

Original Article

**The Effect of High-Intensity Interval Training and Royal Jelly on Glucose, Insulin Levels, and Expression of *ELMO1* and *TGF-β* Genes in the Kidney of Rats with Type 2 Diabetes**

Masoumeh Zhalechin<sup>1</sup>, Hossein Abednatanzi<sup>1\*</sup>, Shahram Soheily<sup>2</sup>, Farshad Ghazalian<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Department of Physical Education and Sport Sciences, SR.C., Islamic Azad University, Tehran, Iran

<sup>2</sup> Department of Physical Education and Sport Sciences, Shahr-e-Qods Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

**\*Corresponding author:** Hossein Abednatanzi, Department of Physical Education and Sport Sciences, SR.C., Islamic Azad University, Tehran, Iran. Email: [abednatanzi@iau.ir](mailto:abednatanzi@iau.ir)

DOI: [10.22034/nkums.18.1.49](https://doi.org/10.22034/nkums.18.1.49)

**How to Cite this Article:**

Zhalechin M, Abednatanzi H, Soheily Sh, Ghazalian F. The Effect of High-Intensity Interval Training and Royal Jelly on Glucose, Insulin Levels, and Expression of *ELMO1* and *TGF-β* Genes in the Kidney of Rats with Type 2 Diabetes. *J North Khorasan Univ Med Sci.* 2026;18(1): 49-58. DOI: [10.22034/nkums.18.1.49](https://doi.org/10.22034/nkums.18.1.49)

**Received:** 26 October 2025

**Accepted:** 06 December 2025

**Keywords:**

Diabetes  
Exercise  
Kidney  
Nephropathy  
Royal Jelly

**Abstract**

**Introduction:** This study investigates the effects of high-intensity interval training and royal jelly (RJ) interventions, separately and in combination, on glucose, insulin levels, and expression of *ELMO1* and *TGF-β* genes in the kidney tissue of rats with type 2 diabetes.

**Methods:** In this experimental study, type 2 diabetes was induced by a high-fat diet with STZ injection for 20 weeks. Then, the rats were randomly divided into 4 groups: type 2 diabetes (DI), type 2 diabetes+ high-intensity interval training (DI + HIIT), type 2 diabetes+ royal jelly (DI + RJ), and type 2 diabetes+ high-intensity interval training + royal jelly (DI + HIIT + RJ). The supplemented groups were given RJ at a dose of 100 mg/kg, 5 days a week. The exercise program consisted of eight weeks of HIIT training, five sessions per week. At the end of the study, the mice were sacrificed, and kidney tissue was removed for measurement of *TGF-β* and *ELMO1* gene expression.

**Results:** *ELMO1* gene expression in the kidney was significantly increased in all treatment groups, compared to the diabetes group ( $P < 0.05$ ). Moreover, *TGF-β* gene expression in the kidney was significantly decreased in all treatment groups, compared to the diabetes group ( $P < 0.0001$ ), with the decrease in *TGF-β* being significant in the combined treatment group (DI+HIIT+RJ).

**Conclusions:** It seems that HIIT and RJ interventions, both individually and in combination, can have beneficial effects in diabetic conditions by improving glucose profiles and modulating the expression of key genes associated with kidney damage (*ELMO1* and *TGF-β*), without significant effects on body weight.



## تأثیر تمرین تناوبی با شدت بالا و ژل رویال بر سطوح گلوکز، انسولین و بیان ژن‌های *TGF-β* و *ELMO1* در کلیه‌رت‌های مبتلا به دیابت نوع ۲

معصومه ژاله‌چین<sup>۱</sup> , حسین عابدنطنزی<sup>۱\*</sup> , شهرام سهیلی<sup>۲</sup> , فرشاد غزالیان<sup>۱</sup> 

۱. گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۲. گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد شهر قدس، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

\* نویسنده مسئول: حسین عابدنطنزی، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

ایمیل: abednatanzi@iau.ir

DOI: 10.22034/nkums.18.1.49

<b>چکیده</b>	تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۸/۰۴ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۹/۱۵
<b>مقدمه:</b> این مطالعه به بررسی تأثیر مداخلات تمرین تناوبی با شدت بالا و ژل رویال (RJ) به صورت مجزا و ترکیبی بر سطوح گلوکز، انسولین و بیان ژن‌های <i>TGF-β</i> و <i>ELMO1</i> در بافت کلیه‌رت‌های مبتلا به دیابت نوع ۲ می‌پردازد.	<b>واژگان کلیدی:</b> دیابت ژل رویال کلیه نفروپاتی، ورزش
<b>روش کار:</b> در این مطالعه تجربی دیابت نوع ۲ به مدت ۲۰ هفته با رژیم غذایی پرچرب با تزریق STZ القا شد. سپس، موش‌ها به‌طور تصادفی به ۴ گروه دیابت نوع ۲ (DI)، دیابت نوع ۲+تمرین تناوبی با شدت بالا (DI+ HIIT)، دیابت نوع ۲+ ژل رویال (RJ+DI) و دیابت نوع ۲+تمرین تناوبی با شدت بالا+ ژل رویال (DI+ HIIT+ RJ) تقسیم شدند. به گروه‌های مکمل، ژل رویال با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، ۵ روز در هفته داده شد. برنامه ورزشی شامل هشت هفته تمرین HIIT، پنج جلسه در هفته بود.	
<b>یافته‌ها:</b> بیان ژن <i>ELMO1</i> در کلیه در تمام گروه‌های درمانی در مقایسه با گروه دیابت به‌طور معنی‌داری افزایش یافت ( $P < 0/05$ ). بیان ژن <i>TGF-β</i> در کلیه تمام گروه‌های درمانی در مقایسه با گروه دیابت به‌طور معنی‌داری کاهش یافت ( $P < 0/0001$ ) که کاهش سطح بیان <i>TGF-β</i> در گروه درمان ترکیبی (DI+HIIT+RJ) قابل توجه بود.	
<b>نتیجه‌گیری:</b> به نظر می‌رسد مداخلات HIIT و ژل رویال، هم به‌صورت مجزا و هم ترکیبی، می‌توانند با بهبود پروفایل گلوکز و تعدیل بیان ژن‌های کلیدی مرتبط با آسیب کلیوی ( <i>TGF-β</i> و <i>ELMO1</i> )، اثرات مفیدی در شرایط دیابت داشته باشند، بدون اینکه تأثیر معنی‌داری بر وزن بدن بگذارند.	

### مقدمه

فعال‌شدن پروتئین کیناز C، که همه آنها در التهاب و فیبروز دخیل هستند [۴].  
واسطه اصلی فیبروز کلیوی در بیماری کلیوی دیابتی، فاکتور رشد تغییرشکل‌دهنده بتا (*TGF-β*) است [۵]. این سایتوکاین به‌طور واضح به‌عنوان تنظیم‌کننده اصلی فرایندهای پاتولوژیکی که منجر به تجمع ماتریکس خارج سلولی و گلومرولواسکلروز می‌شوند، شناخته شده است [۶]. در محیط دیابتی، گلوکز بالا، محصولات نهایی گلیکاسیون پیشرفته و آنژیوتانسین II می‌توانند به‌طور قوی بیان *TGF-β* را القا کنند [۷]. پس از فعال‌شدن، *TGF-β* سنتز اجزای کلیدی ماتریکس مانند کلاژن و فیبرونکتین را توسط سلول‌های مزانشیال افزایش می‌دهد، درحالی‌که هم‌زمان تخریب آنها را مهار می‌کند و در نتیجه تعادل ظریف معماری بافت کلیه را مختل می‌کند. نقش محوری *TGF-β* هم در مدل‌های تجربی و هم در بیماری کلیوی دیابتی انسان نشان داده شده است که آن را به یک هدف درمانی اصلی برای قطع آبشار فیبروتیک در نفروپاتی دیابتی تبدیل می‌کند [۸].

دیابت شیرین (DM) یک چالش بزرگ جهانی برای سلامت بوده که با هیپرگلیسمی مزمن ناشی از نقص در ترشح انسولین، عملکرد انسولین یا هر دو مشخص می‌شود. قرارگرفتن طولانی‌مدت در معرض سطوح بالای گلوکز خون، عامل اصلی عوارض میکروواسکولار و ماکروواسکولار است که از علل اصلی بیماری و مرگ‌ومیر در بیماران دیابتی هستند [۱]. در میان این عوارض، نفروپاتی دیابتی (DN) به‌عنوان یکی از آسیب‌های جدی به بافت کلیه مطرح است [۲]. پیشرفت پاتولوژیک نفروپاتی دیابتی شامل تعامل پیچیده‌ای از عوامل همودینامیک و متابولیک است که منجر به هیپرتروفی گلومرولی، تجمع ماتریکس خارج سلولی، آسیب پودوسیت‌ها، فیبروز توبولواینترستیشیال و در نهایت کاهش پیش‌رونده در میزان فیلتراسیون گلومرولی می‌شود [۳]. مکانیسم‌های پیچیده سلولی که زیربنای این آسیب هستند هنوز به‌طور کامل روشن نشده‌اند، اما مشخص شده است که هیپرگلیسمی مداوم چندین مسیر حیاتی را فعال می‌کند، از جمله تولید محصولات نهایی گلیکاسیون پیشرفته، افزایش جریان پلیول و هگزوزامین و

درحالی که فواید فردی ورزش و ژل رویال در حال آشکارتر شدن است، اثر ترکیبی آنها، به ویژه بر اهداف مولکولی خاص در کلیه، تا حد زیادی ناشناخته باقی مانده است. بیشتر تحقیقات بر پارامترهای سیستمیک مانند گلوکز خون متمرکز شده‌اند و در درک ما از چگونگی تأثیر مستقیم این مداخلات بر چشم‌انداز بیان ژن بافت کلیه در دیابت شکافی ایجاد می‌کنند. با توجه به نقش‌های شناخته‌شده  $TGF-\beta$  در فیبروز و  $ELMO1$  در التهاب و حساسیت ژنتیکی، بررسی تعدیل آنها توسط HIIT و ژل رویال بسیار مرتبط است. بنابراین، این مطالعه برای ارزیابی اثرات فردی و ترکیبی یک پروتکل هشت‌هفته‌ای HIIT و مکمل ژل رویال بر سطح گلوکز و انسولین سرم و همچنین بیان کلیوی ژن‌های  $TGF-\beta$  و  $ELMO1$  در مدل موش صحرایی مبتلا به بیماری کلیوی دیابتی طراحی شده است. فرض بر این است که این مداخلات با بهبود پارامترهای متابولیک و تعدیل مطلوب بیان این ژن‌های کلیدی دخیل در فیبروز و التهاب کلیوی، اثرات محافظتی کلیوی ایجاد می‌کنند.

## روش کار

### حیوانات

جامعه آماری این پژوهش را موش‌های نر نژاد ویستار با سن ۴ تا ۶ هفته تشکیل دادند. حیوانات از مؤسسه رویان (ایران) تهیه و در حیوان‌خانه دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات (تهران، ایران) نگهداری شدند. میانگین وزن موش‌ها در آغاز مطالعه  $170 \pm 30$  گرم بود. پس از دو هفته سازگاری با محیط و رسیدن به وزن  $193 \pm 20$  گرم، رژیم غذایی پرچرب برای آنان در نظر گرفته شد. شرایط نگهداری تمامی موش‌ها شامل چرخه نوری کنترل‌شده (۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی)، دمای  $23 \pm 2$  درجه سانتی‌گراد و محدوده رطوبتی ۳۰ تا ۶۰ درصد بود. این مطالعه با کد اخلاق IR.IAU.SRB.REC.1402.365 در کمیته اخلاق پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تأیید شد.

### القای دیابت نوع ۲

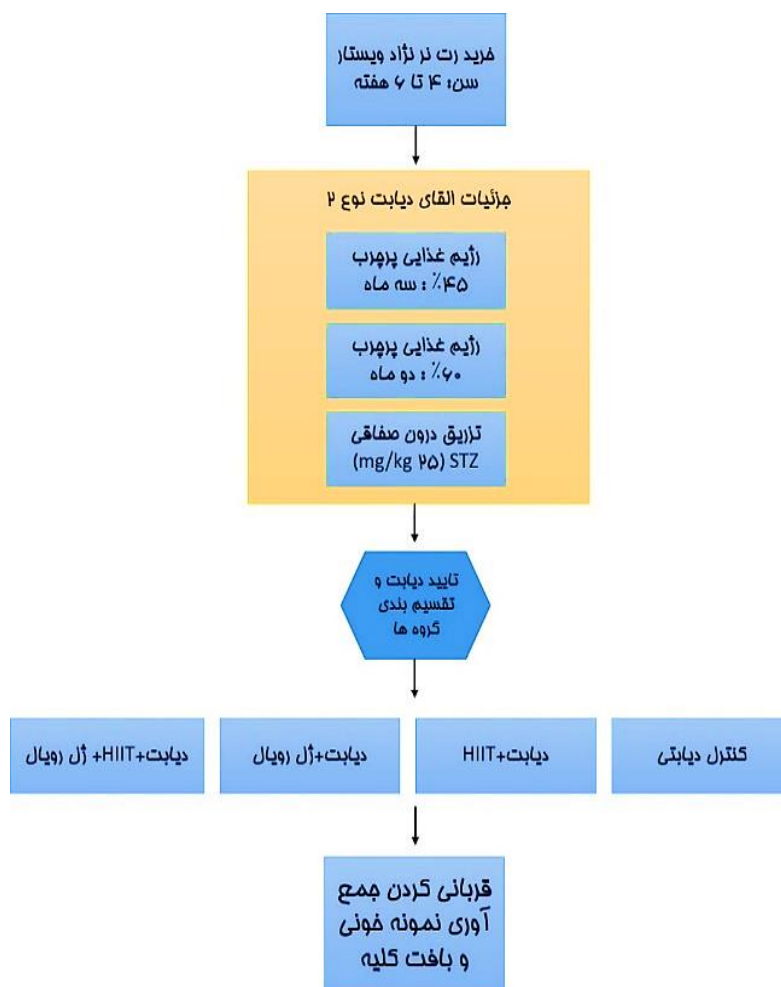
برای القای دیابت نوع ۲ از یک رژیم غذایی پرچرب به مدت ۲۰ هفته و به دنبال آن تزریق درون‌صفاقی محلول تازه تهیه‌شده STZ (سیگما آلدريج، آمریکا) در محلول سالین (با دوز ۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) استفاده شد [۲۱]. پس از دوره سازگاری موش‌ها با محیط جدید، تمامی آنان به مدت ۲۰ هفته (پنج ماه) با رژیم غذایی پرچرب تهیه‌شده در مؤسسه پژوهشی زیست‌فناوری رویان تغذیه شدند. ترکیب این رژیم به گونه‌ای بود که ۴۵ درصد از کل انرژی آن از چربی مشتق از روغن حیوانی تأمین می‌شد (شامل ۲۴ گرم چربی، ۲۴ گرم پروتئین و ۴۱ گرم کربوهیدرات در هر ۱۰۰ گرم). رژیم پرچرب ۴۵ درصد به مدت سه ماه و رژیم پرچرب ۶۰ درصد به مدت دو ماه تجویز شد. همچنین، به منظور کاهش رنج حیوانات، اقدامات لازم از جمله استفاده کمتر از شوک و تحریک، تعویض به‌موقع بستر و قفس، تأمین غذای آب در زمان مناسب، نگهداری سه تا چهار موش در هر قفس و فراهم کردن محیطی آرام و مناسب صورت پذیرفت. این اقدامات پس از افزایش وزن موش‌ها و رسیدن به میانگین وزن حدود  $409 \pm 50$  گرم نیز ادامه یافت.

فراتر از فیبروز، استعداد ژنتیکی و سیگنالینگ التهابی نابه‌طور فزاینده‌ای به‌عنوان اجزای حیاتی پاتوژنز نفروپاتی دیابتی شناخته می‌شوند. در این زمینه، ژن  $ELMO1$  (Engulfment and Cell Motility 1) به‌عنوان یک کاندیدای قوی ظهور کرده است. مطالعات ارتباط در سطح ژنوم، پلی‌مورفیسم‌های موجود در جایگاه  $ELMO1$  را به‌طور مداوم با افزایش خطر ابتلا به نفروپاتی دیابتی در جمعیت‌های مختلف مرتبط دانسته‌اند [۹].  $ELMO1$  یک پروتئین سیئوپلاسمی است که فعال‌سازی Rac و سازماندهی مجدد اسکلت سلولی را در پایین دست محرک‌های مختلف تسهیل می‌کند [۹]. اختلال در تنظیم آن در کلیه دیابتی در افزایش مهاجرت سلولی، نفوذ سلول‌های التهابی و تولید سایتوکاین‌های پیش‌التهابی نقش دارد و شرایطی را ایجاد می‌کند که منجر به آسیب پیش‌رونده کلیوی می‌شود [۱۰]. تعامل بین مسیرهای التهابی که توسط ژن‌هایی مانند  $ELMO1$  اداره می‌شوند و مسیرهای پیش‌فیبروتیک که توسط  $TGF-\beta$  هدایت می‌شوند، یک چرخه معیوب ایجاد می‌کند که آسیب کلیه را تسریع می‌بخشد [۱۱، ۱۲].

با توجه به محدودیت‌ها و عوارض جانبی درمان‌های دارویی مرسوم، علاقه روزافزونی به رویکردهای غیردارویی و مکمل برای مدیریت دیابت و عوارض آن وجود دارد. تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT)، که با تناوب کوتاه‌مدت فعالیت شدید با دوره‌های استراحت یا ورزش با شدت کم مشخص می‌شود، به دلیل اثرات قوی خود بر سلامت متابولیک، شهرت یافته است. در برخی مطالعات نشان داده شده است که HIIT کنترل قندخون را بهبود می‌بخشد، حساسیت به انسولین را افزایش می‌دهد و عوامل خطر قلبی-عروقی را به‌طور مؤثرتری نسبت به تمرین مداوم با شدت متوسط کاهش می‌دهد [۱۳]. در جهت اهداف این پژوهش، شواهد موجود از مطالعات پیشین حاکی از آن است که مداخلات غیردارویی می‌توانند مسیرهای مولکولی کلیدی درگیر در نفروپاتی دیابتی را تحت تأثیر قرار دهند. به‌عنوان مثال، در مطالعه‌ای توسط لین و همکاران (۲۰۲۱) نشان داده شد ورزش منظم می‌تواند سطح سایتوکاین‌های التهابی سرم را کاهش داده و از تغییرات غیرطبیعی در ساختارهای کلیوی با کنترل فیبروز و فاکتورهای دخیل در فیبروز جلوگیری کند [۱۴]. هم‌سو با این یافته، صابری و همکاران (۲۰۲۴) گزارش کردند که تمرین ورزشی با کاهش فتوئین-A، استرس اکسیداتیو و التهاب در موش‌های صحرایی دیابتی نوع ۲، آسیب کلیوی دیابتی را بهبود می‌بخشد [۱۵]. مطالعات اخیر از جمله پژوهش‌های یو و همکاران (۲۰۲۳) و لیوا و همکاران (۲۰۲۱) نیز به‌طور قوی از برتری HIIT در بهبود شاخص‌های التهابی، گلیسمی و پروفایل لیپیدی در مقایسه با ورزش‌های هوازی سنتی حمایت می‌کنند [۱۶، ۱۷]. هم‌زمان، محصولات طبیعی با خواص زیست‌فعال ادعا شده در حال بررسی هستند. ژل رویال (RJ)، ترشحاتی از زنبورهای عسل، ماده‌ای پیچیده و غنی از پروتئین‌ها، اسیدهای چرب و ویتامین‌ها است که اثرات ضدقندخون، ضدالتهابی و آنتی‌اکسیدانی را در مدل‌های تجربی مختلف نشان داده است که نشان‌دهنده پتانسیل آن برای کاهش عوارض دیابت است [۱۸]. شواهد موجود در ادبیات پژوهشی، همچون مطالعات یانگ و همکاران (۲۰۲۱) و محمد و همکاران (۲۰۲۲)، مکانیسم‌های مولکولی مربوط به اثرات هیپوگلیسمی و محافظت از سلول‌های بتای پانکراس توسط ژل رویال را بیشتر تبیین کرده‌اند [۱۹، ۲۰].

انجام کار، به‌طور تصادفی از ۱۰ موش خون‌گیری کردیم و مقادیر گلوکز، انسولین و شاخص مقاومت به انسولین آنان اندازه‌گیری شد. پس از تأیید نهایی دیابت، حیوانات به ۴ گروه تقسیم شدند: گروه کنترل دیابتی، گروه دیابت + تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT)، گروه دیابت + ژل رویال و گروه دیابت + HIIT + ژل رویال. در شکل ۱ دیباگرام طرح مطالعه نیز ترسیم شده است.

یک هفته پس از اتمام دوره القا، قندخون ناشتا اندازه‌گیری شد. بدین منظور، برشی کوچک در دم موش ایجاد و قطره‌ای خون روی نوار گلوکومتر قرار داده شد و مقدار آن با دستگاه گلوکومتر (راش، آلمان) خوانده شد. محدوده قندخون بین ۱۵۰ تا ۴۰۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر به‌عنوان معیار استاندارد برای اطمینان از ابتلای موش‌ها به دیابت در نظر گرفته شد. برای اطمینان بیشتر از دیابتی‌شدن موش‌ها و صحت



شکل ۱. طرح مطالعه، القای دیابت و گروه‌بندی

هفته با افزایش تدریجی در فواصل با شدت بالا (از ۲۲ تا ۳۸ متر در دقیقه معادل ۸۰ تا ۹۰ درصد  $VO_{2max}$ ) و فواصل استراحت با سرعت ۱۶ تا ۲۲ متر در دقیقه (معادل ۵۰ تا ۵۶ درصد  $VO_{2max}$ ) و به مدت ۱۵ تا ۳۴ دقیقه، به شکل دویدن روی نوارگردان (مدل تخشا از شرکت مهندسی پیشرو اندیشه صنعت) بود، به‌طوری‌که مدت زمان دویدن از ۱۶ دقیقه در هفته اول به ۳۴ دقیقه در هفته هشتم افزایش یافت. یک هفته قبل از شروع پروتکل اصلی، موش‌ها به مدت سه روز در هفته بر روی نوارگردان با سرعت پنج متر در دقیقه و بدون شیب به مدت ۱۰، ۱۲ و ۱۵ دقیقه راه رفتند. گروه کنترل نیز در طول دوره پروتکل به همین شکل روی نوارگردان راه می‌رفتند. حداکثر سرعت دویدن موش‌ها با استفاده از پروتکل ردیگوئز و همکاران (۲۰۰۷) تعیین شد [۲۴]. برای سنجش حداکثر مصرف اکسیژن ( $VO_{2max}$ ) و به‌دلیل دسترسی‌نداشتن به ابزارهای مستقیم (مانند تحلیل گر گازهای تنفسی) و با استناد به تحقیقات پیشین، از یک پروتکل غیرمستقیم با دقت بالا

## ژل رویال

در طول دوره تحقیق به موش‌های گروه‌های ژل رویال و گروه ترکیبی (ژل رویال و تمرین)، ژل رویال (۱۸ کروموزومی) با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، که در آب مقطر رقیق شده بود، به روش گاوژ و در ۵ روز از هفته داده شد [۲۲، ۲۳]. ژل رویال حاوی مقادیر فراوانی از ترکیبات فنلی از خانواده فلاونوئیدها است که مهم‌ترین آنها شامل کوئرستین، کامپفرول، آپیژنین و لوتئولین می‌باشد. ژل رویال استفاده‌شده آنالیز شد و در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد به‌صورت سرد نگهداری می‌شد و طی فرایند گاوژ مطابق با دوز مورد نیاز و براساس پروتکل مرجع، در آب مقطر حل می‌شد.

## برنامه تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT)

برنامه تمرینی شامل هشت هفته تمرین HIIT، پنج جلسه در

محلول حاصل به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۱۲۰۰۰ rpm سانتریفیوژ (اپندورف، آلمان) شد. مایع شفاف رویی حاوی RNA به آرامی برداشته شد و در یک میکروتیوب حاوی DEPC قرار داده شد. ۱ میلی‌لیتر ایزوپروپانول به RNA شفاف اضافه و به مدت ۱ دقیقه به صورت دستی مخلوط شد. نمونه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۱۲۰۰۰ rpm سانتریفیوژ شدند. سپس، سوپرناتانت دور ریخته شد و ۱ میلی‌لیتر اتانول ۷۰ درصد به رسوب اضافه کردیم. پس از ورتکس، مخلوط به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۷۵۰۰ rpm سانتریفیوژ شد، سوپرناتانت تخلیه و پلاک درون میکروتیوب خشک شد. ۲۰ میکرولیتر آب مقطر ۶۰ درجه سانتی‌گراد به پلاک اضافه و به مدت ۵ دقیقه روی صفحه ۶۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. پس از استخراج RNA با خلوص و غلظت بالا از تمامی نمونه‌های مورد مطالعه، مراحل سنتز cDNA مطابق با دستورالعمل شرکت سازنده (فرمنتاس، آمریکا) انجام و سپس cDNA سنتز شده برای انجام واکنش رونویسی معکوس استفاده شد.

اندازه‌گیری سطح بیان ژن‌های *ELMO1* و *TGF-β* در کلیه به روش کمی Real-time PCR صورت گرفت. پرایمرها براساس اطلاعات ژن‌های *ELMO1* و *TGF-β* در بانک ژن NCBI توسط شرکت ماکروژن (کره جنوبی) طراحی شدند. از ژن گلیسرآلدئید-۳-فسفات دهیدروژناز (*GAPDH*) به عنوان ژن کنترل استفاده کردیم و سطح بیان ژن مورد نظر با فرمول شماره ۲ ( $2^{-\Delta\Delta Ct}$ ) به صورت زیر محاسبه شد:

در مرحله اول، سیکل آستانه (Ct) ژن هدف از هر نمونه، از سیکل آستانه ژن خانه‌برداری (Housekeeping) همان نمونه کسر شد.  
 $\Delta Ct = Ct (\text{Target}) - Ct (\text{Housekeeping})$   
 در مرحله بعد،  $\Delta Ct$  هر نمونه از  $\Delta Ct$  نمونه مرجع (Reference) کسر شد و عدد منفی به دست آمده به توان دو رسانده شد و بیان نسبی ژن‌های *ELMO1* و *TGF-β* به دست آمد.  
 فرمول شماره ۲:

$$\text{Relative Expression} = 2^{-\Delta\Delta Ct}$$

$$\Delta\Delta Ct = \Delta Ct (\text{Target}) - \Delta Ct (\text{Reference})$$

توالی پرایمرهای مورد استفاده در جدول ۱ گزارش شده است.

جدول ۱. توالی پرایمرهای استفاده شده در پژوهش

Gene	Sequence	Product length	Accession number
Rattus norvegicus glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase ( <i>GAPDH</i> )	Forward: CAAGTTC AACGGCAGTCA Reverse: CCCCATTTGATGTTAGCGGG	102 nt	NM_017008.4
transforming growth factor, beta 1 ( <i>TGF-β</i> )	Forward: CGCCTGCAGAGATTCAAGTC Reverse: GCCCTGTATTCCGCTCCTT	183nt	
Rattus norvegicus engulfment and cell motility 1 ( <i>Elmo1</i> )	Forward: CTGCCCATATTTGCTCACC Reverse: GGACCAAAGCAAGCCAAGG	199 nt	NM_001395578.1

## یافته‌ها

### وزن بدن

در شکل ۲ تغییرات وزن بدن حیوانات در گروه‌های مختلف پژوهش نشان داده شده است. براساس نتایج آزمون آماری آنوای یک‌طرفه مشخص شد بین گروه‌های مختلف تحقیق در متغیر وزن بدن تفاوت معنی‌داری وجود ندارد ( $P = 0.1512$  و  $F = 1/926$ ).

استفاده شد؛ بدین ترتیب که هر دو هفته یک‌بار، پس از گرم کردن پنج دقیقه‌ای، موش دویدن را با سرعت ۱۰ متر در دقیقه آغاز می‌کرد، سپس به مدت دو دقیقه با سرعت ۱۵ متر در دقیقه دویده و هر سه دقیقه، سرعت به میزان سه متر در دقیقه افزایش می‌یافت تا زمانی که حیوان قادر به ادامه نبود و بر روی بخش شوک‌دهنده باقی می‌ماند و به حالت خستگی می‌رسید. این سرعت به عنوان حداکثر سرعت آن موش در نظر گرفته شده و برای شدت تمرینی بین ۸۰ تا ۹۵ درصد استفاده شد.

### اندازه‌گیری‌های آزمایشگاهی

۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی و پس از ۱۲ ساعت ناشتایی، موش‌ها تحت بی‌هوشی با اتر و در شرایط عاری از درد و بدون اختلالات دردناک و مزمن، بی‌هوش و قربانی شده و از قلب آنان خون‌گیری به عمل آمد و سپس نمونه‌برداری بافتی انجام شد. نمونه‌های خون در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد ذخیره شدند. گلوکز با دستگاه اتوآنالایزر (هوفمان-لا روش، آلمان) و انسولین با کیت ویژه شرکت پارس‌آزمون اندازه‌گیری شد. شاخص مقاومت به انسولین (HOMA-IR) (IR) با فرمول شماره ۱ محاسبه شد:  
 فرمول شماره ۱:

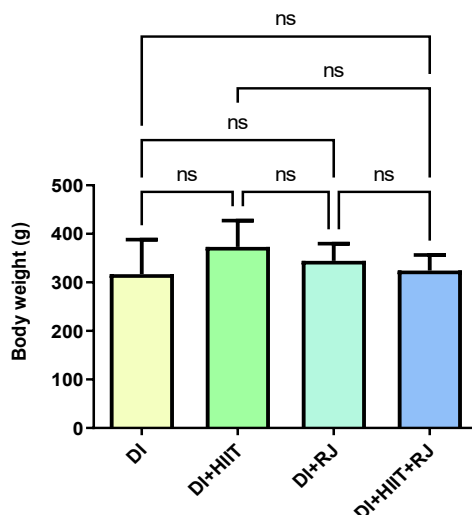
$$\text{HOMA-IR} = \frac{\text{گلوکز (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)} \times \text{انسولین (میکرو واحد بین‌المللی بر میلی‌لیتر)}}{405}$$

### بررسی بیان ژن (*TGF-β* و *ELMO1*) در بافت کلیه

برای بررسی‌های مولکولی سطح بیان ژن‌های *ELMO1* و *TGF-β*، در ابتدا استخراج RNA از بافت کلیه در تمام گروه‌های مورد مطالعه، مطابق با دستورالعمل شرکت سازنده (کیاژن، آلمان) انجام پذیرفت. بدین منظور، به نمونه‌ها ۲۰۰ میکرولیتر کیاوزل اضافه و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند. پلاک درون کرایوتیوب در حالت نیمه‌یخ‌زده خرد شد و برای لیز نمونه‌ها، ۱۰۰ میکرولیتر کلروفرم به آنها اضافه و به مدت ۱ دقیقه ورتکس شدند.

### تحلیل آماری

نرمال بودن توزیع داده‌ها با استفاده از آزمون شاپیرو-ویلک بررسی و تأیید شد. به منظور تعیین معناداری تفاوت بین متغیرهای گروه‌های تحقیق، از تحلیل واریانس یک‌طرفه (One-way ANOVA) و آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. از میانگین و انحراف معیار برای گزارش داده‌های توصیفی بهره گرفته شد. اطلاعات پس از جمع‌آوری با نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۶ و در سطح معناداری  $P < 0.05$  تحلیل شدند.

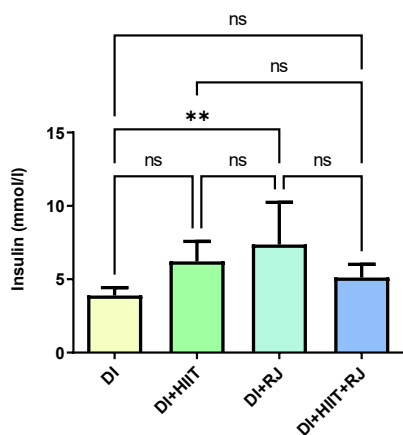


شکل ۲. تغییرات وزنی رت‌ها در گروه‌های مختلف تحقیق. داده‌ها به صورت میانگین  $\pm$  انحراف‌استاندارد نشان داده شده‌اند. مخفف: DI: دیابت نوع ۲، HIIT: تمرین تناوبی با شدت بالا، RJ: ژل رویال.

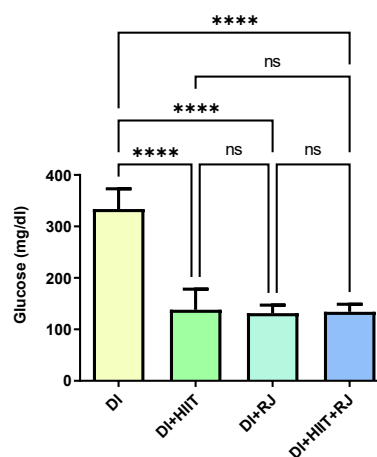
### گلوکز و انسولین

تغییرات گلوکز و انسولین سرمی در رت‌های گروه‌های مختلف پژوهش در شکل ۳ (الف و ب) نشان داده شده است. نتایج آماری آنوای یک‌طرفه نشان داد بین گروه‌های مختلف تحقیق در متغیر گلوکز تفاوت معنی‌داری وجود داشت ( $F=71/45$  و  $P < 0/0001$ ). نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد هر سه گروه درمانی شامل DI+HIIT،

DI+RJ و DI+HIIT+RJ کاهش معنی‌دار در گلوکز سرمی را نسبت به گروه دیابت نشان دادند ( $P < 0/0001$  برای همه) (شکل ۳ الف). نتایج آزمون آماری آنوای یک‌طرفه نشان داد بین گروه‌های مختلف پژوهش در متغیر انسولین نیز تفاوت معنی‌داری وجود داشت ( $F=5/262$  و  $P = 0/059$ ). نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد گروه DI+RJ افزایش معنی‌دار در انسولین سرمی را نسبت به گروه دیابت نشان داد ( $P < 0/01$ ) (شکل ۳ ب).



ب



الف

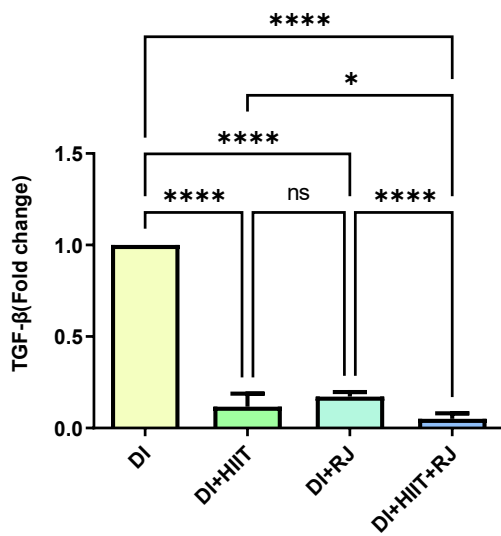
شکل ۳. تغییرات گلوکز (الف) و انسولین (ب) سرمی رت‌ها در گروه‌های مختلف تحقیق. داده‌ها به صورت میانگین  $\pm$  انحراف‌استاندارد نشان داده شده‌اند. علامت معنی‌داری: \*  $P < 0/05$ ، \*\*  $P < 0/01$ ، \*\*\*  $P < 0/001$ ، \*\*\*\*  $P < 0/0001$ . مخفف: DI: دیابت نوع ۲، HIIT: تمرین تناوبی با شدت بالا، RJ: ژل رویال.

### بیان ژن‌های کلیدی

تغییرات در بیان ژن‌های *ELMO1* و *TGF-β* بافت کلیدی در رت‌های گروه‌های مختلف تحقیق در شکل ۴ (الف و ب) نشان داده شده است. نتایج آزمون آماری آنوای یک‌طرفه نشان داد بین گروه‌های مختلف تحقیق در بیان ژن *ELMO1* تفاوت معنی‌داری وجود داشت ( $F=13/68$  و  $P < 0/0001$ ). نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد هر سه گروه درمانی شامل DI+HIIT+RJ، DI+RJ،

افزایش معنی‌دار در بیان ژن *ELMO1* کلیدی را نسبت به گروه دیابت نشان دادند ( $P < 0/05$ ) (شکل ۴ الف). بیشترین افزایش در بیان ژن *ELMO1* نیز در گروه DI+HIIT بود. همچنین، نتایج آزمون آماری آنوای یک‌طرفه نشان داد بین گروه‌های مختلف تحقیق در بیان ژن *TGF-β* بافت کلیه تفاوت معنی‌داری وجود داشت ( $F=6/77$  و  $P < 0/0001$ ). نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد هر سه گروه درمانی شامل DI+HIIT،

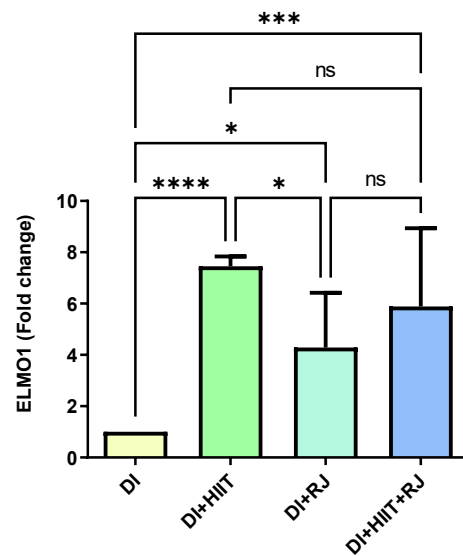
کاهش نیز مربوط به گروه درمان ترکیبی یعنی DI+HIIT+RJ بود (شکل ۴ ب).



ب

شکل ۴. تغییرات بیان ژن‌های *ELMO1* (الف) و *TGF-β* (ب) بافت کلیه رت‌ها در گروه‌های مختلف تحقیق. داده‌ها به صورت میانگین  $\pm$  انحراف استاندارد نشان داده شده‌اند. علامت معنی‌داری: \* $P < 0.05$ ; \*\* $P < 0.01$ ; \*\*\* $P < 0.001$ ; \*\*\*\* $P < 0.0001$ . مخفف: DI: دیابت نوع ۲، HIIT: تمرین تناوبی با شدت بالا، RJ: ژل رویال.

DI+RJ و DI+HIIT+RJ کاهش معنی‌دار در بیان ژن *TGF-β* را نسبت به گروه دیابت نشان دادند ( $P < 0.0001$  برای همه). بیشترین



الف

نفرورپاتی دیابتی نقش محوری ایفا می‌کند و با تحریک سنتز ماتریکس خارج‌سلولی و مهار تجزیه آن، منجر به اسکروز گلوبولوی و فیبروز بین‌بافتی می‌شود [۲۹]. کاهش بیان این ژن، به‌ویژه در گروه ترکیبی (HIIT+RJ)، نشان می‌دهد این مداخلات می‌توانند به‌طور مستقیم بر مسیرهای سیگنالینگ فیبروتیک در کلیه تأثیر بگذارند. این نتیجه با پژوهش‌های دیگری هم‌سو است که نشان داده‌اند ورزش منظم می‌تواند از طریق کاهش استرس اکسیداتیو و التهاب، بیان *TGF-β* را در بافت کلیه مدل‌های دیابتی مهار کند [۳۰، ۳۱]. ازسوی دیگر، خواص ضدالتهابی و آنتی‌اکسیدانی قدرتمند ژل رویال نیز می‌تواند از فعال‌سازی مسیر *TGF-β/Smad* ناشی از هایپرگلیسمی جلوگیری کند [۳۲].

گزارش‌های گسترده‌ای مبنی بر اثرات مفید تمرینات تناوبی با شدت بالا (HIIT) بر نفرورپاتی دیابتی از طریق مکانیسم‌های متعدد منتشر شده است [۳۰، ۳۳]. مطالعات متعددی نشان داده‌اند HIIT کنترل قندخون و حساسیت به انسولین را بهبود می‌بخشد، استرس اکسیداتیو را کاهش می‌دهد و پاسخ‌های التهابی را در مدل‌های دیابتی کاهش می‌دهد [۳۴] که در مجموع به محافظت از کلیه کمک می‌کنند. به‌عنوان مثال، کاهش استرس اکسیداتیو ناشی از ورزش می‌تواند فعال‌شدن مسیرهای پروفیبروتیک، مانند آپشار سیگنالینگ *TGF-β/Smad* را مهار کند و در نتیجه از تجمع ماتریکس خارج‌سلولی و فیبروز در بافت کلیه جلوگیری کند [۳۱]. علاوه بر این، HIIT می‌تواند عملکرد میتوکندری را افزایش داده و سازگاری‌های متابولیکی را در سلول‌های کلیوی ارتقا دهد [۳۵] که ممکن است مقاومت سلولی را در برابر آسیب ناشی از هایپرگلیسمی بهبود بخشد. این مکانیسم‌ها با کاهش قابل توجه بیان ژن *TGF-β* مشاهده‌شده در این مطالعه هم‌سو

## بحث

دیابت یکی از مخرب‌ترین بیماری‌های زندگی است که کیفیت زندگی بیماران را تحت تأثیر قرار می‌دهد [۲۵]. یکی از آسیب‌های داخلی ناشی از بیماری دیابت نفرورپاتی دیابتی بوده که هموستاز بافت کلیوی تخریب می‌کند. جدا از راهکارهای دارویی، اصلاح سبک زندگی یکی از عوامل مؤثر در تقلیل آسیب دیابتی است. یافته‌های این مطالعه به‌وضوح نشان داد مداخلات هشت‌هفته‌ای تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT) و مکمل‌دهی ژل رویال، چه به‌صورت مجزا و چه به شکل ترکیبی، تأثیرات درمانی قابل توجهی بر تعدیل شاخص‌های متابولیک و مولکولی مرتبط با نفرورپاتی دیابتی در مدل جانوری رت دارند. کاهش چشمگیر سطح گلوکز سرم در تمام گروه‌های درمانی، بدون تغییر معنادار در وزن بدن، گواهی بر اثربخشی این مداخلات در کنترل هایپرگلیسمی، مستقل از تغییرات وزن است. این یافته با مطالعات متعددی هم‌سو است که گزارش کرده‌اند HIIT از طریق مکانیسم‌هایی مانند افزایش حساسیت به انسولین، بهبود عملکرد میتوکندریایی و افزایش جذب گلوکز توسط عضلات اسکلتی، به کنترل قندخون کمک می‌کند [۲۶]. به‌طور مشابه، ژل رویال نیز به‌دلیل دارا بودن ترکیبات زیست‌فعال مانند اسیدهای چرب با زنجیره کوتاه (مانند 10-HDA) پپتیدها و ترکیبات فنولی می‌تواند با تقویت ترشح انسولین از سلول‌های بتای پانکراس و بهبود حساسیت به انسولین در بافت‌های محیطی منجر به کاهش گلوکز خون شود [۲۷، ۲۸]. افزایش سطح انسولین در گروه DI+RJ نیز می‌تواند مؤید همین مکانیسم باشد.

در سطح مولکولی، یکی از یافته‌های کلیدی این تحقیق، کاهش معنادار بیان ژن *TGF-β* در بافت کلیه در پاسخ به تمامی مداخلات بود. *TGF-β* یک سایتوکاین پیش‌فیبروتیک کلیدی است که در پاتوژنز

شاخص‌های متابولیک و مولکولی کلیدی اشاره کرد. با این حال، برخی محدودیت‌ها نیز باید در نظر گرفته شوند. اول اینکه این مطالعه بر سطوح بیان ژن متمرکز بود و اندازه‌گیری پروتئین‌های *ELMO1* و *TGF-β* با روش‌هایی مانند وسترن بلات می‌توانست یافته‌ها را تقویت کند. دوم اینکه نبود ارزیابی مستقیم شاخص‌های فیبروز کلیوی (مانند رنگ‌آمیزی هیستوپاتولوژی) و مارکرهای التهابی، ارتباط مستقیم بین تغییرات بیان ژن و آسیب بافتی را به‌طور کامل تأیید نمی‌کند. سوم اینکه تعمیم نتایج به انسان باید با احتیاط انجام شود و نیاز به مطالعات بالینی آینده‌نگر دارد.

### نتیجه‌گیری

بر اساس یافته‌های این مطالعه که روی مدل حیوانی انجام شد، به نظر می‌رسد مداخلات غیردارویی HIIT و ژل رویال، هریک به‌تنهایی و به شکل ترکیبی، پتانسیل تعدیل پروفایل گلوکز خون و بیان ژن‌های کلیدی دخیل در پاتوژنز نفروپاتی دیابتی (*TGF-β1* و *ELMO1*) را دارند. این مداخلات احتمالاً از طریق مکانیسم‌های مستقل و نیز سینرژیستیک، از جمله بهبود حساسیت به انسولین، کاهش استرس اکسیداتیو و التهاب و احتمالاً تسهیل پاک‌سازی سلول‌های آسیب‌دیده عمل می‌کنند. با این حال، با توجه به ماهیت مطالعه حاضر (حیوانی)، تمرکز بر سطوح ژنی و محدودیت‌های ذکر شده این یافته‌ها بیشتر نقش حمایتی و مکمل در کنار درمان‌های دارویی استاندارد را پیشنهاد می‌کنند تا جایگزینی برای آنها. این نتایج پشتیبانی علمی اولیه‌ای برای به‌کارگیری سبک زندگی فعال و استفاده از مکمل‌های طبیعی مانند ژل رویال به‌عنوان یک راهکار مکمل فراهم می‌آورد. مطالعات آینده با تمرکز بر اندازه‌گیری سطوح پروتئین، ارزیابی‌های هیستوپاتولوژیک کمی و کشف دقیق‌تر مکانیسم‌های سیگنالینگ پایین‌دست این ژن‌ها، به‌ویژه نقش دوگانه *ELMO1* می‌توانند به درک جامع‌تری از اثرات محافظتی کلیه این مداخلات و امکان‌سنجی کاربرد آنها در جمعیت انسانی منجر شوند.

### ملاحظات اخلاقی

#### پیروی از اصول اخلاق

این مطالعه با کد اخلاق IR.IAU.SRB.REC.1402.365 در کمیته اخلاق پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات (تهران، ایران) تأیید شد.

#### حامی مالی

پژوهش حاضر حامی مالی ندارد.

#### مشارکت نویسندگان

همه نویسندگان در آماده‌سازی این مقاله مشارکت داشتند.

#### تضاد منافع

بنابر اظهار نویسندگان، این مقاله تعارض منافع ندارد.

هستند و نقش HIIT را در تعدیل مسیرهای مولکولی کلیدی دخیل در پیشرفت نفروپاتی دیابتی برجسته می‌کنند.

در مقابل، نتایج مربوط به بیان ژن *ELMO1* پیچیده‌تر و نیازمند تأمل بیشتری است. برخلاف انتظار، بیان این ژن در کلیه رت‌های دیابتی تحت درمان با HIIT و ژل رویال، به‌طور معناداری افزایش یافت. *ELMO1* یک ژن مرتبط با فاگوسیتوز، مهاجرت و حرکت سلولی است و پلی‌مورفیسم‌های آن با استعداد ابتلا به نفروپاتی دیابتی در انسان مرتبط دانسته شده‌اند [۳۶]. در شرایط پاتولوژیک دیابت، افزایش بیان *ELMO1* ممکن است با تسهیل نفوذ لوکوسیتی و التهاب بین‌بافتی کلیه، آسیب را تشدید کند. با این حال، افزایش مشاهده‌شده در این مطالعه ممکن است نشان‌دهنده یک پاسخ تطبیقی و محافظتی باشد. تحقیقات نشان داده‌اند که پروتئین *ELMO1* برای فاگوسیتوز بهینه اجسام آپوپتوتیک و بقای سلول ضروری است [۳۷]. بنابراین، امکان دارد این افزایش بیان، پاسخی برای پاک‌سازی سلول‌های آپوپتوتیک ناشی از استرس دیابتی در کلیه و محدود کردن پاسخ التهابی ثانویه باشد. در مطالعه حاضر، درمان ترکیبی نیز قادر به کاهش *TGF-β* و افزایش *ELMO1* بود. به نظر می‌رسد مداخلات انجام‌شده ضمن سرکوب مسیر فیبروتیک قوی *TGF-β*، احتمالاً مسیر *ELMO1* را برای ایفای نقش احتمالی در ترمیم و پاک‌سازی سلولی تعدیل می‌کنند. این اثر دوگانه می‌تواند استراتژی درمانی مؤثری برای هدف‌گیری هم‌زمان فیبروز و التهاب در نفروپاتی دیابتی باشد. اثر افزایش‌دهنده گروه ترکیبی (HIIT+RJ) در کاهش بیان *TGF-β* نشان می‌دهد این دو مداخله می‌توانند از طریق مکانیسم‌های مکمل یا سینرژیستیک عمل کنند. برای مثال، ممکن است HIIT با بهبود محیط متابولیک کلیه و ژل رویال با فراهم‌آوری سوبسترای آنتی‌اکسیدانی قوی، به‌طور هم‌زمان استرس اکسیداتیو را که محرک مشترک هر دو مسیر *TGF-β* و *ELMO1* است، هدف قرار دهند.

مکمل ژل رویال خواص ضدالتهابی و آنتی‌اکسیدانی قوی را در شرایط دیابتی نشان داده است که می‌تواند اثرات محافظتی ورزش را بیشتر تکمیل کند. ترکیبات زیست‌فعال آن، از جمله پروتئین‌های اصلی ژل رویال و اسیدهای چرب منحصربه‌فرد، نشان داده‌اند تولید سایتوکاین التهابی و نشانگرهای استرس اکسیداتیو را کاهش می‌دهند [۳۸] و در نتیجه حساسیت به انسولین و عملکرد سلول‌های بتای پانکراس را بهبود می‌بخشند. این اثرات ممکن است در بهبود پارامترهای متابولیک و سرکوب سیگنالینگ فیبروتیک مشاهده‌شده در مطالعه حاضر نقش داشته باشند. علاوه بر این، پیشنهاد شده است ژل رویال با تعدیل عملکرد سلول‌های ایمنی و تحریک پاک‌سازی سلول‌های آپوپتوز، فرایندهای ترمیم بافت را افزایش می‌دهد [۳۹] که با افزایش بیان ژن *ELMO1* شناسایی شده هم‌سو است. همان‌طور که اشاره شد این ژن در فعالیت فاگوسیتیک سلول‌های کلیوی نقش دارد و ممکن است نشان‌دهنده سازگاری محافظتی کلیه با آسیب دیابتی باشد و پاک‌سازی سلولی و رفع التهاب را تسهیل کند. عملکردهای مکمل آنتی‌اکسیدانی و تعدیل‌کننده سیستم ایمنی ژل رویال احتمالاً به‌صورت هم‌افزایی با مزایای متابولیک ناشی از ورزش تعامل دارند تا یک اثر درمانی چندوجهی بر نفروپاتی دیابتی اعمال کنند.

از نقاط قوت این مطالعه می‌توان به طراحی تجربی مناسب، استفاده از پروتکل استاندارد القای دیابت نوع ۲، و بررسی هم‌زمان

## References

1. Visaria J, Iyer NN, Raval A, Kong S, Hobbs T, Bouchard J, et al. Incidence and prevalence of microvascular and macrovascular diseases and all-cause mortality in type 2 diabetes mellitus: a 10-year study in a US commercially insured and medicare advantage population. *Clin Ther*. 2019;41(8):1522-1536.e1. [DOI: [10.1016/j.clinthera.2019.05.012](https://doi.org/10.1016/j.clinthera.2019.05.012)] [PMID: [31196656](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31196656/)]
2. Li QR, Xu HY, Ma RT, Ma YY, Chen MJ. Targeting autophagy: a promising therapeutic strategy for diabetes mellitus and diabetic nephropathy. *Diabetes Ther*. 2024;15(10):2153-2182. [DOI: [10.1007/s13300-024-01641-3](https://doi.org/10.1007/s13300-024-01641-3)] [PMID: [39167303](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/39167303/)]
3. Samsu N. Diabetic nephropathy: challenges in pathogenesis, diagnosis, and treatment. *Biomed Res Int*. 2021;2021:1497449. [DOI: [10.1155/2021/1497449](https://doi.org/10.1155/2021/1497449)]
4. Parwani K, Mandal P. Role of advanced glycation end products and insulin resistance in diabetic nephropathy. *Arch Physiol Biochem*. 2023;129(1):95-107. [DOI: [10.1080/13813455.2020.1797106](https://doi.org/10.1080/13813455.2020.1797106)]
5. Wang L, Wang HL, Liu TT, Lan HY. TGF-beta as a master regulator of diabetic nephropathy. *Int J Mol Sci*. 2021;22(15):7881. [DOI: [10.3390/ijms22157881](https://doi.org/10.3390/ijms22157881)] [PMID: [34360646](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34360646/)]
6. Qian Y, Feldman E, Pennathur S, Kretzler M, Brosius FC 3rd. From fibrosis to sclerosis: mechanisms of glomerulosclerosis in diabetic nephropathy. *Diabetes*. 2008;57(6):1439-1445. [DOI: [10.2337/db08-0061](https://doi.org/10.2337/db08-0061)] [PMID: [18511444](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18511444/)]
7. Li JH, Huang XR, Zhu HJ, Oldfield M, Cooper M, Truong LD, et al. Advanced glycation end products activate Smad signaling via TGF-beta-dependent and -independent mechanisms: implications for diabetic renal and vascular disease. *FASEB J*. 2004;18(1):176-178. [DOI: [10.1096/fj.02-1117fje](https://doi.org/10.1096/fj.02-1117fje)]
8. Voelker J, Berg PH, Sheetz M, Duffin K, Shen T, Moser B, et al. Anti-TGF-beta1 antibody therapy in patients with diabetic nephropathy. *J Am Soc Nephrol*. 2017;28(3):953-962. [DOI: [10.1681/ASN.2015111230](https://doi.org/10.1681/ASN.2015111230)] [PMID: [27647855](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27647855/)]
9. Omar TA, Zewain SK, Ghonaim MM, Refaat KA, Abou-Elela DH. Role of engulfment and cell motility 1 (ELMO1) gene polymorphism in development of diabetic kidney disease. *Egypt J Med Hum Genet*. 2021;22(1):49. [DOI: [10.1186/s43042-021-00167-8](https://doi.org/10.1186/s43042-021-00167-8)]
10. Elfiani E, Harahap H. Influence of engulfment cell motility-1 protein and matrix metalloproteinase-9 in diabetic nephropathy patients. In: *Urinary tract infection and nephropathy*. IntechOpen; 2022. [DOI: [10.5772/intechopen.98192](https://doi.org/10.5772/intechopen.98192)]
11. Hathaway CK, Chang AS, Grant R, Kim HS, Madden VJ, Bagnell CR Jr, et al. High Elmo1 expression aggravates and low Elmo1 expression prevents diabetic nephropathy. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2016;113(8):2218-2222. [DOI: [10.1073/pnas.1600511113](https://doi.org/10.1073/pnas.1600511113)] [PMID: [26858454](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26858454/)]
12. Chen Y, Dai Y, Huang Y, Zhang L, Zhang C, Gao H, et al. Inhibition of tubular epithelial cells ferroptosis alleviates renal interstitial fibrosis by reducing lipid hydroperoxides and TGF-beta/Smad signaling. *Cell Commun Signal*. 2025;23(1):81. [DOI: [10.1186/s12964-025-02068-4](https://doi.org/10.1186/s12964-025-02068-4)] [PMID: [39934851](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/39934851/)]
13. Picard M, Tauveron I, Magdasy S, Benichou T, Bagheri R, Ugbolue UC, et al. Effect of exercise training on heart rate variability in type 2 diabetes mellitus patients: a systematic review and meta-analysis. *PLoS One*. 2021;16(5):e0251863. [DOI: [10.1371/journal.pone.0251863](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0251863)] [PMID: [33999947](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33999947/)]
14. Lin S, Jin S, Zhou F, Hu Y, Zhang M. Effects of endurance exercise on serum inflammatory cytokine level and kidney structure in a rat diabetes model. *Exp Ther Med*. 2021;22(4):1125. [DOI: [10.3892/etm.2021.10559](https://doi.org/10.3892/etm.2021.10559)] [PMID: [34466141](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34466141/)]
15. Saberi S, Askaripour M, Khaksari M, Rajizadeh MA, Bejeshk MA, Akhbari M, et al. Exercise training improves diabetic renal injury by reducing fetuin-A, oxidative stress and inflammation in type 2 diabetic rats. *Heliyon*. 2024;10(6):e 27749. [DOI: [10.1016/j.heliyon.2024.e27749](https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e27749)] [PMID: [38510054](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38510054/)]
16. Yu P, Zhu Z, He J, Gao B, Chen Q, Wu Y, et al. Effects of high-intensity interval training, moderate-intensity continuous training, and guideline-based physical activity on cardiovascular metabolic markers, cognitive and motor function in elderly sedentary patients with type 2 diabetes (HIIT-DM): a protocol for a randomized controlled trial. *Front Aging Neurosci*. 2023;15:1211990. [DOI: [10.3389/fnagi.2023.1211990](https://doi.org/10.3389/fnagi.2023.1211990)] [PMID: [37649720](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37649720/)]
17. Leiva-Valderrama JM, Montes-de-Oca-Garcia A, Opazo-Diaz E, Ponce-Gonzalez JG, Molina-Torres G, Velazquez-Diaz D, et al. Effects of high-intensity interval training on inflammatory biomarkers in patients with type 2 diabetes: a systematic review. *Int J Environ Res Public Health*. 2021;18(23):12644. [DOI: [10.3390/ijerph182312644](https://doi.org/10.3390/ijerph182312644)] [PMID: [34886369](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34886369/)]
18. El Helew EA, Hamed WS, Moustafa AM, Sakkara ZA. Structural changes in testes of streptozotocin-induced diabetic rats and possible protective effect of royal jelly: light and electron microscopic study. *Ultrastruct Pathol*. 2024;48(1):1-15. [DOI: [10.1080/01913123.2023.2277170](https://doi.org/10.1080/01913123.2023.2277170)] [PMID: [37927047](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37927047/)]
19. Yang S, Qu Y, Chen J, Chen S, Sun L, Zhou Y, et al. Bee pollen polysaccharide from *Rosa rugosa* Thunb. (Rosaceae) promotes pancreatic beta-cell proliferation and insulin secretion. *Front Pharmacol*. 2021;12:688073. [DOI: [10.3389/fphar.2021.688073](https://doi.org/10.3389/fphar.2021.688073)] [PMID: [34262457](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34262457/)]
20. Mohamed HK, Mobasher MA, Ebiya RA, Hassen MT, Hagag HM, El-Sayed R, et al. Anti-inflammatory, anti-apoptotic, and antioxidant roles of honey, royal jelly, and propolis in suppressing nephrotoxicity induced by doxorubicin in male albino rats. *Antioxidants (Basel)*. 2022;11(5):1029. [DOI: [10.3390/antiox11051029](https://doi.org/10.3390/antiox11051029)] [PMID: [35624893](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35624893/)]
21. Gheibi S, Bakhtiarzadeh F, Ghasemi A. A review of high fat diet-streptozotocin model for induction of type 2 diabetes in rat. *Int J Endocrinol Metab*. 2016;18(2):135-148. [Link]
22. Bhalchandra W, Alqadhi YA. Administration of honey and royal jelly ameliorate cisplatin-induced changes in liver and kidney function in rat. *Biomed Pharmacol J*. 2018;11(4):2191-2199. [DOI: [10.13005/bpj/1601](https://doi.org/10.13005/bpj/1601)]
23. Asgari M, Asle-Rousta M, Sofiabadi M. Effect of royal jelly on blood glucose and lipids in streptozotocin-induced type 1 diabetic rats. *J Arak Univ Med Sci*. 2017;20(5):48-56. [Link]
24. Rodrigues B, Figueroa DM, Mostarda CT, Heeren MV, Irgoyen MC, De Angelis K. Maximal exercise test is a useful method for physical capacity and oxygen consumption determination in streptozotocin-diabetic rats. *Cardiovasc Diabetol*. 2007;6:38. [DOI: [10.1186/1475-2840-6-38](https://doi.org/10.1186/1475-2840-6-38)] [PMID: [18078520](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18078520/)]
25. Alzahrani O, Fletcher JP, Hitos K. Quality of life and mental health measurements among patients with type 2 diabetes mellitus: a systematic review. *Health Qual Life Outcomes*. 2023;21(1):27. [DOI: [10.1186/s12955-023-02111-3](https://doi.org/10.1186/s12955-023-02111-3)] [PMID: [36949507](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36949507/)]
26. Lee AS, Johnson NA, McGill MJ, Overland J, Luo C, Baker CJ, et al. Effect of high-intensity interval training on glycemic control in adults with type 1 diabetes and overweight or obesity: a randomized controlled trial with partial crossover. *Diabetes Care*. 2020;43(9):2281-2288. [DOI: [10.2337/dc20-0342](https://doi.org/10.2337/dc20-0342)] [PMID: [32647051](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32647051/)]
27. Maleki V, Jafari-Vayghan H, Saleh-Ghadimi S, Adibian M, Kheirouri S, Alizadeh M. Effects of royal jelly on metabolic variables in diabetes mellitus: a systematic review. *Complement*

- Ther Med. 2019;43:20-27. [DOI: 10.1016/j.ctim.2018.12.022] [PMID: 30935531]
28. Ghanbari E, Nejati V, Khazaei M. Improvement in serum biochemical alterations and oxidative stress of liver and pancreas following use of royal jelly in streptozotocin-induced diabetic rats. *Cell J*. 2016;18(3):362-369. [DOI: 10.22074/cellj.2016.4564] [PMID: 27602318]
  29. Meng XM, Nikolic-Paterson DJ, Lan HY. TGF-beta: the master regulator of fibrosis. *Nat Rev Nephrol*. 2016;12(6):325-338. [DOI: 10.1038/nrneph.2016.48] [PMID: 27108839]
  30. Baranchi M, Agha-Alinejad H. The effects of high-intensity interval training on TGF-beta and HSP72 gene expression in kidney tissue and selective renal serum biomarkers of type II diabetic rats. *Daneshvar Med*. 2021;29(4):42-54. [DOI: 10.22070/daneshmed.2021.14798.1100]
  31. Faramarziyan N, Salehi M, Rezaei R, Jahromi MK. Effects of six weeks high-intensity interval training on TGF-beta1 and SMAD7 genes expression in the kidney tissue of elderly diabetic male Wistar rats. *J Shahid Sadoughi Univ Med Sci*. 2023;30(12):6185-6198. [DOI: 10.18502/ssu.v30i12.11965]
  32. Ghafouri-Fard S, Askari A, Shoorei H, Seify M, Koohestanidehaghi Y, Hussen BM, et al. Antioxidant therapy against TGF-beta/SMAD pathway involved in organ fibrosis. *J Cell Mol Med*. 2024;28(2):e18052. [DOI: 10.1111/jcmm.18052] [PMID: 38041559]
  33. Zheng L, Qin R, Rao Z, Xiao W. High-intensity interval training induces renal injury and fibrosis in type 2 diabetic mice. *Life Sci*. 2023;324:121740. [DOI: 10.1016/j.lfs.2023.121740] [PMID: 37120014]
  34. Al-Rawaf HA, Gabr SA, Iqbal A, Alghadir AH. High-intensity interval training improves glycemic control, cellular apoptosis, and oxidative stress of type 2 diabetic patients. *Medicina (Kaunas)*. 2023;59(7):1320. [DOI: 10.3390/medicina59071320] [PMID: 37512131]
  35. Fusagawa H, Sato T, Yamada T, Naito A, Tokuda N, Yamauchi N, et al. High-intensity interval training using electrical stimulation ameliorates muscle fatigue in chronic kidney disease-related cachexia by restoring mitochondrial respiratory dysfunction. *Front Physiol*. 2024;15:1423504. [DOI: 10.3389/fphys.2024.1423504] [PMID: 38989049]
  36. Shimazaki A, Kawamura Y, Kanazawa A, Sekine A, Saito S, Tsunoda T, et al. Genetic variations in the gene encoding ELMO1 are associated with susceptibility to diabetic nephropathy. *Diabetes*. 2005;54(4):1171-1178. [DOI: 10.2337/diabetes.54.4.1171] [PMID: 15793258]
  37. Gumienny TL, Brugnera E, Tosello-Trampont AC, Kinchen JM, Haney LB, Nishiwaki K, et al. CED-12/ELMO, a novel member of the CrkII/Dock180/Rac pathway, is required for phagocytosis and cell migration. *Cell*. 2001;107(1):27-41. [DOI: 10.1016/s0092-8674(01)00520-7] [PMID: 11595183]
  38. Pourmoradian S, Mahdavi R, Mobasseri M, Faramarzi E, Mobasseri M. Effects of royal jelly supplementation on glycemic control and oxidative stress factors in type 2 diabetic female patients: a randomized clinical trial. *Chin J Integr Med*. 2014;20(5):347-352. [DOI: 10.1007/s11655-014-1804-8] [PMID: 24610413]
  39. Bouamama S, Merzouk H, Latrech H, Charif N, Bouamama A. Royal jelly alleviates the detrimental effects of aging on immune functions by enhancing in vitro cellular proliferation, cytokines, and nitric oxide release in aged human PBMCs. *J Food Biochem*. 2021;45(2):e13619. [DOI: 10.1111/jfbc.13619] [PMID: 33491244]