراف معیار فعالیت MMP-2 و سطوح TNF-α کبدی گروه‌های مختلف پژوهش

متغیر	*فعالیت MMP-2	ارزش P	TNF-α (پیکو گرم / گرم پروتئین)	ارزش P
کنترل	۰/۲۸±۰/۰۷	۰/۹۱۶	۱۸/۲۴±۲/۴۷	۰/۶۰۳
دیابت	۰/۵۴±۰/۰۶	۰/۶۴۳	۳۰/۴۶±۲/۸۱	۰/۲۳۸
تمرین	۰/۲۹±۰/۰۵	۰/۹۸۱	۱۰/۷۱±۱/۶۳	۰/۷۰۸
دیابت- تمرین	۰/۴۱±۰/۰۸	۰/۳۱۸	۲۲/۱۱±۲/۹۵	۰/۵۴۲

ارزش P: مربوط به آزمون شاپیروویلک

*: (OD *mm2/mg/mL protein)

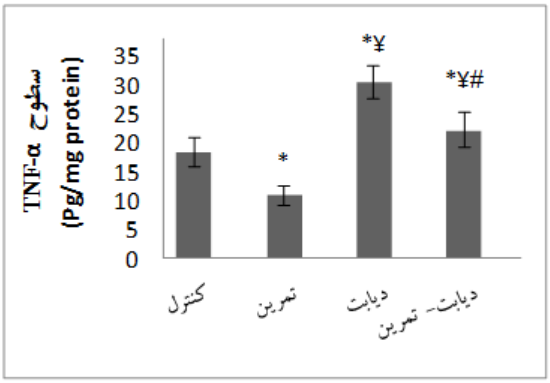
Downloaded from daneshvarmed.shahed.ac.ir at 4:58 IRST on Wednesday November 14th 2018



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

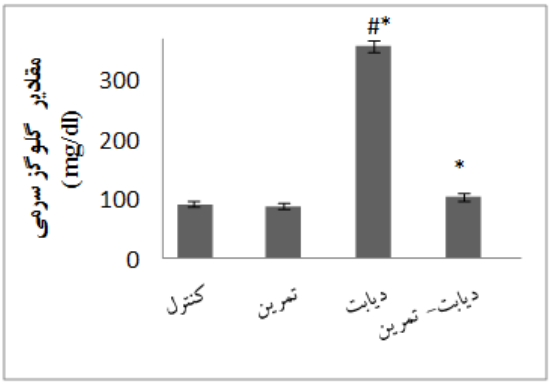


شکل ۲. مقایسه میانگین TNF-α بافت کبدی در گروه‌های مختلف

*: معنی‌داری تفاوت نسبت به گروه کنترل

#: معنی‌داری تفاوت نسبت به گروه دیابت- تمرین

¥: 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

بحث

براساس یافته‌های پژوهش القای دیابت با افزایش معنی‌دار سطوح TNF-α و فعالیت MMP-2 کبدی همراه بود و ۸ هفته تمرین منجر به کاهش معنی‌دار سطوح TNF-αو 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 فعالیتMMP-2 و سطوح TNF-α در موش‌های صحرایی دیابتی است؛ اما ۸ هفته تمرین شنا با عدم تغییر در فعالیت MMP-2 و کاهش سطوح TNF-α بافت کبدی موش‌های سالم همراه بود. پروتکل تمرینی در تحقیق حاضر، با در نظر گرفتن القا 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 زا بافت کبد در شرایط غیر پاتولوژیکی نیز اعمال نماید. در این زمینه کاوانیشی و همکاران نشان دادند که پس از ۱۶ هفته دویدن روی نوارگردان بیان TNF-α 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-α mRNA بافت کبد و سطوح TNF-α سرمی، پس از ۱۲ هفته تمرین در یک مدل حیوانی از استئاتوز هپاتیت غیرالکلی توسط محققین دیگر گزارش شد (۲۰). TNF-α 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-α در کبد هستند (۲۲). از سوی دیگر افزایش سطوح TNF-α در بافت کبدی رت‌های دیابتی شده با تنظیم مثبت Nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells (NFκB) همراه است که یک فاکتور کلیدی رونویسی در تحریک آبشاری از

Downloaded from daneshvarmed.shahed.ac.ir at 4:58 IRST on Wednesday November 14th 2018

وقایعی است که منجر به افزایش التهاب می‌شود (۲۳، ۲٤). فعالیت ورزشی مزمن دارای اثرات آنتی‌اکسیدانی است و می‌تواند التهاب، فیبروز و آسیب کبدی را از طریق سرکوب فیلتراسیون ماکروفاژها و در نتیجه کاهش القا TNF-α 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 زانگ و همکاران گزارش دادند افزایش بیان TNF-α و مقاومت انسولینی در یک مدل موش‌های صحرایی دیابتی شده با مصرف چربی، متعاقب ٦ 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 ٤ هفته تیمار با رزوراترل که دارای نقش ضدالتهابی، آنتی‌اکسیدانی و حفاظت سلول‌ها از آسیب است سطوح TNF-αدر بافت کبد موش‌های سالم و دیابتی کاهش یافت (۲٦). علاوه بر این نیز افزایش بیان کبدی TNF-α 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 افرایش خواص آنتی‌اکسیدانی، کاهش استرس اکسایشی و تعدیل سطوح چربی نیز موجب تنظیم منفی میانجی گر پیش التهابی TNF-α در بافت کبد دیابتی شود.

ازجمله یافته‌های مهم تحقیق حاضر کاهش فعالیت MMP-2کبدی رت های 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 داولی همراه بود و ۸ هفته تیمار با ریزوم گیاه زنجبیل منجر به کاهش MMP-2کبدی 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 MMP2 ناشی از AGEs شد (۱۳). علاوه بر این افزایش سطوح پلاسمایی،TNF-α ، افزایش بیان MMP-2 وTGFβ ، لیپوژنز و شاخص‌های فیبروزی در بافت کبد موش‌های کوچک C57Bl6 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 فعالیتMMP-2 قلبی (۱۷) و کلیوی (۲۸) همراه با کاهش سطوح شاخص فیبروژنز 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 رت های مبتلا به نفروپاتی با القای دوکسی روبیسین (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، ایوای و همکاران نشان دادند که القای دیابت با افزایش فعالیت پلاسمایی، افزایش بیان کبدی MMP-2 و کاهش بیان کلیویMMP-2 در موش‌های نر اسپراگ داولی همراه بود و ٤ 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 فیبروز 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

Downloaded from daneshvarmed.shahed.ac.ir at 4:58 IRST on Wednesday November 14th 2018

فعالیت ورزشی بر کاهش فعالیت MMP-2 به خوبی مشخص نیست. ولی سطوح افزایش یافته سایتوکاین‌های پیش التهابی ناشی از آسیب کبدی مانند TNF-α، می‌توانند بواسطه افزایش MMP-2 منجر به سنتز و نوآرایی ماتریکس خارج سلولی و افزایش فیبروز 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-α و تنظیم منفی فعالیت MMP-2 در بافت کبد دیابتی گردد (۳۳).

به طور خلاصه یافته‌های پژوهش حاضر نشان داد که دیابت با اختلال در شاخص‌های تنظیم التهاب و فیبروز کبدی مانند افزایش سطوح TNF-α و افزایش فعالیت MMP-2 همراه است و مزایای بالقوه ورزش شنا در کاهش عوارض کبدی ناشی از دیابت، ممکن است تااندازه‌ای از طریق کاهش در سطوح TNF-α 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

1. Bhatt HB, Smith RJ. Fatty liver disease in diabetes mellitus. Hepatobiliary Surgery and Nutrition 2015;4(2):101-108.
2. 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.
3. Lee BH, Hsu WH, Hsu YW, Pan TM. Suppression of dimerumic 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.
4. Hsu WH, Lee BH, Hsu YW, Pan TM. Peroxisome proliferator-activated receptor-γ 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.
5. Duarte S, Baber J, Fujii T, Coito AJ. Matrix metalloproteinases in liver injury, repair and fibrosis. Matrix Biology 2015;44-46:147-56.
6. Radbill BD, Gupta R, Ramirez MC, DiFeo A, Martignetti JA, AlvarezCE, et al. Loss of matrixmetalloproteinase-2 amplifies murine toxin-induced liver fibrosis by upregulating collagen I expression. Digestive Diseases and Sciences 2011;56(2):406-16.
7. Iway S, KamiyaY, 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.
8. 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.
9. 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.
10. 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.
11. 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.
12. 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.
13. 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.
14. 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.

Downloaded from daneshvarmed.shahed.ac.ir at 4:58 IRST on Wednesday November 14th 2018

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 mettaloproteinase-2 and transforming growth factor-β1 in diabetic rats. Iranian Journal of Diabetes and Metabolism 2016; 15(2):67-84. (Persian).
18. Peng CC, Chen KC, Hsieh CLan, 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, HeY, Chung PK, Tong TK, Fu FH, ChenY, et al. Effects of 12 Weeks of Exercise on Hepatic TNF-α and PPARα 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-α, 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 Mettaloproteinase-2 and Transforming Growth Factor-β1 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, KamiyaY, 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-β1/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, Liong 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.

Downloaded from daneshvarmed.shahed.ac.ir at 4:58 IRST on Wednesday November 14th 2018

Daneshvar

Medicine

Scientific-Research Journal of Shahed University
25th Year, No.133
February- March 2018

Daneshvar(medicine) shahed University/ 25th year/2018 /NO.133

Received: 16/12/2017
Last revised: 29/01/2018
Accepted: 06/02/2018

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

Masoumeh Habibian[1*], Aniceh Amanian[2]

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**

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-α (TNF-α) 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-α 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-α level in animals ($p<0.05$). In addition, 8 weeks swimming training were associated with a significant decrease of TNF-α 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-α level in diabetic rats.

Keywords: Diabetes mellitus, Matrix metalloproteinase 2, Exercise, Tumor necrosis factor-α.