

The Effect of 8 Weeks of Endurance -Resistance Training and Taurine Supplementation on Osteocalcin and Osteopontin Proteins in Diabetic Wistar Rats with STZ

Fatemeh Akbari Vargsaran¹ , Ameneh Pourrahim Ghoroghchi^{2*} 

1. Masters in Sports Physiology, Dept. of Sport Physiology, Faculty of Educational Sciences and Psychology, University of Mohagheh Ardabili, Ardabil, Iran
2. Associate Prof, Department of Sport Physiology, Faculty of Educational Sciences and Psychology, University of Mohagheh Ardabili, Ardabil, Iran

Received: 2022/11/20

Accepted: 2023/05/06

Abstract

Introduction: Osteocalcin and osteopontin are related to diabetes and osteoporosis. The aim was to determine the effect of eight weeks of endurance-resistance training and taurine supplementation on osteocalcin and osteopontin in diabetic male Wistar rats.

Materials and Methods: In this experimental study, 40 adult male Wistar rats weighing 250-300 grams and 6 weeks old were randomly divided into 3 diabetic groups (each group, 10 rats); exercise, supplement and a control and a non-diabetic group were included as a healthy control group. To make diabetic, 55 mg/kg of body weight of streptozocin was injected. Combined exercises were performed for eight weeks and 5 times a week. Taurine supplementation was taken as a 1% solution in water daily. One-way ANOVA and Bonferroni's post hoc were used to compare the inter-group and intra-group changes of the variables.

Results: Osteocalcin increased significantly in the diabetic exercise group compared to the diabetic control ($P=0.018$) and decreased significantly in the diabetic control compared to the healthy ($P=0.0001$). Osteopontin increased significantly in the diabetic control group compared to the healthy control ($P=0.003$); While, there was no significant difference in other groups ($P=1.000$). Body weight and BMI increased significantly in the exercise-diabetic group compared to the diabetic-supplement ($P=0.0001$). There was a significant decrease in food consumption in the diabetic exercise group compared to the diabetic supplement group ($P=0.030$).

Conclusion: Eight weeks of endurance-resistance training and taurine supplementation led to an increase in osteocalcin and no change in osteopontin.

***Corresponding Author:** Ameneh Pourrahim Ghoroghchi

Address: Ardabil, University of Mohagheh Ardabili, Department of Sport Physiology, Faculty of Educational Sciences and Psychology, Iran

Tel: 31505647-045

E-mail:

amenehpoorrahim@yahoo.com

a.pourrahim@uma.ac.ir

Keywords: Combined Training, Taurine Supplement, Osteocalcin, Osteopontin, Diabetes

How to cite this article: Akbari Vargsaran F., Pourrahim Ghoroghchi A., The Effect of 8 Weeks of Endurance -Resistance Training and Taurine Supplementation on Osteocalcin and Osteopontin Proteins in Diabetic Wistar Rats with STZ, Journal of Sabzevar University of Medical Sciences, 2023; 30(3):349-362.

Introduction

Diabetes is a metabolic disorder that occurs due to insulin resistance in several tissues due to factors such as aging, genetic defects, and environmental conditions, and as a result, glucose excretion decreases with insulin stimulation. Bone is an active metabolic tissue that is regenerated by two processes of reabsorption and continuous formation. Osteocalcin is considered as one of the indicators of bone resorption that regulates glucose metabolism. The insulin signal causes bone to be formed from osteoblasts and absorbed by osteoclasts. It has been shown that hyperglycemia and glucose tolerance, insulin secretion and insulin sensitivity were reduced in mice in which osteocalcin was inhibited, and serum fat mass and triglycerides were increased. Osteopontin is a glycoprotein that is produced in osteoblasts which is associated with metabolic diseases such as type 2 diabetes, insulin resistance and obesity. Exercise is useful as a way to prevent diseases such as diabetes and osteoporosis. However, the results of studies on the effect of exercise on osteocalcin and osteopontin are contradictory. In this regard, some researches showed that exercise increases the serum level of bone absorption and reabsorption indices. On the other hand, some others showed that exercise reduces the serum level of bone absorption and resorption indices. While, some other researches did not report a significant change. Saino et al. (2003) showed that six weeks of short-term and long-term running training caused a significant increase in osteopontin as an index of bone regeneration in female rats. Humphries et al. (2009) showed that 16 weeks of resistance training resulted in decreased osteopontin levels after whole body vibration in healthy active women. Hagihara et al. (2009) showed that eight weeks of running on a treadmill increased the amount of osteocalcin in female Wistar rats, while the same training protocol with a duration of 180 minutes decreased longitudinal bone tissue. Khorshidi et al. (2011) showed that 11 weeks of regular aerobic exercise improved glycemic status in type 2 diabetic patients, while it had no effect on the serum levels of alkaline phosphatase and osteocalcin. The use of sports exercises and herbal supplements to treat diseases and metabolic disorders has become popular among people. Taurine is the most abundant, semi-essential and sulfur-containing amino acid that has been used in

human and animal models. Consumption of taurine amino acid leads to the prevention and improvement of diabetes by reducing insulin resistance. It has been shown that there is a direct and significant relationship between taurine supplementation and bone mineral density. However, very few studies have investigated the effect of taurine supplementation on the bone mechanisms of diabetics, and the results of the few studies conducted regarding the effect of supplementation on bone are also contradictory. Martiniakov et al. (2019) showed that taking taurine supplements in doses higher than 20 mg/kg body weight in rats for eight weeks led to negative effects in the micro-bone structures. In contrast, Choi and Seo (2013) showed that adding 2% taurine to the daily diet of growing rats led to an increase in thigh BMC. Choi et al. (2017) showed that taurine supplementation has positive effects on bone metabolism in ovariectomized alcoholic rats. While, Choi et al. (2009) showed that 6 weeks of taurine supplementation in ovariectomized spermatogonial rats did not have a significant effect on urinary calcium and phosphorus excretion as well as blood osteocalcin and femur bone mineral content (BMC). Researchers have suggested the effect of taurine supplementation on bone. Considering the prevalence of diabetes in today's societies with a modern lifestyle and the increased risk of diabetes complications such as bone loss and its direct relationship with the quality of life in the society and health and treatment costs created for the health system and the treatment of each country, the importance of controlling and eliminating the complications caused by type 2 diabetes is revealed. So, in this research, the effect of eight weeks of endurance-resistance training on the serum level of osteocalcin and osteopontin in diabetic male Wistar rats is investigated.

Methods

The subjects of the present experimental study were 40 adult male Wistar rats with a weight range of 250-300 grams and 6 weeks of age. 30 rats at the end of eight weeks and by intraperitoneal injection of streptozotocin STZ (SO130) from Sigma company with a dose of 55 mg/kg dissolved in citrate buffer (0.05 M with pH = 4.5) were diabetic. To ensure that the rats became diabetic, three days after STZ injection, a

blood sample was taken from the tail vein and measured with a glucometer device (Auto-coding infopiaEasy Gluco model, made in Korea). A blood sugar level of more than 250 mg/dL indicated diabetes. The blood sugar level of the diabetic groups in the present study was 300 and above 300 mg/dL. Diabetic rats were randomly divided into 3 groups of 10 (combined exercise, taurine supplementation and diabetic control) and a group of 10 rats that did not receive intraperitoneal injection of STZ and their blood sugar levels were considered as healthy control group.

Endurance-resistance training was carried out for 8 weeks, 5 days a week on the treadmill. The speed that raised the blood lactate level above 6 milliliters/liter was considered the maximum speed. After the endurance training, resistance training was done for 8 weeks, 5 days a week, in the form of climbing the stairs, in the first, second and third weeks, 8, 10 and 12 respectively. Climbing load was performed without weights in each session. The weight load in the fourth week was one percent of the rat's body weight and the number of climbing the ladder was 14 times. From the fifth week to the end of the eighth week, the rats carried weights equal to 3% of the total body weight attached to the animal's tail, and climbed 15 times per week. In the diabetic supplement group, taurine supplement prepared by Sigma Company of America (St. Louis) was available to the rats in the form of a 1% solution in daily drinking water (500 ml) and to ensure the amount of supplement consumption, the water consumption of rats in the supplemented group was recorded daily. 40 hours after the last training session and taking the supplement and after 24 hours of fasting, every 40 rats were given an intraperitoneal injection of a combination of ketamine 50 mg/kg body weight and xylazine 10 mg/kg body weight unconscious and euthanized. Venous blood was collected directly from the inferior vena cava with a syringe after opening the chest and centrifuged at 3000 rpm for 15 minutes. Then blood serum was separated and stored at -80 degrees Celsius and transferred to Sarai Tabriz specialized laboratory. Blood sampling was done in all stages in 9-11 morning. Osteocalcin and osteopontin were measured by the Eliza Rat kit. The present research has been approved and registered by the Ethics Committee of Ardabil University of Medical Sciences (IR.ARUMS.REC.1400.077).

Result

The Shapiro-Wilk test showed that the data has a normal distribution. ANOVA test showed that at the end of eight weeks, between body weight ($P=0.043$), BMI ($P=0.043$), food consumption ($P=0.0001$), There is a significant difference between osteocalcin ($P=0.0001$) and osteopontin ($P=0.001$) of diabetic exercise, diabetic supplement, diabetic control and healthy control groups. The serum level of osteocalcin in the diabetic exercise group was significantly increased by 113.64% compared to the diabetic control group ($P=0.018$). While, there was no significant difference in the diabetic supplement group compared to the diabetic control group and in the diabetic exercise group compared to the diabetic supplement group ($P=1.000$). On the other hand, the serum level of osteocalcin in the diabetic control group had a significant decrease of 76.78% compared to the healthy control group ($P=0.0001$). The serum level of osteopontin in the diabetic exercise and diabetic supplement groups compared to the diabetic control group and also in the diabetic exercise group compared to the diabetic supplement group had no significant difference ($P=1.000$). Meanwhile, there was a significant increase of 97.89% in the diabetic control group compared to the healthy control group ($P=0.003$).

Discussion

Eight weeks of combined endurance-resistance training and taurine supplementation caused a significant increase in the serum level of osteocalcin. The serum level of osteopontin did not change significantly after eight weeks of combined endurance-resistance training and taurine supplementation. Weight, BMI and food intake did not change significantly after eight weeks of combined training and taurine supplementation. While the body weight and BMI in the combined exercise group were significantly higher compared to the diabetic supplement group, and the amount of food consumed in the combined exercise group was significantly lower compared to the diabetic supplement group.

Conclusions

Eight weeks of combined endurance-resistance training and taurine supplementation improve the bone remodeling.

Acknowledgment

The authors of the article hereby express their gratitude to all the respected personnel of

Mohaghegh Ardabili University and Ardabil University of Medical Sciences.

Conflict of Interest: There is no conflict of interest between the authors of the article.

تأثیر هشت هفته تمرین استقامتی - مقاومتی و مصرف مکمل تورین بر پروتئین‌های استئوکلسین و استئوپونتین در موش نر ویستار دیابتی شده با استرپتوزوسین

فاطمه اکبری ورگسران^۱، آمنه پوررحیم قورقچی^{۲*}

۱. کارشناسی ارشد گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم تربیتی و روان‌شناسی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران
۲. دانشیار گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم تربیتی و روان‌شناسی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۸/۲۹

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۲/۱۶

چکیده

* نویسنده مسئول: آمنه

پوررحیم قورقچی

نشانی: اردبیل، دانشگاه محقق

اردبیلی، گروه فیزیولوژی

ورزشی، دانشکده علوم تربیتی و

روان‌شناسی

تلفن: ۰۴۵-۳۱۵۰۵۶۴۷

رایانامه: amenehpoorrahim@yahoo.com

شناسه ORCID:

0000-0003-3448-5950

شناسه ORCID نویسنده اول:

0000-0001-7223-4314

کلیدواژه‌ها:

تمرین ترکیبی، مکمل تورین،

استئوکلسین، استئوپونتین،

دیابت

زمینه و هدف: استئوکلسین و استئوپونتین با بیماری‌های دیابت و پوکی‌استخوان رابطه دارند. هدف، تعیین تأثیر هشت هفته تمرین استقامتی - مقاومتی و مصرف مکمل تورین بر پروتئین‌های استئوکلسین و استئوپونتین در موش نر ویستار دیابتی است.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی، ۴۰ رت نر ویستار بالغ با دامنه وزنی ۳۰۰-۲۵۰ گرم و سن ۶ هفته، به صورت تصادفی در ۳ گروه دیابتی شده (هر گروه ۱۰ رت)، گروه تمرین، گروه مکمل و گروه کنترل و یک گروه غیردیابتی به عنوان گروه کنترل سالم قرار گرفتند. برای دیابتی کردن رت‌ها، ۵۵ میلی‌گرم بر هر کیلوگرم از وزن بدن استرپتوزوسین تزریق شد. قند خون بالای ۲۵۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر در خون به عنوان دیابتی در نظر گرفته شد. تمرینات ترکیبی به مدت هشت هفته و ۵ بار در هفته انجام شد. مکمل تورین به صورت محلول ۱ درصد در آب روزانه مصرف شد. برای مقایسه تغییرات بین گروهی و درون گروهی متغیرها، ANOVA یک‌راهه و تعقیبی بونفرونی استفاده شد.

یافته‌ها: استئوکلسین در گروه تمرین دیابتی در مقایسه با کنترل دیابتی افزایش معنی‌دار ($P=0/018$) و در گروه کنترل دیابتی در مقایسه با کنترل سالم، کاهش معنی‌دار داشت ($P=0/001$). استئوپونتین در گروه کنترل دیابتی در مقایسه با کنترل سالم، افزایش معنی‌دار داشت ($P=0/003$) در حالی که در گروه‌های دیگر تفاوت معنی‌داری نداشت ($P=1/000$). وزن بدن و BMI در گروه تمرین دیابتی در مقایسه با مکمل دیابتی، افزایش معنی‌دار داشت ($P=0/001$). غذای مصرفی در گروه تمرین دیابتی در مقایسه با مکمل دیابتی کاهش معنی‌دار داشت ($P=0/030$).

نتیجه‌گیری: هشت هفته تمرین استقامتی - مقاومتی و مصرف مکمل تورین منجر به افزایش استئوکلسین و تغییر نکردن استئوپونتین شد.

۱. مقدمه

تشکیل استخوان از استئوبلاست‌ها و جذب آن توسط استئوکلاست‌ها می‌شود [۲، ۳، ۵]. استئوکلسین در موش‌ها، هموستاز گلوکز را از طریق افزایش بیان ژن انسولین و ژن‌های ضروری برای تکثیر سلول‌های بتای پانکراس بهبود می‌دهد. استئوکلسین همچنین تحمل گلوکز و حساسیت انسولینی را به طور معنی‌داری بهبود می‌دهد [۲]. استئوپونتین گلیکوپروتئینی است که در استئوبلاست‌ها تولید می‌شود و یکی از شاخص‌های بازجذب استخوانی به شمار می‌رود. استئوپونتین،

دیابت، اختلال متابولیکی است که با پوکی استخوان ارتباط مستقیم دارد [۱-۳]. استئوکلسین فراوان‌ترین پروتئین غیرکلاژنی ماتریکس استخوانی و شاخص جذب استخوان است که توسط استئوبلاست‌ها تولید می‌شود و در معدنی شدن آن نقش دارد [۲-۴]. استئوکلسین هورمون جدیدی است که متابولیسم گلوکز را تنظیم می‌کند. سیگنال انسولین باعث

با دوزهای بالای ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن در رت‌ها، تأثیرات منفی بر ساختارهای ریز استخوان‌ها دارد [۱۵]. در مقابل، چوبی و سو (۲۰۱۳) نشان دادند افزودن ۲ درصد تورین به رژیم غذایی روزانه رت‌های در حال رشد BMC ران را افزایش می‌دهد [۱۶]. چوبی و همکاران (۲۰۱۷) نشان دادند که تورین تأثیرات مثبتی بر متابولیسم استخوان در رت‌های الکلی اوارکتومی‌شده دارد [۱۷]. در حالی که چوبی و همکاران (۲۰۰۹) نشان دادند که ۶ هفته مصرف تورین در موش‌های اسپراگودولی اوارکتومی‌شده بر میزان دفع کلسیم و فسفر ادراری و نیز استئوکلسین خون، محتوای معدنی استخوان ران تأثیری ندارد [۱۸]. محققان تأثیر مصرف تورین بر استخوان را پیشنهاد داده‌اند. فعالیت ورزشی و تورین تأثیرات مثبتی بر مسیرهای کاهش توده استخوان مؤثر نشان داده‌اند [۱۹-۲۲]. با توجه به محدود بودن مطالعات در زمینه تأثیر تمرینات ترکیبی بر شاخص‌های استئوپونتین و استئوکلسین و کمبود اطلاعات به‌ویژه در مردان، در تحقیق حاضر، تأثیر هشت هفته تمرین استقامتی-مقاومتی بر سطح سرمی استئوکلسین و استئوپونتین در موش نر ویستار دیابتی‌شده بررسی می‌شود.

۲. مواد و روش‌ها

آزمودنی‌های پژوهش تجربی حاضر، ۴۰ رت نر نژاد ویستار بالغ با دامنه وزنی ۳۰۰-۲۵۰ گرم با سن ۶ هفته‌ای بودند که از مرکز آزمایشگاهی استان ارومیه تهیه شدند. رت‌ها در تمام مراحل آزمون تحت شرایط کنترل دقیق و کامل از نظر رژیم غذایی، درجه حرارت محیط (22 ± 2 درجه سانتی‌گراد) و رطوبت (55 ± 5 درصد)، استرس و نور قرار داشتند. شرایط نوری ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی بود. حیوانات به صورت گروه‌های ۵ تایی در قفس‌های مجزا از جنس پلاستیکی گلاس نگهداری شدند [۲۰]. ۳۰ سر از رت‌ها در پایان هشت‌هفتگی و با روش تزریق درون‌صفاقی استرپتوزوتوسین SO130 (STZ) شرکت سیگما با دوز ۵۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم حل‌شده در بافر سیترات (۰/۰۵ مولار با $\text{pH} = 4/5$) دیابتی شدند. برای اطمینان از دیابتی‌شدن رت‌ها، سه روز پس از تزریق STZ، نمونه خونی از سیاهرگ دمی گرفته شد و با دستگاه گلوکومتر (مدل Auto-coding infopiaEasy Gluco، ساخت کشور کره) اندازه‌گیری شد.

میزان قند خون بیشتر از ۲۵۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر نشان‌دهنده دیابتی‌شدن بود (۲۳). میزان قند خون گروه‌های دیابتی در تحقیق حاضر ۳۰۰ و بالاتر از ۳۰۰ میلی‌گرم در

همچنین در معدنی‌سازی استخوان‌ها، نوسازی استخوان‌ها^۱ و پوکی‌استخوان لگن دخالت دارد [۳، ۶، ۷]. استئوپونتین با بیماری‌های متابولیکی نظیر دیابت نوع دو، مقاومت به انسولین و چاقی ارتباط دارد و با تمرین کاهش می‌یابد [۲-۳]. در بیماران دیابتی نوع ۲ که قند خون آنها به‌خوبی کنترل نمی‌شود تشکیل استخوان تغییر می‌یابد و نوسازی استخوان تحت تأثیر وضعیت کنترل قند خون بیماران قرار می‌گیرد [۳]. تمرین ورزشی برای جلوگیری از بیماری‌هایی مانند دیابت و پوکی استخوان، مفید می‌باشد. ولیکن نتایج مطالعات انجام‌شده در مورد تأثیر تمرین بر استئوکلسین و استئوپونتین، متناقض است [۹]. برخی تحقیقات نشان دادند که تمرین، موجب افزایش سطح سرمی شاخص‌های جذب و بازجذب استخوان می‌شود [۴، ۷، ۱۰]. در مقابل، برخی دیگر نشان دادند که تمرین باعث کاهش سطح سرمی شاخص‌های جذب و بازجذب استخوان می‌شود [۷، ۱۱، ۱۲]. بعضی دیگر، تغییر معنی‌داری گزارش نکردند [۵]. هامپریز و همکاران (۲۰۰۹) نشان دادند که ۱۶ هفته تمرین مقاومتی، منجر به کاهش میزان استئوپونتین بعد از ویریشن کل بدن در زنان فعال سالم می‌شود [۱۱]. هاگی‌هارا و همکاران (۲۰۰۹) نشان دادند که هشت هفته دویدن روی تردمیل باعث افزایش میزان استئوکلسین در رت‌های ماده می‌شود [۱۲]. خورشیدی و همکاران (۲۰۱۱) نشان دادند که ۱۱ هفته تمرین هوازی منظم موجب بهبود وضعیت گلیسمیک در بیماران دیابتی نوع ۲ شد در حالی که بر آلکالین فسفاتاز و استئوکلسین، تأثیری ندارد [۵].

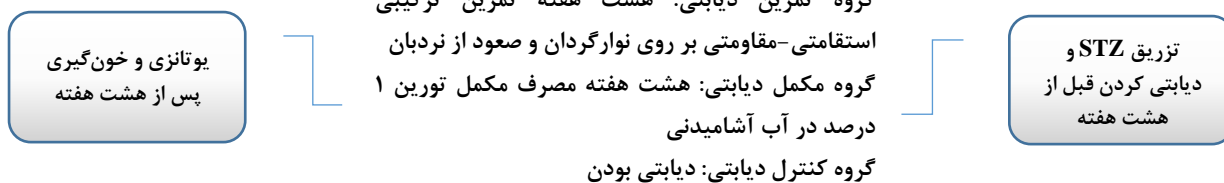
تورین (۲- آمینو اتان سولفونیک اسید) یک اسید آمینه نیمه‌ضروری است که در تنظیم مکانیزم‌های درگیر در فرایندهای انقباض و توده عضلانی- استخوانی، افزایش مصرف انرژی، مسیرهای علامت‌دهی انسولین، متابولیسم کربوهیدرات و خنثی کردن رادیکال‌های آزاد، دخیل است [۱۳]. سطح اسید آمینه تورین در بیماران دیابتی، کمتر از افراد غیردیابتی می‌باشد. مصرف اسید آمینه تورین با کاهش مقاومت به انسولین، منجر به پیشگیری و بهبود دیابت است. بین مصرف مکمل تورین و چگالی معدنی استخوان، ارتباط مستقیم و معنی‌داری وجود دارد [۱۴]. تورین در تنظیم متابولیسم استخوان و بهبود وضعیت سلولی در دیابت، رویکرد دارویی دارد [۱۴]. تحقیقات بسیار کمی، تأثیر مصرف تورین را در سازوکارهای استخوانی افراد دیابتی بررسی کرده‌اند که نتایج مطالعات اندک در خصوص تأثیر مصرف مکمل بر استخوان نیز متناقض است. مارتینیاکوف و همکاران (۲۰۱۹) نشان دادند که هشت هفته مصرف تورین

دسی لیتر بود. رت‌های دیابتی شده به‌طور تصادفی به ۳ گروه ۱۰ تایی (تمرین ترکیبی، مکمل تورین و کنترل دیابتی) تمرین تقسیم شدند و یک گروه ۱۰ تایی از رت‌ها که تزریق داخل صفاقی STZ نداشتند و میزان قند خون آن‌ها طبیعی بود به‌عنوان گروه کنترل سالم در نظر گرفته شدند (۲۳). تعداد نمونه در هر گروه، با استفاده از فرمول تعیین حجم نمونه در مطالعات تجربی، با در نظر گرفتن خطای نوع اول مساوی با ۰/۰۵، ۱۰ نفر در هر گروه تعیین شد. تعداد اندازه نمونه از طریق فرمول زیر برآورد شد که در آن $S=14$ (انحراف استاندارد) و $D=7$ (دقت احتمالی) از منابع قبلی و Z از جدول ارزش‌های بحرانی تعیین شد.

$$n = \frac{S_X^2 \times Z_{\alpha/2}^2}{D^2}$$

همچنین تعداد نمونه در مطالعات پیشین مربوط به پژوهش و در جدول مورگان ۱۰ نفر بود (۲۴-۲۱). تمرین استقامتی - مقاومتی به مدت ۸ هفته و ۵ روز در هفته و پس از آشنایی رت‌ها به مدت ۲ هفته با محیط و شرایط تمرینی، اجرا شد. بر اساس مطالعه بیگلری و همکاران و لو و همکاران، هر موش صحرایی، ابتدا به مدت ۱۰ دقیقه با شدت ۱۰ متر در دقیقه مرحله گرم کردن را سپری کرد. سپس آزمون فزاینده ورزشی آغاز شد و هر دو دقیقه سرعت تریدمیل ۰/۰۳ متر در ثانیه به‌طور خودکار افزایش یافت تا زمانی که موش‌های صحرایی قادر به ادامه فعالیت ورزشی نبودند. مقادیر حداکثر اکسیژن مصرفی (VO_{2max}) با فرمول $y = 162x - 1$ محاسبه شد که در آن y نشان‌دهنده VO_2 برحسب میلی‌لیتر بر کیلوگرم در 0.75 در دقیقه و x سرعت دویدن بر روی نوارگردان (متر بر ثانیه) می‌باشد که به‌صورت y , represents VO_2 (ml/kg 0.75) and x , running speed (m/s) می‌باشد و شدت تمرینی بر این اساس تنظیم شد (۲۶-۲۵). در ابتدا، تمرین استقامتی با سرعت ۱۵ متر بر دقیقه و با شدت ۴۰ درصد VO_{2max} به مدت ۱۵ دقیقه بر روی نوارگردان با شیب صفر درجه آغاز شد. در پایان هفته سوم به سرعت ۱۷ متر بر دقیقه و مدت ۴۰ دقیقه و شدت ۶۰ درصد VO_{2max} افزایش یافت. سرعت و مدت تمرین در پایان هفته چهارم تا هفته هشتم، ثابت و به‌ترتیب ۲۰ متر بر دقیقه و ۴۰ دقیقه، با شب صفر درجه تا پایان جلسات تمرینی اعمال شد. سرعتی که سطح لاکتات خون را به بالاتر از ۶ میلی‌لیتر در لیتر رساند حداکثر سرعت در نظر

گرفته شد. این آزمون دوبار در ابتدا و انتهای آزمایش در یک زمان از روز انجام شد. رت‌ها در ابتدای هر جلسه ۵ دقیقه تمرین برای گرم کردن (با شدت ۱۰ متر در دقیقه) و در انتها ۵ دقیقه برای سرد کردن (شدت ۱۰ متر در دقیقه و با کاهش تدریجی شدت به کمترین مقدار) فعالیت کردند (۱۰). تمرین مقاومتی نیز بعد از تمرین استقامتی، به مدت ۸ هفته، ۵ روز در هفته به صورت صعود و بالا رفتن از پله‌های نردبان انجام شد، به این صورت که در هفته‌های اول، دوم و سوم به‌ترتیب ۸، ۱۰ و ۱۲ بار صعود در هر جلسه بدون وزنه اجرا شد. بار وزنه در هفته چهارم یک درصد وزن بدن رت و تعداد ۱۴ بار صعود از نردبان بود. از هفته پنجم تا پایان هفته هشتم، با حمل وزنه‌هایی به اندازه ۳ درصد کل وزن بدن که به دم حیوان متصل بود و تعداد ۱۵ بار صعود در هفته توسط رت‌ها اجرا شد (۲۳). در گروه مکمل دیابتی، مکمل تورین تهیه‌شده از شرکت سیگمای کشور آمریکا (St.Louis)، به‌صورت محلول ۱ درصد در آب آشامیدنی روزانه (۵۰۰ میلی‌لیتر) در دسترس رت‌ها قرار گرفت و به‌منظور اطمینان از میزان مصرف مکمل، آب مصرفی رت‌های گروه مکمل به‌صورت یک روزانه ثبت شد (۲۳). ۴۰ ساعت بعد از آخرین جلسه تمرینی و مصرف مکمل و بعد از ۲۴ ساعت ناشتایی، هر ۴۰ رت با روش تزریق داخل صفاقی ترکیبی از کتامین ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن و زایلازین ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن بیهوش و سپس یوتانزی شدند. خون سیاهرگی پس از شکافتن سینه، به‌طور مستقیم از ورید اجوف تحتانی با سرنگ جمع‌آوری و به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۳۰۰۰ دور بر دقیقه سانتریفوژ شد. سپس سرم خون جدا و در دمای منهای ۸۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری و به آزمایشگاه تخصصی سرای تبریز منتقل شد (۱۱). خون‌گیری در تمام مراحل بین ساعات ۹-۱۱ صبح انجام شد. استئوکلسین توسط کیت Eliza رت با ضریب تغییرات درون‌سنجی ۹۸ درصد و برون‌سنجی ۹۹ درصد، ساخت شرکت Elabscience کشور آمریکا و استئوپونتین با کیت الایزای رت با ضریب تغییرات درون‌سنجی ۹۰ درصد و برون‌سنجی ۹۲ درصد، ساخت شرکت cusabio کشور چین اندازه‌گیری شد. پژوهش حاضر در کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی اردبیل (IR.ARUMS.REC.1400.077) تأیید شده است.



شکل ۱. طرح تحقیق در گروه‌های تمرین دیابتی، مکمل دیابتی، کنترل دیابتی و کنترل سالم قبل و بعد از هشت هفته

جدول ۱. برنامه تمرین استقامتی-مقاومتی و مصرف مکمل تورین در گروه‌های تجربی

تمرین استقامتی-مقاومتی							
تمرین	هفته تمرین	تعداد جلسه در هفته	سرعت (متر بر دقیقه)	مدت (دقیقه)	شدت (درصد Vo2max)	میزان بار (وزنه)	صعود از نردبان
ترکیبی	۱	۵	۱۵	۱۵	۴۰	۰	۶-۸
ترکیبی	۲	۵	۱۷	۳۰	۴۰	۰	۸-۱۰
ترکیبی	۳	۵	۲۰	۴۰	۶۰	۰	۱۴
ترکیبی	۴	۵	۲۰	۴۰	۷۵	۱ درصد	۱۵
ترکیبی	۵	۵	۲۰	۴۰	۸۰	۳ درصد	۱۵
ترکیبی	۶	۵	۲۰	۴۰	۸۰	۳ درصد	۱۵
ترکیبی	۷	۵	۲۰	۴۰	۸۰	۳ درصد	۱۵
ترکیبی	۸	۵	۲۰	۴۰	۸۰	۳ درصد	۱۵
مصرف مکمل تورین							
		مقدار	نوع		نحوه		
		یک درصد	محلول در آب آشامیدنی		پنج روز در هفته		

۳. یافته‌ها

آزمون شاپیروویلیک نشان داد که داده‌ها از توزیع طبیعی برخوردار است. میانگین \pm انحراف معیار متغیرهای پژوهش قبل و بعد از اجرای هشت هفته تمرین ترکیبی استقامتی-مقاومتی در گروه‌های تمرین دیابتی، مکمل دیابتی، کنترل دیابتی و کنترل سالم در جدول ۱ نشان داده شده است.

برای بررسی طبیعی بودن توزیع داده‌ها از آزمون شاپیروویلیک، برای توصیف یافته‌های توصیفی از میانگین \pm انحراف استاندارد، برای مقایسه تفاوت میانگین متغیرها بین چهار گروه تمرین دیابتی، مکمل دیابتی، کنترل دیابتی و کنترل سالم از آزمون آنووا یک‌طرفه و آزمون تعقیبی بونفونی استفاده شد. سطح معنی‌داری آزمون‌ها $P < 0/05$ در نظر گرفته شد. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۲۶ تحلیل شد.

جدول ۲. میانگین و انحراف معیار متغیرهای پژوهش قبل و پس از هشت هفته تمرین استقامتی-مقاومتی در گروه‌های تمرین دیابتی ($n=10$)، مکمل-دیابتی ($n=10$)، کنترل دیابتی ($n=10$) و کنترل سالم ($n=10$)

متغیرها	مرحله	تمرین دیابتی	مکمل دیابتی	کنترل دیابتی	کنترل سالم
وزن (گرم)	قبل از هشت هفته تمرین	۲۶۰/۱۱ \pm ۸۰/۰۳	۲۵۱/۱۱ \pm ۰۰/۲۵	۲۵۸/۶ \pm ۰۰/۳۲	۲۵۷/۱۳ \pm ۰۰/۵۸
	پس از هشت هفته تمرین	۳۱۵/۸ \pm ۶۰/۵۰	۲۷۱/۱۱ \pm ۰۰/۲۷	۳۱۶/۲۸ \pm ۲۰/۱۵	۳۳۴/۷ \pm ۰۰/۶۸
قد (سانتی‌متر)	قبل از هشت هفته تمرین	۲۰/۰ \pm ۰۰/۰۰	۲۰/۰ \pm ۰۰/۰۰	۲۰/۰ \pm ۰۰/۰۰	۲۰/۰ \pm ۰۰/۰۰

۲۱/۰±۰۰/۴۷	۲۱/۰±۰۵/۲۸	۲۰/۰±۹۵/۲۸	۲۱/۰±۰۵/۴۳	پس از هشت هفته تمرین	
۰/۰±۶۴/۰۳	۰/۰±۶۴/۰۱	۰/۰±۶۳/۰۳	۰/۰±۶۵/۰۰	قبل از هشت هفته تمرین	BMI (گرم بر مجذور سانتی متر)
۰/۰±۷۵/۰۴	۰/۰±۷۱/۰۵	۰/۰±۶۲/۰۲	۰/۰±۷۱/۰۲	پس از هشت هفته تمرین	
۵۶/۰±۰۰/۹۴	۵۶/۰±۲۰/۹۲	۵۶/۱±۵۰/۲۷	۵۶/۰±۱۰/۹۹	قبل از هشت هفته تمرین	غذای مصرفی (gr/Rat/Week)
۷۴/۳±۴۰/۴۷	۷۰/۳±۴۰/۸۱	۶۴/۲±۱۰/۰۰	۶۷/۱±۷۰/۳۴	پس از هشت هفته تمرین	
۲۰/۴±۸۴/۷۴	۴/۲±۸۴/۴۹	۸/۲±۷۱/۸۶	۱۰/۵±۳۴/۳۴	پس از هشت هفته تمرین	استئوکلسین (ng/mg) (OCN)
۱۰/۴±۸۸/۰۷	۲۳/۸±۰۰/۷۴	۱۷/۸±۱۷۹/۸۷	۲۱/۷±۴۷/۴۵	پس از هشت هفته تمرین	استئوپونتین (pg/mg) (OPN)

در پایان هشت هفته، بین وزن بدن ($P=0.043$)، BMI ($P=0.043$)، غذای مصرفی ($P=0.0001$)، استئوکلسین ($P=0.0001$) و استئوپونتین ($P=0.001$) گروه‌های تمرین دیابتی، مکمل دیابتی، کنترل دیابتی و کنترل سالم، تفاوت معنی داری وجود دارد.

نتایج آزمون ANOVA نشان داد که بین میانگین وزن بدن ($F=0.516$, $P=0.603$)، BMI ($F=0.516$, $P=0.603$) و غذای مصرفی ($F=0.392$, $P=0.813$) گروه‌ها در شروع مطالعه اختلاف معنی داری وجود ندارد (جدول ۱). همان‌طور که در جدول ۱ مشاهده می‌شود نتایج آزمون Anova یک‌راهه نشان داد

جدول ۳. نتایج آزمون تحلیل واریانس برای میانگین متغیرهای پژوهش قبل و پس از هشت هفته تمرین استقامتی - مقاومتی در چهار گروه تمرین دیابتی (مکمل دیابتی ($n=10$)، کنترل دیابتی ($n=10$)، کنترل سالم ($n=10$))

متغیر	مجموع مجذورات	درجه آزادی	میانگین مجذورات	آماره فیشر (F)	سطح معنی داری Sig
وزن (گرم) قبل از هشت هفته تمرین	بین گروهی	۲	۳۸/۸۰۰	۰/۵۱۶	۰/۶۰۳
	درون گروهی	۲۷	۷۵/۱۷۰		
	کل	۲۹			
قد (سانتی متر) قبل از هشت هفته تمرین	بین گروهی	۲	۰/۰۰۰۱	-	-
	درون گروهی	۲۷	۰/۰۰۰۱		
	کل	۲۹	۰/۰۰۰۱		
BMI (گرم بر مجذور سانتی متر) قبل از هشت هفته تمرین	بین گروهی	۲	۰/۰۰۰۱	۰/۵۱۶	۰/۶۰۳
	درون گروهی	۲۷	۰/۰۰۰۱		
	کل	۲۹	۰/۰۱۳		
غذای مصرفی قبل از هشت هفته تمرین (gr/Rat/Week)	بین گروهی	۴	۰/۴۳۰	۰/۳۹۲	۰/۸۱۳
	درون گروهی	۴۵	۱/۰۹۸		
	کل	۴۹	۵۱/۱۲۰		
وزن (گرم) پس از هشت هفته تمرین	بین گروهی	۲	۱۰۹۲/۹۳۳	۳/۵۴۸	* ۰/۰۴۳
	درون گروهی	۲۷	۳۰۸/۰۰۰		
	کل	۲۹	۱۰۵۰۱/۸۶۷		
قد (سانتی متر) پس از هشت هفته تمرین	بین گروهی	۲	۰/۰۰۸	۰/۰۵۱	۰/۹۵۱
	درون گروهی	۲۷	۰/۱۶۵		
	کل	۲۹	۴/۴۶۷		
BMI (گرم بر مجذور سانتی متر) پس از هشت هفته تمرین	بین گروهی	۲	۰/۰۰۷	۳/۵۴۵	* ۰/۰۴۳
	درون گروهی	۲۷	۰/۰۰۲		
	کل	۲۹	۰/۰۶۷		

*	۰/۰۰۰۱	۲۳/۵۲۲	۱۵۴/۸۳۰	۴	۶۱۹/۳۲۰	بین گروهی	غذای مصرفی بعد از هشت هفته تمرین (gr/Rat/Week)
		۲۳/۵۲۲	۶۱/۵۸۲	۴۵	۲۹۶/۲۰۰	درون گروهی	
				۴۹	۹۱۵/۵۲۰	کل	
*	۰/۰۰۰۱	۳۴/۵۹۱	۶۶۰/۸۳۳	۲	۱۳۲۱/۶۶۷	بین گروهی	استئوکلسین (OCN) (ng/mg)
			۱۹/۱۰۴	۲۷	۵۱۵/۸۱۲	درون گروهی	
				۲۹	۱۸۳۷/۴۷۹	کل	
*	۰/۰۰۱	۸/۷۹۴	۴۳۵/۵۷۸	۲	۸۷۱/۱۵۶	بین گروهی	استئوپونتین (OPN) (pg/mg)
			۴۹/۵۳۲	۲۷	۱۳۳۷/۳۶۶	درون گروهی	
				۲۹	۲۲۰۸/۵۲۲	کل	

* تفاوت معنی داری بین گروهی در سطح $P < 0.05$

کنترل سالم تفاوت معنی داری نداشت ($P > 0.05$). میزان غذای مصرفی در گروه تمرین دیابتی در مقایسه با گروه مکمل دیابتی ۳/۶ درصد کاهش معنی دار داشت ($P = 0.030$). سطح سرمی استئوکلسین در گروه تمرین دیابتی در مقایسه با گروه کنترل دیابتی ۱۱۳/۶۴ درصد افزایش معنی دار داشت ($P = 0.018$). در حالی که در گروه مکمل دیابتی در مقایسه با گروه کنترل دیابتی و در گروه تمرین دیابتی در مقایسه با گروه مکمل دیابتی تفاوت معنی دار نداشت ($P = 1.000$). در مقابل، سطح سرمی استئوپونتین در گروه کنترل دیابتی در مقایسه با گروه کنترل سالم ۷۶/۷۸ درصد کاهش معنی دار داشت ($P = 0.0001$). سطح سرمی استئوپونتین در گروه‌های تمرین دیابتی و مکمل دیابتی در مقایسه با گروه کنترل دیابتی و نیز در گروه تمرین دیابتی در مقایسه با گروه مکمل دیابتی تفاوت معنی داری ($P = 1.000$) نداشت. در حالی که در گروه کنترل دیابتی در مقایسه با گروه کنترل سالم ۹۷/۸۹ درصد افزایش معنی دار داشت ($P = 0.003$).

همان‌طور که در جدول ۴ مشاهده می‌شود، در مقایسه دو به دو میانگین گروه‌ها با استفاده از آزمون تعقیبی بونفرونی نشان داد که وزن بدن گروه‌های تمرین دیابتی و مکمل دیابتی در مقایسه با گروه کنترل دیابتی و نیز در گروه کنترل دیابتی در مقایسه با گروه کنترل سالم کاهش یافت که این کاهش معنی دار نبود ($P > 0.05$). وزن بدن در گروه تمرین دیابتی در مقایسه با گروه مکمل دیابتی ۴۴/۶ درصد افزایش معنی دار داشت ($P = 0.001$). قد و BMI در گروه‌های تمرین دیابتی و مکمل دیابتی در مقایسه با گروه کنترل دیابتی و نیز در گروه کنترل دیابتی در مقایسه با گروه کنترل سالم تفاوت معنی داری نداشت ($P > 0.05$). قد در گروه تمرین دیابتی در مقایسه با مکمل دیابتی تفاوت معنی داری نداشت ($P > 0.05$). BMI در گروه تمرین دیابتی در مقایسه با گروه مکمل دیابتی ۰/۰۹۵ درصد افزایش معنی دار داشت ($P = 0.001$). میزان غذای مصرفی گروه‌های تمرین دیابتی و مکمل دیابتی در مقایسه با گروه کنترل دیابتی و نیز در گروه کنترل دیابتی در مقایسه با گروه

جدول ۴. نتایج آزمون تعقیبی بونفرونی برای مقایسه اختلاف میانگین متغیرهای پژوهش به صورت دو به دو پس از هشت هفته تمرین استقامتی - مقاومتی در گروه‌های تمرین دیابتی ($n=10$)، مکمل دیابتی ($n=10$)، کنترل دیابتی ($n=10$) و کنترل سالم ($n=10$)

مقایسه گروه‌ها	وزن بدن (گرم)	قد (سانتی - متر)	BMI (گرم بر سانتی متر مربع)	غذای مصرفی (gr/Rat/Week)	استئوکلسین (ng/mg)	استئوپونتین (pg/mg)
تمرین دیابتی - کنترل دیابتی	-۰/۶۰۰ $P=1/000$	۰/۰۰۰۱ $P=1/000$	-۰/۰۰۰۴ $P=1/000$	-۲/۷۰۰ $P=0/230$	۵/۵۰۰ $*P=0/027$	-۱/۵۲۷ $P=1/000$
مکمل دیابتی - کنترل دیابتی	-۴۵/۲۰۰ $*P=0/001$	-۰/۱۰۰ $P=1/000$	-۰/۰۹۶ $*P=0/0001$	-۶/۳۰۰ $*P=0/0001$	۳/۸۷۰ $P=0/242$	-۵/۸۲۵ $P=0/655$
تمرین دیابتی - مکمل دیابتی	-۴۴/۶۰۰ $†P=0/001$	۰/۱۰۰ $P=1/000$	-۰/۰۹۵ $†P=0/001$	۳/۶۰۰ $†P=0/030$	۱/۶۳۰ $P=1/000$	۴/۳۹۸ $P=1/000$
کنترل دیابتی - کنترل سالم	-۱۷/۸۰۰ $P=0/095$	۰/۰۰۰۵ $P=1/000$	-۰/۰۴۵ $P=0/089$	۳/۵۰۰ $*P=0/040$	-۱۶/۰۰ $*P=0/0001$	۱۲/۱۱۸ $*P=0/003$

* تفاوت معنی دار با پیش آزمون در سطح $P < 0.05$ ، † تفاوت معنی دار با گروه مکمل دیابتی در سطح $P < 0.05$

۴. بحث و نتیجه گیری

یافته‌های تحقیق حاضر نشان داد که استئوکلسین پس از هشت هفته تمرین ترکیبی افزایش یافت. در مقابل، استئوکلسین پس از هشت هفته مصرف تورین، تغییر معنی‌داری نداشت. با توجه به کاهش استئوکلسین پس از هشت هفته دیابتی شدن می‌توان گفت که هشت هفته مصرف تورین مانع از کاهش استئوکلسین ناشی از دیابتی شدن بود. بین استئوکلسین پس از هشت هفته تمرین ترکیبی و مصرف تورین تفاوتی وجود نداشت. بنابراین می‌توان گفت که هشت هفته تمرین استقامتی - مقاومتی و مصرف تورین به‌طور جداگانه تأثیر مثبتی بر شاخص جذب و سنتز استخوانی استئوکلسین داشت و استئوکلسین به‌عنوان یک شاخص جذب استخوانی در اثر تمرین افزایش یافت. یافته‌های تحقیق حاضر در خصوص افزایش استئوکلسین پس از هشت هفته تمرین با یافته‌های هاگی‌وارا و همکاران (۲۰۰۹) [۱۲]، لستر و همکاران (۲۰۰۹) [۱۰]، رستمی‌زاده و همکاران (۲۰۱۹) [۲۲]، قربانیان و همکاران (۲۰۱۷) [۲۷] هم‌خوانی دارد، در حالی‌که با یافته‌های خوشیدی و همکاران (۲۰۱۱) [۵] هم‌خوانی ندارد. خورشیدی و همکاران (۲۰۱۱) نشان دادند که ۱۰ هفته تمرین هوازی بر سطوح آلکالین فسفاتاز و استئوکلسین در مردان مبتلا به دیابت نوع ۲ تأثیر معنی‌داری ندارد. دلیل احتمالی تناقضات در یافته‌های تحقیقات، تفاوت در شدت، مدت، نوع تمرین، جنسیت آزمودنی‌ها و آزمودنی‌های انسان در مقابل رت، سطح آمادگی بدنی افراد، سالم و بیمار بودن آزمودنی‌ها بود. تمرین در تحقیق حاضر تمرین استقامتی - مقاومتی و آزمودنی‌ها، رت‌های نر دیابتی بود. در حالی‌که در تحقیق خورشیدی و همکاران (۲۰۱۱) ده هفته تمرین هوازی در مردان مبتلا به دیابت نوع ۲ بود. مکانیزم‌های افزایش استئوکلسین ناشی از تمرین در تحقیق حاضر این است که فشار مکانیکی بر اثر هشت هفته تمرین ترکیبی در تحقیق حاضر به‌طور چشم‌گیری بر فرایند بازسازی استخوان مؤثر است [۲۸-۲۹]. فعالیت ورزشی با تحمل وزن، محرک استئوژنیک استخوان است و نسبت به ورزش‌های بدون تحمل وزن مانند شنا در تشکیل استخوان جدید و افزایش تراکم مواد معدنی استخوان تأثیر بیشتری دارد [۲۸-۲۹]. همان‌طور که گفته شد استئوکلسین پس از هشت هفته مصرف تورین در تحقیق حاضر تغییر معنی‌داری نکرد. این یافته با یافته‌های چویی و همکاران (۲۰۱۳) [۱۶] هم‌خوانی داشت در حالی‌که با یافته‌های چویی و همکاران (۲۰۱۷) [۱۷] هم‌خوانی نداشت. همچنین چویی و همکاران (۲۰۱۷) نشان دادند که مکمل تورین تأثیرات مثبتی بر متابولیسم استخوان در رت‌های الکلی اوارکتومی - شده دارد. دلیل احتمالی این ناهم‌خوانی، تفاوت در نوع رت و

بیماری بود. علت احتمالی تناقض یافته‌های تحقیق حاضر و یافته‌های چویی و همکاران (۲۰۱۷) این است که آزمودنی‌های تحقیق حاضر رت‌های نر بودند که دیابتی شدند، در حالی‌که آزمودنی‌های تحقیق چویی، رت‌های الکلی اوارکتومی شده بودند. علت احتمالی، تغییر معنی‌دار نداشتن استئوکلسین پس از هشت هفته مصرف تورین در تحقیق حاضر، کوتاه‌بودن طول دوره مکمل‌درمانی و کم‌بودن دوز تورین بود.

یکی دیگر از یافته‌های تحقیق حاضر نشان داد که استئوپونتین پس از هشت هفته تمرین ترکیبی و مصرف تورین، تغییر معنی‌داری نداشت. با توجه به افزایش استئوپونتین پس از هشت هفته دیابتی شدن، هشت هفته تمرین ترکیبی و مصرف تورین هر یک جداگانه مانع از افزایش استئوپونتین ناشی از دیابتی شدن بود. به عبارت دیگر تمرین ترکیبی و مصرف تورین هر یک به‌تنهایی مانع از افزایش شاخص بازجذب استخوانی یعنی سطح سرمی استئوپونتین شده است. بین استئوکلسین پس از هشت هفته تمرین ترکیبی و مصرف تورین، تفاوتی وجود نداشت بنابراین می‌توان گفت که هشت هفته تمرین استقامتی - مقاومتی و مصرف تورین به‌طور جداگانه تأثیر مثبتی بر شاخص بازجذب استخوانی استئوپونتین داشت. یافته‌های تحقیق حاضر در خصوص تغییر معنی‌دار نداشتن استئوپونتین پس از هشت هفته تمرین ترکیبی و مصرف تورین با یافته‌های هامپریز و همکاران (۲۰۰۹) [۱۱]، دشتی و همکاران (۲۰۲۱) [۶]، یو و همکاران (۲۰۱۳) [۳۰]، محمدی‌مقدم و همکاران (۲۰۱۹) [۷] و عباس‌زاده صورتی و همکاران (۲۰۱۳) [۴] هم‌خوانی ندارد. در تحقیق هارمیریز و همکاران (۲۰۰۹) ۱۶ هفته تمرین مقاومتی در زنان فعال سالم بود. در تحقیق دشتی و همکاران (۲۰۲۱) هشت هفته تمرین تناوبی شدید برای زنان دارای اضافه‌وزن و چاقی اجرا شد. در تحقیق یو و همکاران (۲۰۱۳) نیز زنان دارای اضافه‌وزن و چاقی، هشت هفته تمرینات هوازی دوییدن روی نوارگردان با شدت ۷۰ درصد آستانه بی‌هوازی را اجرا کردند. در تحقیق محمدی‌مقدم و همکاران (۲۰۱۹) تمرین استقامتی تداومی و تناوبی، در رت‌های نر ویستار متعاقب القای آنفارکتوس قلبی اعمال شد. آزمودنی‌های تحقیق عباس‌زاده صورتی و همکاران (۲۰۱۳) زنان میان‌سال غیرفعال بودند که ۱۶ هفته تمرین‌هوازی منتخب را اجرا کردند. بر اساس بررسی‌های ما تحقیقی در مورد تأثیر مصرف مکمل بر استئوپونتین انجام نشده است. تحقیقات اندک انجام‌شده در مورد تأثیر تمرین ورزشی و مصرف مکمل بر چگالی معدنی استخوان می‌باشد که نتایج آنها نیز با هم متناقض است. دلیل احتمالی ناهم‌خوانی‌ها، تناقضات در شدت، مدت، نوع تمرین، سطح آمادگی بدنی افراد، سالم و بیمار بودن آزمودنی‌ها، جنسیت آزمودنی‌ها و گونه آزمودنی‌ها انسان در مقابل رت بود. علت احتمالی تغییر معنی‌دار نداشتن استئوپونتین

هفته تمرین ترکیبی در مقایسه با هشت هفته مصرف تورین، به طور معنی داری کاهش یافت. علت احتمالی افزایش غذای مصرفی بعد از هشت هفته تمرین، کاهش میل به غذا به دلیل افزایش میزان متابولیسم پایه و حرارت بدن و افزایش اتساع پذیری روده‌ها بود که احساس سیری ایجاد کرد [۳۵]. از محدودیت‌های مطالعه حاضر این است که با توجه به این که رت‌ها به صورت گروه‌های پنج‌تایی در قفس نگهداری شدند، این احتمال وجود داشت که میزان غذای دریافتی حیوانات موجود در یک قفس، یکسان نباشند.

در کل، یافته‌های پژوهش حاضر نشان داد که هشت هفته تمرین ترکیبی استقامتی-مقاومتی و مصرف تورین باعث افزایش معنی دار استئوکلسین شد. با توجه به کاهش استئوپونتین در گروه کنترل دیابتی در مقایسه با گروه کنترل سالم، تمرین ترکیبی و مکمل تورین هر دو از تأثیرات منفی دیابت بر افزایش شاخص بازجذب استخوان جلوگیری کرده است. وزن بدن و BMI در گروه تمرین ترکیبی در مقایسه با گروه مکمل دیابتی به طور معنی داری بیشتر و میزان غذای مصرفی در گروه تمرین ترکیبی در مقایسه با گروه مکمل دیابتی به طور معنی داری کمتر بود. نتایج پژوهش حاضر و مطالعات قبلی نشان می‌دهد که ورزش برای پیشگیری از بیماری پوکی استخوان و ناشی از دیابت مؤثر است. بنابراین، ضروری است پژوهش‌های بیشتری تأثیر تمرین بر شاخص‌های جذب و بازجذب نوسازی استخوان و پیشگیری از بیماری‌های استخوانی و دیابت، با استفاده از آزمودنی‌های انسانی و حیوانی و نیز در هر دو جنس و در مدت‌زمان بیشتری را بررسی کند.

تشکر و قدردانی

مطالعه حاضر برگرفته از پایان‌نامه کارشناسی ارشد می‌باشد که با حمایت معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه محقق اردبیلی و دانشگاه علوم پزشکی استان اردبیل انجام شده است. نویسندگان مقاله، از کلیه پرسنل محترم دانشگاه محقق اردبیلی و دانشگاه علوم پزشکی اردبیل سپاسگزارند.

پس از هشت هفته تمرین ترکیبی و مصرف تورین در تحقیق حاضر، کوتاه‌بودن طول دوره تمرین ترکیبی و مکمل درمانی و کم-بودن شدت و مدت تمرین و نیز کافی نبود دوز مکمل تورین بود. در خصوص مکانیزم تأثیر مکمل تورین بر شاخص‌های استخوانی، پژوهشی صورت نگرفته و چگونگی تأثیر مکمل تورین بر شاخص-های استخوانی به طور دقیق مشخص نشده است.

وزن، قد و BMI پس از هشت هفته تمرین استقامتی-مقاومتی و نیز مصرف تورین، تفاوت معنی داری نداشت. علت احتمالی تغییر معنی دار نداشتن استئوپونتین، وزن، قد و BMI در گروه تمرین دیابتی در مقایسه با گروه کنترل دیابتی، کوتاه‌بودن طول و مدت و شدت تمرین در پژوهش حاضر بود. یافته‌های پژوهش حاضر در خصوص تغییر معنی دار نداشتن وزن، قد و BMI در گروه تمرین دیابتی در مقایسه با کنترل دیابتی با یافته‌های کاظم‌زاده و همکاران (۲۰۱۶) [۳۱] همخوانی دارد. در حالی که با یافته‌های گیبالا و همکاران (۲۰۱۲) [۳۲]، ویت و همکاران (۲۰۱۲) [۳۳] و ترپ و همکاران (۲۰۰۸) [۳۴] همخوانی ندارد. کاظم‌زاده و همکاران نشان دادند هشت هفته تمرین تناوبی با شدت بالا بر متغیرهای مرتبط با ترکیب بدنی در مردان جوان دارای اضافه‌وزن تأثیر معنی داری نداشت [۳۱] در حالی که گیبالا و همکاران (۲۰۱۲) [۳۲]، ویت و همکاران (۲۰۱۲) [۳۳] و ترپ و همکاران (۲۰۰۸) [۳۴] نشان دادند که تمرینات تناوبی مقاومتی شدید، باعث کاهش معنی دار درصد چربی زیرپوستی و چربی احشایی در زنان شد. علت احتمالی این ناهمخوانی‌ها تفاوت در نوع، شدت و مدت تمرینات انجام‌شده توسط آزمودنی‌ها و گونه آزمودنی‌های انسانی در مقابل رت می‌باشد. علت احتمالی تغییر معنی دار نداشتن وزن، قد و BMI در گروه مکمل دیابتی در مقایسه با گروه کنترل دیابتی، کوتاه‌بودن طول و مدت و دوز مکمل تورین در پژوهش حاضر بود. وزن و BMI پس از هشت هفته تمرین ترکیبی در مقایسه با هشت هفته مصرف تورین به طور معنی داری افزایش یافت که این افزایش احتمالاً ناشی از افزایش توده عضلانی و استخوانی ناشی از تمرین بوده است که در تحقیق حاضر اندازه-گیری نشده است [۳۵]. در مقابل، غذای مصرفی پس از هشت

References

- [1]. Zheng HX, Chen DJ, Zu YX, Wang EZ, Qi SS. Chondroitin sulfate prevents STZ induced diabetic osteoporosis through decreasing blood glucose, anti-oxidative stress, anti-inflammation and OPG/RANKL expression regulation. *International Journal of Molecular Sciences* 2020; 21 (5303):1-14. DOI: 10.3390/ijms21155303.
- [2]. Levinger I, Jerums G, Stepto NK, Parker L. The effect of acute exercise on under carboxylated osteocalcin and insulin sensitivity in obese men. *The Journal of Bone and Mineral Research* 2014; 29(12):2571-6. DOI: 10.1002/jbmr.2285.
- [3]. El Deeb S, Abdelnaby R, Khachab A, Bläsius K, Tingart M, Rath B. Osteopontin as a biochemical marker and severity indicator for idiopathic hip osteoarthritis. *HIP International* 2016; 26(4): 397-403. DOI: 10.5301/hipint.5000361.
- [4]. Abbaszadeh Sourati H, Ebrahim KH, Nikbakht H. The effect of 16 weeks of selected aerobic exercise on serum osteopontin and osteocalcin in inactive middle-aged women. *The Joint Science Education Project* 2013; 5(2): 777-84. DOI: 10.22038/mjms.2018.12132 (Persian).
- [5]. Khorshidi D, Homai M, Azarbayjani H, Hosseinnezhad MA. The effect of a course of aerobic exercise on serum alkaline phosphatase and osteocalcin levels in type 2 diabetic patients. *The Journal of Shahid Sadoughi University of Medical sciences* 2011; 5(19): 685-76. URL: <http://jssu.ssu.ac.ir/article-1-1743->

- en.html. (Persian).
- [6]. Dashti N, Rezaian N, Karimi M, Kooroshfard N. The effect of intense intermittent exercise on serum osteopontin level and insulin resistance index in sedentary, overweight and obese women. *Science Education and Practice* 2021; 14(2):115-26. (Persian). URL: <https://doi.org/10.52547/joeppa.14.2.115>.
 - [7]. Mohammadi Moghaddam A, Tadibi V, Behpour N, Nazari A. Effects of pretreatment of continuous and intermittent endurance training on myocardial osteopontin gene expression in male Wistar rats following induction of myocardial infarction. *Yafteh Journal for Medical Sciences* 2019; 21(2):1-13. URL: <http://yafte.lums.ac.ir/article-1-2723-en.html>. (Persian).
 - [8]. Barchetta I, Alessandri C, Bertocchini L, Cimini FA, Taverniti L, Di Franco M, et al. Increased circulating osteopontin levels in adult patients with type 1 diabetes mellitus and association with dysmetabolic profile. *European Journal of Endocrinology* 2016; 174(2): 187-92. DOI: 10.1530/EJE-15-0791.
 - [9]. Li L, Chen, Shuang, L, Dong M, Li Z, Jiaheng T. Influence of exercise on bone remodeling-related hormones and cytokines in ovariectomized rats: A model of postmenopausal osteoporosis. *The Journal of PLoS One* 2014; 9(11): e112845. DOI: 10.1371/journal.pone.0112845.
 - [10]. Lester M, Urso M, Evans R, Pierce J, Spiering B, Maresh C. Influence of exercise mode and osteogenic index on bone biomarker responses during short-term physical training. *Bone National Library of Medicine* 2009; 45(4): 768-76. DOI: 10.1016/j.bone.2009.06.001.
 - [11]. Humphries B, Fenning A, Dugan E, Guinane J, MacRae K. Whole-body vibration effects on bone mineral density in women with or without resistance training. *Aerospace Medicine and Human Performance* 2009; 80(12): 1025-31. DOI: 10.3357/asm.2573.2009
 - [12]. Hagihara Y, Nakajima A, Fukuda S, Goto S, Iida H, Yamazaki M. Running exercise for short duration increases bone mineral density of loaded long bones in young growing rats. *The Tohoku Journal of Experimental Medicine* 2009; 219(2): 139-43. DOI: 10.1620/tjem.219.139.
 - [13]. Batitucci G, Terrazas S, Nóbrega M, Carvalho E, Papoti M, Marchini J, et al. Effects of taurine supplementation in elite swimmers performance. *Revista de Educação Física* 2018; 24(1): 1-4. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S1980-6574201800010011>.
 - [14]. Schaffer S, Kim HW. Effects and Mechanisms of Taurine as a Therapeutic Agent. *Biomolecules and therapeutics* 2018; 26(3):225-41. DOI: 10.4062/biomolther.2017.251.
 - [15]. Martiniakov M, Sarocka A, Babosova R, Galbavy D, Kapusta E, Goc Z, et al. Bone microstructure of mice after prolonged taurine treatment results on bone metabolism in alcohol-fed OVX rat model. *Physiological Research* 2019; 68(3): 519-23. DOI: 10.33549/physiolres.934139.
 - [16]. Choi MJ, Seo JN. Effect of taurine feeding on bone mineral density and bone markers in rats. *Advances in Experimental Medicine and Biology* 2013; 776: 51-8. DOI: 10.1007/978-1-4614-6093-0-6.
 - [17]. Choi MJ, Chang KJ, Lee JW, Jung YJ. Beneficial function of taurine on bone metabolism in alcohol-fed OVX rat model. *Advances in Experimental Medicine and Biology* 2017; 975(1): 1059-69. DOI: 10.1007/978-94-024-1079-2-84.
 - [18]. Choi MJ. Effects of taurine supplementation on bone mineral density in ovariectomized rats fed calcium deficient diet. *Nutrition Research and Practice* 2009; 3(2): 108-13. DOI: 10.4162/nrp.2009.3.2.108.
 - [19]. Yuan Y, Chen X, Zhang L, Wu J, Guo J, Zou D, et al. The roles of exercise in bone remodeling and in prevention and treatment of osteoporosis. *Progress in Biophysics and Molecular Biology* 2016; 122(2): 122-30. DOI: 10.1016/j.pbiomolbio.2015.11.005.
 - [20]. El Deeb S, Abdelnaby R, Khachab A, Bläsius K, Tingart M, Rath B. Osteopontin as a biochemical marker and severity indicator for idiopathic hip osteoarthritis. *HIP International* 2016; 26(4): 397-403. DOI: 10.5301/hipint.5000361.
 - [21]. Abbasi T, Nazarali P, Hedayati M, Alizadeh R. The effect of eight weeks of high intensity interval training on osteopontin and some bone mineral indices in young women. *Journal of Physical Education and Sport* 2018; 8(1): 535-32. DOI: 10.7752/jpes.2018.s176. (Persian).
 - [22]. Rostami zadeh M, Alamiyeh AR, Rahmaniniya F. The effect of aerobic and resistance exercises on the relationship between blood biochemical indices and body composition with bone resorption index in overweight men. *Shahid Sadoughi University of Medical Sciences* 2019; 27(5): 1540-55. DOI: 10.18502/ssu.v27i5.1522. (Persian).
 - [23]. Sedaghat S, Choobineh A. Taurine with combined aerobic and resistance exercise training alleviates myocardium apoptosis in STZ-induced diabetes rats via Akt signaling pathway. *Life Sciences* 2020; 258:118. DOI: 10.1016/j.lfs.2020.118225.
 - [24]. Thulker J, Singh Sh, Sharma S, Thulker T. Preventable risk factors for osteoporosis in postmenopausal women. *Mid-life Health* 2016; 7 (3): 108-113. DOI: 10.4103/0976-7800.191013.
 - [25]. Biglari S, Gaeini AA, Kordi MR, Ghardashi Afousi AR. The effect of 8 weeks high-intensity interval training on myostatin and follistatin gene expression in gastrocnemius muscle of the rats. *Journal of Arak University of Medical Sciences* 2018; 21(1): 1-10. (Persian). URL: <http://jams.arakmu.ac.ir/article-1-5477-en.html>.
 - [26]. Lu K, Wang L, Wang C, Yang Y, Hu D, Ding R. Effects of high-intensity interval versus continuous moderate-intensity aerobic exercise on apoptosis, oxidative stress and metabolism of the infarcted myocardium in a rat model. *Molecular Medicine Reports* 2015; 12(2):2374-82. doi: 10.3892/mmr.2015.3669.
 - [27]. Ghorbanian B, Barani A. The Relationship between Serum Osteocalcin and PTH Concentrations with Glycemic, Lipid and Adiposity Parameters Subsequent 10-Weeks of Aerobic Training in Women with Type2 Diabetes. *Journal of Health Promotion Management* 2017; 7(1): 26-20. Doi: 10.21859/jhpm-07013 (Persian).
 - [28]. Bilotta FL, Arcidiacono B, Messineo S. Insulin and osteocalcin further evidence for a mutual cross-talk. *Journal of Endocrine National Library of Medicine*. 2018; 59(3): 622-32. DOI: 10.1007/s12020-017-1396-0.
 - [29]. De Souza R, Sitta M, Maria J, Sobrinho S, Filho WJ. Long term running exercise vs. Long term strength exercise on femoral bone mass assessed in a rat model. *The Journal of Exercise Physiology online* 2013; 16(2): 92-6. URL: <https://www.researchgate.net/publication/286348280>.
 - [30]. You J, Ji H, Chang K, Yoo M, Yang H, Jeong I, et al. Serum osteopontin concentration is decreased by exercise-induced fat loss but is not correlated with body fat percentage in obese humans. *Molecular Medicine Reports* 2013; 8(2): 579-84. DOI: 10.3892/mmr.2013.1522.
 - [31]. Kazemzadeh Y, Banaifar A, SHirvani H, GHeraat A. The effect of high intensity interval training HIIT on body composition, lipid profile and insulin sensitivity in overweight young men: A clinical trial study. *The Joint Science Education Project* 2016; 9(2): 1385-94. URL: https://joeppa.sbu.ac.ir/index.php/article_98812.html?lang=en. (Persian).
 - [32]. Gibala M, Little J, MacDonald M, Hawley J. Physiological adaptations to low-volume, high-intensity interval training in health and disease. *The Journal of Physiology* 2012; 590(5): 1077-84. DOI: 10.1113/jphysiol.2011.224725.
 - [33]. Whyte L, Gill J, Cathcart A. Effect of 2 weeks of sprint interval training on health-related outcomes in sedentary overweight/obese men. *Metabolism- Clinical and Experimental* 2010; 59(2010): 1421-8. DOI:

10.1016/j.metabol.2010.01.002

- [34]. Trapp E, Chisholm D, Freund J, Boucher SH. The effects of high-intensity intermittent exercise training on fat loss and fasting insulin levels of young women. *International Journal of Obesity* 2008; 32(4): 684-91. DOI: 10.1038/sj.ijo.0803781.

- [35]. Maclaren D, Morton J. *Biochemistry for sport and Exercise metabolism*. Second publication. Tehran. Hatmi 2012; 100-250. ISBN: 978-0-470-09185-2. <http://repository.universitasbumigora.ac.id>