Archive of SID

● مجلهٔ دانشگاه علوم پزشکی کرمان، دورهٔ بیست‌وسوم، شمارهٔ ۴، ص ۴۵۶-۴۴۶، ۱۳۹۵

مقالهٔ پژوهشی

اثر تمرین منظم شنا بر سطوح کلیوی ماتریکس متالوپروتئیناز- ۲ (MMP-2) و فاکتور رشد تبدیل بتا- ۱ (TGF-β1) در موش‌های صحرایی دیابتی شده

معصومه حبیبیان*[۱]، محمدرضا ثقفی[۲]، پروین فرزانگی[۳]

خلاصه

مقدمه: در مطالعات متعدد، اثرات حمایت کلیوی فعالیت ورزشی در هر دو نوع دیابت انسانی و همچنین، مدل حیوانی نفروپاتی دیابتی گزارش شده است، اما مکانیسم‌های دقیق تأثیر مطلوب فعالیت ورزشی بر شاخص‌های فیبروژنیک کلیوی به خوبی مشخص نیست. هدف از انجام تحقیق حاضر، تعیین تأثیر تمرین شنا بر سطوح کلیوی ماتریکس متالوپروتئیناز- ۲ (Matrix metalloproteinases-2 یا MMP-2) و فاکتور رشد تبدیل بتا- ۱ (Transforming growth factor-β1 یا TGF-β1) در موش‌های صحرایی دیابتی شده بود.

روش: ۲۸ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار به صورت تصادفی در چهار گروه هفت‌تایی «شاهد، دیابت، تمرین و دیابت- تمرین» قرار گرفتند. دیابت با تزریق درون صفاقی آلوکسان (یک دوز، ۹۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) القا شد. حیوانات با تمرین شنا به مدت ۳۰-۶ دقیقه در روز به مدت ۸ هفته ورزش داده شدند و ۷۲ ساعت پس از آخرین مداخله‌ها کشته شدند. فعالیت MMP-2 و میزان TGF-β1 کلیوی به ترتیب به روش زیموگرافی و ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay) تعیین گردید. داده‌ها با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

یافته‌ها: القای دیابت منجر به افزایش معنی‌دار میزان TGF-β1 ($P<۰/۰۰۱$) و کاهش فعالیت MMP-2 ($P<۰/۰۰۱$) کلیوی در مقایسه با گروه شاهد شد. علاوه بر این، ۸ هفته تمرین منظم شنا با کاهش معنی‌داری در میزان TGF-β1 ($P = ۰/۰۰۱$) و افزایش فعالیت MMP-2 ($P=۰/۰۰۱$) در رت‌های گروه دیابت- تمرین همراه بود.

نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد که اثر حفاظت کلیوی تمرین منظم شنا در مقابل آسیب کلیوی ناشی از دیابت ممکن است تا حدی از طریق تنظیم مثبت فعالیت MMP-2 و کاهش میزان TGF-β1 در بافت کلیه دیابتی میانجی‌گری شود.

واژه‌های کلیدی: تمرین شنا، دیابت، TGF-β1، MMP-2

۱- استادیار، گروه تربیت بدنی، دانشکده علوم انسانی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد قائم‌شهر، قائم‌شهر، ایران ۲- کارشناس ارشد فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم انسانی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ساری، ساری، ایران ۳- دانشیار، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم انسانی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ساری، ساری، ایران

* نویسنده مسؤول، آدرس پست الکترونیک: habibian_m@yahoo.com

دریافت مقاله: ۱۳۹۴/۲/۲۳ دریافت مقاله اصلاح شده: ۱۳۹۴/۵/۱۸ پذیرش مقاله: ۱۳۹۴/۸/۶

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

دیابت طولانی مدت منجر به آسیب کلیوی می‌شود و با ازکارافتادگی زودرس پدوسیت‌ها، آلبومینوری، فیبروز شدن گلومرولی و ماده توبولی بینابینی (Tubulointerstitial) و در نتیجه، توسعه ناتوانی کلیه همراه است (۱). صرف نظر از آسیب اولیه، اصلی‌ترین دلیل بیماری کلیوی مزمن از جمله نفروپاتی دیابتی و گلومرولونفریت مزمن که دارای ویژگی پاتولوژیک مشترکی می‌باشند، توسعه جراحت‌های گلومرولی یا گلومرولواسکلروز است. گلومرولواسکلروز به دلیل رسوب بیش از حد اجزای ماتریکس خارج سلولی در گلومرول رخ می‌دهد و منجر به تغییرات در یکپارچگی گلومرولی و آلبومینوری می‌شود. این فرایند با افزایش سنتز و یا کاهش تخریب اجزای ماتریکس خارج سلولی و در نتیجه، تجمع خالص اجزای آن همراه می‌باشد (۲).

ماتریکس متالوپروتئینازها (Matrix metalloproteinases یا MMPs) خانواده‌ای از اندوپپتیدازهای وابسته به روی و شامل بیش از ۲۰ عضو می‌باشند که می‌توانند انواع مختلفی از ترکیبات ماتریکس خارج سلولی را تخریب نمایند. در میان متالوپروتئینازها، MMP-2 به‌دلیل توانایی کاهش کلاژن نوع IV و لامینین (اجزای اصلی پروتئین‌های ماتریکس خارج سلولی)، بسیار مورد توجه قرار گرفته‌اند (۳)؛ به طوری که کاهش فعالیت آنزیمی آن، با تجمع کلاژن نوع IV در گلومرول موش‌های صحرایی دیابتی شده مشاهده شد (۴). علاوه بر این، عدم تعادل بین ماتریکس متالوپروتئینازها و مهار کننده‌های بافتی آن (Tissue inhibitor matrix metalloproteinase یا TIMPs) نقش مهمی را در بازسازی ماده زمینه‌ای خارج سلولی ایفا می‌کند. به عنوان مثال، عدم تعادل بین MMP-2 و TIMP-2، در ابتدا به صورت افزایش در فعالیت TIMP-2 بروز می‌نماید که ممکن است در پاتوژنز نفروپاتی دیابتی نقش مهمی را ایفا کند (۵). کاهش فعالیت MMP-2 کلیوی در مدل‌های حیوانی مبتلا به دیابت گزارش شده (۶، ۵)؛ در حالی که بیان و فعالیت زیاد MMP-2 عروقی در افراد مبتلا به دیابت (۷) و یا غلظت کمتر MMP-2 پلاسمایی در این بیماران (۸) در مقایسه با شرایط طبیعی مشاهده شده است. علاوه بر این، فاکتور تبدیل رشد- بتا ۱ (Transforming growth factor-β1 یا TGF-β1) نیز یک تنظیم کننده کلیدی سنتز پروتئین در ماتریکس خارج سلولی در سلول‌های کلیوی می‌باشد. سه ایزوفرم TGF-β به نام‌های TGF-β1، β2 و β3 در پستانداران شناخته شده است که TGF-β1 قوی‌ترین پروموتور در تجمع ماتریکس خارج سلولی است. بیان ایزوفرم TGF-β در الگوهای مختلف در فیبروزیس کلیوی رخ می‌دهد (۹).

شواهد تجربی و بالینی بیانگر نقش اصلی TGF-β در توسعه گلومرواسکلروز و فیبروز ماده بینابینی در نفروپاتی کلیوی دیابت است. علاوه بر این، دیابت منجر به تنظیم مثبت و فعال‌سازی TGF-β1 در سلول‌های مزانشیمال گلومرولی و توبولی می‌شود (۱۰) و این سلول‌ها با هیپرتروفی و بیوسنتز کلاژن و سایر ترکیبات ماتریکس، به افزایش TGF-β1 پاسخ می‌دهند (۱۱). همچنین، افزایش بیان کلیوی TGF-β1 در رت‌های مبتلا به دیابت مشاهده شده است (۱۲، ۱).

در دهه‌های اخیر، فعالیت ورزشی به عنوان راهکار مهمی برای مدیریت دیابت همراه با رژیم غذایی و یا دارو توصیه می‌گردد. امروزه، به خوبی مشخص شده است که ورزش هوازی، کنترل قند خون را بهبود می‌بخشد و میزان مرگ و میر ناشی از بیماری‌های قلبی- عروقی در بیماران مبتلا به دیابت را کاهش می‌دهد (۱۳). علاوه بر این، اثر حمایت کلیوی فعالیت ورزشی در تحقیقات متعددی که بر روی بیماران مبتلا به دیابت و مدل‌های حیوانی دیابتی صورت گرفته، گزارش شده است، اما مکانیسم‌های تأثیر مطلوب فعالیت ورزشی بر عملکرد کلیه به طور کامل مشخص نیست (۱۴). در مطالعات پیشین، کاهش سطوح

www.SID.ir

Archive of SID

پلاسمایی MMP-2 در یک مدل تجربی القای بیماری مزمن کلیوی در موش‌ها به دنبال انجام تمرینات منظم ورزشی (۱۵) و افزایش فعالیت کلیوی MMP-2 در رت‌های مبتلا به دیابت به دنبال تیمار مزمن با مداخله درمانی غیر ورزشی (۶) گزارش شد. علاوه بر این، کاهش سطوح کلیوی TGF-β1 حاصل از تمرینات مقاومتی (۱۶) و درمان‌های دارویی در تحقیقات حیوانی با القای دیابت (۱۸، ۱۷، ۱۲) مشاهده گردید. با توجه به وجود شواهد مبنی بر آسیب کلیوی ناشی از دیابت (۲، ۱) و همچنین، نقش حفاظت کلیوی فعالیت هوازی در شرایط پراسترس دیابت (۱۹)، مکانیسم اثرگذاری فعالیت‌های منظم هوازی مانند شنا از مسیر MMP-2 و TGF-β1 کلیوی به خوبی مشخص نیست. بنابراین، در تحقیق حاضر تأثیر ۸ هفته تمرین منظم شنا بر فعالیت MMP-2 و سطوح TGF-β1 با استفاده از یک مدل القای دیابت در رت‌های نر مورد بررسی قرار گرفت.

روش بررسی

این پژوهش تجربی با استفاده از طرح پس‌آزمون همراه با گروه شاهد انجام شد. آزمودنی‌ها شامل موش‌های صحرایی نر بالغ (۸ هفته‌ای) نژاد ویستار با میانگین وزنی ۲۲۰-۱۹۵ گرم بودند. حیوانات پس از خریداری از انستیتو پاستور تهران، به مرکز پرورش و نگهداری حیوانات آزمایشگاهی انتقال داده شدند و پس از سازگاری دو هفته‌ای با محیط جدید، به صورت تصادفی در چهار گروه شاهد، دیابت، تمرین و دیابت- تمرین قرار گرفتند (۷ سر موش در هر گروه). در طی پژوهش، حیوانات به صورت چهار سر رت در قفس پلی‌اتیلنی ۱۵ × ۱۵ × ۳۰ سانتی‌متر، 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، ایران) دسترسی داشتند.

جهت القای دیابت، یک دوز (۹۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن رت) آلوکسان مونوهیدرات (شرکت Merck، آلمان) با سالین ۰/۹ درصد به صورت محلول و در شرایط ۱۲ ساعت ناشتایی به شکل داخل صفاقی به گروه‌های تمرین و دیابت- تمرین تزریق شد. ۷۲ ساعت پس از تزریق آلوکسان، به منظور تشخص دیابتی شدن حیوانات، چند قطره خون از سینوس چشم در حالت ناشتایی گرفته شد و غلظت گلوکز خون بیشتر از ۲۵۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر به عنوان دیابتی شدن موش‌ها در نظرگرفته شد (۱۹). به گروه‌های شاهد و تمرین نیز سالین ۰/۹ درصد با همان حجم تزریق گردید.

موش‌های گروه‌های تمرینی قبل از شروع پروتکل اصلی، به مدت پنج روز و هر بار به مدت پنج دقیقه به منظور آشنایی با آب، تمرین داده شدند. برنامه تمرینی اصلی شامل شنا کردن در تانکر ویژه جوندگان به مدت ۶ هفته بود که در هفته اول با ۵ دقیقه تمرین شروع شد و با افزایش تدریجی، زمان شنا در ابتدای هفته چهارم به ۳۰ دقیقه رسید و تا هفته هشتم ادامه پیدا کرد (۱۵). پروتکل تمرینی شنا توسط گروه‌های تمرین و دیابت- تمرین پس از تأیید دیابتی شدن حیوانات گروه دیابت- تمرین، شروع و در ساعات ۱۲-۱۰ صبح اجرا می‌شد.

۷۲ ساعت بعد از آخرین مداخله‌ها، حیوانات با استفاده از تزریق درون صفاقی کتامین (۹۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و زایلازین (۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بیهوش و سپس کشته شدند. نمونه‌گیری خونی توسط سرنگ آغشته به هپارین به طور مستقیم از قلب گرفته شد و از سرم جدا شده برای تعیین مقادیر گلوکز نیز استفاده گردید. همچنین، پس از شکافتن حفره شکمی، بافت کلیه 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 (Phosphate-buffered saline) و pH = ۷/۴

www.SID.ir

Archive of SID

هموژنیزه گردید (۱۸). سطوح TGF-ß1 بافت کلیوی با استفاده از کیت‌های تجاری ویژه (Rat TGF-β1 ELISA Kit) شرکت Boster به روش ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay) و با حساسیت کمتر از ۱ پیکوگرم بر میلی‌لیتر مورد سنجش قرار گرفت. سطوح گلوکز ناشتا سرمی با روش رنگ‌سنجی آنزیماتیکی (Enzymatic colorimetric method)، فن‌آوری گلوکز اکسیداز و کیت (شرکت پارس‌آزمون، ایران) اندازه‌گیری و فعالیت MMP-2 کلیوی نیز به روش زیموگرافی تعیین شد. برای تشخیص فعالیت MMPs در نمونه‌ها، محتوای پروتئین هموژنیزه توسط یک نمونه بافری با غلظت ۴۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر برای لود [تریس هیدروکلراید ۰/۲۵ مولار، ساکارز ۴ درصد وزنی/ حجمی، سدیم دودسیل سولفات (Sodium dodecyl sulfate یا SDS) ۱۰ درصد وزنی/ حجمی، برموفنول آبی ۱۰ درصد وزنی/ حجمی و pH = ۶/۸] نرمال شد. نمونه‌ها پس از رقیق شدن، بر روی ژل الکتروفورز حاوی ۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از ژلاتین، تحت شرایط غیر احیایی قرار گرفت. زیموگرام‌های حاصل شده توسط دانسیتومتری تجزیه و تحلیل شد و نتایج به عنوان میزان دانسیته نوری (Optical density یا OD) در ۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از محتوای پروتئین گزارش گردید (۲۰).

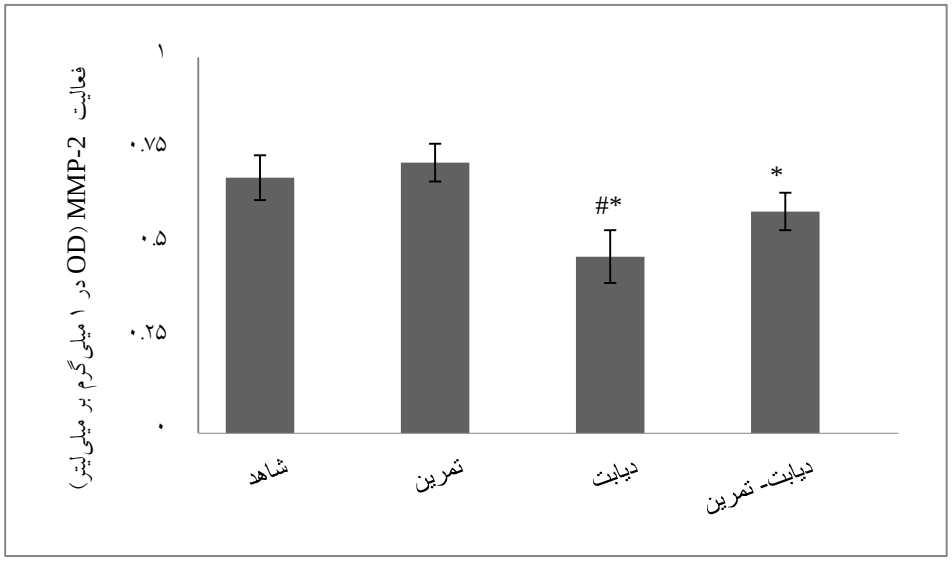
برای تعیین توزیع نرمال بودن داده‌ها و تجانس واریانس‌ها به ترتیب از آزمون‌های Shapiro-Wilk و Levein استفاده شد. جهت بررسی تأثیر ۸ هفته تمرین هوازی بر متغیرهای پژوهش نیز آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه و در صورت معنی‌داری اختلاف بین گروه‌ها جهت روشن نمودن محل اختلاف، آزمون تعقیبی Tukey مورد استفاده قرار گرفت. داده‌ها در نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۰ (version 20, SPSS Inc., Chicago, IL) و در سطح معنی‌داری $P < ۰/۰۵$ تجزیه و تحلیل گردید.

نتایج

بر اساس نتایج آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه و ارزش F محاسبه شده برای داده‌های MMP-2 و TGF-ß1 (به ترتیب ۲۸/۷۵۰، ۴۳/۴۴۶ و ۲۹۹۳/۱۸) و معنی‌دار بودن آن‌ها، از آزمون تعقیبی Tukey جهت تعیین محل اختلاف استفاده شد. بر این اساس، القای دیابت منجر به کاهش معنی‌دار فعالیت MMP-2 (۳۱/۴۰ درصد، $P < ۰/۰۰۱$)، افزایش معنی‌دار مقادیر TGF-ß1 کلیوی (۸۸/۰۱ درصد، $P < ۰/۰۰۱$) و افزایش معنی‌دار مقادیر گلوکز سرمی (۲۸۹/۱۴ درصد، $P < ۰/۰۰۱$) موش‌های گروه دیابت در مقایسه با گروه شاهد گردید. علاوه بر این، ۸ هفته تمرین شنا با افزایش معنی‌دار فعالیت MMP-2 (۲۵/۵۳ درصد، $P < ۰/۰۰۱$) (شکل ۱)، کاهش معنی‌دار مقادیر TGF-ß1 کلیوی (۲۴/۲۹ درصد، $P = ۰/۰۰۱$) (شکل ۲) و همچنین، کاهش گلوکز سرمی (۷۲/۱۹ درصد، $P = ۰/۰۰۱$) (شکل ۳) در موش‌های گروه دیابت همراه بود، اما فعالیت MMP-2 در موش‌های گروه دیابت- تمرین در مقایسه با گروه شاهد همچنان به طور معنی‌داری پایین‌تر بود (۱۳/۲۳ درصد، $P = ۰/۰۰۱$) و مقادیر TGF-ß1 کلیوی (۳۴/۴۲ درصد، $P = ۰/۰۰۱$) به طور معکوسی در سطح بالاتری از گروه شاهد باقی ماند. اختلاف معنی‌داری بین مقادیر گلوکز ناشتا سرمی گروه‌های دیابت- تمرین و شاهد مشاهده شد ($P = ۰/۰۱۸$). ۸ هفته تمرین شنا منجر به تغییری در فعالیت MMP-2 ($P = ۰/۵۶۴$)، مقادیر TGF-ß1 ($P = ۰/۹۶۹$) کلیوی و گلوکز سرمی ($P = ۰/۳۸۰$) موش‌های سالم نشد.

www.SID.ir

Archive of SID

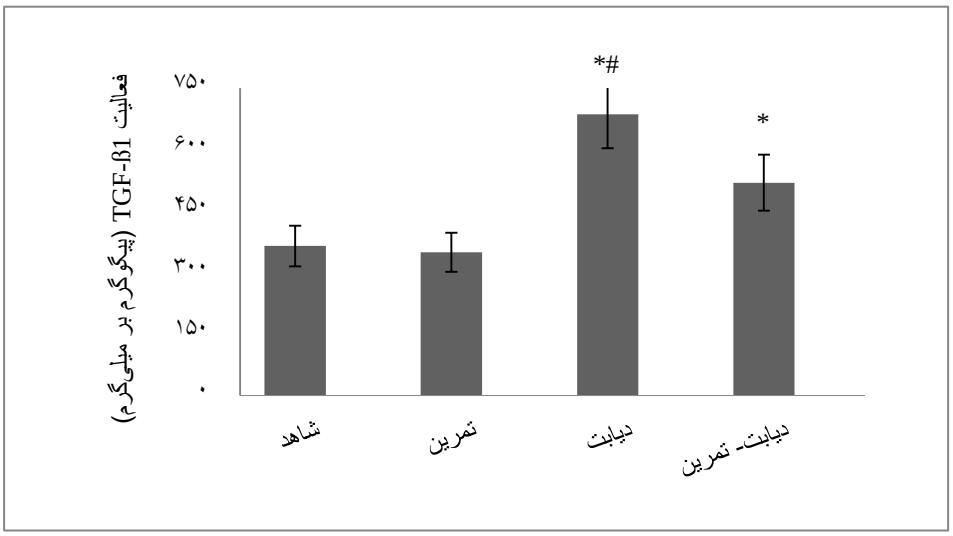


شکل ۱. *تأثیر تمرین منظم شنا بر فعالیت MMP-2 بافت کلیوی موش‌های گروه دیابت و سالم*

*وجود اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه‌های شاهد و تمرین

#وجود اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه دیابت- تمرین در سطح معنی‌داری P<۰/۰۵۰

MMP-2: Matrix metalloproteinase 2; OD: Optical density



شکل ۲. *تأثیر تمرین منظم شنا بر مقادیر TGF-ß1 بافت کلیوی موش‌های گروه دیابت و سالم*

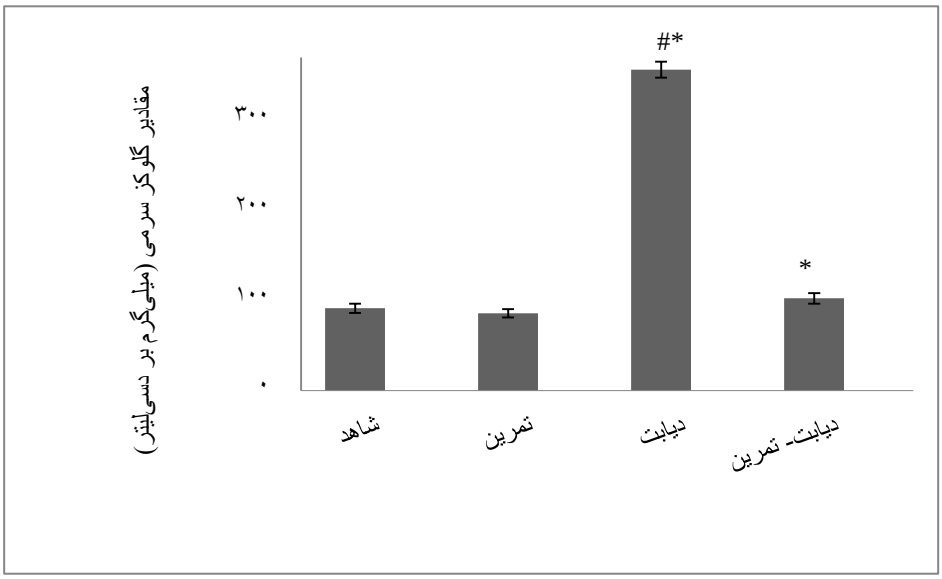
*وجود اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه‌های شاهد و تمرین

#وجود اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه دیابت- تمرین در سطح معنی‌داری P<۰/۰۵۰

TGF-ß1: Transforming growth factor-β1

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۳. *تأثیر تمرین منظم شنا بر مقادیر گلوکز سرمی موش‌های گروه دیابت و سالم*

*وجود اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه‌های شاهد و تمرین

#وجود اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه دیابت- تمرین در سطح معنی‌داری ۰/۰۵۰ > P

بحث و نتیجه‌گیری

در تحقیق حاضر اثر ۸ هفته تمرین هوازی شنا بر سطوح TGF-ß1 و MMP-2 بافت کلیوی موش‌های دیابتی شده مورد برررسی قرار گرفت. بر اساس یافته‌های پژوهش، القای دیابت با افزایش معنی‌دار مقادیر TGF-ß1 و کاهش فعالیت MMP-2 کلیوی در موش‌های دیابتی شده همراه بود و ۸ هفته تمرین منجر به کاهش معنی‌دار TGF-ß1 و افزایش فعالیت MMP-2 بافت کلیوی در این موش‌ها شد که بیانگر تأثیر حفاظتی تمرینات هوازی شنا در کاهش شاخص فیبروز شدن کلیوی و همچنین، سرکوب و پیشگیری عوارض احتمالی ناشی از آن از طریق افزایش فعالیت کلیوی MMP-2 است، اما ۸ هفته تمرین شنا با تغییراتی در مقادیر TGF-ß1 و MMP-2 بافت کلیه موش‌های سالم همراه نبود. به نظر می‌رسد، پروتکل ورزشی اخیر بر شاخص‌های TGF-ß1 و MMP-2، تنها در شرایط پاتولوژیک دیابت تأثیرگذار بوده است و منجر به سازگاری‌های حاصل از متغیرهای فوق در بافت کلیه موش‌های سالم نشد که دلایل احتمالی آن می‌تواند کافی نبودن شدت و مدت تمرین باشد. در مطالعات دیگر نیز کاهش معنی‌داری در فعالیت کلیوی MMP-2 (۵)، کاهش معنی‌داری در بیان کلیوی پروتئین MMP-2 (۶) و افزایش بیان TGF-ß1 در رت‌های دیابتی شده (۱۲) مشاهده گردید.

MMP-2 به عنوان یک ژلاتیناز شکافنده کلاژن غیر فیبریلی (کلاژن نوع IV)، نقش مهمی در تغییر پروتئین‌های ماتریکس خارج سلولی در نفروپاتی دیابتی دارد (۵). بر اساس شواهد، افزایش غلظت گلوکز منجر به کاهش بیان MMP-2 می‌شود که این تغییرات با افزایش ضخامت غشای توبولی در نفروپاتی دیابتی همراه است (۲۱). همچنین، سطوح زیاد گلوکز می‌تواند با افزایش سنتز ترومبواسپوندین-۱، فعال‌سازی TGF-ß1 را تسهیل نماید (۱). فاکتور پروفیبروتیک TGF-ß1 نیز به واسطه میانجی‌گری در پاسخ‌های التهابی، می‌تواند تجمع ماتریکس خارج سلولی را

www.SID.ir

Archive of SID

شتاب بخشد (۲۲). بنابراین افزایش فعالیت MMP-2، کاهش مقادیر TGF-ß1 در بافت کلیوی و کاهش سطوح گلوکز سرمی موش‌های تمرین کرده در تحقیق حاضر، می‌تواند تأییدی بر نقش حمایتی کلیوی فعالیت ورزشی در شرایط دیابت باشد، هرچند میزان متغیرهای فوق تا سطوح طبیعی و مشابه با رت‌های سالم، تعدیل نشد که ممکن است به دلیل کم بودن زمان، شدت و یا دوره تمرینی شنا باشد.

مطالعات انجام شده در خصوص تأثیر فعالیت‌های ورزشی بر شاخص‌های مورد بحث اندک است و می‌تواند از محدودیت‌های تحقیق حاضر نیز محسوب شود. نتایج مطالعه Santos Silva و همکاران نشان داد که مقادیر کلیوی TGF-ß1 در موش‌های صحرایی دیابتی شده در مقایسه با موش‌های صحرایی سالم بالاتر بود که پس از ۸ هفته تمرین مقاومتی با شدت ۸۰-۵۰ درصد بار حداکثر، کاهش معنی‌داری یافت (۱۶). در بررسی مداخله‌های غیر ورزشی نیز مشاهده شد که ۱۲ هفته تیمار با مهار کننده آنزیم مبدل آنژیوتانسین یا بنازپریل، با تغییرات عملکرد کلیه، تنظیم منفی TIMP-2، تنظیم مثبت بیان و فعالیت MMP-2 و کاهش تجمع کلاژن IV در بافت کلیه موش‌های صحرایی دیابتی شده همراه بود (۶). همچنین، مقادیر کلیوی TGF-ß1 پس از ۴ هفته تیمار با سیتوزول -که یک متسع کننده قوی و مستقیم عروقی است- کاهش یافت.

نتایج تحقیق Wenbin و Guojun گزارش کرد که ۸ هفته تیمار با رزوراترول، با کاهش آسیب کلیوی ناشی از دیابت از طریق مهار بیان TGF-β1 و کلاژن IV همراه می‌باشد (۱۸). علاوه بر این، Hayashi و همکاران در بررسی تأثیر تیمار با بلوکه کننده گیرنده آنژیوتانسین II بر سطوح MMP-2 در یک مدل حیوانی القای گلومرولواسکلروز با آدریامایسین، نشان دادند که تیمار با این مهار کننده‌ها منجر به افزایش فعالیت گلومرولی MMP-2 و کاهش تجمع کلاژن نوع IV می‌گردد (۲۳). با مقایسه نتایج تحقیقات انجام گرفته و یافته‌های تحقیق حاضر، می‌توان پیشنهاد نمود که فعالیت‌های ورزشی مزمن نیز می‌تواند مشابه با مداخله‌های غیر ورزشی و به واسطه مکانیسم‌های مختلف، منجر به کاهش میزان TGF-β1 و افزایش MMP-2 کلیوی و در نتیجه، کاهش عوارض ناشی از دیابت در بافت کلیه شوند.

Han و همکاران در مطالعه خود نشان دادند که در هر دو گروه از سلول‌های اپی‌تلیال توبولی کلیه (افراد سالم) کشت داده شده با دوز زیاد گلوکز و یا آنژیوتانسین II، سطوح TIMP-2، TGF-β1 و سنتز کلاژن افزایش معنی‌داری می‌یابد، اما در فعالیت و بیان ژنی MMP-2 کاهش معنی‌داری مشاهده شد. علاوه بر این، تیمار با آنتاگونیست گیرنده نوع ۱ آنژیوتانسین، با مهار تغییرات ناشی از آنژیوتانسین II در TGF-β1، MMP-2، TIMP-2 و تولید کلاژن همراه بود (۵). بنابراین، دیابت با افزایش آنژیوتانسین II کلیوی (۲۴) و سطوح گلوکز زیاد می‌تواند منجر به آسیب کلیوی شود. آنژیوتانسین II از طریق یک مکانیسم وابسته به TGF-β، می‌تواند باعث القای عدم تنظیم و تعادل MMP-2 و TIMP-2 گردد، اما گلوکز از یک مسیر مستقل از TGF-β1 می‌تواند منجر به این فرایند شود (۵). همچنین، مشاهده شد که استرس اکسیداتیو در تجمع ماتریکس خارج سلولی به طور مستقیم و از طریق مهار MMP-2 و هم به واسطه القای پاسخ سیتوکین‌های التهابی مداخله دارد (۲۴). بنابراین، فعالیت ورزشی ممکن است از مسیر کاهش استرس اکسایشی (۲۵) و گلوکز و یا کاهش سطوح آنژیوتانسین II کلیوی (۲۶)، موجب تنظیم منفی و افزایش فعالیت در کلیه موش‌های دیابتی شده باشد. Peng و همکاران (۱۵) و Peng و همکاران (۲۷) کاهش تورم گلومرولی همراه با کاهش بیان پلاسمایی MMP-2 را پس از ۱۱ هفته تمرین شنا و یا تأثیر دو برنامه هوازی دویدن روی تردمیل (۱۱ هفته تمرین دویدن، سه بار در هفته و به مدت‌های ۳۰ و یا ۶۰

www.SID.ir

Archive of SID

دقیقه) را بر کاهش مقادیر پلاسمایی MMP-2 و TGF-ß1 در رت‌های مبتلا به نفروپاتی گزارش نمودند.

با مقایسه نتایج تحقیقات فوق با یافته‌های تحقیق حاضر، به نظر می‌رسد که در شرایط دیابت، تنظیم MMP-2 پلاسمایی با تمرین ورزشی متفاوت از تنظیم کلیوی آن می‌باشد؛ به طوری که کاهش سطوح پلاسمایی MMP-2 به دنبال فعالیت‌های ورزشی مزمن در افراد مبتلا به دیابت توسط محققان دیگر (۲۸) تأیید گردید. بر اساس شواهد، تنظیم مثبت MMP-2 در عروق شریانی، منجر به تولید آنژیواستاتین (یک سرکوبگر قوی فاکتور رشد اندوتلیال عروقی) می‌گردد که این اثرات با کاهش MMP-2 پلاسمایی معکوس می‌شود (۷).

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که دیابت با افزایش سطوح TGF-ß1 و کاهش فعالیت MMP-2 کلیوی می‌تواند باعث آسیب کلیوی شود. علاوه بر این، تمرین منظم شنا ممکن است اثر حفاظت کلیوی خود را مقابل آسیب کلیوی ناشی از دیابت از طریق تنظیم مثبت فعالیت MMP-2 و کاهش مقادیر TGF-β1 در بافت کلیه میانجی‌گری نماید.

سپاسگزاری

تحقیق حاضر برگرفته از پایان‌نامه کارشناسی ارشد می‌باشد. بدین‌وسیله از همه همکارانی که در اجرای این پژوهش یاری نمودند، تشکر و قدردانی به عمل می‌آید.

References

1. Wang X, Yan L, Chen W, Xu L, Zhang X. The renal protective effects of cilostazol on suppressing pathogenic thrombospondin-1 and transforming growth factor-beta expression in streptozotocin-induced diabetic rats. *J Int Med Res* 2009; 37(1): 145-53.
2. Ma LJ, Fogo AB. Modulation of glomerulosclerosis. Seminars in Immunopathology 2007; 29(4): 385-95.
3. Mason RM, Wahab NA. Extracellular matrix metabolism in diabetic nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 2003; 14(5): 1358-73.
4. McLennan SV, Kelly DJ, Cox AJ, Cao Z, Lyons JG, Yue DK, et al. Decreased matrix degradation in diabetic nephropathy: effects of ACE inhibition on the expression and activities of matrix metalloproteinases. *Diabetologia* 2002; 45(2): 268-75.
5. Han SY, Jee YH, Han KH, Kang YS, Kim HK, Han JY, et al. An imbalance between matrix metalloproteinase-2 and tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-2 contributes to the development of early diabetic nephropathy. *Nephrol Dial Transplant* 2006; 21(9): 2406-16.
6. Sun SZ, Wang Y, Li Q, Tian YJ, Liu MH, Yu YH. Effects of benazepril on renal function and kidney expression of matrix metalloproteinase-2 and tissue inhibitor of metalloproteinase-2 in diabetic rats. *Chin Med J (Engl)* 2006; 119(10): 814-21.
7. Chung AW, Hsiang YN, Matzke LA, McManus BM, van Breemen C, Okon EB. Reduced expression of vascular endothelial growth factor paralleled with the increased angiostatin expression resulting from the upregulated activities of matrix metalloproteinase-2 and -9 in human type 2 diabetic arterial vasculature. *Circ Res* 2006; 99(2): 140-8.

www.SID.ir

Archive of SID

8. Lewandowski K, Banach E, Bienkiewicz M, Lewinski A. Matrix metalloproteinases in type 2 diabetes and non-diabetic controls: effects of short-term and chronic hyperglycaemia. *Arch Med Sci* 2011; 7(2): 294-303.

9. Lee HS. Pathogenic role of TGF- ß in diabetic nephropathy. *J Diabetes Metab* 2013; S9: 1-7.

10. Ban CR, Twigg SM. Fibrosis in diabetes complications: pathogenic mechanisms and circulating and urinary markers. *Vasc Health Risk Manag* 2008; 4(3): 575-96.

11. Lane PH, Sun J, Devish K, Langer WJ. Dissociation of renal TGF-beta and hypertrophy in female rats with diabetes mellitus. *Am J Physiol Renal Physiol* 2004; 287(5): F1011-F1020.

12. Xu J, Lee ES, Baek SH, Ahn SY, Kim S, Na KY, et al. Effect of bilirubin on triglyceride synthesis in streptozotocin-induced diabetic nephropathy. *J Korean Med Sci* 2014; 29(Suppl 2): S155-S163.

13. Kurdak H, Sandikci S, Ergen N, Dogan A, Kurdak SS. The effects of regular aerobic exercise on renal functions in streptozotocin induced diabetic rats. *J Sports Sci Med* 2010; 9(2): 294-9.

14. Boor P, Celec P, Behuliak M, Grancic P, Kebis A, Kukan M, et al. Regular moderate exercise reduces advanced glycation and ameliorates early diabetic nephropathy in obese Zucker rats. *Metabolism* 2009; 58(11): 1669-77.

15. Peng C, Chen KC, Hsieh C, Peng RY. Swimming exercise prevents fibrogenesis in chronic kidney disease by inhibiting the myofibroblast transdifferentiation. *PLoS One* 2012; 7(6): e37388.

16. Santos Silva KA, de Alcântara Santos R, Arlotti MR, Jorge L, da Silva Luiz R, Rampaso RR, et al. Progressive resistance exercise training attenuated renal damages, but did not improve Muscle Force in STZ-Induced Diabetic Rats. *J Diabetes Metab* 2014; 5: 461.

17. Tzeng TF, Liou S, Chang C, Liu M. Zerumbone, a tropical ginger sesquiterpene, ameliorates streptozotocin-induced diabetic nephropathy in rats by reducing the hyperglycemia-induced inflammatory response. *Nutr Metab* (Lond) 2013; 10: 64.

18. Wenbin Z, Guojun G. Resveratrol ameliorates diabetes-induced renal damage through Regulating the expression of TGF-beta1, collagen IV and Th17/Treg-related cytokines in rats. *West Indian Med J* 2014; 63(1): 20-5.

19. Habibian M, Farzanegi P, Azimi GH. Therapeutic effect of swimming training and arbutin supplement on diabetes-induced renal oxidative stress. *Daneshvar* Med 2014; 22(114): 13-20. [In Persian].

20. 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. *The Scientific World Journal* 2014; 2014: 10.

21. Karamessinis PM, Tzinia AK, Kitsiou PV, Stetler-Stevenson WG, Michael AF, Fan WW, et al. Proximal tubular epithelial cell integrins respond to high glucose by altered cell-matrix interactions

www.SID.ir

Archive of SID

and differentially regulate matrixin expression. *Lab Invest* 2002; 82(8): 1081-93.

22. Sharma K, Jin Y, Guo J, Ziyadeh FN. Neutralization of TGF-beta by anti-TGF-beta antibody attenuates kidney hypertrophy and the enhanced extracellular matrix gene expression in STZ-induced diabetic mice. *Diabetes* 1996; 45(4): 522-30.
23. Hayashi K, Sasamura H, Ishiguro K, Sakamaki Y, Azegami T, Itoh H. Regression of glomerulosclerosis in response to transient treatment with angiotensin II blockers is attenuated by blockade of matrix metalloproteinase-2. *Kidney Int* 2010; 78(1): 69-78.
24. Lenz O, Elliot SJ, Stetler-Stevenson WG. Matrix metalloproteinases in renal development and disease. *J Am Soc Nephrol* 2000; 11(3): 574-81.
25. Ishikawa Y, Gohda T, Tanimoto M, Omote K, Furukawa M, Yamaguchi S, et al. Effect of exercise on kidney function, oxidative stress, and inflammation in type 2 diabetic KK-Ay mice. *Experimental Diabetes Research* 2012; 2012: 10.
26. Cunha TS, Ronchi F, Sakata MM, Arita DY, Colucci JA, Perez JD, et al. Exercise training reduces kidney angiotensin ii levels and attenuates renal dysfunction in animal diabetic nephropathy [Online]. [cited 2010]; Available from: URL: http://professional.diabetes.org/Abstracts_Display.aspx?TYP=1&CID=79058
27. Peng CC, Chen KC, Lu HY, Peng RY. Treadmill exercise improved adriamycin-induced nephropathy. *J Biol Regul Homeost Agents* 2012; 26(1): 15-28.
28. Farzanegi P. Impact of the synchronization of portulaca oleracea and aerobic training on levels of MMP2 and MMP9 and TIMP1 in diabetic women type II. *Res Mol Med* 2014; 2(2): 34-9.

www.SID.ir

Archive of SID

The Effect of Regular Swimming Exercise on the Levels of Renal Matrix Mettaloproteinase-2 and Transforming Growth Factor-β1 in Rats with Diabetes

Masoumeh Habibian, Ph.D.[1*], Mohammad Reza Saghafi, M.Sc.[2], Parvin Farzanegi, Ph.D.[3]

1. Assistant Professor, Department of Physical Education and Sports Sciences, Faculty of Human Sciences, Qaem Shahr Branch, Islamic Azad University, Qaem Shahr, Iran

2. Department of Exercise Physiology, Faculty of Human Sciences, Sari Branch, Islamic Azad University, Sari, Iran

3. Associate Professor, Department of Exercise Physiology, Faculty of Human Sciences, Sari Branch, Islamic Azad University, Sari, Iran

* Corresponding author; e-mail: habibian_m@yahoo.com

(Received: 12 May 2015 Accepted: 27 Oct. 2015)

Abstract

Background & Aims: Numerous studies have reported the renoprotective effects of exercise in both human and animal models of diabetic nephropathy. However, detailed mechanism of action by which exercise has a favorable influence on renal fibrogenic factors is not yet fully understood. Therefore, the aim of this study was to assess the effect of swimming exercise on the activity of renal matrix mettaloproteinase-2 (MMP-2) and transforming growth factor-β1 (TGF- β1) in rats with diabetes.

Methods: The study sample consisted of 28 male Wistar rats that were randomly divided into 4 groups (7 rats per group) of control, diabetes, exercise, and diabetes-exercise. Diabetes was induced through an intraperitoneal injection of alloxan (90 mg/kg) in rats. The animals received swimming exercise for 6-30 minutes per day, 5 days a week for 8 weeks. The rats were sacrificed 72 hours after the last treatments and renal MMP-2 activity and TGF- β1 level were evaluated by Zymography and ELIZA (enzyme-linked immunosorbent assay) method. Data were analyzed using one-way analysis of variance.

Results: Diabetes induction significantly increased renal TGF-β1 ($P < 0.001$) and decreased MMP-2 activity ($P < 0.001$) compared with the control group. Furthermore, 8 weeks of swimming exercise was associated with a significant decrease in renal TGF-β1 level ($P = 0.001$) and elevated MMP-2 activity ($P = 0.001$) in rats in the diabetes-exercise group.

Conclusion: It seems that the renoprotective effects of regular swimming exercise against diabetes-induced kidney damage may be partly mediated via the up-regulation of renal MMP-2 activity and reduction of TGF-β1 level in diabetic renal tissue.

Keywords: Swimming exercise, Diabetes, Transforming growth factor-β1, Matrix mettaloproteinase-2

Journal of Kerman University of Medical Sciences, 2016; 23(4): 446-456

www.SID.ir