

The effects of high-intensity interval training on TGF- β and HSP72 gene expression in kidney tissue and selective renal serum biomarkers of type-II diabetic rats

Mostafa Baranchi, Hamid Agha-alinejad*

Department of Exercise Physiology, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

* Corresponding author e-mail: halinejad@modares.ac.ir

Citation: Baranchi M, Agha-alinejad H. The effects of high-intensity interval training on TGF- β and HSP72 gene expression in kidney tissue and selective renal serum biomarkers of type-II diabetic rats. *Daneshvar Medicine* 2021; 29(4):42-54.
doi: 10.22070/DANESHMED.2021.14798.1100

Abstract

Background and Objective: Diabetic Kidney Disease (DKD) is one of the most significant complication of diabetes. Heat Shock Protein 72 (HSP72) and Transforming Growth Factor beta (TGF- β) are regarded as biomarkers for renoprotective strategies. High-intensity interval training (HIIT) may have beneficial effect on diabetes management. The purpose of the present study was to investigate the effects of HIIT on kidney expression of HSP72 and TGF- β in type-II diabetic (T2D) rats.

Materials and Methods: 21 rats were randomly divided into three groups as follows: control (Con), diabetic (Dibt), diabetic HIIT (Dibt-HIIT). Nicotinamide and streptozotocin were used intraperitoneally for diabetes induction. The Dibt-HIIT received four-week HIIT training. 24 hours following the last training session, all animals were anesthetized. Blood samples were collected for measuring the glucose, insulin, creatinine, urea and uric acid concentrations. The left kidney was removed and homogenized for measuring of HSP72 and TGF- β gene expression (through Real-Time PCR).

Results: Diabetes significantly increased gene expression of TGF- β and suppressed HSP-72 gene expression. Compared to Dibt group, HIIT decreased plasma glucose level but these changes were not significant. However, HIIT improved HOMA-IR ($p=0.03$). Creatinine change was not significant but Uric acid decreased in Dibt-HIIT group significantly ($p=0.02$). Also, HIIT reduced kidney expression of TGF- β and increased HSP72 expression in Dibt-HIIT group ($p=0.001$).

Conclusion: Our findings indicated that HIIT, as a non-pharmacologic approach, may have protective effect on kidney of rats with T2D.

Keywords: High-intensity interval training, Type-II diabetes, Kidney, HSP72, TGF β

Received: 02 July 2021
Last revised: 03 Oct 2021
Accepted: 12 Oct 2021

اثر تمرین تناوبی شدید بر بیان ژنهای HSP-72 و $TGF-\beta$ بافت کلیه و برخی نشانگرهای سرمی کلیه در موش‌های صحرایی دیابتی نوع II

نویسندگان: مصطفی بارانچی، حمید آقاعلی نژاد*

گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشکده علوم انسانی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

Email: halinejad@modares.ac.ir

*نویسنده مسئول: حمید آقاعلی نژاد

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه و هدف: بیماری کلیه دیابتی (DKD) یکی از اختلالات بسیار مهم دیابت است. پروتئین شوک گرمایی ۷۲ (HSP72) و فاکتور رشد تغییردهنده بتا ($TGF\beta$) به عنوان نشانگرهای راهبردی در حفاظت کلیه مورد توجه می‌باشند. تمرین تناوبی شدید (HIIT) نیز اثرات مثبتی بر مدیریت دیابت دارد. هدف از مطالعه حاضر، بررسی اثر HIIT بر بیان ژنهای HSP72 و $TGF\beta$ در بافت کلیه موش‌های صحرایی دیابتی نوع ۲ بود.

مواد و روش‌ها: بیست و یک سر موش صحرایی به‌طور تصادفی در سه گروه (۷=تعداد) تقسیم شدند: کنترل، دیابت و دیابت+HIIT. القای دیابت نوع ۲ با تزریق درون صفاقی نیکوتین آمید و استرپتوزوسین انجام شد. گروه دیابت+HIIT چهار هفته برنامه ورزشی داشتند. بیست و چهار ساعت پس از آخرین جلسه تمرین، همه حیوانات تشریح شدند. نمونه‌های خونی برای سنجش سطح گلوکز، انسولین، کراتینین، اوره و اسید اوریک پلاسما جمع شد. کلیه چپ جدا و هموژنایز شد و بیان ژنهای مذکور با استفاده از Real-time PCR صورت گرفت.

نتایج: دیابت به‌طور معنی‌داری بیان ژن $TGF\beta$ را افزایش و بیان HSP72 را کاهش داد. در مقایسه با گروه دیابت، HIIT سطح گلوکز پلاسما را اندکی کاهش داد که معنی‌دار نبود؛ با این حال، HIIT شاخص مقاومت به انسولین را بهبود داد ($p=0/03$). تغییرات کراتینین معنی‌دار نبود اما اسید اوریک در گروه دیابت+HIIT کاهش معنی‌داری داشت ($p=0/02$). همچنین، HIIT بیان ژن $TGF\beta$ را کاهش و HSP72 را افزایش داد ($p=0/001$).

نتیجه‌گیری: یافته‌های ما نشان داد HIIT به‌عنوان روش مداخله غیردارویی، احتمالاً اثرات محافظتی بر کلیه موش‌های صحرایی دیابتی نوع ۲ دارد.

واژه‌های کلیدی: تمرین تناوبی شدید، دیابت نوع ۲، کلیه، HSP72، $TGF\beta$

دریافت: ۱۴۰۰/۰۴/۲۱

آخرین اصلاح‌ها: ۱۴۰۰/۰۷/۱۱

پذیرش: ۱۴۰۰/۰۷/۲۰

مقدمه

تمرین تناوبی شدید (HIIT^۵) روش نوین و مدل بهینه‌سازی شده مدت تمرین است که از وهله‌های کوتاه فعالیت شدید تشکیل شده است که با فاصله‌های تناوبی بین آن‌ها به صورت استراحت یا فعالیت کم شدت مجزا می‌شود (۱۳). HIIT نسبت به مدل‌های سنتی تمرین در کنترل دیابت موثرتر است (۱۴، ۱۵).

نظر به تاثیر HIIT بر دیابت، پژوهش حاضر با فرضیه تاثیر این مدل ورزشی بر بیان ژن‌های HSP72 و TGFβ بافت کلیه و نشان‌گرهای سرمی کلیه موش‌های صحرایی مبتلا به دیابت نوع ۲ طراحی و اجرا شد.

مواد و روش‌ها

این مطالعه پژوهشی در دانشگاه تربیت مدرس و با تایید کمیته اخلاق در پژوهش حیوانات این دانشگاه (IR.MODARES.REC.1398.122) طبق اصول معاهده هلسینکی صورت پذیرفت. بیست و یک سر موش صحرایی نر بالغ نژاد اسپراگ-داولی^۶ سن ۱۲ هفته (میانگین وزنی ۳۱۸،۳۳±۲۲،۷۰ گرم) از موسسه سرم و واکسن‌سازی رازی خریداری شدند و در این پژوهش شرکت کردند. موش‌های صحرایی در قفسه‌های پلی-کربنات در دمای ۳±۲۲°C، رطوبت ۴۵-۵۵ درصد و چرخه تاریکی-روشنی ۱۲:۱۲ ساعت با دسترسی آزاد به آب و غذای استاندارد موش صحرایی نگهداری شدند. در ابتدا یک هفته حیوانات با محیط آزمایشگاه و تردمیل آشنا شدند. سپس آزمودنی‌ها به طور تصادفی به سه گروه تقسیم شدند (تعداد=۷): کنترل سالم (بدون هیچ مداخله)، کنترل دیابت (صرفاً القای دیابت) و دیابت+تمرین (القای دیابت و مداخله تمرینی).

القای دیابت

برای القای دیابت نوع ۲، تزریق درون صفاقی (IP^۷) نیکوتین‌آمید و استریپتوزوتوسین (NA-STZ^۸) پس از ۱۲ ساعت ناشتایی شبانه انجام شد (۱۶). NA و STZ از کمپانی سیگما آلدریچ آلمان خریداری شدند. به خوبی

بیماری کلیه دیابتی (DKD^۱) به عنوان یکی از مهم‌ترین عوارض دیابت، در ۴۰-۲۰ درصد جمعیت دیابتی مشاهده می‌شود (۱). برآورد شده است که شیوع جهانی DKD ۸ تا ۱۶ درصد است که سالانه رو به افزایش می‌باشد (۲). پروتئین‌های شوک گرمایی (HSPs^۲) از طریق حفظ هومئوستاز پروتئینی، کاهش آسیب و افزایش بازتولید، نقش اصلی در حفاظت سلولی را بر عهده دارند. عملکرد HSPs به ویژه در شرایط پاتولوژیکی نظیر دیابت و عوارض وابسته بسیار برجسته است (۳). کلیه دیابتی بار متابولیکی بالایی دارد و از این روی نیاز به افزایش حفاظت HSPs دارد (۴). اختلال HSPs در پیشامدهای ناشی از بیماری نظیر نفروپاتی دخیل است (۵). HSPA1A یا HSP72 بیومارکر مولکولی اولیه و حساس در آسیب حاد کلیوی می‌باشد (۶).

فاکتور رشد تغییردهنده بتا (TGFβ^۳) به عنوان سیتوکین پروفیبروتیک توسط سلول‌های مختلف کلیوی تولید می‌شود. برخی مطالعات نقش مهم TGFβ را در مرحله اولیه و نهایی DKD نشان داده‌اند (۷). فعال‌سازی smad2/3 (پروتئین‌های فعال‌شده در کلیه فیبروتیک) به وسیله TGF-β در انتقال اپی‌تلیال-مزانشیمی (EMT^۴) و گسترش فیبروز گلوبولار و بینابینی در DKD دخیل است (۸). مطالعات *in vivo* نقش تمرین ورزشی در پیشگیری از پیشرفت DKD با تنظیم TGFβ ناشی از EMT را بیان کرده‌اند (۹). همچنین، درمان حیوانات دیابتی توسط آنتی‌بادی ضد TGFβ یا کاهش بیان TGFβ، نشان دهنده کمتر شدن توسعه گلوبولواسکلروزیس و تا حدودی معکوس شدن روند گسترش مزانژیوم می‌باشد (۱۰-۱۱). مسیرهای سیگنالینگ TGFβ می‌تواند به وسیله HSP72 تنظیم شود (۵).

تمرین ورزشی منظم به عنوان مداخله‌ی غیردارویی و غیرتهاجمی ایمن در مدیریت دیابت و جنبه‌های مختلف عوارض وابسته به آن نظیر DKD نقش موثری دارد (۱۲).

5. High-intensity interval training
6. Sprague-Dawley
7. Intraperitoneal
8. Nicotinamide-Streptozotocin

1. Diabetic kidney disease
2. Heat shock proteins
3. Transforming growth factor-β
4. Epithelial-mesenchymal transition

(Vo_2max) برای تعیین شدت تمرین مشخص شود. آزمون پس از سه دقیقه گرم کردن با سرعت ۵ متر/دقیقه و شیب صفر آغاز می‌شود و سپس هر دو دقیقه سرعت ۴ متر/دقیقه افزایش می‌یابد تا جایی که حیوان قادر به ادامه دویدن نباشد (نشانه واماندگی سه بار ایستادن و افتادن از سرعت تردمیل است). آزمون با ۳ دقیقه سرد کردن با همان سرعت اولیه پایان می‌یابد. سرعت بیشینه‌ای که موش‌های صحرائی در آن وامانده می‌شوند از طریق این آزمون مشخص و شدت تمرین بر اساس درصدی از آن محاسبه می‌شود. در هفته اول، پروتکل HIIT با ۴ وهله تکرار با شدت بالا (۸۰ درصد Vo_2max) آغاز شد که با ۳ وهله تناوب کم شدت (۳۰ درصد Vo_2max) مجزا می‌شوند. بر اساس اصل اضافه بار، در هفته‌های دوم تا چهارم بر شدت یا تعداد تکرارها افزوده شد (مطابق جدول ۱). گروه کنترل سالم و دیابت، هیچ فعالیت ورزشی نداشتند.

مشخص شده است که STZ موجب تخریب سلول‌های بتای پانکراس شده درحالی‌که NA تا حدودی از این سلول‌ها در برابر STZ حفاظت می‌کند؛ لذا برای القای دیابت نوع ۲ ابتدا تزریق NA و سپس STZ اجرا می‌شود (17). بنابراین به صورت IP تزریق NA (۱۲۰ میلی‌گرم/کیلوگرم وزن بدن حل شده در نرمال سالین) و ۱۵ دقیقه بعد STZ (۶۰ میلی‌گرم/کیلوگرم حل شده در بافر ۰/۱ مول/لیتر سدیم سیترات سرد $pH=4/5$) انجام شد (۱۸). گروه کنترل سالم به همان میزان، تنها بافر سیترات دریافت کردند. تایید القای دیابت پس از سه روز توسط تست قندخون با خون‌گیری از دم موش‌های صحرائی انجام شد. حیوان‌های با سطح قندخون بالاتر از ۱۲۶ میلی‌گرم/دسی‌لیتر یا ۷ میلی‌مول/لیتر به عنوان دیابتی در این مطالعه استفاده شدند (۱۹).

پروتکل تمرین ورزشی

چهار روز پیش از القای دیابت، گروه تمرین دیابتی آزمون بیشینه ورزشی را اجرا کردند تا حداکثر اکسیژن مصرفی

جدول ۱. پروتکل تمرین تناوبی شدید (HIIT)

سرد کردن	بدنه اصلی تمرین		گرم کردن	هفته‌ها	متغیرها
	تناوب کم شدت	شدت بالا			
۳	۲	۲	۳	ثابت	زمان (دقیقه)
۳۰	۳۰	۸۰	۳۰	هفته اول	شدت ($\%Vo_2max$)
۳۰	۳۰	۸۵	۳۰	هفته دوم	
۳۰	۳۰	۸۵	۳۰	هفته سوم	
۳۰	۳۰	۹۰	۳۰	هفته چهارم	
۱	۳	۴	۱	هفته اول	تکرار
۱	۳	۴	۱	هفته دوم	
۱	۴	۵	۱	هفته سوم	
۱	۴	۵	۱	هفته چهارم	

بودند، وزن‌کشی و سپس آماده تشریح شدند. بدین منظور، تزریق IP کتامین و زایلازین (به ترتیب ۹۰ و ۱۰ میلی‌گرم/کیلوگرم وزن بدن) انجام و سپس خون‌گیری مستقیم از قلب انجام شد. همچنین، بافت کلیه بلافاصله پس از جداسازی وزن‌کشی شد. همه بافت‌ها در نیتروژن مایع نگهداری شدند و سپس به فریزر $-80^{\circ}C$ آزمایشگاه مولکولی گروه ژنتیک دانشگاه تربیت مدرس منتقل شدند.

روش HIIT مبتنی بر وهله‌های متناوبی از تمرین با شدت بالا و شدت پایین است. بر اساس اصل اضافه بار، طی هفته‌های اول تا چهارم، شدت یا تعداد تکرارها افزایش یافت تا تاثیر محرک تمرینی تداوم داشته باشد.

جمع‌آوری نمونه و آنالیز متغیرهای بیوشیمیایی

پس از ۴ هفته مداخله تمرینی و ۲۴ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین، همه موش‌های صحرائی که ۱۲ ساعت ناشتا

آزمون لیون برای بررسی تجانس واریانس‌ها استفاده شد. همچنین به منظور تجزیه و تحلیل داده‌های بدست آمده، از آزمون آماری تحلیل واریانس یک طرفه به منظور مقایسه گروه‌ها و در صورت نیاز از آزمون تعقیبی LSD استفاده شد. اگر شرایط توزیع نرمال داده‌ها برقرار نبود از معادل ناپارامتریک یعنی آزمون کروسکال والیس استفاده شد. همچنین همبستگی بین متغیرها با استفاده از ضریب همبستگی پیرسون سنجش شد. سطح معنی‌داری آزمون‌ها ($p \leq 0.05$) تعیین شد. کلیه محاسبات آماری توسط نرم افزار SPSS نسخه ۲۱ انجام شد. رسم نمودارها توسط نرم افزار Prism نسخه ۸ صورت گرفت.

نتایج

اثرات دیابت تجربی

القای دیابت موجب کاهش وزن بدن موش‌های صحرایی شد ($P=0.001$ ، شکل ۱). همچنین، نسبت وزن کلیه به وزن بدن (KW/BW) به‌طور معنی‌داری افزایش داشت ($P=0.01$ ، شکل ۱). سطح گلوکز خون افزایش و سطح انسولین کاهش معنی‌داری داشتند ($P=0.001$ ، شکل ۲). همچنین، سطح سرمی اوره در گروه‌های تجربی افزایش داشت ($P=0.001$ ، شکل ۲).

به‌منظور جداسازی سرم، نمونه‌های خونی با دور RPM^۱ ۳۰۰۰، در دمای ۱۵°C و به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شدند. متغیرهای بیوشیمیایی با روش‌های متداول اندازه‌گیری شدند: غلظت گلوکز با روش آنزیماتیک (کیت پارس آزمون)؛ سطوح انسولین با کیت الایزا بسیار حساس موش صحرایی (MercoDIA سوئد)؛ و غلظت کراتینین، اوره و اسید اوریک با اتوآنالایزر شیمیایی Roche مطابق شیوه‌های مربوط اندازه‌گیری شدند.

تجزیه و تحلیل بیان ژن

بیان mRNA بافت کلیه برای ژن‌های HSP72، TGFβ و ACTB (ژن کنترل داخلی) با استفاده از روش RT-PCR آنالیز شد. هم‌ژن‌های حدود ۱۰۰ میلی‌گرم از بافت به‌صورت دستی با ترایزول (Invitrogen) انجام شد (۱۹). cDNA با استفاده از کیت مربوط (Fermentas کانادا) ساخته شد. پرایمرهای اختصاصی ژن‌ها، توسط نرم افزار AlleleID7 بیوسافت طراحی شد و در شرکت سیناکلون سنتز شد. کیت سایبرگرین BioFACT برای تکثیر ژن مورد نظر با روش PCR گذاشته شد. سپس، بیان mRNA ژن‌های مربوط توسط RT-PCR اندازه‌گیری شد (Biosystems StepOne). شرایط RT-PCR برای هر سه ژن یکسان و عبارت بود از: تقلیب^۲ اولیه در دمای ۹۵°C به مدت ۱۵ دقیقه، سپس تقلیب ۹۵°C به مدت ۱۵ ثانیه، واکنش اتصال^۳ در دمای ۶۰°C به مدت ۲۵ ثانیه و سپس افزایش طول^۴ در ۷۲°C به مدت ۳۰ ثانیه و در ادامه ۹۵°C به مدت ۱۵ ثانیه و در نهایت ۶۰°C به مدت ۱۵ ثانیه. به‌منظور کمی‌سازی مقادیر بیان ژن از فرمول $2^{-\Delta\Delta Ct}$ (۲) به توان منفی ($\Delta\Delta Ct$) استفاده شد (۲۱).

تجزیه و تحلیل آماری

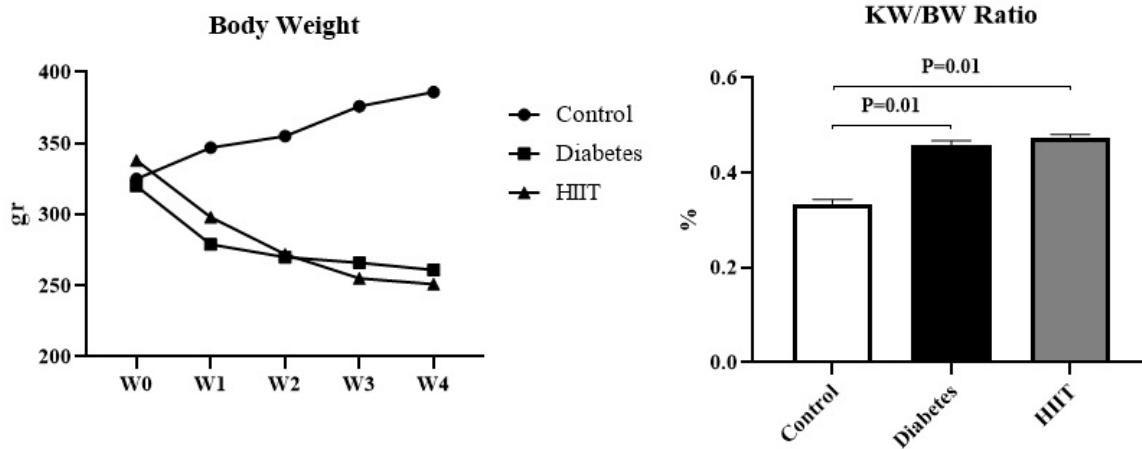
پس از بدست آمدن داده‌ها در هر گروه، با استفاده از آمار توصیفی میانگین و انحراف استاندارد هر یک از متغیرها مجزا گزارش شد. سپس جهت عملیات آمار استنباطی، ابتدا طبیعی بودن توزیع داده‌ها با استفاده از آزمون کولموگروف-اسمیرنوف مشخص شد. در صورت تایید از

¹ revolutions per minute

² Denaturation

³ Annealing

⁴ Elongation



شکل ۱. وزن بدن (BW) و نسبت وزن کلیه به وزن بدن (KW/BW) در گروه‌های کنترل، دیابت و دیابت+HIIT. در صورت داشتن تفاوت معنی‌دار بین گروه‌ها، مقدار P مشخص شده است.

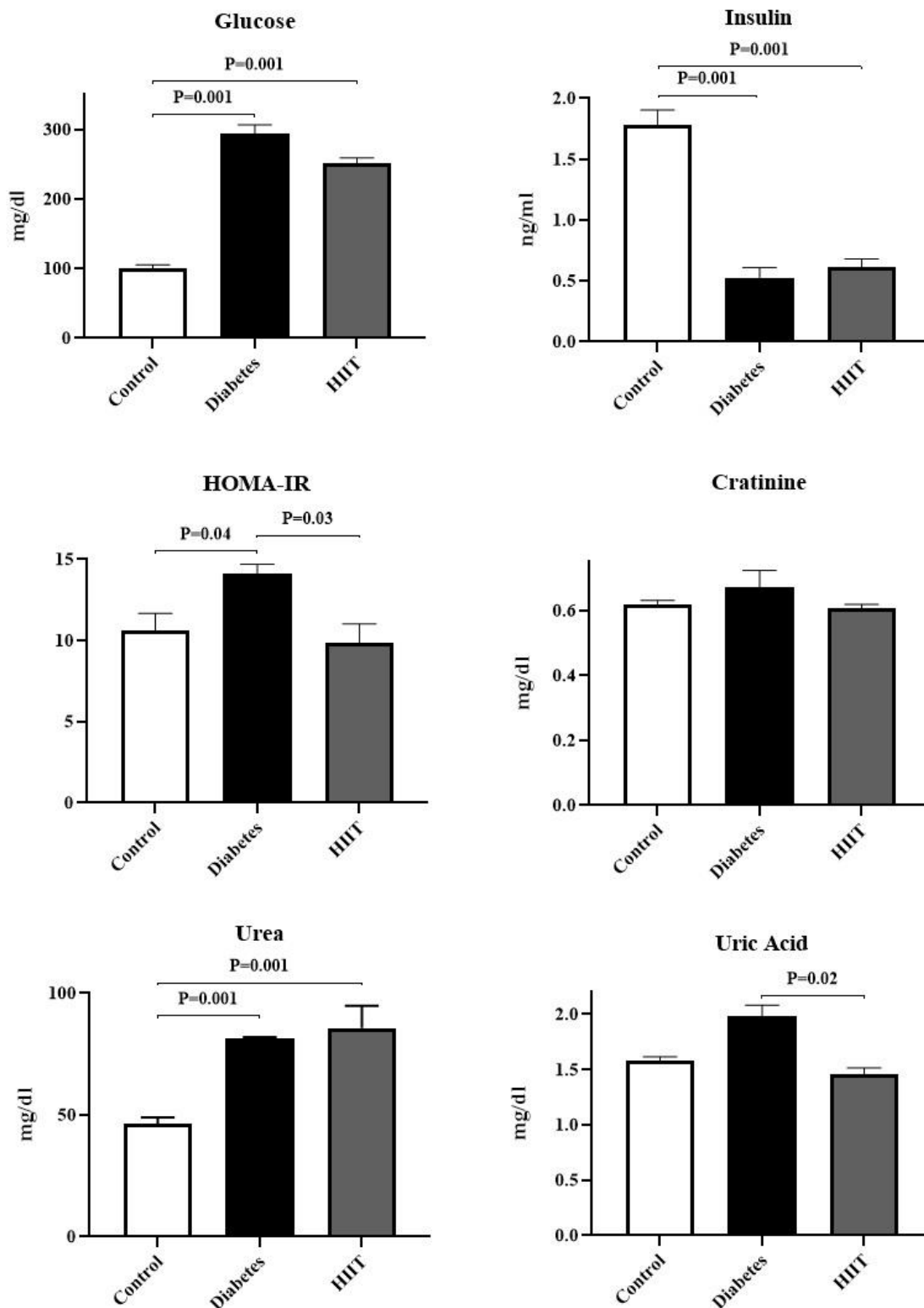
HIIT در مقایسه با گروه دیابت کاهش معنی‌داری داشت ($P=0/03$). همچنین، HIIT به‌طور معنی‌داری سطح اسید اوریک در گروه دیابت را کاهش داد ($P=0/02$ ، شکل ۲). از طرفی، ۴ هفته HIIT هیچ تاثیری بر سطح اوره و کراتینین نداشت ($P>0/05$ ، شکل ۲).

تمرین ورزشی تاثیر معنی‌داری بر mRNA ژن‌های HSP72 و TGF β داشت، به‌طوری‌که به‌ترتیب موجب افزایش و کاهش معنی‌دار آن‌ها شد ($P=0/001$ ، شکل ۳). در مجموع، نتایج مطالعه حاضر می‌تواند نشان دهد که HIIT اثر حفاظتی در برابر تاثیرهای منفی دیابت بر کلیه دارد.

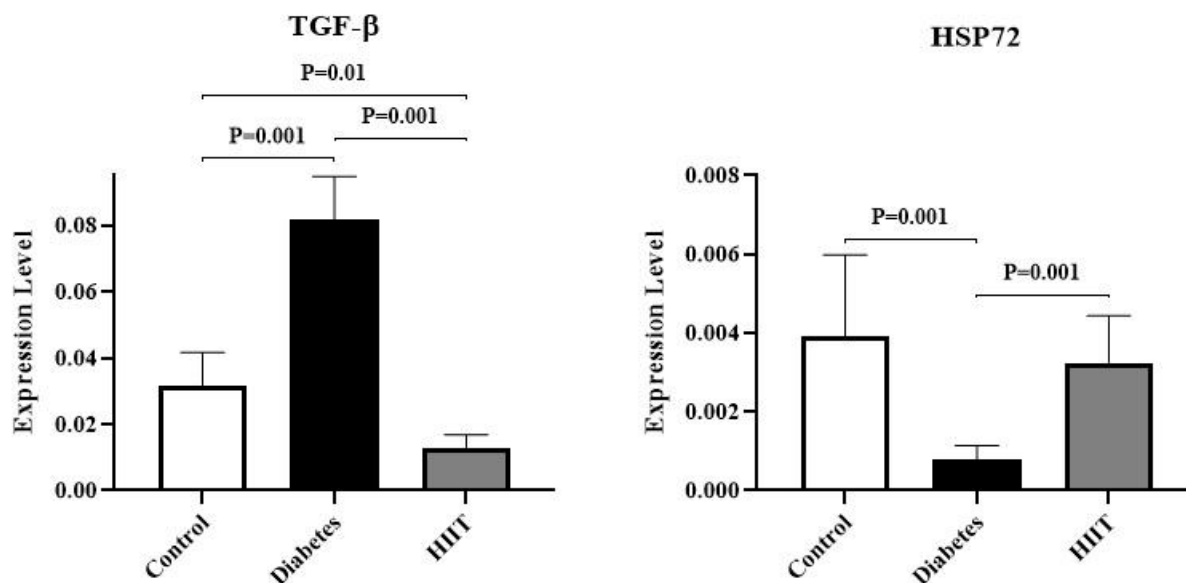
سطوح بالای بیان mRNA ژن TGF β در کلیه موش‌های صحرایی دیابتی مشاهده شد ($P=0/001$ ، شکل ۳). همچنین، بیان mRNA ژن HSP72 در کلیه گروه‌های دیابت کاهش معنی‌داری داشت ($P=0/001$ ، شکل ۳). به‌علاوه، دیابت موجب شد شاخص مقاومت به انسولین (HOMA-IR) افزایش یابد ($P=0/04$). سطوح کراتینین و اسید اوریک نیز کمی افزایش را نشان داد که معنی‌دار نبودند.

اثر تمرین تناوبی شدید

اندکی کاهش در سطح قندخون و کمی افزایش سطح انسولین در گروه HIIT دیده شد که به لحاظ آماری معنی‌دار نبودند ($P>0/05$ ، شکل ۲). HOMA-IR در گروه



شکل ۲. غلظت گلوکز، انسولین، HOMA-IR، کراتینین، اوره و اسید اوریک در گروه‌های کنترل، دیابت و دیابت+HIIT در صورت داشتن تفاوت معنی‌دار بین گروه‌ها، مقدار P مشخص شده است. مقادیر بر اساس میانگین \pm انحراف استاندارد آورده شده‌اند (تعداد=V).



شکل ۳. بیان ژن **HSP72** و **TGF-β** در گروه‌های کنترل، دیابت و دیابت+HIIT. مقادیر سطح بیان بر اساس فرمول $2^{-\Delta\Delta Ct}$ (تغییرات Ct خوانده شده ژن موردنظر نسبت به ژن کنترل داخلی) می‌باشد. در صورت داشتن تفاوت معنی‌دار بین گروه‌ها، مقدار **P** مشخص شده است. به‌علاوه، همبستگی منفی معنی‌داری نیز بین **HSP72** و **TGFβ** دیده شد ($R=-0.725$, $P=0.001$).

بحث

کنترل گلیسمیک نقش مهمی در جلوگیری یا حتی مهار نفروپاتی دارد. مطالعات انسانی نشان می‌دهند کنترل مفراط قندخون، شروع و پیشرفت مجدد DKD را کاهش می‌دهد (29). مطالعه حاضر مزیت HIIT بر بهبود HOMA-IR را نشان داد. کاهش اندکی نیز در سطح گلوکز پلازما دیده شد که شاید با دوره تمرین طولانی‌تر (بیش از چهار هفته)، بیشتر یا حتی معنی‌دار می‌شد. نتایج ما با مطالعه Gillen و همکاران (2012) و Lee و همکاران (2015) همراستا بود؛ آن‌ها مشاهده کردند که HIIT اثرات مفیدی در درمان دیابت نوع ۲ و بهبود نشانگرهای دیابتی همچون: گلوکز ناشتا، پپتاید C و HOMA-IR دارند (30,31). HIIT از طریق افزایش فراخوانی تارهای عضلانی و تخلیه سریع گلیکوژن عضلانی می‌تواند به بهبود کنترل گلیسمیک و حساسیت به انسولین منجر شود (32,33). پژوهش‌ها نشان می‌دهند HIIT نسبت به مدل‌های تمرینی سنتی می‌تواند در مدیریت دیابت کارآمدتر باشد (34). وزن حیوانات پس از القای دیابت در گروه‌های تجربی کاهش معنی‌داری داشت و این کاهش بین گروه HIIT و کنترل دیابت معنی‌دار نبود. یافته‌ها همسو با نتایج Lappalainen و همکاران (2018) و سایر مطالعات نظیر

دیابت موجب اختلالات عمده عروق ریز و بزرگ می‌شود. به‌عنوان اختلال ریزعروقی، متداول‌ترین علت مرحله پایانی بیماری کلیوی است که بار سنگینی را به سیستم مراقبت‌های بهداشتی تحمیل می‌کند (22). لذا ضروری است که راهبردهای موثری برای پیشگیری و کاهش پیشرفت نفروپاتی دیابتی در نظر گرفته شود (23). همچنین، کیفیت زندگی مسئله مهمی برای بیماران دیابتی می‌باشد. تمرین ورزشی مزیت‌های متعددی برای بیماران دیابتی دارد که از جمله آن‌ها می‌توان به افزایش VO_2max و پیشگیری از کاهش عملکردهای جسمانی (24)، بهبود وضعیت التهابی و مارک‌های استرس اکسیداتیو اشاره کرد (25,26). HIIT مدل نوین و بهینه‌سازی شده است که انتخابی مناسب برای کاهش خطر ابتلا به بیماری‌های مزمن می‌باشد (27). HIIT اثرات سودمندی بر آمادگی قلبی-عروقی، تنظیم قندخون و حساسیت به انسولین دارد (28). بنابراین، این مطالعه به بررسی اثرات HIIT بر بیان ژن‌های **HSP72** و **TGFβ** و شاخص‌های بیوشیمیایی در بافت کلیه موش‌های صحرایی دیابتی نوع ۲ پرداخت.

و سطوح پایین آن مرتبط است (۵۱-۵۰). ورزش موجب افزایش بیان HSP72 در ارگان‌های مختلف از جمله کلیه‌ها می‌شود (۵۲). در این مطالعه بیان پایین HSP72 در کلیه موش‌های صحرایی دیابتی مشاهده شد و HIIT توانست در ۴ هفته بیان آن را بهبود دهد. شدت و مدت تمرین ورزشی در پاسخ‌های HSP72 موثر است (۵۴، ۵۳). در قیاس با نتایج ما، Lappalainen و همکاران (۲۰۱۸) نشان دادند تمرین استقامتی با شدت متوسط در مدت ۸ هفته می‌تواند سطح پروتئین HSP72 را تنها در کلیه موش‌های صحرایی غیردیابتی افزایش دهد در حالی که بر بیان mRNA کلیوی آن اثری نداشت (۳۵). همچنین Atalay و همکاران (۲۰۰۴) گزارش کردند که تمرین ورزشی القای اثر ضعیفی بر بیان HSP72 در موش‌های صحرایی دیابتی دارد؛ اگرچه اثرات مثبت تمرین ورزشی در ارگان‌های مختلف موش‌های صحرایی گروه کنترل دیده شد (۵۱).

به‌علاوه، همبستگی منفی معنی‌داری بین سطوح TGFβ و HSP72 مشاهده شد. HSP72 می‌تواند Smad2/3، TRAF6 و TAK-1 که نقش مثبت معنی‌داری در مسیر سیگنالینگ TGFβ دارند را مهار کند. همچنین، HSP72 می‌تواند Smad7 را تحریک کند که اثر منفی بر این مسیر دارد (۵). به‌نظر می‌رسد تنظیم افزایشی HSP72 احتمالاً روشی مفید در کنترل دیابت و عوارض وابسته به آن از طریق تعدیل TGFβ باشد.

نتیجه‌گیری

آسیب کلیوی ناشی از دیابت، باعث مرگ و میر قابل‌توجهی می‌شود. عملکرد سیتوکین‌های خاصی نظیر TGFβ و پروتئین چاپرونی مانند HSP72 در مکانیسم‌های مولکولی نفروپاتی دیابتی مهم می‌باشند. بی‌شک درمان نفروپاتی دیابتی شامل مجموعه‌ای از راهبردهاست. مزیت تمرین ورزشی در بیماری‌های مختلف ثابت شده است. بر مبنای جستجو و اطلاعات بدست آمده، مطالعه حاضر برای اولین بار به نقش حفاظتی HIIT بر کلیه دیابتی (در مدل تجربی دیابت) از طریق کاهش TGFβ، HOMA-IR و بهبود HSP72 اشاره دارد. با تایید مطالعات انسانی، HIIT می‌تواند به‌عنوان روش غیردارویی مؤثری در DKD باشد.

Silva و همکاران (۲۰۱۲) است (۳۷-۳۵). علت کاهش وزن ناشی از القای دیابت به‌واسطه تغییرات متابولیک (افزایش روندهای کاتابولیک، هایپرگلیسمی و کاهش حساسیت به انسولین) طی پیشرفت بیماری است (۳۸-۳۶). نشان داده شده است که سابقه ورزشی پیش از دیابت، می‌تواند از این کاهش وزن پیشگیری یا روند آن را کمتر کند (۴۰-۳۸).

TGFβ سیتوکینی با ویژگی‌های هایپرتروفیک و پرواسکلوئیک است. به‌خوبی مشخص شده است که بیان بالای TGFβ در دیابت و عملکرد آن در DKD موجب هایپرتروفی سلول‌های کلیوی و افزایش تولید و تجمع ماتریکس خارج سلولی در سلول‌های گلوومولار، توبولار و فیبروبلاست بینابینی می‌شود (۴۱). شرایط پاتولوژیک ارتباط تنگاتنگی با بیان بیش از حد TGFβ دارند. در نفروپاتی دیابتی، این سیتوکین نقش مهمی در گلوومولواسکلروزیس ایفا می‌کند (۴۲). عملکرد TGFβ در بیماری کلیوی، آن را به‌عنوان هدفی قابل توجه با رویکرد درمانی معرفی کرده است (۴۳). کاهش این سیتوکین، بیان ماتریکس خارج سلولی ناشی از گلوکز بالا را بهبود می‌دهد (۴۴). در پژوهش حاضر نشان داده شد HIIT نقش کاهش‌دهنده بر بیان TGFβ کلیوی موش‌های صحرایی دیابتی داشت. همراستا با نتایج ما، Boor و همکاران (۲۰۰۹) نشان دادند که تمرین ورزشی منظم با شدت متوسط می‌تواند گلیکاسیون پیشرفته، PDGFRβ (مارکر فیبروبلاست و پریسیست‌ها) و بیان mRNA بینابینی و توبولی TGFβ را در موش‌های صحرایی چاق کاهش دهد (۴۵). Souza و همکاران (۲۰۱۹) نیز نشان دادند تمرین ورزشی می‌تواند دفع ادراری گلوکز و پروتئین را بهبود دهد و بیان TGFβ را در فضای بینابینی و توبولی موش‌های صحرایی دیابتی فاقد تخمدان کاهش دهد (۴۶).

پروتئین‌های HSP در پیشگیری از گسترش دیابت نوع ۲، مقاومت به انسولین (۴۷) و تعویق عوارض ریزعروقی نقش مهمی دارند (۴۸). سطوح HSPs در بیماری‌های مزمن نظیر کاهش دیابت نوع ۲ کاهش می‌یابد (۴۹). HSP72 موجب کاهش التهاب و بهبود عملکرد میتوکندریایی و ظرفیت اکسایشی می‌شود. برخی مطالعات عنوان کرده‌اند که دیابت احتمالاً با ایراد در سنتز HSP72

با این وجود، مطالعات بیشتری برای بررسی مسیر سیگنالینگ درگیر در نحوه اثر HIIT بر $TGF\ \beta$ و HSP72 نیاز است. به علاوه، مطالعه اثر HIIT بر مسیر $TGF\ \beta$ /Smad و سایر مولکول‌های درگیر در اختلال کلیوی پیشنهاد می‌شود. تأثیر HIIT بر سطح پروتئین ژن‌های هدف باید ارزیابی گردد. همچنین، مطالعه اثر HIIT در مدت زمان طولانی‌تر بر بیان $TGF\ \beta$ و HSP72 توصیه می‌شود.

تشکر و قدردانی

تشکر فراوان از حمایت و مشاوره جناب پرفسور بهرام محمد سلطانی و دکتر فاطمه یوسفی که کمک شایانی در به ثمر رسیدن این پژوهش داشت.

تعارض منافع

تعارض منافع وجود ندارد.

ملاحظات اخلاقی

این مطالعه پژوهشی در دانشگاه تربیت مدرس و با تایید کمیته اخلاق در پژوهش حیوانات این دانشگاه

منابع

- Rabkin R. Diabetic nephropathy. *Clinical Cornerstone* 2003;5(2):1-11.
- Jha V, Garcia-Garcia G, Iseki K, Li Z, Naicker S, Plattner B, et al. Chronic kidney disease: global dimension and perspectives. *Lancet* 2013;382(9888):260-72.
- Atalay M, Oksala N, Lappalainen J, Laaksonen DE, Sen CK, Roy S. Heat shock proteins in diabetes and wound healing. *Current Protein & Peptide Science* 2009;10(1):85-95.
- Danda RS, Habiba NM, Rincon-Choles H, Bhandari BK, Barnes JL, Abboud HE, et al. Kidney involvement in a nongenetic rat model of type 2 diabetes. *Kidney International* 2005;68(6):2562-71.
- Chebotaeva N, Bobkova I, Shilov E. Heat shock proteins and kidney disease: perspectives of HSP therapy. *Cell Stress Chaperones* 2017;22(3):319-43.
- Barrera-Chimal J, Pérez-Villalva R, Cortés-González C, Ojeda-Cervantes M, Gamba G, Morales-Buenrostro LE, et al. HSP72 is an early and sensitive biomarker to detect acute kidney injury. *EMBO Molecular Medicine* 2011;3(1):5-20.
- Sharma K, McGowan TA. TGF-beta in diabetic kidney disease: role of novel signaling pathways. *Cytokine & Growth Factor Reviews* 2000;11(1-2):115-23.
- Meng X-M, Tang PM-K, Li J, Lan HY. TGF- β /Smad signaling in renal fibrosis. *Frontiers in Physiology* 2015;6:82.
- Ren L, Sen U, Pushpakumar S. Exercise training reduces TGF- β mediated epithelial mesenchymal transition in diabetic kidney. *The FASEB Journal* 2017;31(1_supplement):1086.5-1086.5.
- Chen S, Jim B, Ziyadeh FN. Diabetic nephropathy and transforming growth factor-beta: transforming our view of glomerulosclerosis and fibrosis build-up. *Seminars in Nephrology* 2003;23(6):532-43.
- Sharma K, Jin Y, Guo J, Ziyadeh FN. Neutralization of TGF- β by Anti-TGF- β Antibody Attenuates Kidney Hypertrophy and the Enhanced Extracellular Matrix Gene Expression in STZ-Induced Diabetic Mice. *Diabetes* 1996;45(4):522-30.
- Heiwe S, Jacobson SH. Exercise training for adults with chronic kidney disease. *The Cochrane Database of Systematic Reviews* 2011;(10):CD003236.

13. Torma F, Gombos Z, Jokai M, Takeda M, Mimura T, Radak Z. High intensity interval training and molecular adaptive response of skeletal muscle. *Sports Medicine and Health Science* 2019;1(1):24–32.
14. Cassidy S, Thoma C, Houghton D, Trenell MI. High-intensity interval training: a review of its impact on glucose control and cardiometabolic health. *Diabetologia* 2017;60(1):7–23.
15. Liu J-X, Zhu L, Li P-J, Li N, Xu Y-B. Effectiveness of high-intensity interval training on glycemic control and cardiorespiratory fitness in patients with type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis. *Aging Clinical and Experimental Research* 2019;31(5):575–93.
16. Larsen MO, Wilken M, Gotfredsen CF, Carr RD, Svendsen O, Rolin B. Mild streptozotocin diabetes in the Göttingen minipig. A novel model of moderate insulin deficiency and diabetes. *American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism* 2002;282(6):E1342-1351.
17. Dulin WE, Wyse BM. Reversal of streptozotocin diabetes with nicotinamide. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine. Society for Experimental Biology and Medicine (New York, N.Y.)* 1969;130(3):992–4.
18. Masiello P, Broca C, Gross R, Roye M, Manteghetti M, Hillaire-Buys D, et al. Experimental NIDDM: development of a new model in adult rats administered streptozotocin and nicotinamide. *Diabetes* 1998;47(2):224–9.
19. American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 2010;33 Suppl 1:S62-69.
20. Rio DC, Ares M, Hannon GJ, Nilsen TW. Purification of RNA using TRIzol (TRI reagent). *Cold Spring Harbor Protocols* 2010;2010(6):pdb.prot5439.
21. Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method. *Methods (San Diego, Calif.)* 2001;25(4):402–8.
22. Remuzzi G, Schieppati A, Ruggenenti P. Nephropathy in Patients with Type 2 Diabetes. *New England Journal of Medicine* 2002;346(15):1145–51.
23. Tufescu A, Kanazawa M, Ishida A, Lu H, Sasaki Y, Ootaka T, et al. Combination of exercise and losartan enhances renoprotective and peripheral effects in spontaneously type 2 diabetes mellitus rats with nephropathy. *Journal of Hypertension* 2008;26(2):312–21.
24. De Nardi AT, Tolves T, Lenzi TL, Signori LU, Silva AMV da. High-intensity interval training versus continuous training on physiological and metabolic variables in prediabetes and type 2 diabetes: A meta-analysis. *Diabetes Research and Clinical Practice* 2018;137:149–59.
25. Yang D, Yang Y, Li Y, Han R. Physical Exercise as Therapy for Type 2 Diabetes Mellitus: From Mechanism to Orientation. *Annals of Nutrition & Metabolism* 2019;74(4):313–21.
26. Colberg SR, Sigal RJ, Yardley JE, Riddell MC, Dunstan DW, Dempsey PC, et al. Physical Activity/Exercise and Diabetes: A Position Statement of the American Diabetes Association. *Diabetes Care* 2016;39(11):2065–79.
27. Gibala MJ, Little JP. Just HIT it! A time-efficient exercise strategy to improve muscle insulin sensitivity: Perspectives. *The Journal of Physiology* 2010;588(18):3341–2.
28. Weston KS, Wisløff U, Coombes JS. High-intensity interval training in patients with lifestyle-induced cardiometabolic disease: a systematic review and meta-analysis. *British Journal of Sports Medicine* 2014;48(16):1227–34.
29. Levin SR, Coburn JW, Abaira C, Henderson WG, Colwell JA, Emanuele NV, et al. Effect of intensive glycemic control on microalbuminuria in type 2 diabetes. *Veterans Affairs Cooperative Study on Glycemic Control and Complications in Type 2 Diabetes Feasibility Trial Investigators. Diabetes Care* 2000;23(10):1478–85.

30. Gillen JB, Little JP, Punthakee Z, Tarnopolsky MA, Riddell MC, Gibala MJ. Acute high-intensity interval exercise reduces the postprandial glucose response and prevalence of hyperglycaemia in patients with type 2 diabetes. *Diabetes, Obesity and Metabolism* 2012;14(6):575–7.
31. Lee SS, Yoo JH, So YS. Effect of the low- versus high-intensity exercise training on endoplasmic reticulum stress and GLP-1 in adolescents with type 2 diabetes mellitus. *Journal of Physical Therapy Science* 2015;27(10):3063–8.
32. Roberts CK, Little JP, Thyfault JP. Modification of insulin sensitivity and glycemic control by activity and exercise. *Medicine and Science in Sports and Exercise* 2013;45(10):1868–77.
33. Ahmad AM. Moderate-intensity continuous training: is it as good as high-intensity interval training for glycemic control in type 2 diabetes? *Journal of Exercise Rehabilitation* 2019;15(2):327–33.
34. Amri J, Parastesh M, Sadegh M, Latifi SA, Alaei M. High-intensity interval training improved fasting blood glucose and lipid profiles in type 2 diabetic rats more than endurance training; possible involvement of irisin and betatrophin. *Physiology International* 2019;106(3):213–24.
35. Lappalainen J, Oksala NKJ, Laaksonen DE, Khanna S, Kokkola T, Kaarniranta K, et al. Suppressed heat shock protein response in the kidney of exercise-trained diabetic rats. *Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports* 2018;28(7):1808–17.
36. Silva KA dos S, Luiz R da S, Rampaso RR, de Abreu NP, Moreira ÉD, Mostarda CT, et al. Previous exercise training has a beneficial effect on renal and cardiovascular function in a model of diabetes. *PloS One* 2012;7(11):e48826.
37. Albright AL, Mahan JD, Ward KM, Sherman WM, Roehrig KL, Kirby TE. Diabetic nephropathy in an aerobically trained rat model of diabetes. *Medicine and Science in Sports and Exercise* 1995;27(9):1270–7.
38. Rodrigues AM, Bergamaschi CT, Araújo RC, Mouro MG, Rosa TS, Higa EMS. Effects of training and nitric oxide on diabetic nephropathy progression in type I diabetic rats. *Experimental Biology and Medicine* (Maywood, N.J.) 2011;236(10):1180–7.
39. Amaral LS de B, Souza CS, Volpini RA, Shimizu MHM, de Bragança AC, Canale D, et al. Previous Exercise Training Reduces Markers of Renal Oxidative Stress and Inflammation in Streptozotocin-Induced Diabetic Female Rats. *Journal of Diabetes Research* 2018;2018:6170352.
40. Amaral LS de B, Silva FA, Correia VB, Andrade CEF, Dutra BA, Oliveira MV, et al. Beneficial effects of previous exercise training on renal changes in streptozotocin-induced diabetic female rats. *Experimental Biology and Medicine* (Maywood, N.J.) 2016;241(4):437–45.
41. Chen S, Hong SW, Iglesias-de la Cruz MC, Isono M, Casaretto A, Ziyadeh FN. The key role of the transforming growth factor-beta system in the pathogenesis of diabetic nephropathy. *Renal Failure* 2001;23(3–4):471–81.
42. Kitamura M, Sütö TS. TGF-beta and glomerulonephritis: anti-inflammatory versus pro-sclerotic actions. *Nephrology, Dialysis, Transplantation: Official Publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association* 1997;12(4):669–79.
43. Wilson HM, Minto AWM, Brown PAJ, Erwig L-P, Rees AJ. Transforming growth factor- β isoforms and glomerular injury in nephrotoxic nephritis. *Kidney International* 2000;57(6):2434–44.
44. Li JH, Huang XR, Zhu H-J, Johnson R, Lan HY. Role of TGF- β signaling in extracellular matrix production under high glucose conditions. *Kidney International* 2003;63(6):2010–9.
45. 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: Clinical and Experimental* 2009;58(11):1669–77.
46. Souza CS, de Sousa Oliveira BS, Viana GN, Correia TML, de Bragança AC, Canale D, et al. Preventive effect of exercise training on diabetic kidney disease in ovariectomized rats with type 1 diabetes. *Experimental Biology and Medicine* (Maywood, N.J.) 2019;244(9):758–69.
 47. Archer AE, Von Schulze AT, Geiger PC. Exercise, heat shock proteins and insulin resistance. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences* 2018;373(1738).
 48. Bellini S, Barutta F, Mastrocola R, Imperatore L, Bruno G, Gruden G. Heat Shock Proteins in Vascular Diabetic Complications: Review and Future Perspective. *International Journal of Molecular Sciences* 2017;18(12.)
 49. Chung J, Nguyen A-K, Henstridge DC, Holmes AG, Chan MHS, Mesa JL, et al. HSP72 protects against obesity-induced insulin resistance. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 2008;105(5):1739–44.
 50. Yamagishi N, Nakayama K, Wakatsuki T, Hatayama T. Characteristic changes of stress protein expression in streptozotocin-induced diabetic rats. *Life Sciences* 2001;69(22):2603–9.
 51. Atalay M, Oksala NKJ, Laaksonen DE, Khanna S, Nakao C, Lappalainen J, et al. Exercise training modulates heat shock protein response in diabetic rats. *Journal of Applied Physiology* 2004;97(2):605–11.
 52. Lollo PCB, Moura CS, Morato PN, Amaya-Farfan J. Differential response of heat shock proteins to uphill and downhill exercise in heart, skeletal muscle, lung and kidney tissues. *Journal of Sports Science & Medicine* 2013;12(3):461–6.
 53. Fehrenbach E, Niess AM, Voelker K, Northoff H, Mooren FC. Exercise intensity and duration affect blood soluble HSP72. *International Journal of Sports Medicine* 2005;26(7):552–7.
 54. Peake JM, Suzuki K, Hordern M, Wilson G, Nosaka K, Coombes JS. Plasma cytokine changes in relation to exercise intensity and muscle damage. *European Journal of Applied Physiology* 2005;95(5–6):514–21.