

Attenuation of TGF- β 1/SMAD-4 signaling pathway following high-intensity interval training in the heart of streptozotocin diabetic rat model

¹ Zahra Karimi Khuzani. ^{1*} Zeinab Rezaee. ¹ Sayyed Mohammad Marandi. ² Maryam Radahmadi

¹ Department of Exercise Physiology, Faculty of Sport Sciences, University of Isfahan, Isfahan, Iran.

² Department of Physiology, School of Medicine Isfahan University of Medical Science, Isfahan, Iran.

Background and Purpose: Diabetes mellitus is a common and lifelong health-threatening disease that affects vital organs such as the heart, kidneys, liver, and central and peripheral nervous systems by disrupting glucose metabolism and energy homeostasis. Exercise is one of the important interventions for reducing complications of diabetes, including cardiomyopathy, which produces different effects depending on the type of exercise program. In this study, the effect of 8 weeks of high-intensity interval training on a treadmill on changes in blood glucose, weight, and fibrosis indices in the heart tissue of diabetic rats was investigated.

Materials and Methods: 28 male 8-week-old Wistar rats weighing approximately 200 $\pm$ 50 grams were divided into four groups: 1. Control, 2. Exercise, 3. Diabetes, and 4. Diabetes + Exercise. Diabetic groups received a single dose of streptozotocin intraperitoneally. The exercise groups began progressive interval running on a treadmill at 85% of maximum speed for 8 weeks, so that the intensity of activity increased by 5% each week until the fifth week, and the activity speed remained constant in the final 3 weeks. The duration of activity also increased from 38 minutes in the first week to 60 minutes in the eighth week. Active rest intervals between high-intensity exercise intervals were 1 minute and at a speed of 10 m/min. Fasting blood glucose and weight changes were recorded before diabetes induction, and 3, 5, and 8 weeks later. At the end of the training sessions, the expression of TGF- β 1/SMAD-4 genes was evaluated by qRT-PCR by extracting heart tissue. SPSS software and one-way ANOVA statistical method were used to analyze the gene expression findings, and the analysis of variance (4x4) design was used to examine changes in weight and blood glucose. Finally, the findings were evaluated at a significant level ($p \leq 0.05$) using Tukey's post hoc test.

Results: The diabetic groups showed increased blood glucose and fibrotic gene expression compared to healthy groups. Additionally, the weight change pattern showed a decreasing trend compared to healthy groups and also compared to pre-disease conditions. However, exercise in diabetic rats caused significant improvement in blood glucose from the fifth week after disease onset. Weight recovery compared to the non-exercised diabetic group was also observed in the Diabetes+Exercise group. Furthermore, expression of fibrotic genes TGF- β 1/SMAD-4 was significantly reduced in this group. However, there remained significant differences in the examined factors between healthy and diabetic groups ($p \leq 0.05$).

Conclusion: Although longer exercise duration would likely have greater effects on improving diabetes-related complications, 8 weeks of high-intensity interval training can be effective in improving cardiac fibrosis indices in diabetic rats and, by controlling glucose metabolism and weight homeostasis, can help improve disease-related disorders.

Keywords: Diabetic rats, Cardiac fibrosis, TGF- β 1, Weight loss, HIIT

How to cite this article: Karimi Khuzani, Z. Rezaee, Z. Marandi, S.M. Radahmadi, M. Attenuation of TGF- β 1/Smad4 signaling pathway following high-intensity interval training in streptozotocin-induced diabetic rats. J Sport Exerc Physiol. 2025;18(4):?-?.

نشریه فیزیولوژی ورزش و فعالیت بدنی

۱۴۰۴، دوره ۱۸، شماره ۴، صفحه‌های ۹-۲

مقاله پژوهشی

تضعیف مسیر سیگنالینگ TGF- β 1/SMAD-4 به دنبال تمرین تناوبی با شدت بالا در قلب رت های دیابتی مدل استرپتوزوسین

زهرا کریمی خوزانی^۱، زینب رضایی^{۱*}، سید محمد مرنندی^۱، مریم راداحمدی^۲

^۱ گروه فیزیولوژی ورزش، دانشکده علوم ورزشی دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران.

^۲ گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.

چکیده

زمینه و هدف: دیابت ملیتوس از بیماری‌های شایع و تهدید کننده سلامتی در تمام طول عمر است، که با اختلال در متابولیسم گلوکز و هومئوستاز انرژی، ارگان‌های حیاتی بدن مانند قلب، کلیه، کبد، سیستم عصبی مرکزی و محیطی را درگیر می‌کند. فعالیت ورزشی یکی از مداخلات مهم برای کاهش عوارض ناشی از دیابت از جمله کاردیومیوپاتی است که با توجه به نوع برنامه تمرینی اثرات متفاوتی ایجاد می‌کند. در این مطالعه اثر ۸ هفته تمرینات تناوبی با شدت بالا روی نوارگردان بر تغییرات گلوکز خون، وزن و شاخص‌های فیبروز در بافت قلب رت‌های دیابتی بررسی می‌شود.

مواد و روش‌ها: به این منظور تعداد ۲۸ سر رت نر ۸ هفته‌ای، با وزن تقریبی 200 ± 50 گرم از نژاد ویستار به چهار گروه ۱. کنترل، ۲. ورزش، ۳. دیابت و ۴. دیابت+ورزش تقسیم شدند. گروه‌های دیابتی یک دوز استرپتوزوسین داخل صفاقی دریافت نمودند. گروه‌های ورزش به مدت ۸ هفته و به صورت پیشرونده دویدن اینتروال روی نوارگردان با شدت ۸۵٪ حداکثر سرعت را آغاز نمودند، تا هفته پنجم هر هفته شدت فعالیت ۵٪ افزایش یافت و در ۳ هفته پایانی سرعت فعالیت ثابت باقی ماند. مدت فعالیت نیز از ۳۸ دقیقه در هفته اول به ۶۰ دقیقه در هفته هشتم رسید. فواصل استراحتی فعال بین تناوب‌های تمرین با شدت بالا نیز ۱ دقیقه و با سرعت ۱۰ متر بر دقیقه بود. در بازه‌های زمانی قبل از القای دیابت، و ۳، ۵ و ۸ هفته بعد از آن گلوکز خون ناشتا و تغییرات وزن ثبت شد. در پایان جلسات تمرینی با استخراج بافت قلب، بیان ژن‌های TGF- β 1/SMAD-4 به روش qRT-PCR مورد ارزیابی قرار گرفت. برای تحلیل یافته‌های بیان ژن از نرم افزار SPSS و روش آماری آنوای یک طرفه استفاده شد و طرح تحلیل واریانس (۴*۴) برای

بررسی تغییرات وزن و گلوکز خون استفاده شد. سرانجام از طریق آزمون تعقیبی توکی یافته ها در سطح معناداری ($p \leq 0.05$) ارزیابی شدند.

نتایج: گروه های دیابتی افزایش گلوکز خون و بیان ژن های فیبروتیک را نسبت به گروه های سالم نشان دادند، همچنین، الگوی تغییرات وزن در بازه مورد بررسی نسبت به گروه های سالم و همچنین نسبت به شرایط قبل از ابتلا به بیماری روند کاهشی داشت. با اینحال ورزش در رت های دیابتی سبب بهبود معنادار گلوکز خون از هفته پنجم پس از ابتلا به بیماری شد. بازیابی وزن نسبت به گروه دیابت بدون تمرین نیز در گروه دیابت+ورزش مشاهده شد. همچنین، بیان ژن های فیبروتیک TGF-B1/SMAD-4 به طور معناداری در این گروه کاهش یافت. اما به طور معناداری اختلاف در فاکتورهای مورد بررسی بین گروه های سالم و بیمار وجود دارد ($p \leq 0.05$).

نتیجه گیری: ۸ هفته ورزش تناوبی با شدت بالا می تواند در بهبود شاخص های فیبروز قلبی در رت های دیابتی مؤثر باشد و با کنترل متابولیسم گلوکز و هومئوستاز وزن در بهبود اختلالات ناشی از بیماری مؤثر باشد.

واژه های کلیدی: رت های دیابتی، فیبروز قلبی، TGF-B، کاهش وزن، HIIT

نحوه استناد به این مقاله: کریمی خوزانی ز. رضایی ز، مرندی س.م، راداحمدی م. تضعیف مسیر سیگنالینگ TGF- β 1/SMAD-4 به دنبال تمرین تناوبی با شدت بالا در قلب رت های دیابتی مدل استرپتوزوسین. نشریه فیزیولوژی ورزش و فعالیت بدنی.

* رایانامه نویسنده مسئول: z.rezaee@spr.ui.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۲/۱۷ تاریخ ویرایش: ۱۴۰۴/۰۵/۰۴ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۵/۲۲

مقدمه

دیابت یکی از چالش های مهم حوزه سلامت در دهه های اخیر است که علاوه بر تحمیل بار اقتصادی فراوان، منشا بروز بسیاری بیماری های متابولیک دیگر است و با کاهش کیفیت زندگی و طول عمر جوامع را تهدید می کند. سازمان بهداشت جهانی با توجه به آمار رو به افزایش بیماری دیابت در جهان آن را به عنوان اپیدمی نهفته اعلام کرده است و پیش بینی شده تعداد مبتلایان به دیابت از ۱۳۵ میلیون نفر در سال ۱۹۹۵ به ۳۸۰ میلیون نفر در سال ۲۰۲۵ خواهد رسید (۱). اختلال در متابولیسم گلوکز و انسولین، سوخت و ساز مواد مغذی، تعادل اکسیدان و آنتی اکسیدان، تجمع رادیکال های آزاد این بیماری را به یک خطر جدی تهدید کننده سلامت تبدیل کرده است (۲). بیماری قلبی عروقی به عنوان عامل اصلی مرگ و میر حاصل از دیابت شناخته شده و نارسایی قلبی که به دنبال دیابت ایجاد می شود را کاردیومیوپاتی دیابتی (DCM) می گویند (۳). اختلالات متابولیکی و هیپرگلیسمی در دیابت منجر به عوارضی چون آپوپتوز میوکارد، اختلال در عملکرد آندوتلیال و استرس اکسیداتیو در بافت قلب شده و در نهایت منجر به

¹ Dilated cardiomyopathy

² Myocardial apoptosis

DCM خواهند شد. همچنین قرار گرفتن طولانی مدت در معرض فشار اکسایشی باعث التهاب مزمن و فیبروز قلبی^۱ می شود (۴). فیبروز زمانی ایجاد می شود که عدم تعادل در رسوب و تخریب ماتریکس خارج سلولی (ECM)^۲ وجود داشته باشد. رسوب بیش از حد ECM منجر به زخم و ضخیم شدن بافت آسیب دیده می شود و با هومئوستاز بافت و اندام تداخل می کند (۵). بسیاری از لیگندهای تبدیل کننده فاکتور رشد بتا محرک قوی رسوب ECM هستند و میل طبیعی به ECM دارند و یک مجموعه متمرکز از فاکتورهای فیبروتیک را در محل آسیب ایجاد می کنند (۶). افزایش استرس اکسیداتیو ناشی از دیابت سبب فعالسازی فاکتور رشد تغییر دهنده بتا (TGFB)^۳ وابسته به گونه های فعال اکسیژن (ROS)^۴ می شود و در وقوع کاردیومیوپاتی دیابتی (DCM)^۵ بسیار مهم است (۳). در واقع، TGF-B1، یکی از ایزوفرم های فاکتورهای رشدی می باشد که به دنبال نارسایی قلبی در میوکارد بیان شده و باعث سختی و سفتی میوکارد، اختلال عملکرد دیاستول، آپوپتوز، القای رسوب کلاژن از طریق فیبروبلاست ها و نارسایی قلب می گردد (۶). فعالیت های فیبروتیک TGF-B1 از طریق فسفوریلاسیون ایزوفرم های SMAD، راه اندازی می شود. اتصال TGF-B1 به ژن پایین دست آن SMAD-4 به طور چشمگیری در افراد چاق و دیابتی منجر به سکنه های قلبی عروقی و مرگ و میر می شود (۷). با افزایش سیگنال دهی ناشی از اتصال TGF-B1 به SMAD-4 پروتئین های ماتریکس خارج سلولی مانند فیبرونکتین I تجمع می یابند و مسیر اندوتلین I و آنژیوتانسین II به تولید کلاژن منجر می شود در نتیجه تخریب غیرقابل بازگشت ناشی از فیبروز بافتی ایجاد می شود (۲). همچنین، مطالعات نشان می دهد افزایش TGF-B1 سبب مقاومت به انسولین می شود و سطوح گلوکز خون ناشتا را افزایش می دهد. در بیماری دیابت، ارتباط بین عدم تحمل گلوکز با افزایش بیان TGF-B1 در بافت های مختلف از جمله کلیه، کبد، قلب و بخش هایی از مغز گزارش شده است (۸)، با اینحال مکانیسم های پیچیده ای در بروز این اختلالات مؤثر است که باید بررسی شود.

ورزش یکی از روش های کمک درمانی مهم برای کنترل چاقی و دیابت است. انقباض عضلانی طی ورزش با تولید گونه های آزاد اکسیژن و ایجاد استرس در رتیکولوم اندوپلاسمیک، سبب تحریک بیان آنزیم های آنتی اکسیدانی، مهار آپوپتوز و تخریب سلولی می شود (۹). به طور قابل توجه، شدت برنامه ورزشی و ورزشی در بروز پاسخ های التهابی اثرگذار است. لی و همکاران (۲۰۰۷)، گزارش کردند فعالیت ورزشی سنگین سبب افزایش بیان شاخص های التهابی مانند TGF-B1 در بافت قلب و سرم رت های دیابتی می شود (۱۰)، با اینحال، فعالیت های طولانی مدت با ایجاد سازگاری در کاهش بیان فاکتورهای آپوپتیک مؤثر است (۱۱). چنگچی و همکاران (۲۰۱۹)، اثر ۶۰ دقیقه دویدن روی نوارگردان با شیب ۱۰ درجه را در سرعت پایین (۲۱ m/min) و بالا (۳۴ m/min) در قلب رت های دیابتی مقایسه و گزارش کردند دویدن به ویژه با سرعت بالا سبب کاهش بیان فاکتورهای آپوپتیک و استرس اکسیداتیو در قلب رت های دیابتی نسبت به گروه دیابت بی تحرک می شود (۹). هیو و همکاران (۲۰۲۱)، نشان دادند ۱۲ هفته تمرینات شنا در رت های دیابتی سبب کاهش گلوکز خون سرم و کاهش بیان TGF-B1 در بافت قلب رت های دیابتی می شود. بنابراین، کنترل بیان و فعالیت این فاکتور علاوه بر بهبود متابولیسم گلوکز در کاهش اختلالات ناشی از نفروپاتی، نوروپاتی و کاردیومیوپاتی نیز می تواند مؤثر باشد.

¹ Cardiac fibrosis

² Extracellular matrix

³ Transforming growth factor beta

⁴ Oxygen free radicals

⁵ Diabetic cardiomyopathy

⁶ Li

⁷ Chengji

⁸ Huo

یکی از مکانیسم های مقابله با افزایش سیگنال دهی TGF-B/SMAD، بیش تنظیمی PGC-1 α ^۱، به عنوان یک فاکتور مؤثر در بیوژنز میتوکندریایی و هومئوستاز سلول می باشد که به خوبی تحت تأثیر برنامه ورزشی قرار دارد (۷). به طور جالب، گزارش شده است که ترکیب تمرینات مقاومتی و هوازی در تحریک سیگنال های مهار آپوپتوز مؤثرتر از سایر انواع تمرینی در تنظیم پاسخ های قلبی عروقی مؤثر است، با اینحال تمرینات تناوبی شدید مقاومتی^۲ در مقایسه با تمرینات تناوبی هوازی^۳ می تواند سبب تحریک پاسخ های التهابی شود (۵). با توجه به اهمیت کنترل و مهار سیگنال های تحریک کننده فیبروز در اندام های مختلف افراد مبتلا به دیابت، تنظیم شدت، مدت و طراحی برنامه تمرینی مناسب در نمونه های انسانی و حیوانی، به عنوان یک روش غیردارویی و مؤثر، همواره مورد توجه است تا با کاهش چالش های موجود در یافته ها، سبب بهبود اختلالات ناشی از این بیماری شود. به این ترتیب در مطالعه حاضر اثر ۸ هفته تمرینات تناوبی با شدت بالا بر تغییرات گلوکز خون ناشتا و مسیر سیگنالینگ TGF-B1/SMAD-4 در قلب رت های دیابتی مدل استرپتوزوسین مورد ارزیابی قرار می گیرد.

روش پژوهش

نمونه های پژوهش: قبل از آغاز مداخله پژوهشی همه رت ها به منظور ارزیابی آمادگی اولیه و آشنایی با نوارگردان، به مدت یک هفته روی نوارگردان با سرعت ۱۰ متر/دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه دویدند تا رت هایی که نمی توانند دو سوم جلوبی نوارگردان را هنگام دویدن حفظ کنند و در یک دقیقه بیش از ۳ بار به انتهای نوارگردان و قسمت شوک الکتریکی می رسند حذف شوند (۱۳). هیچ یک از نمونه ها چنین شرایطی نداشتند به این ترتیب، تعداد ۲۸ سر رت نر نژاد ویستار (۸ هفته ای) با وزن تقریبی 200 ± 50 گرم از انستیتو پاستور ایران خریداری شدند. موش ها در لانه حیوانات علوم ورزشی دانشگاه اصفهان، تحت شرایط کنترل شده نور (۱۲ ساعت روشنایی/تاریکی)، دما 23 ± 1 درجه سانتی گراد و رطوبت ۵۰٪ در قفس های مخصوص و با دسترسی آزادانه به آب و غذای استاندارد نگهداری شدند.

روش اجرای پژوهش: قبل از شروع مداخله پژوهشی گلوکز خون ناشتا (FBG) پس از ۱۲ ساعت ناشتایی ارزیابی شد. به این منظور یک قطره خون، از طریق یک جراحی سطحی روی ورید دم توسط لانس و دستگاه گلوکومتر (روشه، آلمان)^۴ گرفته شد و میزان گلوکز خون از طریق کیت های گلوکومتر ثبت شد. در ادامه رت ها به ۴ گروه (n=۷) تقسیم شدند: ۱. کنترل-سالمین (Con)، ۲. ورزش-سالمین (EXE)، ۳. کنترل-دیابت (D) و ۴. ورزش-دیابت (D+EXE). گروه های دیابتی پس از ۱۲ ساعت ناشتایی، نمونه ها با تزریق درون صفاقی استرپتوزوتوسین (STZ) (۵۰ میلی گرم/کیلوگرم وزن بدن، محلول در بافر سیترات سدیم با pH=4.5) تحریک شدند (۱۴) و گروه های کنترل به روش مشابهی سالمین دریافت کردند. سطوح FBG به روشی که ذکر شد ۷۲ ساعت پس از تزریق STZ مجدد ارزیابی شد و القای مدل دیابت با سطوح گلوکز خون بالاتر از ۲۰۰ mg/dl تأیید شد (۱۵). این ارزیابی در تناوب های ۳ هفته، ۵ هفته و ۸ هفته پس از تزریق STZ نیز انجام شد. در تناوب های ذکر شده وزن کشی نیز از تمام نمونه ها انجام شد.

برنامه ورزشی

^۱ Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma coactivator (PGC)-1alpha

^۲ high-intensity resistance training (HIRT)

^۳ high-intensity interval training (HIIT)

^۴ Fasting Blood Glucose

ابتدا رت ها روی نوارگردان به مدت ۵ دقیقه با سرعت ۶ متر/دقیقه گرم شدند. سپس، برای تعیین حداکثر سرعت دویدن نمونه ها، برنامه ای اجرا شد که در آن سرعت به صورت فزاینده و هر ۲ دقیقه یکبار به میزان ۲ متر در دقیقه افزایش یافت. شیب نوارگردان ۱۰ درجه طی این مرحله حفظ شد تا زمانی که نمونه ها قادر به ادامه دویدن نباشند (۱۳). سپس برنامه اصلی شامل ۸ هفته تمرین (۵ جلسه در هفته) با شیب صفر درجه، به این ترتیب اجرا شد (۱۶، ۱۷): هفته اول با ۸۵٪ حداکثر سرعت، به مدت ۲ دقیقه و ۶ تکرار، و هر هفته ۵٪ به این سرعت اضافه شد تا هفته پنجم و در سه هفته پایانی، برنامه تمرینی با مدت فزاینده و سرعت ثابت ادامه یافت (جدول ۱). فاصله های استراحت فعال ۱ دقیقه ای و سرعت ۱۰ متر در دقیقه بین تناوب های تمرین اجرا شد. مدت گرم کردن و سرد کردن در هر جلسه ۱۰ دقیقه با سرعت ۱۰ متر بر دقیقه بود.

جدول ۱. طراحی تمرینات تناوبی گروه های ورزشی

سرعت (متر بر دقیقه)	تعداد تکرار های دو دقیقه ای	هفته های تمرین
۲۲	۶	اول
۲۲/۵	۷	دوم
۲۳/۷	۸	سوم
۲۵	۹	چهارم
۲۶/۲	۱۰	پنجم
۲۶/۲	۱۱	ششم
۲۶/۲	۱۲	هفتم
۲۶/۲	۱۳	هشتم

بافت برداری

۷۲ ساعت پس از پایان آخرین جلسه ورزشی، نمونه ها با تزریق درون صفاقی کلرال هیدرات ۴٪ به میزان ۲۵ میلی لیتر بر کیلوگرم، بیهوش شدند (۱۸)، سپس بافت قلب استخراج و تا جمع آوری همه نمونه ها در دمای ۸۰- درجه فریز شدند. تجزیه و تحلیل آماری زن های مورد نظر با استفاده از روش آنوای یک طرفه با آزمون تعقیبی توکی انجام شد و تغییرات گلوکز خون و وزن با استفاده از طرح تحلیل واریانس (۴ گروه) در (۴ نوبت اندازه گیری) از طریق نرم افزار SPSS-23 و در سطح معناداری ($p \leq 0.05$) بررسی شد.

۲.۵. استخراج RNA با استفاده از روش qRT-PCR

بافت قلب از طریق هموژنیزه کردن (۱۱۰۰۰ rpm، ۴۰ دقیقه) برای استخراج RNA آماده شد و طبق دستورالعمل کیت RNA-Plus (شرکت سیناژن)، جداسازی RNA انجام شد. به منظور پاکسازی محلول RNA استخراج شده، از هر گونه آلودگی به DNA و آنزیم های مخرب RNA از کیت DNaseI (شرکت فرمنتاز آلمان) استفاده شد. از هر نمونه، به میزان ۳ میکروگرم mRNA برای سنتز اولین رشته cDNA با استفاده از کیت c سنتتاز شرکت فرمنتاز به کار گرفته شد. پس

از پایان واکنش سیکل آستانه CT برای هر نمونه مشخص گردید و با استفاده از روش $2^{-\Delta\Delta CT}$ سطح بیان mRNA ژن‌های مورد نظر نسبت به بیان ژن خانه دار (Gapdh) محاسبه شد.

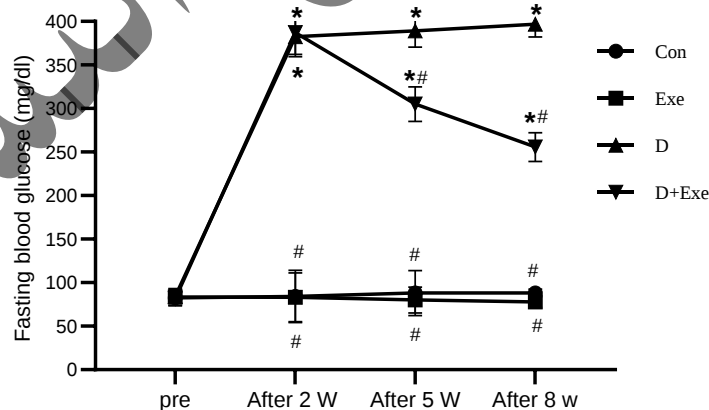
توالی ژن‌های مورد نظر و ژن خانه دار:

Gene names	Forward sequences	Reverse sequences
TGF- β 1	ATGTGCAGGATAATTGCTGCC	TGGTGTGTACAGGCTGAGG
SMAD-4	TGGTGCGTGGTGGCATACTGG	GACTCTTGTGTCCGAATTGAGCT
Gapdh	TCAGGTCATCACTATCGGCAAT	AAAGAAAGGGGTGTAAAACGCA

نتایج

گلوکز خون ناشتا

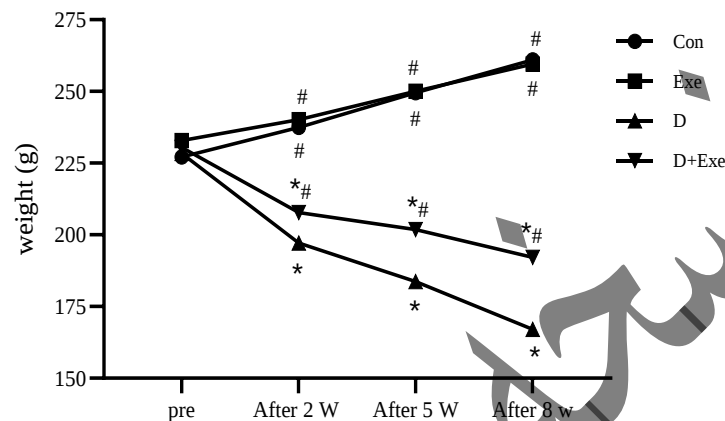
همانطور که شکل ۲ نشان می‌دهد، اختلاف معناداری بین گروه‌ها در سطوح گلوکز خون ناشتا قبل از تحریک با STZ وجود ندارد $F(3, 27)=0/2$ و $P=0/8$. القای دیابت سبب افزایش معنادار FBG در هر دو گروه دیابتی نسبت به شرایط پایه و نسبت به گروه های سالم می‌شود ($P \leq 0/001$). با اینحال، انجام ۸ هفته تمرین تناوبی در گروه دیابتی، سبب کاهش معنادار گلوکز خون ناشتا از هفته پنجم تا هشتم، نسبت به گروه دیابت کنترل می‌شود ($P \leq 0/001$). اما در اندازه گیری های مربوط به ۲ هفته بعد از القای دیابت این اختلاف وجود ندارد ($P \leq 0/05$).



شکل ۲. تغییرات گلوکز خون ناشتا در مراحل مختلف اندازه گیری. Pre: قبل از القای دیابت. After 2 W: ۲ هفته بعد از القای دیابت. After 5 W: ۵ هفته بعد از القای دیابت. After 8 W: ۸ هفته بعد از القای دیابت. Con: گروه کنترل. Exe: گروه ورزش. D: گروه دیابت. D+Exe: گروه دیابت+تمرین. #: اختلاف معنادار با Con. #: اختلاف معنادار با D.

تغییرات وزن

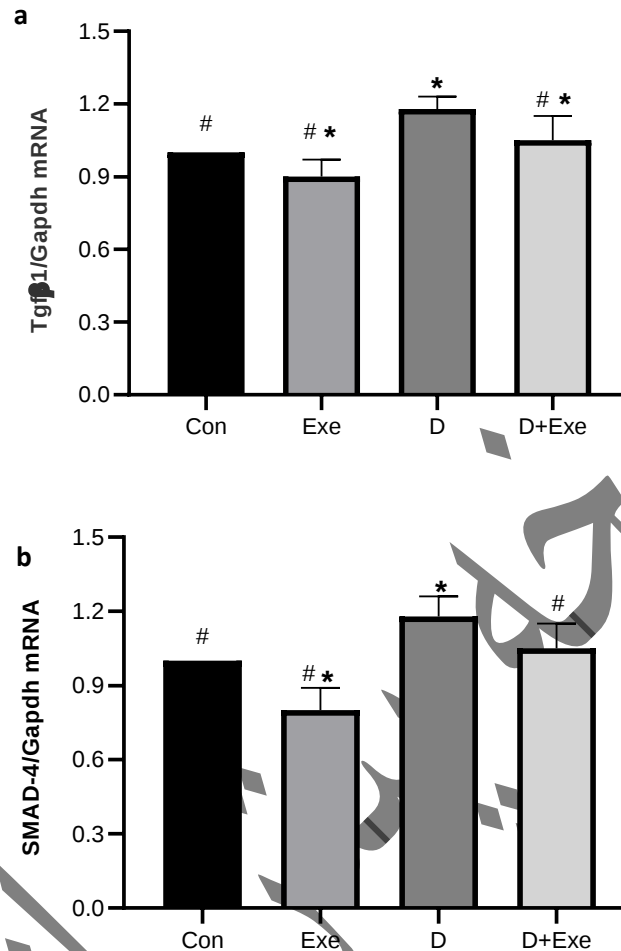
وزن کشی در زمان های مورد نظر نشان می دهد گروه های تحریک شده با STZ، در تمام مراحل اندازه گیری روند کاهشی در مقایسه با دو گروه دیگر داشتند. با اینحال از هفته دوم تا هشتم، کاهش معنادار وزن در گروه دیابت D نسبت به گروه D+Exe وجود دارد ($p \leq 0.001$)، به نحویکه در اندازه گیری هفته هشتم نسبت به هفته دوم اختلاف بین این دو گروه بیشتر می شود (شکل ۳).



شکل ۳. تغییرات وزن در مراحل مختلف اندازه گیری. Pre: قبل از القای دیابت. After 2 W: ۲ هفته بعد از القای دیابت. After 5 W: ۵ هفته بعد از القای دیابت. After 8 W: ۸ هفته بعد از القای دیابت. Con: گروه کنترل. Exe: گروه ورزش. D: گروه دیابت. D+Exe: گروه دیابت+تمرین. #: اختلاف معنادار با D. *: اختلاف معنادار با Con.

تحلیل بافتی

یافته های شکل ۴a نشان می دهد میانگین بیان ژن TGF- β 1 در گروه دیابت نسبت به سایر گروه ها به طور معناداری بالاتر است. ورزش در گروه دیابت+ورزش سبب کاهش معنادار آن نسبت به گروه کنترل دیابت می شود، اما نسبت به سایر گروه ها همچنان افزایش معنادار وجود دارد. به علاوه، کمترین میزان بیان ژن TGF- β 1 در رت های سالم که ورزش کردند (گروه EXE)، مشاهده می شود $F(3, 27) = 43.2$ و $p \leq 0.001$. همچنین، براساس نمودار ۴b، میانگین بیان ژن SMAD-4 در گروه دیابت (D) نسبت به سایر گروه ها افزایش معنادار و در گروه ورزش (Exe) نسبت به سایر گروه ها کاهش معنادار نشان می دهد $F(3, 27) = 27.4$ و $p \leq 0.001$ و $p \leq 0.05$. ورزش در گروه دیابت+ورزش سبب کاهش بیان ژن SMAD-4 نسبت به گروه دیابت کنترل (D) می شود، به طور جالب، بین گروه دیابت+ورزش و گروه کنترل (Con) اختلاف معنادار در بیان ژن SMAD-4 وجود ندارد.



شکل ۴. تغییرات بیان ژن TGF-β1 و SMAD-4 در گروه‌های مورد بررسی. Con: گروه کنترل. Exe: گروه ورزش. D: گروه دیابت. D+EXE: گروه دیابت+ورزش. *: اختلاف معنادار با Con. #: اختلاف معنادار با D.

بحث و نتیجه گیری

در مطالعه حاضر، نتایج اندازه‌گیری‌های قند خون نشان داد که یک دوره تمرینات HIIT سبب کاهش سطح گلوکز خون ناشتا در رت‌های دیابتی می‌شود. مطالعات نشان می‌دهد تمرین تناوبی با شدت بالا در کاهش مقاومت به انسولین و افزایش پروتئین GLUT4 به عنوان شاخص حساسیت به انسولین مؤثر است و منجر به کاهش FBG، ۴۸ تا ۷۲ ساعت پس از ورزش می‌شود (۱۹). افزایش قند خون در مدل‌های دیابتی سبب کاهش در قدرت انقباضی، شل‌شدگی و همچنین افزایش سفتی بطن چپ می‌شود، تعادل پویای سنتز و تخریب کلاژن در ماتریکس خارج سلولی میوکارد را مختل می‌کند و منجر به رسوب کلاژن نوع I و III می‌شود (۱۶). در پاسخ به استرس، فشار خون بالا، هایپرتروفی پاتولوژیک و آسیب میوکارد در نمونه‌های دیابتی، تخریب سلول‌های قلب و اختلال در پتانسیل عمل سلول‌های ضربان ساز آغاز می‌شود، در نتیجه کاردیومیوپاتی به عنوان یکی از مهم‌ترین عارضه‌های همراه با دیابت ایجاد می‌شود (۲۰). در واقع، هایپرگلیسمی طولانی‌مدت یکی از عوامل اصلی تشکیل ROS (گونه‌های فعال اکسیژن)، مقاومت به

انسولین و اختلال در تنظیم کلسیم سیتوپلاسمی است که سلول‌های عضله قلب را مستعد مرگ سلولی می‌کند و در نهایت منجر به تغییرات در انقباض عضلانی و نارسایی قلبی می‌شود (۹). با اینحال، تمرینات HIIT می‌تواند به عنوان یک عامل مهم در افزایش مرگ سلولی نیز عمل کند. در واقع، شدت بالای فعالیت در تمرینات HIIT، ممکن است با تضعیف سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی بدن، استرس اکسیداتیو و آسیب سلولی را افزایش دهد و سیگنال‌های کاردیومیوپاتی را تقویت کند (۲۱). این وضعیت می‌تواند ناشی از افزایش مصرف انرژی و اختلال در متابولیسم و سنتز ATP باشد، در نتیجه فسفوریلاسیون میتوکندریایی و اکسیژن‌رسانی به بافت‌ها کاهش می‌یابد و آسیب اکسیداتیو تحریک می‌شود (۲۲). بنابراین، تعیین شدت در تمرینات تناوبی با شدت بالا موضوع چالشی مهمی است که در تحقیقات دیگر نیز باید بررسی شود.

در این مطالعه القای دیابت سبب کاهش وزن نمونه‌ها نسبت به حالت پایه و همچنین نسبت به نمونه‌های سالم شد، با اینحال تمرینات HIIT در نمونه‌های دیابتی توانست کاهش وزن را تا حدی کنترل کند (شکل ۳). در این زمینه، برخی مطالعات ناشی از اختلال در متابولیسم گلوکز و افزایش تجمع بافت چربی، افزایش وزن را به دنبال القای دیابت گزارش کرده‌اند (۵، ۲۳)، با اینحال، تزریق STZ، می‌تواند با افزایش مقاومت به انسولین، گلیکونئوز و لیپولیز را تحریک کند و منجر به کاهش توده عضلانی، افزایش کاتابولیسم پروتئین و کاهش وزن شود (۲۴). افزایش گلوکوکورتیکوئیدها مانند هیدروکورتیزون و کاهش بیان نوروپپتیدهای اشتها‌آور می‌تواند در کاهش وزن بدن و مصرف غذا در رت‌های دیابتی مؤثر باشد (۲۵). اگرچه افزایش بیان TGF- β 1 با تبدیل چربی سفید به قهوه‌ای، افزایش بیوزن میتوکندریایی و بهبود اکسیداسیون اسیدهای چرب، بر نرخ متابولیسم تأثیر می‌گذارد و می‌تواند در کاهش وزن و بهبود تحمل گلوکز در مدل‌های دیابتی مؤثر باشد (۲۶)، با اینحال، پان^۱ و همکاران (۲۰۲۳)، نشان دادند بیش تنظیمی بیان این فاکتور با اختلال در متابولیسم انرژی و کاهش وزن همراه است. در واقع افزایش بیان TGF- β 1 با افزایش التهاب در هیپوتالاموس، سبب اختلال در بیان فاکتورهای تنظیم کننده اشتها مانند لپتین می‌شود و از این طریق در رفتار خوردن اختلال ایجاد می‌کند. TGF- β 1 همچنین می‌تواند با تحریک NF- κ B مسیر سیگنالینگ آپوپتوز و آتروفی عضلانی را تقویت کند (۲۷). در این میان، روش‌های درمانی و کمک درمانی مانند ورزش می‌توانند مسیرهای سنتز پروتئین را بهبود بخشند و به‌طور بالقوه کاهش وزن را در نمونه‌های دیابتی مهار کنند. به نظر می‌رسد افزایش حساسیت به انسولین، کاهش کاتابولیسم پروتئین و بهبود سیستم دفاعی بدن و مهار پاسخ‌های التهابی، در بازیابی وزن رت‌های دیابتی به دنبال ورزش مؤثر باشد (۱۶).

در این مطالعه، شاخص‌های کلیدی در فعال‌سازی فیبروبلاست‌ها و رسوب ECM در میوکارد رت‌های تحریک شده با STZ از طریق بیان TGF- β 1 و واسطه حیاتی آن در سیگنال دهی آپوپتیک، SMAD-4، بررسی شد. افزایش فعالیت مسیرهای پیش‌فیبروتیک از جمله آبخار TGF- β 1/SMAD-4 در قلب رت‌های دیابتی (شکل ۴)، می‌تواند ناشی از سطوح بالای گلوکز باشد که به نوبه خود موجب تکثیر و تمایز فیبروبلاست‌های قلبی به میوفیبروبلاست‌ها و در نتیجه سنتز کلاژن و سایر پروتئین‌های ECM شود (۲۸)، به طوری که سلول‌های اندوتلیال به فیبروبلاست‌ها تبدیل شده و فیبروز را تحریک می‌کنند (۲۹، ۳۰). تشکیل کمپلکس SMAD-4 با ایزوفرم‌های SMAD2 و SMAD3 سبب سفریله شدن این پروتئین می‌شود که پس از اتصال به TGF- β 1 سبب رونویسی از ژن‌های مرتبط با فیبروز از جمله کلاژن و فیبرونکتین می‌شود. به طوری که مهار SMAD-4 در

مدل‌های دیابتی موجب کاهش فیبروز شده که نشان‌دهنده اهمیت آن در مسیر آپوپتوز است (۳۱). وانگ و همکاران (۲۰۱۹) نشان دادند تمرینات طولانی با شدت متوسط، با کاهش فسفوریلاسیون ایزوفرم های SMAD، افزایش ظرفیت آنتی اکسیدانی و تحریک فاکتورهای مؤثر در بقای نورونی و عملکرد میتوکندریایی، با کاهش بیان $TGF-\beta 1$ در کنترل مسیرهای محرک آپوپتوز و فیبروز اثرگذار است (۳۲). کاهش فعالسازی مسیر سیگنالینگ $TGF-B1/SMAD$ در کلیه رت‌های دیابتی ناشی از تمرینات HIIT نیز قبلاً گزارش شده است (۱۱). همچنین، ژانگ و همکاران (۲۰۲۰)، در بررسی تمرینات HIIT در کبد رت‌های دیابتی نشان دادند که این نوع تمرینات، فسفوریلاسیون SMAD-4 را از طریق فعالسازی SMAD7 مهار می‌کند و با کاهش فاکتورهای اکسیدانی در بهبود عوارض ناشی از هپاتوپاتی مؤثر است (۳۳). با اینحال، تنظیم شدت و مدت تمرینات، همچنین شدت ابتلا به بیماری و زمان شروع به فعالیت ورزشی پس از ابتلا از عوامل مهم اثرگذار در نتایج حاصل هستند. یزدانی و همکاران (۲۰۲۰)، نشان دادند تمرینات تناوبی با شدت ۵۰ تا ۶۰ درصد $Vo2max$ در کاهش سیگنال‌های فیبروتیک قلبی و کنترل گلوکز خون مؤثرتر از تمرینات تناوبی با شدت بالا (۹۰ تا ۹۵ درصد $Vo2max$) است (۳۴). SMAD-4 به طور قابل توجه، دریافت رژیم غذایی پرچرب در کنار تحریک با STZ عامل مهمی است که می‌تواند روی نتایج حاصل از ایجاد مدل دیابتی در نمونه‌های حیوانی اثرگذار باشد. همچنین، ارزیابی‌های انجام شده در این مطالعه در سطح mRNA می‌باشد، مطالعات بعدی برای ارزیابی سایر فاکتورهای مؤثر در مسیر فیبروز، تعیین بیان سطوح پروتئین و همچنین تحلیل‌های بیوشیمیایی روی بافت می‌تواند اطلاعات دقیق‌تری را فراهم کند، از این رو تعمیم این یافته‌ها به مدل‌های انسانی نیازمند تحقیقات بیشتر برای تأیید اثربخشی و ایمنی در بیماران دیابتی است. با اینحال، در مطالعه حاضر تمرینات HIIT پتانسیل امیدوارکننده‌ای در تعدیل مسیر $TGF-\beta 1/SMAD-4$ در بافت قلب و تنظیم گلوکز خون و وزن نمونه‌های دیابتی را نشان می‌دهد و انتظار می‌رود بهبود عملکرد قلبی و کاهش عوارض ناشی از کاردیومیوپاتی حاصل شود.

ملاحظات اخلاقی

کلیه روش‌های آزمایشی مطابق با دستورالعمل‌های ملی مراقبت از حیوانات آزمایشگاهی و کمیته اخلاق دانشگاه اصفهان (IR.UI.REC.1403.038) انجام شد.

منابع

1. Classification and Diagnosis of Diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes-2020. Diabetes care. 2020;43(Suppl 1):S14-s31.
2. Yoo J, Hwang J, Choi J, Ramalingam M, Jeong H, Jang S, et al. The effects of resistance training on cardiovascular factors and anti-inflammation in diabetic rats. Heliyon. 2024;10(17):e37081.
3. Jia G, Hill MA, Sowers JR. Diabetic cardiomyopathy: an update of mechanisms contributing to this clinical entity. Circulation research. 2018;122(4):624-38.

¹ Wang

² Zhang

³ Yazdani

4. Davarpanah M, Shokri-mashhadi N, Ziaei R, Saneei P. A systematic review and meta-analysis of association between brain-derived neurotrophic factor and type 2 diabetes and glycemic profile. *Scientific Reports*. 2021;11(1):13773.
5. Batrakoulis A, Jamurtas AZ, Metsios GS, Perivoliotis K, Liguori G, Feito Y, et al. Comparative Efficacy of 5 Exercise Types on Cardiometabolic Health in Overweight and Obese Adults: A Systematic Review and Network Meta-Analysis of 81 Randomized Controlled Trials. *Circulation Cardiovascular quality and outcomes*. 2022;15(6):e008243.
6. Ikeuchi M, Tsutsui H, Shiomi T, Matsusaka H, Matsushima S, Wen J, et al. Inhibition of TGF- β signaling exacerbates early cardiac dysfunction but prevents late remodeling after infarction. *Cardiovascular research*. 2004;64(3):30-36.
7. Wang L, Wang H-L, Liu T-T, Lan H-Y. TGF-beta as a master regulator of diabetic nephropathy. *International journal of molecular sciences*. 2021;22(15):7881.
8. Heydarpour F, Sajadimajd S, Mirzarazi E, Haratipour P, Joshi T, Farzaei MH, et al. Involvement of TGF- β and Autophagy Pathways in Pathogenesis of Diabetes: A Comprehensive Review on Biological and Pharmacological Insights. *Frontiers in pharmacology*. 2020;11:498758.
9. Chengji W, Xianjin F. Exercise protects against diabetic cardiomyopathy by the inhibition of the endoplasmic reticulum stress pathway in rats. *Journal of cellular physiology*. 2019;234(2):1682-8.
10. Li Q, Sun S-z, Wang Y, Tian Y-j, Liu M-h. The roles of MMP-2/TIMP-2 in extracellular matrix remodelling in the hearts of STZ-induced diabetic rats. *Acta Cardiol*. 2007;62(5):485-91.
11. Faramarziyan N, Salesi M, Rezaei R, Kooshki Jahromi M. Effects of Six Weeks High-Intensity Interval Training on TGF-b1 and SMAD7 Genes Expression in the Kidney Tissue of Elderly Diabetic Male Wistar Rats. *The Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences*. 2023;30(12):6185-98.
12. Yang CR, Liang R, Liu Y, Meng FJ, Zhou F, Zhang XY, et al. Upregulation of proBDNF/p75NTR signaling in immune cells and its correlation with inflammatory markers in patients with major depression. *FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*. 2024;38(1):e23312.
13. Høydal MA, Wisløff U, Kemi OJ, Ellingsen O. Running speed and maximal oxygen uptake in rats and mice: practical implications for exercise training. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil*. 2007;14(6):753-60.
14. Brito AdF, Silva AS, de Oliveira CVC, de Souza AA, Ferreira PB, de Souza ILL, et al. Spirulina platensis prevents oxidative stress and inflammation promoted by strength training in rats: dose-response relation study. *Scientific Reports*. 2020;10(1):6382.
15. Alkhubayri S, Sajini R, Alharbi B, Qabbani J, Al-Hindi Y, Fairaq A, et al. Investigating the beneficial effect of aliskiren in attenuating neuropathic pain in diabetic Sprague-Dawley rats. *Endocrinology, Diabetes & Metabolism*. 2021;4(2):e00209.
16. Rami M, Rahdar S, Ahmadi Hekmatikar A, Awang Daud DM. Highlighting the novel effects of high-intensity interval training on some histopathological and molecular indices in the heart of type 2 diabetic rats. *Frontiers in endocrinology*. 2023;14:1175585.
17. Thomas C, Bishop D, Moore-Morris T, Mercier J. Effects of high-intensity training on MCT1, MCT4, and NBC expressions in rat skeletal muscles: influence of chronic metabolic alkalosis. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2007;293(4):E916-22.
18. Takamatsu Y, Inoue T, Nishio T, Soma K, Kondo Y, Mishima T, et al. Potential effect of physical exercise on the downregulation of BDNF mRNA expression in rat hippocampus following intracerebral hemorrhage. *Neuroscience Letters*. 2024;824:137670.

19. Adams OP. The impact of brief high-intensity exercise on blood glucose levels. *Diabetes, metabolic syndrome and obesity : targets and therapy*. 2013;6:113-22.
20. Marchini GS, Cestari IN, Salemi VMC, Irigoyen MC, Arnold A, Kakoi A, et al. Early changes in myocyte contractility and cardiac function in streptozotocin-induced type 1 diabetes in rats. *PloS one*. 2020;15(8):e0237305.
21. Novoa U, Arauna D, Moran M, Nuñez M, Zagmutt S, Saldivia S, et al. High-Intensity Exercise Reduces Cardiac Fibrosis and Hypertrophy but Does Not Restore the Nitroso-Redox Imbalance in Diabetic Cardiomyopathy. *Oxidative medicine and cellular longevity*. 2017;20
22. Askari R, Azarniveh MS, Haghighi AH, Shahrabadi H, Gentil P. High-intensity interval training, but not Spirulina supplementation, changes muscle regeneration signaling proteins in aged rats with obesity and diabetes. *European journal of translational myology*. 2024;34.(4)
23. Azarniveh Ms, Askari R, Haghighi A. The Effect of Eight Weeks of High-Intensity Interval Exercise with Spirulina Supplementation on Weight Changes and Glycemic Indices in Obese Elderly Diabetic Rats. *Razi Journal of Medical Sciences*. 2022;29(1):10-22.
24. Al-Achi A, Greenwood R. A brief report on some physiological parameters of streptozocin-diabetic rat. *Drug development and industrial pharmacy*. 2001;27(5):465-8.
25. Salama N, M. T, M. T, and Kagawa S. TRANSFORMING GROWTH FACTOR (β 1) IN TESTES OF AGED AND DIABETIC RATS: CORRELATION WITH TESTICULAR FUNCTION. *Archives of Andrology*. 2001;47(3):217-26.
26. Tan CK, Chong HC, Tan EH, Tan NS. Getting 'Smad' about obesity and diabetes. *Nutrition & diabetes*. 2012;2(3):e29.
27. Pan Q, Ai W, Chen Y, Kim DM, Shen Z, Yang W, et al. Reciprocal Regulation of Hepatic TGF- β 1 and Foxo1 Controls Gluconeogenesis and Energy Expenditure. *Diabetes*. 2023;72(9):1193-206.
28. Tuleta I, Hanna A, Humeres C, Aguilan JT, Sidoli S, Zhu F, et al. Fibroblast-specific TGF- β signaling mediates cardiac dysfunction, fibrosis, and hypertrophy in obese diabetic mice. *Cardiovascular research*. 2024;120(16):2047-63.
29. Tian J, Zhang M, Suo M, Liu D, Wang X, Liu M, et al. Dapagliflozin alleviates cardiac fibrosis through suppressing EndMT and fibroblast activation via AMPK α /TGF- β /Smad signalling in type 2 diabetic rats. *Journal of cellular and molecular medicine*. 2021;25(16):7642-59.
30. Zhang P, Wang F, Song J, Su F, Liu Y. Fasudil attenuates myocardial fibrosis in rats with diabetes mellitus via TGF- β 1/Smad signaling pathway. *Cellular and molecular biology (Noisy-le-Grand, France)*. 2023;69(10):233-8.
31. Dong L, Li JC, Hu ZJ, Huang XR, Wang L, Wang HL, et al. Deletion of Smad3 protects against diabetic myocardiopathy in db/db mice. *Journal of cellular and molecular medicine*. 2021;25(10):4860-9.
32. Wang SQ, Li D, Yuan Y. Long-term moderate intensity exercise alleviates myocardial fibrosis in type 2 diabetic rats via inhibitions of oxidative stress and TGF- β /Smad pathway. *The journal of physiological sciences : JPS*. 2019;69(6):861-73.
33. Zhang Q, Shen F, Shen W, Xia J, Wang J, Zhao Y, et al. High-Intensity Interval Training Attenuates Ketogenic Diet-Induced Liver Fibrosis in Type 2 Diabetic Mice by Ameliorating TGF- β 1/Smad Signaling. *Diabetes, metabolic syndrome and obesity : targets and therapy*. 2020;13:4209-19.
34. Yazdani F, Shahidi F, Karimi P. The effect of 8 weeks of high-intensity interval training and moderate-intensity continuous training on cardiac angiogenesis factor in diabetic male rats. *Journal of physiology and biochemistry*. 2020;76(2):291-9.