

## Research Paper

## The Effect of Endurance Training on Gene and Protein Expression of TGF $\beta$ and Integrin in the Liver of Male Rat Diabetic

A.L. Mohammed<sup>1</sup>, R. Haghshenas<sup>2</sup>

1. MSc. in Sport Physiology, Department of Sport Sciences, Faculty of Humanities, Semnan University, Semnan, Iran
2. Assistance Professor in Sport Physiology, Department of Sport Sciences, Faculty of Humanities, Semnan University, Semnan, Iran (Corresponding Author)

Received: 2021/08/16

Accepted: 2022/01/18

---

### Abstract

Diabetes is a syndrome of metabolic that causes chronic hyperglycemia, stress oxidative and inflammation. The aim of this study was to investigate the effect of endurance training on gene expression of transforming growth factor of Beta (TGF $\beta$ ) and integrin in the liver of male rat diabetics. In this experimental study, 32 male Wistar rats were randomly divided into 4 groups (8 rats in each group): diabetes (D), control (C), exercise (E) and diabetes and exercise (ED). Then, 16 rats got infected with diabetes by STZ injection. Groups E and ED performed aerobic exercise protocol five sessions per week for eight weeks. Then, liver tissue was extracted, and gene expression was measured using RT-PCR and protein expression of TGF $\beta$  and integrin were measured using immunohistochemistry and western blotting methods, respectively. RNA was calculated using the formula  $2^{-\Delta\Delta CT}$  and the data were analyzed using ANOVA. The results showed that the gene and protein expression of TGF $\beta$  in group D was significantly higher than group C and the protein expression of TGF $\beta$  in group ED decreased significantly compared to group D but was still significantly higher than group C ( $P < 0.001$ ). In addition, in group E, TGF $\beta$  protein expression decreased significantly compared to group C ( $P < 0.001$ ). Gene expression of integrin was significantly higher in groups D and ED than group C, and its protein expression was significantly lower ( $P < 0.001$ ). Finally, the findings showed that early in diabetes, the increase of TGF $\beta$  protein expression in liver tissue and decrease of integrin and endurance training reverse these changes.

**Keywords:** Diabetes, Endurance training, Liver, TGF $\beta$

---

---

1. Email: alilateef54321123@gmail.com

2. Email: rhm@semnan.ac.ir



Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivatives 4.0 International Public License

## Extended Abstract

### Background and Purpose

Insulin resistance and hyperinsulinemia, metabolic disorders in the liver, and subsequent increase in oxidative stress associated with inflammation, lead to the development of diabetes. The TGF $\beta$  cell signaling pathway is associated with several diseases, particularly diabetes (1). The cell signaling of TGF $\beta$  activates HSC and ECM production, while persistent inflammation causes an overgrowth of ECM proteins, impairs liver function, and ultimately leads to cell cancer of liver (2). With increasing ECM, TGF- $\beta$ 1 stimulates the expression of integrins (3). Integrins are cell surface proteins that are involved in cell binding to the ECM. Integrins also act as receptors that can send messages into cells and regulate cell morphology and cell cycle (4). Furthermore, structural changes in ECM are seen in type 1 and type 2 diabetes (5). Hence, due to the proven role of physical activities in improving diabetes, the aim of this study was to investigate the effect of endurance training on gene expression of transforming growth factor of Beta (TGF $\beta$ ) and integrin in the liver of male rat diabetics.

### Materials and Methods

In this study, 32 male Wistar rats were randomly divided into 4 groups (8 rats in each group): diabetes (D), control (C), exercise (E) and diabetes and exercise (ED). Then, the diabetic model in 16 rats was induced by intraperitoneal injection of STZ at a dose of 50 mg/kg body weight. The rats were kept in polycarbonate cage under a cycle of dark light (12 hours of light, 12 hours of darkness) and humidity of 65.5% and temperature of 25.2°C and had free access to water and food. Groups E and ED performed aerobic exercise protocol five sessions per week for eight weeks. In order to apply the principle of overload, on average per week, 6 minutes (one minute per day) was added to the time of training and 2 meters per minute to the intensity of training, with 5 minutes of warm-up and 3 minutes of cooling down. Thus, the total time of training in the eighth week reached to 59 minutes and the maximum speed was 26 meters per minute. Besides, the intensity of training increased from 10 meters per minute in the first week to 26 meters per minute in each session in the eighth week (6). The duration of training was 23 minutes in the first week, including 5 minutes of warm-up and 3 minutes of cooling, and 59 minutes in the eighth week (6). The slope was zero in all stages of the exercise. After the completion of the protocol, rat liver tissue was extracted, and gene expression of TGF $\beta$  and integrin were measured using RT-PCR and, protein expression of TGF $\beta$  and integrin were measured using immunohistochemistry and western blotting methods, respectively. For molecular

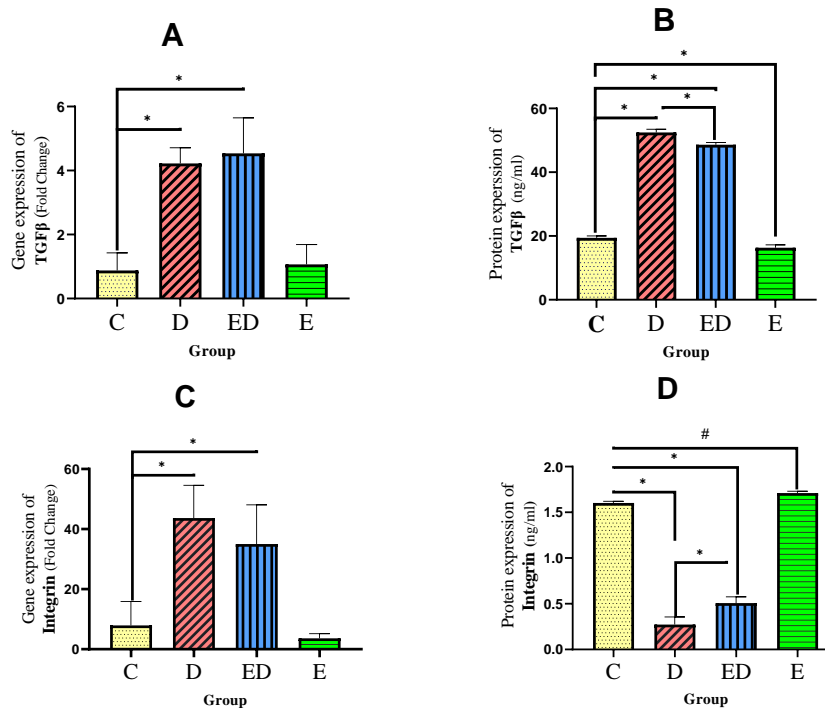


studies on the level of gene expression, RNA was first extracted from liver tissue according to the protocol of the manufacturer and the designed primer. The RNA-PLUS kit from CinnaGen company was used according to the manufacturer's instructions and then the RNA extracted was cleared from any contamination with DNA and degrading enzymes of RNA, using the RNaseDnaseI kit from the German company *Fermentas*. Using the light absorption property at 260 nm, the purity of the RNA sample was quantitatively obtained. After extracting RNA with very high purity and concentration from all samples, cDNA synthesis steps were performed according to the manufacturer's protocol and then the synthesized cDNA was used for reverse transcription reaction. RNA was calculated using the formula  $2^{-\delta\delta CT}$ . After collecting the data and confirming other assumptions of the analysis of variance including the normality of the data using Shapiro-Wilk test, ANOVA and Tukey post hoc tests were used to analyze the data through SPSS software, version 25.

### Findings

The results showed that the gene and protein expression of TGF $\beta$  in group D was significantly higher than group C and the protein expression of TGF $\beta$  in group ED reduced significantly compared to group D but was still significantly higher than group C ( $P < 0.001$ ). Besides, in group E, TGF $\beta$  protein expression decreased significantly compared to group C ( $P < 0.001$ ). Gene expression of integrin was significantly higher in groups D and ED than group C, and its protein expression was significantly lower ( $P < 0.001$ ). Protein expression of integrin decreased only in group ED compared to group D ( $P < 0.001$ ).





**Figure 1. Diagram gene (A) and protein (B) expression of TGFβ and integrin.** Diabetes group (D), control group (C), exercise group (E) and diabetes and exercise group (ED). In each group, each column of the graph shows the values of mean ± standard deviation obtained from the measurement of 8 separate samples. P <0.05 is considered statistically as the significance level. The asterisk (\*) indicates P <0.001. Diabetes significantly increases both gene and protein expression of TGFβ compared to group C (P <0.001) (Figure A and B). The protein expression of TGFβ decreased significantly in group ED compared to group D (P <0.001) (Figure A). This decrease is also observed in group E compared to group C (P <0.001). Diabetes significantly increased the gene expression of integrin compared to group C (P <0.001) (Figure C). While the protein expression of integrin in group D compared to group C decreased significantly (P <0.001) (Figure D). The integrin protein expression increased significantly in group ED compared to group D (P <0.001), which it is also observed in group E compared to group C (P=0.03) (Figure D).



### Conclusion

Finally, the findings showed that diabetes significantly increases the protein expression of TGF $\beta$  in the liver tissue of rats, and although endurance training significantly reduces this variable, there is still significant difference between group ED and group C. The exercise protocol alone is not able to improve the TGF $\beta$  signaling pathway in diabetic rats. Changes in gene expression of integrin were similar to TGF $\beta$ , but changes in protein expression of integrin were different. The protein expression of integrin decreased in group D compared to group C, and expression of this protein increased in group ED compared to group D. Actually, diabetes affects the body, especially the liver tissue, by disrupting TGF $\beta$  and integrin. Similarly, other studies have shown that aerobic exercise reduces TGF $\beta$  levels and consequently reduces the amount of tissue collagen in ECM proteins of the heart (7). Therefore, reducing the expression of TGF $\beta$  and inhibiting its signaling pathway can reduce the expression of genes involved in ECM collagen production (8). Integrins can release TGF $\beta$  from the ECM-binding pathway and cause a structural change in the cell skeleton that leads to pre-delivery of active TGF $\beta$  at its receptors.

### Article Message

In diabetes, the signaling pathways of TGF $\beta$  and integrin are disrupted and aerobic exercise can return them to normal to some extent. However, it is not able to completely cure it and other adjunctive therapies are necessary.

**Keywords:** Diabetes, Endurance training, Liver, TGF $\beta$

### References

1. Heydarpour F, Sajadimajd S, Mirzarazi E, Haratipour P, Joshi T, Farzaei MH, et al. Involvement of TGF- $\beta$  and Autophagy Pathways in Pathogenesis of Diabetes: A Comprehensive Review on Biological and Pharmacological Insights. *Front Pharmacol.* 2020; 11:498758. doi: 10.3389/fphar.2020.498758. PMID: 33041786.
2. Li J, Chen K, Li S, Feng J, Liu T, Wang F, et al. Protective effect of fucoidan from *Fucus vesiculosus* on liver fibrosis via the TGF- $\beta$ 1/Smad pathway-mediated inhibition of extracellular matrix and autophagy. *Drug Des Devel Ther.* 2016; 10:619-30. doi: 10.2147/DDDT.S98740. PMID: 26929597.
3. Fabregat I, Caballero-Díaz D. Transforming Growth Factor- $\beta$ -Induced Cell Plasticity in Liver Fibrosis and Hepatocarcinogenesis. *Front Oncol.* 2018; 8:357. doi: 10.3389/fonc.2018.00357. PMID: 30250825.
4. Lilja J, Ivaska J. Integrin activity in neuronal connectivity. *J Cell Sci.* 2018 ;131(12):jcs212803. doi: 10.1242/jcs.212803. PMID: 29907643.



5. Arous C, Wehrle-Haller B. Role and impact of the extracellular matrix on integrin-mediated pancreatic  $\beta$ -cell functions. *Biol Cell*. 2017; 109(6):223-237. doi: 10.1111/boc.201600076. PMID: 28266044.
6. Haghshenas R, Gilani N, Jafari M. Effect of 16 weeks endurance training and high fat diet on plasma level of interleukins-6, 10 and nesfatin-1 of rats. *Sport Physiol*. 2015;6(24):49-61. (In persion).
7. Guzzoni V, Ribeiro MB, Lopes GN, de Cássia Marqueti R, de Andrade RV, Selistre-de-Araujo HS, et al. Effect of resistance training on extracellular matrix adaptations in skeletal muscle of older rats. *Front Physiol*. 2018;9:374.
8. Aihara K, Ikeda Y, Yagi S, Akaike M, Matsumoto T. Transforming Growth Factor- $\beta$ 1 as a Common Target Molecule for Development of Cardiovascular Diseases, Renal Insufficiency and Metabolic Syndrome. *Cardiol Res Pract*. 2010; 2011:175381. doi: 10.4061/2011/175381. PMID: 21234356.



## تأثیر تمرین استقامتی بر بیان ژن و پروتئین فاکتور رشد تغییر شکل دهنده بتا و اینتگرین کبد رت‌های نر مبتلا به دیابت

علی لطیف محمد<sup>۱</sup>، روح الله حق‌شناس<sup>۲</sup>

۱. کارشناس ارشد فیزیولوژی ورزش، گروه علوم ورزشی، دانشکده علوم انسانی، دانشگاه سمنان، سمنان، ایران  
 ۲. دانشیار فیزیولوژی ورزش، گروه علوم ورزشی، دانشکده علوم انسانی، دانشگاه سمنان، سمنان، ایران  
 (نویسنده مسئول)

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۰/۲۸

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۵/۲۵

### چکیده

اهداف: دیابت، اختلالی متابولیک است که موجب استرس اکسیداتیو و التهاب می‌شود. هدف پژوهش حاضر، بررسی تأثیر تمرین استقامتی بر بیان ژن و پروتئین فاکتور رشد تغییر شکل دهنده بتا (TGFβ) و اینتگرین کبد رت‌های نر دیابتی بود. مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی، ۳۲ سر رت نر ویستار به‌طور تصادفی به چهار گروه هشت‌تایی دیابت (D)، کنترل (C)، تمرین (E) و دیابت + تمرین (ED) تقسیم شدند. شانزده سر از رت‌ها با تزریق استرپتوزوسین (STZ) به دیابت مبتلا شدند. گروه E و گروه ED به مدت هشت هفته و پنج جلسه در هفته پروتکل تمرین هوازی را اجرا کردند. سپس بافت کبد استخراج شد و از روش RT-PCR برای سنجش بیان ژن و از روش‌های ایمونوهیستوشیمی و وسترن بلات، به ترتیب برای بیان پروتئین TGFβ و اینتگرین استفاده شد. میزان RNA با استفاده از فرمول  $2^{-\Delta\Delta CT}$  محاسبه شد و سپس داده‌ها با استفاده از آزمون تحلیل واریانس تجزیه و تحلیل شدند. یافته‌ها: نتایج نشان داد، بیان ژن و پروتئین TGFβ در گروه D به‌طور معناداری بیشتر از گروه C بود و بیان پروتئین TGFβ در گروه ED به‌طور معناداری در مقایسه با گروه D کاهش یافت، اما همچنان به‌طور معناداری در مقایسه با گروه C بیشتر بود ( $P < 0.001$ ). همچنین در گروه E، بیان پروتئین TGFβ در مقایسه با گروه C به‌طور معناداری کاهش یافت ( $P < 0.001$ ). بیان ژن اینتگرین در گروه‌های D و ED در مقایسه با گروه C به‌طور معناداری بیشتر بود و بیان پروتئین آن به‌طور معناداری کمتر بود ( $P < 0.001$ ). نتیجه‌گیری: ابتلا به دیابت، بیان پروتئین TGFβ را در بافت کبد افزایش داده و اینتگرین را کاهش می‌دهد و تمرین استقامتی این تغییرات را برعکس می‌کند.

**واژگان کلیدی:** دیابت، تمرین استقامتی، کبد، TGFβ، اینتگرین.

1. Email: alilateef54321123@gmail.com

2. Email: rhm@semnan.ac.ir



Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivatives 4.0 International Public License

## مقدمه

شواهد زیادی نشان می‌دهند که بیماران مبتلا به دیابت نوع دو در معرض خطر ویژه‌ای برای بیماری کبد چرب غیرالکلی هستند (۱، ۲). علاوه بر این، دیابت یک عامل خطر برای پیشرفت کبد چرب غیر الکلی، توسعه سرطان سلول‌های کبد<sup>۱</sup> (HCC) و مرگ‌ومیر مربوط به کبد است (۳). مقاومت به انسولین و هایپرانسولینمی، اختلال متابولیسم در کبد و متعاقب آن افزایش استرس اکسیداتیو همراه با التهاب، به پیشرفت دیابت کمک می‌کند (۴، ۵).

با وجود پیشرفت‌های چشمگیر در درمان بیماری دیابت، همچنان شناخت سازوکارهای سلولی مولکولی مؤثر در این بیماری می‌تواند کمک‌کننده باشد. در بین چندین سازوکار مولکولی مرتبط با بیماری دیابت، احتمال داده می‌شود که مسیر پیام‌رسانی فاکتور رشد تغییر شکل‌دهنده بتا<sup>۲</sup> (TGFβ) نقش مهمی داشته باشد. فعال‌شدن مسیر TGFβ معمولاً با توقف چرخه سلولی و القای آپوپتوز همراه است؛ درحالی‌که نشان داده شده است، تغییر پیام‌رسانی TGFβ نقش مهمی در ایجاد تومور دارد (۶). با توجه به ارتباط گسترده مسیر پیام‌رسانی TGFβ با دیگر مسیرهای پیام‌رسان همچون مسیر پیام‌رسان SMADs و کینازها، هرگونه اختلال در این مسیر پیام‌رسان با چندین بیماری و به‌ویژه دیابت در ارتباط است (۷). TGFβ نقش مهمی در سیستم ایمنی بدن و تنظیم عملکرد لکوسیت‌ها ایفا می‌کند و اختلال در عملکرد آن می‌تواند به بروز دیابت نوع یک منجر شود. دیابت نوع یک با اختلال در عملکرد سلول‌های بتا که تولیدکننده انسولین هستند، با واسطه سلول‌های T اتفاق می‌افتد. مسدود کردن پیام‌رسانی TGFβ در موش‌ها به وقوع بیماری خودایمنی منجر می‌شود و بیان TGFβ تحت‌تأثیر انسولین در سلول‌های بتا مانع از پیشرفت دیابت نوع یک می‌شود (۸). در بافت کبد نیز TGFβ از تکثیر سلول‌های کبد جلوگیری کرده و هموستاز سلول را با تولید پروتئین‌های ماتریکس خارج سلولی<sup>۳</sup> (ECM) از سلول‌های ماهواره‌ای کبد<sup>۴</sup> (HSCs) حفظ می‌کند (۹).

مسیر پیام‌رسان TGFβ به‌عنوان مسیر اصلی فیبروز نیک، باعث فعال‌شدن HSC و تولید ECM می‌شود؛ درحالی‌که التهاب مداوم باعث افزایش بیش‌ازحد پروتئین‌های ECM می‌شود، عملکرد کبد را مختل می‌کند و درنهایت به ایجاد سرطان سلول‌های کبد منجر می‌شود. فیبروز کبد بیماری مزمن دیگری

1. Hepatocellular Carcinoma
2. Transforming Growth Factor Beta
3. Extracellular Matrix
4. Hepatic Stellate Cells





است که با افزایش بیش از حد پروتئین‌های ECM به ویژه کلاژن در بافت کبد اتفاق می‌افتد (۱۰). همراه با افزایش ECM، TGF- $\beta$ 1 باعث تحریک بیان اینتگرین‌ها، می‌شود (۱۱). اینتگرین‌ها، پروتئین‌های سطح سلولی هستند که در اتصال سلول به ECM نقش دارند. اینتگرین‌ها همچنین به‌عنوان گیرنده‌هایی عمل می‌کنند که می‌توانند باعث فرستاده‌شدن پیام‌ها به درون سلول‌ها شده و موجب تنظیم ریخت سلولی و چرخه سلول شوند (۱۲). فعال‌سازی اینتگرین‌ها توسط ECM نیز پاسخ به TGF- $\beta$ 1 را در سلول‌های کبد تعدیل می‌کند و تولید پایدار پروتئین‌های ECM در HSC های میوفیبروبلاست‌ها، در نتیجه مقاومت آن‌ها در برابر سرکوب رشد ناشی از TGF- $\beta$ 1 در سلول‌های کبد فعال می‌شود. گیرنده‌های فاکتور رشد و اینتگرین‌ها بیان و/یا عملکردهای مؤثر در پایین‌دست TGF- $\beta$ 1 را اصلاح می‌کنند و به‌رهابی سلول‌های کبد از آپوپتوز ناشی از TGF- $\beta$ 1 منجر می‌شوند (۹). اینتگرین‌ها باعث افزایش و مهاجرت سلولی می‌شوند و پیام‌رسانی با واسطه اینتگرین در پاسخ به ECM پانکراس نقش مهمی در زنده‌ماندن سلول بتا و ترشح انسولین دارد. علاوه بر این، تغییرات ساختاری ECM در دیابت انواع یک و دو مشاهده می‌شود که به نوبه خود می‌تواند بر یکپارچگی اسیدهای چرب (FA) تأثیر بگذارد و موجب ترشح انسولین ناکارآمد و مرگ سلول‌های بتا شود (۱۳). مطالعات تجربی اخیر نشان داده‌اند که TGF $\beta$  ممکن است نقش بسیار اساسی در ایجاد مقاومت به انسولین و چاقی داشته باشد (۱۴). گزارش شده است که TGF $\beta$  در رت‌های مبتلا به دیابت با تزریق STZ افزایش می‌یابد (۱۵). از طرفی با توجه به نقش اثبات‌شده فعالیت‌های ورزشی در بهبود بیماری دیابت، مطالعه‌ای یافت نشد که تغییرات TGF $\beta$  را در بافت کبد و در شرایط دیابت بررسی کرده باشد؛ البته مطالعات زیادی در بافت کلیه و پانکراس انجام شده‌اند و افزایش TGF $\beta$  در اثر دیابت مشاهده شده است؛ چنانچه گزارش شده است که مقادیر کلیوی TGF $\beta$  در موش‌های دیابتی‌شده در مقایسه با موش‌های صحرایی سالم افزایش یافته بود و پس از هشت هفته تمرین مقاومتی با شدت ۵۰-۸۰ درصد حداکثر تحمل بار، کاهش معناداری یافت (۱۶). همچنین نشان داده شده است، هشت هفته تمرین هوازی به‌همراه مصرف رزوراترول باعث کاهش آسیب کلیوی ناشی از دیابت از طریق مهار بیان TGF- $\beta$ 1 و کلاژن می‌شود (۱۷)، ولی تأثیر فعالیت‌های ورزشی بر تغییرات TGF $\beta$  و اینتگرین در شرایط دیابت و فعالیت ورزشی همچنان نامشخص است (۱۸)؛ از این‌رو هدف پژوهش حاضر بررسی تأثیر تمرین استقامتی بر بیان ژن TGF $\beta$  و اینتگرین کبد رت‌های نر مبتلا به دیابت بود.



## روش پژوهش

این پژوهش از نوع تجربی است که پس از تصویب و تأیید در کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی سمنان به شماره IR.SEMUMS.REC.1399.301، ۳۲ سر رت نر نژاد ویستار ۱۰ تا ۱۲ هفته‌ای، با وزن ۱۸۰ تا ۲۲۰ گرم از مؤسسه رازی تهران خریداری شد. بعد از سازگاری با محیط آزمایشگاه، مدل دیابت در ۱۶ سر از رت‌ها با تزریق درون‌صفاقی STZ به میزان ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن القا شد. برای تشخیص مدل ایجاد شده دیابت، سه روز بعد از تزریق STZ با استفاده از دستگاه گلوکومتر و خون‌گیری از دم حیوان، قندخون اندازه‌گیری شد و مدل دیابت (قندخون بیشتر از ۱۵۰ mg/dl) (۱۹) تأیید شد. سپس رت‌ها به چهار گروه هشت‌تایی گروه دیابت (D) (تعداد = هشت)، گروه کنترل (C) (تعداد = هشت)، گروه ورزش (E) (تعداد = هشت) و گروه دیابت و ورزش (ED) (تعداد = هشت) تقسیم شدند. رت‌ها در قفس پلی‌کربنات شفاف و در چرخه روشنایی تاریکی (۱۲ ساعت نور ۱۲ ساعت تاریکی) و رطوبت  $65 \pm 5$  درصد و درجه حرارت  $25 \pm 2$  °C نگهداری شدند و دسترسی آزاد به آب و غذا داشتند. برای آشناسازی با پروتکل تمرین، رت‌های گروه تمرین به مدت دو هفته روی نوارگردان قرار گرفتند و آموزش‌های لازم به آن‌ها داده شد. سپس رت‌ها به مدت هشت هفته پروتکل تمرین هوازی طراحی شده را اجرا کردند. عمل بافت‌برداری در پایان هفته هشتم و ۷۲ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین، بعد از بیهوشی با گاز CO<sub>2</sub> انجام شد. پس از خون‌گیری از قلب حیوان، استخراج بافت کبد، شست‌وشوی آن با سرم فیزیولوژی و جداکردن قسمت‌های زاید، نمونه مدنظر به نیتروژن مایع انتقال یافت و سپس در دمای منفی ۸۰ درجه سانتی‌گراد تا زمان انجام آزمایش نگهداری شد.

در روز آزمایش، بافت مدنظر با نسبت یک به ۱۰ در بافر فسفات سالین هوموژنیزه شد و سپس به مدت ۱۵ دقیقه با دور ۱۲۰۰۰ در چهار درجه سانتی‌گراد سانتریفوژ شد. مایع رویی برای سنجش شاخص‌های مدنظر به کار رفت. برای بررسی‌های مولکولی در سطح بیان ژن، ابتدا استخراج RNA از بافت کبد طبق پروتکل شرکت سازنده و پرایمر طراحی شده انجام گرفت (جدول شماره یک). برای استخراج mRNA، مقدار ۵۰ میلی‌گرم بافت منجمد با روش هوموژنیزه کردن مواد استفاده شد. به منظور جداسازی mRNA، از کیت RNA-PLUS از شرکت CinnaGen طبق دستورالعمل شرکت سازنده استفاده شد. سپس محلول RNA استخراج شده، با استفاده از کیت RNaseDnaseI از شرکت Fermentas آلمان، از هرگونه آلودگی به DNA و آنزیم‌های تخریب‌کننده RNA پاک‌سازی شد. با استفاده از خاصیت جذب نور در طول موج ۲۶۰ نانومتر درجه خلوص نمونه RNA به صورت



کمی به دست آمد. پس از استخراج RNA با خلوص و غلظت بسیار زیاد، از تمامی نمونه‌های مطالعه شده مراحل سنتز cDNA طبق پروتکل شرکت سازنده انجام شد و سپس cDNA سنتز شده برای انجام واکنش رونویسی معکوس استفاده شد. ابتدا پرایمرهای طراحی شده مربوط به ژن TGF $\beta$  و اینتگرین بررسی شد و سپس بررسی بیان ژن TGF $\beta$  و اینتگرین با استفاده از روش کمی Q-RT PCR انجام شد. برای تجزیه و تحلیل بیان ژن داده‌های آستانه چرخه (CT) هر واکنش استخراج شد و با روش  $2^{-[\Delta\Delta C(t)]}$  بیان ژن‌های هدف در بافت‌ها محاسبه شد. بدین منظور، پس از محاسبه اختلاف ژن هدف و ژن رفرنس، اختلاف هر گروه با میانگین گروه کنترل محاسبه شد و سپس ۲ به توان منفی عدد به دست آمده شد و  $2^{-[\Delta\Delta C(t)]}$  به این صورت محاسبه شد. برای اندازه‌گیری بیان پروتئین TGF $\beta$  از روش ایمونوهیستوشیمی و برای اندازه‌گیری بیان پروتئین اینتگرین نیز از روش وسترن بلات استفاده شد (شکل شماره یک). گلوکز خون نیز با استفاده از کیت شرکت پارس‌آزمون اندازه‌گیری شد.

جدول ۱- توالی پرایمر TGF $\beta$  و اینتگرینTable 1- TGF $\beta$  and integrin primer sequences

r GAPDH R	CAT ACT CAG CAC CAG CAT CAC C
r GAPDH F	AAG TTC AAC GGC ACA GTC AAG G
rITGB 1-R	TAGAAGCAGGTGTTGTGGTTGGA
rITGB1-F	AGGGtCAAATTGTGGGTGGTGT
rTGF-B R	GTC GGT TCA TGT CAT GGA TGG TG
rTGF-B F	GCA GTG GCT GAA CCA AGG AGA CG

پروتکل تمرین: بعد از تأیید دیابت، به منظور آشناسازی رت‌ها با پروتکل تمرین، رت‌های گروه‌های تمرین به مدت دو هفته، پنج جلسه در هفته با راه رفتن به مدت ۵ تا ۱۵ دقیقه و سرعت ۵ تا ۱۰ متر بر دقیقه روی نوارگردان تمرین کردند. در ادامه، پروتکل تمرین هوازی را به مدت هشت هفته، پنج روز در هفته ساعت ۱۰ تا ۱۲ صبح اجرا کردند. برای رعایت اصل اضافه‌بار، به صورت هفتگی به طور میانگین شش دقیقه (هر روز یک دقیقه) به مدت تمرین و دو متر در دقیقه به شدت تمرین اضافه شد تا با احتساب پنج دقیقه گرم کردن و سه دقیقه سرد کردن، کل زمان تمرین در هفته هشتم به ۵۹ دقیقه و حداکثر سرعت ۲۶ متر بر دقیقه برسد. شدت تمرین نیز به صورت فزاینده از ۱۰ متر بر دقیقه در هفته اول به ۲۶ متر بر دقیقه در هر جلسه در هفته هشتم رسید (۲۱، ۲۰). مدت تمرین نیز در



هفته اول با احتساب پنج دقیقه گرم کردن و سه دقیقه سرد کردن، ۲۳ دقیقه و در هفته هشتم ۵۹ دقیقه بود (۲۲). در تمامی مراحل تمرین شیب صفر درجه بود. پس از جمع آوری داده‌ها و تأیید نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون شاپیرو-ویلک و پیش فرض‌های آزمون تحلیل واریانس، از نرم افزار اسپاس نسخه ۲۵ و آزمون تحلیل واریانس و آزمون تعقیبی توکی برای تجزیه و تحلیل داده‌ها استفاده شد. همچنین نرم افزار Graph Pad Prism برای ترسیم نمودارها به کار رفت. سطح معناداری در همه مراحل  $P < 0.05$  در نظر گرفته شد.

## نتایج

ویژگی‌های توصیفی و نتایج آزمون تحلیل واریانس مربوط به متغیرهای وزن، گلوکز و انسولین در جدول شماره دو گزارش شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود، قندخون در گروه D در مقایسه با گروه C به‌طور معناداری بیشتر بود و مدل دیابت تأیید شد ( $P < 0.001$ ). همچنین گلوکز در گروه ED دیابت + ورزش به‌طور معناداری در مقایسه با D کمتر بود ( $P < 0.001$ ) و به‌طور معناداری بیشتر از گروه C بود ( $P < 0.001$ ).

جدول ۲- اطلاعات مربوط به وزن و گلوکز رت‌ها در دو مرحله قبل و بعد از اجرای پروتکل

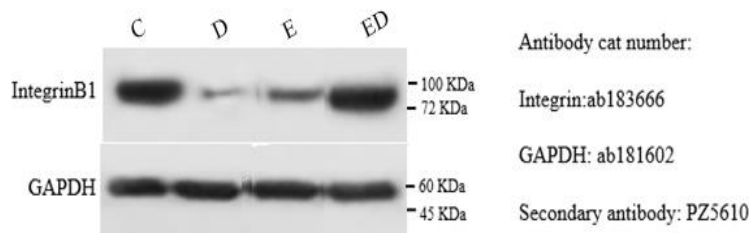
**Table 2- Information about the weight and glucose of rats in two stages before and after**

بعد از اتمام پروتکل Post test			قبل از شروع پروتکل Pre test			گروه Group	شاخص Index
P	F	Mean (SD)	P	F	Mean (SD)		
<0.001	27.388	306.25 (12.17)	0.941	0.131	197.75 (16.26)	C	وزن Weight (g)
		* 279.75 (9.85)			199.75 (16.07)	E	
		* 252.25 (10.89)			201.75 (17.55)	D	
		* 264.00 (12.11)			201.38 (18.89)	ED	
<0.001	194.805	86.75 (4.30)	<0.001	56.180	102.50 (11.22)	C	گلوکز Glucose (mg/dl)
		86.50 (14.13)			102.00 (12.78)	E	
		* 252.50 (27.10)			* 308.00 (22.83)	D	
		†* 185.75 (11.42)			* 298.50 (17.35)	ED	
<0.001	23.721	11.35 (0.60)				C	انسولین Insulin (ng/ml)
		11.01 (0.20)				E	
		* 15.42 (0.65)				D	
		* 14.83 (0.36)				ED	

\*: معنادار در مقایسه با گروه کنترل

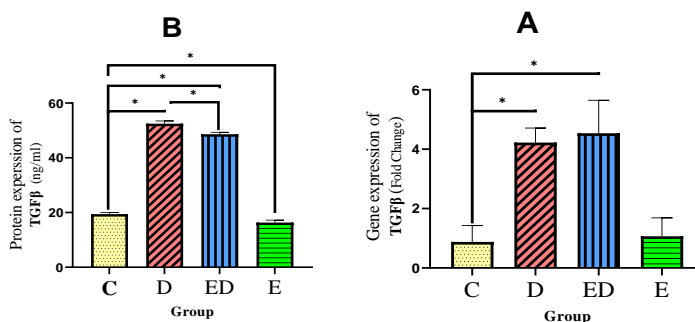
†: معنادار در مقایسه با گروه دیابت





شکل ۱- تصویر ایمونوبلاتینگ اینتگرین گروه‌های مختلف (C) گروه کنترل، (D) گروه دیابت، (E) گروه ورزش، (ED) گروه ورزش و دیابت

**Figure 1- Image of immunoblotting integrin in the different groups (C) control group, (D) diabetes group, (E) exercise group, (ED) exercise and diabetes group**



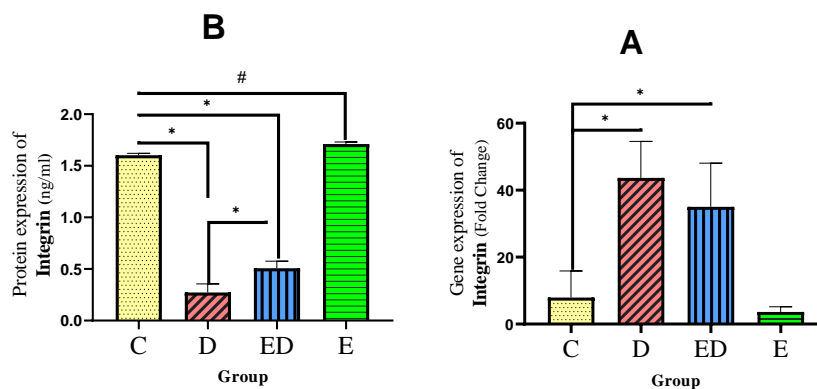
شکل ۲- نمودار مربوط به بیان ژن (A) و پروتئین (B) TGFβ گروه دیابت (D)، گروه کنترل (C)، گروه ورزش (E) و گروه دیابت و ورزش (ED)

(هر ستون نمودار، نشان دهنده مقادیر میانگین  $\pm$  انحراف معیار حاصل از سنجش هشت نمونه مجزا، در هر گروه است. مقدار P کمتر از ۰/۰۵ به عنوان سطح معناداری آماری در نظر گرفته شده است. \* نشان دهنده میزان  $P < 0.001$  است. دیابت هم بیان ژن و هم بیان پروتئین TGFβ را در گروه دیابت در مقایسه با گروه C به طور معناداری افزایش می‌دهد ( $P < 0.001$ ). بیان پروتئین TGFβ به طور معناداری در گروه ED در مقایسه با گروه D کاهش یافته است ( $P < 0.001$ ). این کاهش در مقایسه گروه E با گروه C نیز مشاهده می‌شود ( $P < 0.001$ ).

**Figure 2- Diagram of TGFβ gene (A) and protein (B) expression in diabetes group (D), control group (C), exercise group (E) and diabetes and exercise group (ED)**

In each group, each column of the graph shows the values of mean  $\pm$  standard deviation that measurement of 8 separate samples. P less than 0.05 is considered as statistically significant level. \* Indicates  $P < 0.001$ . Diabetes significantly increases both gene and protein expression of TGFβ compared to group C ( $P < 0.001$ ). protein expression of TGFβ decreased significantly in group ED compared to group D ( $P < 0.001$ ). This decrease is also observed in comparison group E compared to group C ( $P < 0.001$ ).





شکل ۳- نمودار مربوط به بیان ژن (A) و پروتئین (B) اینتگرین گروه دیابت (D)، گروه کنترل (C)، گروه ورزش (E) و گروه دیابت و ورزش (ED)

در هر گروه، هر ستون نمودار نشان‌دهنده مقادیر میانگین  $\pm$  انحراف معیار حاصل از سنجش هشت نمونه مجزاست. مقدار P کمتر از ۰/۰۵ به‌عنوان سطح معناداری آماری در نظر گرفته شده است. # نشان‌دهنده میزان  $P < 0.05$  است. \* نشان‌دهنده میزان  $P < 0.001$  است. دیابت بیان ژن اینتگرین را به‌طور معناداری در گروه دیابت در مقایسه با گروه C افزایش می‌دهد ( $P < 0.001$ ) (نمودار A)؛ درحالی‌که بیان پروتئین اینتگرین در گروه D در مقایسه با گروه C به‌طور معناداری کاهش یافته است ( $P < 0.001$ ) (نمودار B). بیان پروتئین اینتگرین در گروه ED در مقایسه با گروه D به‌طور معناداری افزایش یافته است ( $P < 0.001$ ) که این افزایش در گروه E در مقایسه با گروه C نیز مشاهده می‌شود ( $P = 0.03$ ) (نمودار B).

**Figure 3- Diagram of gene (A) and protein (B) expression of integrin in diabetes group (D), control group (C), exercise group (E) and diabetes and exercise group (ED).**

In each group, each column of the graph shows the values of mean  $\pm$  standard deviation that measurement of 8 separate samples. P less than of 0.05 is considered as statistically significant level. # Indicates  $P < 0.05$ . \* Indicates the value of  $P < 0.001$ . Diabetes significantly increased gene expression of integrin compared to group C ( $P < 0.001$ ) (Figure A). While the protein expression of integrin in group D compared to group C decreased significantly ( $P < 0.001$ ) (Figure B). Integrin protein expression was significantly increased in group ED compared to group D ( $P < 0.001$ ), which is also observed in group E compared to group C ( $P = 0.03$ ) (Figure B).



## بحث و نتیجه گیری

نتایج پژوهش حاضر نشان می‌دهد، دیابت به‌طور معناداری بیان پروتئین  $TGF\beta$  در بافت کبد رت‌ها را افزایش می‌دهد. با وجود اینکه تمرین استقامتی به‌طور معناداری در رت‌های مبتلا به دیابت این متغیر را کاهش می‌دهد، همچنان تفاوت معناداری بین گروه ED و گروه C وجود دارد و نشان می‌دهد، پروتکل تمرین پژوهش شده به‌تنهایی قادر به بهبود مسیر پیام‌رسان  $TGF\beta$  در رت‌های مبتلا به دیابت نیست. تغییرات در بیان ژن اینتگرین نیز بیان ژن و پروتئین  $TGF\beta$  مشابه با بود، اما تغییرات بیان پروتئین اینتگرین متفاوت بود؛ به‌طوری‌که بیان پروتئین اینتگرین در گروه دیابت در مقایسه با گروه C کاهش یافته بود و بیان این پروتئین در گروه ED در مقایسه با گروه D افزایش یافته بود که در مجموع نتایج نشان می‌دهد، تمرین هوازی بیان پروتئین اینتگرین را افزایش می‌دهد (شکل شماره سه). در واقع، دیابت با مختل کردن  $TGF\beta$  و اینتگرین اثرات مخرب خود را بر بدن و به‌ویژه بافت کبد می‌گذارد. همسو با نتایج پژوهش حاضر، مطالعات دیگر نیز نشان دادند که ورزش هوازی باعث کاهش سطح  $TGF\beta$  و متعاقب آن کاهش مقدار کلاژن بافتی در پروتئین‌های ECM قلب می‌شود (۲۳)؛ بنابراین کاهش بیان  $TGF\beta$  و مهار مسیر پیام‌رسانی آن می‌تواند باعث کاهش بیان ژن‌های دخیل در تولید کلاژن ECM شود (۲۴). فعال‌سازی  $TGF\beta$  به‌واسطه فرایندی چندگانه تنظیم می‌شود. فعال‌سازی  $TGF\beta$  به‌وسیله گلیکوزیدازهای ترومبوسپاندین<sup>۱</sup> و برخی مولکول‌های درمانگر (آنتی‌استروژن‌ها، اسیدهای رتینوئیک و...) نیز کنترل می‌شود. اختلال در عملکرد مسیرهای پیام‌رسانی  $TGF\beta$  به افزایش تکثیر بیماری‌های التهابی و خودایمن منجر می‌شود (۲۵). انتقال پیام در ابتدا به گیرنده نوع دوم ( $T\beta RII$ ) که از لحاظ ساختاری فسفوریله است، متصل می‌شود و پیام به‌واسطه بخش خارجی  $TGF\beta$  و مجموعه‌ای از دو گیرنده انتقال‌دهنده سطح غشاء، از نوع سرین/ترئونین صورت می‌پذیرد (۲۶). این گیرنده، گیرنده نوع اول ( $T\beta RI$ ) را به کار می‌گیرد و آن را ترانس فسفریله می‌کند و سپس  $T\beta RI$  پروتئین‌های  $smad2$  و  $smad3$  را که به پروتئین  $smad4$  می‌پیوندند، فسفریله می‌کند. این هتروکمپلکس به سمت هسته، جایی که به DNA متصل می‌شود، هدایت می‌شود. علاوه بر فعال‌سازی مسیرهای پیام‌رسانی پروتئین  $SMAD$ ،  $TGF\beta$  قادر به انتقال پیام‌هایش از طریق مسیر پیام‌رسان پروتئین کیناز B و PI3K نیز است که تمامی این مسیرهای پیام‌رسانی به هم متصل‌اند (۲۷).

### 1. Thrombospondin



از دیگر نتایج پژوهش حاضر، افزایش بیان ژن اینتگرین و کاهش بیان پروتئین اینتگرین پس از هشت هفته تمرین استقامتی در گروه ED در مقایسه با گروه D بود که نشان می‌دهد، تغییرات بیان ژن اینتگرین با تغییرات بیان ژن و پروتئین TGF $\beta$  در بافت کبد در یک راستاست، اما به نظر می‌رسد تغییرات پروتئین اینتگرین مستقل از تغییرات TGF $\beta$  است. بیان TGF- $\beta$ 1 تحت کنترل فاکتورهای مختلفی از قبیل فولستاتین و میوستاتین است. اینتگرین‌ها می‌توانند TGF $\beta$  را از مسیر متصل به ECM و مرتبط با اکتین آزد کنند و باعث ایجاد تغییر ساختاری در اسکلت سلول شوند که به پیش‌ارسال TGF $\beta$  فعال در گیرنده‌های آن منجر می‌شود. علاوه بر این، فعال شدن TGF $\beta$  به avb6 و RHOA/RHO کیناز بستگی دارد (۲۸). پس از شناسایی توسط vb6، چندین منطقه در LAP/ TGF $\beta$  برای ایجاد ثبات این مسیر همکاری می‌کنند (۲۹). علاوه بر این، آزاد شدن TGF $\beta$  از ECM به ویژگی‌های مکانیکی ماتریکس بستگی دارد و ماتریکس‌ها به‌طور سختگیرانه آستانه فعال‌سازی TGF $\beta$  را کاهش می‌دهند (۳۰)؛ این در حالی است که در مطالعات اخیر از تمرین نیز به‌عنوان عاملی اثرگذار بر TGF- $\beta$ 1 نام برده شده است. مطالعات نشان می‌دهد، تمرینات استقامتی سطوح سرمی TGF- $\beta$ 1 را در مقایسه با حالت استراحت افزایش می‌دهد (۳۱). همسو با نتایج پژوهش حاضر، مطالعات نشان می‌دهد، بیان ژن TGF- $\beta$ 1 تحت تأثیر فاکتورهای مختلفی است که انجام تمرینات طولانی مدت باعث افزایش درخور توجه mRNA TGF- $\beta$ 1 شده است، اما سطح پروتئین آن کاهش داشته است (۳۲). افزایش استرس اکسیداتیو از طریق افزایش بیان ژن NADPH اکسیداز و کاهش فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز، بیان TGF- $\beta$ 1 را افزایش می‌دهد. انجام تمرینات استقامتی هوازی مانند تمرین دویدن شامل سه بار در هفته و به مدت‌های ۳۰ یا ۶۰ دقیقه اثرات درخور توجهی بر کاهش مقادیر پلاسمایی MMP-2 و TGF- $\beta$ 1 در رت‌های مبتلا به نفروپاتی داشته است (۳۳). فاکتور رشد TGF $\beta$ 2 در پاسخ به ورزش از بافت چربی نیز ترشح می‌شود و تحمل گلوکز را بهبود می‌بخشد و می‌توان از مجموع این یافته‌ها چنین برداشت کرد که ایزوفرم‌های مختلف TGF $\beta$  در بافت‌های مختلف بدن عملکرد متفاوتی دارند و در شرایط و بیماری‌های مختلف نیز تغییر می‌کنند. نتایج پژوهش حاضر نشان می‌دهد، دیابت بیان پروتئین TGF $\beta$  در بافت کبد را افزایش داده و بیان پروتئین اینتگرین را کاهش می‌دهد که با توجه به ارتباطاتی که بین این متغیر ذکر شد، احتمالاً TGF $\beta$  با واسطه‌هایی باعث سرکوب اینتگرین می‌شود.

از قوت‌های پژوهش حاضر، بررسی روند تغییرات TGF $\beta$  و اینتگرین در اثر تمرین استقامتی در رت‌های سالم و در رت‌های مبتلا به دیابت در بافت کبد بود. در پژوهش حاضر امکان سنجش SMAD





و ECM فراهم نشد، ولی در مطالعات آینده در صورت بررسی سایر میانجی‌های درگیر در این مسیر همچون mTOR، AKT و AHR در کنار این مسیر، احتمالاً نتایج درخور توجهی در شناخت و بهبود بیماری دیابت حاصل خواهد شد.

در نتیجه‌گیری پژوهش باید گفت، ابتلا به دیابت، TGF $\beta$  را افزایش داده و اینتگرین را کاهش می‌دهد. تمرین استقامتی TGF $\beta$  را کاهش داده و اینتگرین را افزایش می‌دهد و به نظر می‌رسد می‌تواند بر بهبود روند بیماری دیابت اثرگذار باشد، اما این تغییرات قادر نیست شرایط دیابت را به حالت طبیعی برگرداند و استفاده از روش‌های درمانی دیگر در این زمینه ضروری به نظر می‌رسد. تمرین استقامتی با شدت متوسط به زیاد به تنهایی قادر به تغییرات مؤثر در بافت کبد نیست؛ بنابراین لازم است درباره روش‌های تمرینی دیگر با شدت‌های متفاوت به‌همراه سایر روش‌های درمانی دیگر، تحقیق و بررسی انجام شود.

### پیام مقاله

در بیماری دیابت مسیرهای پیام‌رسان مرتبط با TGF $\beta$  و اینتگرین دستخوش تغییرات اساسی می‌شود که تمرین هوازی تاحدودی می‌تواند آن را به شرایط طبیعی نزدیک کند، اما قادر به درمان کامل آن نیست و استفاده از روش‌های کمک‌درمانی دیگر نیز ضروری است.

### تشکر و قدردانی

این مقاله برگرفته از پایان‌نامه کارشناسی‌ارشد در دانشگاه سمنان است. نویسندگان مقاله از شرکت بافت و ژن پاسارگارد به‌علت انجام امور آزمایشگاهی و حمایت‌هایشان سپاس و قدردانی فراوان می‌کنند.

### منابع

1. Rhee EJ. Nonalcoholic fatty liver disease and diabetes: an epidemiological perspective. *Endocrinol Metab (Seoul)*. 2019;34(3):226-33.
2. Gilani N, Kazemnejad A, Zayeri F, Hadaegh F, Azizi F, Khalili D. Anthropometric indices as predictors of coronary heart disease risk: Joint modeling of longitudinal measurements and time to event. *Iran J Public Health*. 2017;46(11):1546. (In Persian).
3. Singh AK, Kumar A, Haque S. Nonalcoholic Fatty liver disease: evidence-based management. *Int J Biol Med Res*. 2015;6(2):5035-42.
4. Gawrieh S. Nonalcoholic fatty liver disease. In: *Liver disorders*. Cham: Springer; 2017. pp. 199-216.



5. Seyedrezazadeh E, Faramarzi E, Bakhtiyari N, Ansarin A, Gilani N, Amiri-Sadeghan A, et al. Association of NOS3-c.894G>T transversion with susceptibility to metabolic syndrome in Azar-cohort population: a case-control study and in silico analysis of the SNP molecular effects. *Iran J Basic Med Sci.* 2021;24(3):408-419.
6. Zhao M, Mishra L, Deng CX. The role of TGF- $\beta$ /SMAD4 signaling in cancer. *Int J Biol Sci.* 2018;14(2):111-23.
7. Heydarpour F, Sajadimajd S, Mirzarazi E, Haratipour P, Joshi T, Farzaei MH, et al. Involvement of TGF- $\beta$  and autophagy pathways in pathogenesis of diabetes: a comprehensive review on biological and pharmacological insights. *Front Pharmacol.* 2020;11:498758.
8. Chen G, Han G, Wang J, Wang R, Xu R, Shen B, et al. Essential roles of TGF-beta in anti-CD3 antibody therapy: reversal of diabetes in nonobese diabetic mice independent of Foxp3+CD4+ regulatory T cells. *J Leukoc Biol.* 2008; 83(2):280-7.
9. Ozaki I, Hamajima H, Matsuhashi S, Mizuta T. Regulation of TGF- $\beta$ 1-induced proapoptotic signaling by growth factor receptors and extracellular matrix receptor integrins in the liver. *Front Physiol.* 2011;2:78.
10. Li J, Chen K, Li S, Feng J, Liu T, Wang F, et al. Protective effect of fucoidan from *Fucus vesiculosus* on liver fibrosis via the TGF- $\beta$ 1/Smad pathway-mediated inhibition of extracellular matrix and autophagy. *Drug Des Devel Ther.* 2016;10:619-30.
11. Fabregat I, Caballero-Díaz D. Transforming growth factor- $\beta$ -induced cell plasticity in liver fibrosis and hepatocarcinogenesis. *Front Oncol.* 2018;8:357.
12. Lilja J, Ivaska J. Integrin activity in neuronal connectivity. *J Cell Sci.* 2018;131(12):jcs212803.
13. Arous C, Wehrle-Haller B. Role and impact of the extracellular matrix on integrin-mediated pancreatic  $\beta$ -cell functions. *Biol Cell.* 2017;109(6):223-37.
14. Beaudoin MS, Snook LA, Arkell AM, Stefanson A, Wan Z, Simpson JA, Holloway GP, Wright DC. Novel effects of rosiglitazone on SMAD2 and SMAD3 signaling in white adipose tissue of diabetic rats. *Obesity (Silver Spring).* 2014;22(7):1632-42.
15. Kim J-H, Shim C-S, Won J-Y, Park Y-J, Park S-K, Kang J-S, et al. Molecular analysis of growth factor and clock gene expression in the livers of rats with streptozotocin-induced diabetes. *Reproductive and Developmental Biology.* 2009;33(3):163-9.
16. Silva K, de Alcantara Santos R, Arlotti M, Jorge L, da Silva Luiz R, Rosseto R. Progressive resistance exercise training attenuated renal damages, but did not improve muscle force in STZ-induced diabetic rats. *J Diabetes Metab.* 2014;5(461):2.
17. Wenbin Z, Guojun G. Resveratrol ameliorates diabetes-induced renal damage through regulating the expression of TGF- $\beta$ 1, collagen IV and Th17/Treg-related cytokines in rats. *West Indian Med J.* 2014;63(1):20-5.
18. Regouski M, Galenko O, Doleac J, Olsen AL, Jacobs V, Liechty D, et al. Spontaneous atrial fibrillation in transgenic goats with TGF (transforming growth factor)- $\beta$ 1 induced atrial myopathy with endurance exercise. *Circulation: Arrhythmia and Electrophysiology.* 2019;12(11):e007499.



19. Furman BL. Streptozotocin-induced diabetic models in mice and rats. *Curr Protoc Pharmacol.* 2015;70:5.47.1-5.47.20. .
20. Haghshenas R, Jafari M, Ravasi A, Kordi M, Gilani N, Shariatzadeh M, et al. The effect of eight weeks endurance training and high-fat diet on appetite-regulating hormones in rat plasma. *Iran J Basic Med Sci.* 2014;17(4):237-43.
21. Haghshenas R, Gilani N, Jafari M. Effect of 16 weeks endurance training and high fat diet on plasma level of interleukins-6, 10 and nesfatin-1 of rats. *Sport Physiol.* 2015;6(24):49-61. (In Persian).
22. Haghshenas R, Ravasi A, Kordi M, Hedayati M, Shabkhiz F, Mohammad Shariatzadeh M. The effect of a 12-week endurance training on IL-6, IL-10 and Nesfatin-1 Plasma level of obese male rats. *Sport Biosciences.* 2013;5(4):109-22. (In Persian).
23. Guzzoni V, Ribeiro MB, Lopes GN, de Cássia Marqueti R, de Andrade RV, Selistre-de-Araujo HS, et al. Effect of resistance training on extracellular matrix adaptations in skeletal muscle of older rats. *Front Physiol.* 2018;9:374.
24. Aihara K, Ikeda Y, Yagi S, Akaike M, Matsumoto T. Transforming growth factor- $\beta$ 1 as a common target molecule for development of cardiovascular diseases, renal insufficiency and metabolic syndrome. *Cardiol Res Pract.* 2010; 2011:175381.
25. Dewidar B, Meyer C, Dooley S, Meindl-Beinker AN. TGF- $\beta$  in hepatic stellate cell activation and liver fibrogenesis-updated 2019. *Cells.* 2019; 8(11):1419.
26. Derynck R, Budi EH. Specificity, versatility, and control of TGF- $\beta$  family signaling. *Sci Signal.* 2019;12(570):eaav5183.
27. Carthy JM. TGF $\beta$  signaling and the control of myofibroblast differentiation: implications for chronic inflammatory disorders. *J Cell Physiol.* 2018;233(1):98-106.
28. Robertson IB, Rifkin DB. Regulation of the bioavailability of TGF- $\beta$  and TGF- $\beta$ -related proteins. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2016;8(6):a021907.
29. Dong X, Zhao B, Iacob RE, Zhu J, Koksai AC, Lu C, et al. Force interacts with macromolecular structure in activation of TGF- $\beta$ . *Nature.* 2017;542(7639):55-9. .
30. Klingberg F, Chau G, Walraven M, Boo S, Koehler A, Chow ML, et al. The fibronectin ED-A domain enhances recruitment of latent TGF- $\beta$ -binding protein-1 to the fibroblast matrix. *J Cell Sci.* 2018;131(5):jcs201293.
31. Rezaeian N, Ravasi AA, Soori R, Akbatnezhad A, Mir Shafiey SA, Towfighi Zavare F. Effect of one session of aerobic training on serum levels of adipolin and some inflammatory factors in postmenopausal women. *Sport Physiology.* 2016;8(32):49-66. (In Persian).
32. D'Souza D, Roubos S, Larkin J, Lloyd J, Emmons R, Chen H, et al. The late effects of radiation therapy on skeletal muscle morphology and progenitor cell content are influenced by diet-induced obesity and exercise training in male mice. *Sci Rep.* 2019;9(1):6691.
33. Sparks LM. Exercise training response heterogeneity: physiological and molecular insights. *Diabetologia.* 2017;60(12):2329-36.



**استناد به مقاله**

لطیف محمد علی، حق شناس روح الله. تأثیر تمرین استقامتی بر بیان ژن و پروتئین فاکتور رشد تغییر شکل دهنده بتا و اینتگرین کبد رت های نر مبتلا به دیابت. فیزیولوژی ورزشی. پاییز ۱۴۰۱؛ ۱۴(۵۵): ۵۰-۱۳۱. شناسه دیجیتال: 10.22089/SPJ.2022.11166.2156

A. L. Mohammed, R. Haghshenas. The Effect of Endurance Training on Gene and Protein Expression of TGF $\beta$  and Integrin in the Liver of Male Rat Diabetic. Fall 2022; 14(55): 131-50. (In Persian). Doi: 10.22089/SPJ.2022.11166.2156

