

## The effect of eight weeks of combined training and taurine supplementation on the expression of CCL2 and HIF1a genes in the kidney tissue of male Wistar rats with type 2 diabetes

Belal Mahdavi<sup>1</sup>, Roghayeh Afroudeh<sup>2\*</sup>, Ameneh Pourrahim<sup>3</sup>, Abolfazl Bayrami<sup>4</sup>

1. Ph.d student in exercise physiology, Department of Exercise Physiology, Faculty of Educational Sciences and Psychology, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran.
2. \* Associate professor in exercise physiology, Department of Exercise Physiology, Faculty of Educational Sciences and Psychology, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran. E-mail: Afroudeh@uma.ac.ir
3. Associate professor in exercise physiology, Department of Exercise Physiology, Faculty of Educational Sciences and Psychology, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran.
4. Associate professor in biology, Department of Biology, Faculty of Sciences, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran.

### Extended abstract

**Background and Aim:** Type 2 Diabetes (T2D) is a global metabolic challenge driven by sedentary lifestyles and poor nutrition, often leading to diabetic nephropathy (DN). A key pathological driver in DN is the hypoxia-induced HIF-1 $\alpha$  (HIF-1 $\alpha$ )/CCL2 axis, where HIF-1 $\alpha$  activation upregulates CCL2, promoting macrophage infiltration, ROS production, and renal fibrosis. Effective management necessitates lifestyle interventions, particularly physical activity and nutritional supplementation, to mitigate these inflammatory pathways. While aerobic, resistance, and concurrent training improve glycemic control and reduce complications, certain supplements like Taurine a potent amino acid show promising effects on diabetic markers. Consequently, this study investigates the impact of an 8-week combined training program and taurine supplementation on the gene expression of CCL2 and HIF-1 $\alpha$  in the kidney tissue of diabetic male rats, aiming to identify a synergistic approach to controlling the progression of renal damage in diabetes.

**Materials and Methods:** This experimental study was conducted on 50 healthy male Wistar rats, which were randomly assigned to 5 groups of 10 animals each: healthy control (HC), diabetic control (DC), diabetic+taurine supplementation (DS), diabetic+training (DT), and diabetic+ training +taurine supplementation (DTS). The animals were maintained under standard laboratory conditions. Following a one-week acclimatization period, diabetes was induced via intraperitoneal injection of Streptozotocin at a dose of 55 mg/kg. Rats with blood glucose levels of 300 mg/dL or higher were considered diabetic. After diabetes induction, the exercise groups performed an 8-week combined training protocol, 5 sessions per week, consisting of resistance training on a ladder and aerobic exercise on a rodent treadmill. Training intensity was progressively increased. Resistance training was initially performed without external load and subsequently with a load equivalent to 3% of body weight. Aerobic training began at a lower speed and duration and progressed to 20 m/min for 40 minutes. The supplementation groups received taurine at a dose of 20 mg/kg via intraperitoneal injection, 5 days per week, one hour after the exercise session. At the end of the 8-week intervention, the rats were sacrificed 48 hours after the final exercise session and following a 12-hour fasting period. Blood glucose, insulin levels, and kidney tissue samples were collected for subsequent analyses and stored at  $-80^{\circ}\text{C}$ . Gene expression was performed using real-time PCR. Gene expression analysis via RT-qPCR begins with the isolation of high-quality total RNA from biological samples, followed by its conversion into complementary DNA (cDNA) through the reverse transcription process. The resulting cDNA then serves as a template for real-time PCR amplification, where specific primers and fluorescent dyes (e.g., SYBR Green) are used to monitor the target gene's accumulation in real-time. To ensure accuracy, the data is normalized against internal reference genes (Housekeeping genes), and the final relative quantification of gene expression is typically determined using the  $2^{-\Delta\Delta C_t}$  mathematical method to compare the experimental groups with the control. Data were analyzed using

SPSS27 software version 27. Between-group comparisons were performed using one-way analysis of variance (ANOVA), with the level of statistical significance set at  $p \leq 0.05$ .

**Findings:** The results of the one-way ANOVA for CCL2 gene expression in kidney tissue indicated a significant difference among the groups [F(4,45)=15.025,  $p=0.001$ ,  $\eta^2=0.572$ ]. Subsequently, the results of the Bonferroni post hoc test (Figure 1) showed that CCL2 gene expression in kidney tissue was significantly higher in the DC group compared with the HC group ( $p=0.001$ ). However, this variable was significantly lower in the DT group ( $p=0.03$ ), the DTS group ( $p=0.001$ ), and the DS group ( $p=0.001$ ) compared with the DC group. Moreover, no significant difference was observed in kidney CCL2 gene expression between the DT group and the DTS group ( $p=0.19$ ).

The results of the one-way ANOVA for HIF1a gene expression in kidney tissue also revealed a significant difference among the groups [F(4,45)=4.133,  $p=0.006$ ,  $\eta^2=0.269$ ]. Due to the lack of homogeneity of variances, the Games–Howell post hoc test was used and the results of this method (Figure 1) indicated that HIF1a gene expression in kidney tissue was significantly lower in the DC group compared with the HC group ( $p=0.01$ ). However, this variable did not differ significantly in the DT group ( $p=0.78$ ), the TS group ( $p=0.99$ ), or the DS group ( $p=0.57$ ) compared with the DC group. In contrast, kidney HIF1a gene expression was significantly lower in the DT group ( $p=0.003$ ) and the DTS group ( $p=0.005$ ) compared with the healthy control group.

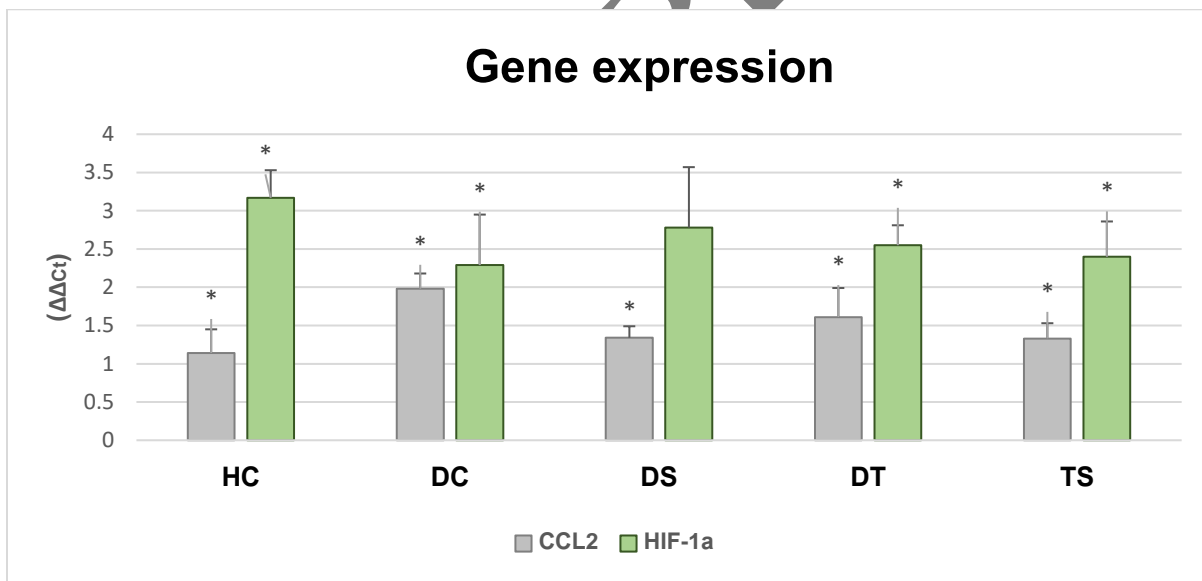


Figure 1. Comparison of CCL2, HIF-1 $\alpha$  between groups. \*significant difference between groups at  $p < 0.05$ .

**Conclusion:** Combined training and taurine supplementation appear to attenuate diabetes-induced renal inflammation, as evidenced by the reduction in CCL2 gene expression in kidney tissue. Since CCL2 is a key chemokine involved in monocyte recruitment and the amplification of inflammatory responses, its downregulation suggests that both interventions may exert a protective effect against the progression of diabetic kidney injury. This finding indicates that exercise training and taurine supplementation, when administered separately, may help modulate the inflammatory milieu associated with diabetes.

However, the combination of taurine supplementation with exercise training did not result in a further reduction in CCL2 expression beyond that achieved by exercise alone. This suggests that the anti-inflammatory effects of combined training may already be substantial, such that the addition of taurine does not confer a meaningful synergistic or additive benefit with respect to this specific inflammatory marker. Furthermore, these interventions did not produce significant improvements in hypoxia-related pathways, as reflected by the lack of a significant modulatory effect on HIF1a expression. Therefore, although combined training and taurine supplementation may be beneficial in reducing inflammation-related renal alterations in diabetic conditions, their impact on hypoxia-associated molecular mechanisms appears limited under the conditions of the present study.

**Keywords:** Diabetes, Combined training, Taurine supplementation, Inflammation.

**Ethical Considerations:** This study received ethical approval from the Biomedical Ethics Committee of Mohaghegh Ardabili University (IR.UMA.REC.1404.046). The research was conducted using the minimum number of rats necessary and adhered to optimal laboratory animal conditions (12:12 light-dark cycle, 50% ± 3% relative humidity, and 22±2°C temperature). Non-invasive and low-pain methods, minimizing distress, were employed for stimulating the rats. All researchers completed mandatory training courses on animal handling and ethical principles.

**Compliance with ethical guideline:** Alternative methods to animal experimentation were considered whenever feasible, and laboratory procedures were designed to minimize pain and suffering.

**Funding:** All costs associated with this research, including analyses, materials, and publication fees, were covered by the authors. No external funding was received from any institution or organization.

**Conflict of interest:** The authors declare no conflicts of interest pertaining to this research.

Issue in Progress



## تأثیر هشت هفته تمرین ترکیبی و مکمل تائورین بر بیان ژن CCL2 و HIF1a در بافت کلیه موش‌های صحرایی نر مبتلا به دیابت نوع دو

بلال مهدوی<sup>۱</sup>، رقیه افرونده\*<sup>۲</sup>، آمنه پوررحیم<sup>۳</sup>، ابوالفضل بایرامی<sup>۴</sup>

۱. دانشجوی دکترای فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم تربیتی و روانشناسی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران.
۲. \*استاد گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم تربیتی و روانشناسی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران. ایمیل: Afroundeh@uma.ac.ir
۳. دانشیار گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم تربیتی و روانشناسی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران.
۴. دانشیار گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران.

### چکیده

**مقدمه و هدف:** نفروپاتی دیابتی (DN) از عوارض شایع دیابت نوع دو است که فعالیت بدنی و تغذیه مناسب می‌تواند التهاب ناشی از آن را کنترل کند. هدف پژوهش حاضر بررسی تأثیر هشت هفته تمرین ترکیبی و مکمل تائورین بر بیان ژن‌های لیگاند موتیف کموکاین نوع دو (CCL2) و عامل القاکننده هایپوکسی، یک آلفا (HIF1α) بافت کلیه موش‌های صحرایی نر دیابتی بود. **مواد و روش‌ها:** در این مطالعه تجربی، ۵۰ سر موش صحرایی نر ویستار هشت‌هفته‌ای به‌طور تصادفی در پنج گروه مساوی شامل کنترل سالم، کنترل دیابتی، مکمل دیابتی، تمرین دیابتی و تمرین+مکمل دیابتی قرار گرفتند. دیابت با تزریق درون‌صفاقی استرپتوزوتوسین القا شد. برنامه تمرین ترکیبی (مقاومتی و استقامتی) به مدت هشت هفته، پنج جلسه در هفته اجرا شد. تمرین مقاومتی در سه نوبت با چهار تکرار آغاز و به سه نوبت با پنج تکرار با وزنه‌ای معادل سه درصد وزن بدن رسید و تمرین استقامتی روی نوارگردان از ۱۵ متربردقیقه و ۱۵ دقیقه آغاز و به ۲۰ متربردقیقه و ۴۰ دقیقه رسید. تائورین به میزان ۲۰ میلی‌گرم برکیلوگرم به‌صورت درون‌صفاقی پس از جلسات تمرینی تزریق شد. ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه، بافت کلیه استخراج و بیان ژن‌ها با روش Real-Time PCR بررسی شد. داده‌ها با آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه در سطح معنی‌داری  $p \leq 0/05$  تحلیل شدند. **یافته‌ها:** بیان ژن CCL2 در گروه‌های تمرین+مکمل دیابتی ( $p=0/01$ ) و تمرین دیابتی ( $p=0/03$ ) نسبت به گروه کنترل دیابتی به‌طور معنی‌داری کاهش یافت، اما بین دو گروه تمرین دیابتی و تمرین+مکمل تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ( $p=0/19$ ). همچنین بیان ژن HIF1α در گروه‌های تمرین+مکمل دیابتی ( $p=0/99$ ) و تمرین دیابتی ( $p=0/78$ ) نسبت به گروه کنترل دیابتی تغییر معنی‌داری نداشت. **نتیجه‌گیری:** تمرین ترکیبی و مکمل تائورین احتمالاً با کاهش CCL2 در کاهش التهاب کلیوی مرتبط با دیابت مؤثرند، اما افزودن تائورین به تمرین اثر بیشتری بر CCL2 ندارد. همچنین این مداخلات تأثیر معنی‌داری بر مسیرهای وابسته به هایپوکسی نشان ندادند.

**واژگان کلیدی:** دیابت، تمرین ترکیبی، مکمل تائورین، التهاب.



دیابت<sup>۱</sup> اختلال متابولیک مزمن است که با افزایش سطح گلوکز خون ناشی از تولید ناکافی انسولین یا ناتوانی بدن در استفاده مؤثر از انسولین مشخص می‌شود و به دو دسته دیابت نوع یک<sup>۲</sup> و دیابت نوع دو<sup>۳</sup> تقسیم می‌گردد (۱). دیابت در درازمدت خطر ابتلا به چندین بیماری دیگر ناشی از آسیب ماکرو عروقی و میکروواسکولار بیماری کلیوی دیابتی<sup>۴</sup> (DKD) را افزایش می‌دهد (۲). در این راستا، نروپاتی دیابتی<sup>۵</sup> (DN)، یک عارضه شایع و شدید مرتبط با دیابت است که اغلب منجر به اختلال عملکرد کلیوی در مراحل پایانی و افزایش مرگ و میر می‌شود (۳). نفوذ ماکروفاژها در بافت‌های مختلف به‌عنوان ویژگی مشخصه دیابت نوع دو و DN است. بدین ترتیب، تجمع ماکروفاژها از طریق تولید گونه‌های فعال اکسیژن<sup>۶</sup> (ROS)، سایتوکاین‌ها و پروتئازها نقش مهمی در پیشرفت DN ایفا می‌کند. علاوه بر این، فیبروز کلیه ناشی از رسوب ماتریکس خارج سلولی<sup>۷</sup> (ECM) است که در اثر نفوذ سلول‌های ایمنی، سلول‌های التهابی، کموکاین‌های تغییر یافته و سایتوکاین‌ها در کلیه ایجاد می‌شود (۴). با توجه به پیچیدگی التهاب، شناسایی مسیرهای التهابی خاص به عنوان اهداف بالقوه درمانی DN مهم است (۴). مطالعات انجام گرفته، نشان داده‌اند که لیگاند موتیف کموکاین نوع دو<sup>۸</sup> (CCL2) که پروتئین کموتاکتیک مونوسیتی نوع یک<sup>۹</sup> (MCP-1) نیز نامیده می‌شود، سطح آسیب لوله‌ای و التهاب کلیه را در DN منعکس می‌کند (۴). از سویی دیگر، DN با هایپوکسی کلیوی ناشی از افزایش فشار اکسایشی نیز مشخص می‌شود که باعث فعال شدن عوامل القا کننده هایپوکسی<sup>۱۰</sup> (HIFs) از جمله: عامل القا کننده هایپوکسی نوع یک آلفا<sup>۱۱</sup> (HIF-1 $\alpha$ ) و سرکوب عامل القا کننده هایپوکسی نوع دو آلفا<sup>۱۲</sup> (HIF-2 $\alpha$ ) می‌گردد. این تغییر تعادل فعالیت‌های HIF-1 $\alpha$ /HIF-2 $\alpha$  مسیرهای پیش التهابی و پیش فیبروتیک را در سلول‌های لوله‌ای گلومرولی<sup>۱۳</sup> (GFR) و کلیوی ترویج می‌کند. به طور کلی، پاسخ هایپوکسی، سازوکاری است که کلیه‌ها با کمبود اکسیژن سازگار شده و تحت شرایط پاتولوژیک مختلف زنده می‌مانند (۵). عوامل القا کننده هایپوکسی HIF-1، HIF-2، و HIF-3 واسطه‌های اصلی هایپوکسی متابولیک هستند. در هایپوکسی، تخریب HIF مهار می‌شود که منجر به تجمع HIF- $\alpha$  می‌شود. در نتیجه، HIF- $\alpha$  با HIF- $\beta$  دایمر می‌شود و HIF های عملکردی را تشکیل می‌دهد که به هسته منتقل می‌شوند و رونویسی ژن پایین دست را فعال می‌کنند. پس از یک دوره آسیب کلیوی حاد، کلیه‌ها یک ترمیم تطبیقی را آغاز می‌کنند که به طور کامل یکپارچگی و عملکرد لوله‌های آسیب دیده را بازیابی می‌کند. همچنین، هایپوکسی بافتی و HIFها سایر فرآیندهای بیماری‌زا از جمله رگزایی

<sup>1</sup> Diabetes

<sup>2</sup> Type 1 diabetes

<sup>3</sup> Type 2 diabetes

<sup>4</sup> Diabetic kidney disease

<sup>5</sup> Diabetic nephropathy

<sup>6</sup> Reactive oxygen species

<sup>7</sup> Extracellular matrix

<sup>8</sup> Chemotactic chemokine motif ligand 2

<sup>9</sup> Macrophage chemokine-1

<sup>10</sup> Hypoxia-inducible factors

<sup>11</sup> Hypoxia-Inducible Factor 1alpha

<sup>12</sup> Hypoxia-Inducible Factor 2alpha

<sup>13</sup> Glomerular filtration rate



نابجا، کم خونی و کلسیفیکاسیون<sup>۱</sup> عروقی را تحریک می‌کنند و در نهایت، HIF های فعال شده شبکه‌های سیگنالینگ متعدد را ادغام می‌کنند و تکامل فیبروز کلیه را به مرحله نهایی بیماری کلیه تحریک می‌کنند (۶). در این میان، گزارش شده است که درگیر شدن در فعالیت بدنی متوسط (حداقل دو بار در هفته) با کاهش خطر پیامدهای نامطلوب کلیوی و کاهش بروز آلبومینوری مرتبط است (۷). یک پژوهش متآنالیز نشان داده است که ورزش می‌تواند پیشرفت DN را کاهش دهد (۸). همچنین، گزارش شده است که ورزش می‌تواند سطح محصولات نهایی گلیکوزیشن پیشرفته<sup>۲</sup> (AGEs) را کاهش داده و اسکروز گلوامروولی را در نواحی مدولاری سطحی، میانی و پروگزیمال قشر کلیوی و آسیب در قشر کلیوی و لایه‌های سطحی و میانی قشر کلیه بهبود بخشد (۹). یکی از شیوه‌های تمرینی که امروزه مورد استقبال قرار گرفته است، بکارگیری تمرینات ترکیبی<sup>۳</sup> می‌باشد. مطالعات اثرات مفید تمرین ترکیبی مقاومتی و هوازی را برای کنترل قند خون در افراد دیابتی به ویژه دیابت دیابتی نشان داده‌اند. بدین ترتیب، گزارش شده است که فعالیت ورزش ترکیبی حساسیت انسولین را بهبود می‌بخشد و این اثر با از بین رفتن بافت چربی شکم، زیر جلدی و احشایی و افزایش تراکم عضلانی در ارتباط بوده است (۱۰). در پژوهش‌های مشابه انجام گرفته، نشان داده شده است که هشت هفته تمرینات هوازی غیرمستمر منجر به کاهش گیرنده<sup>۴</sup> کموکاین موتیف CC نوع پنج (CCR5) نشد، در حالی که منجر به کاهش معنی‌دار آماری در CCL2، لیگاند موتیف کموکاین نوع پنج<sup>۵</sup> (CCL5)، گیرنده<sup>۶</sup> کموکاین موتیف CC نوع دو (CCR2) و حجم تومور شده است (۱۱). همچنین، ورزش توانبخشی می‌تواند با کاهش بیان CCL2 و CCL5 راهی مؤثر برای پیشگیری، کنترل یا کاهش آترواسکلروز<sup>۷</sup> باشد (۱۲). علاوه بر این، تمرینات ترکیبی با افزایش معنی‌داری در بیان ژن HIF1 موجب بهبود وضعیت فیزیولوژیکی و بهبود ترکیب بدنی سالمندان شد (۱۳). از طرفی دیگر، در کنار اجرای تمرینات ورزشی برای بهبود شرایط بیماران مبتلا به دیابت، مداخلات تغذیه‌ای نیز باید مورد توجه قرار گیرد. امروزه استفاده از مکمل‌های مختلف می‌تواند عوارض ناشی از بیماری‌ها را کاهش دهد. یکی از مکمل‌های مورد استفاده، تائورین<sup>۸</sup> می‌باشد. تائورین در انواع فرآیندهای متابولیک و فیزیولوژیکی، مانند تنظیم گلوکز و چربی، سوخت و ساز انرژی، تنظیم ضد التهابی و آنتی اکسیداسیون نقش مفیدی دارد. تائورین عملکردهای خاصی در رشد سلولی، تغذیه و بقا دارد، کاهش تائورین منجر به طیف وسیعی از شرایط پاتولوژیک، از جمله کاردیومیوپاتی<sup>۹</sup> شدید، اختلال عملکرد کلیوی، اختلال در عملکرد سلول‌های  $\beta$  پانکراس و از دست دادن گیرنده‌های نور شبکیه می‌شود. علاوه بر این، تائورین دارای طیف وسیعی از اثرات ضد التهابی است و یک آنتی اکسیدان اصلی بوده که گونه‌های فعال اکسیژن را از بین می‌برد و از اندام‌ها محافظت می‌کند (۱۴). اثر محافظتی تائورین بر دیابت و عوارض آن در بسیاری از مدل‌های حیوانی نشان داده شده است (۱۵، ۱۶). مطالعات متعدد نشان داده‌اند که

<sup>1</sup> Calcification

<sup>2</sup> Advanced glycation end products

<sup>3</sup> Concurrent training

<sup>4</sup> C-C chemokine receptor type 5

<sup>5</sup> Chemotactic chemokine motif ligand 5

<sup>6</sup> C-C chemokine receptor type 2

<sup>7</sup> Atherosclerosis

<sup>8</sup> Taurine

<sup>9</sup> Cardiomyopathy



غلظت تائورین پلازما با قند خون ناشتا و عوارض دیابت همبستگی معکوس دارد، که نشان می‌دهد تائورین نقش محافظتی در پیشرفت دیابت دارد (۱۷). تعداد زیادی از آزمایشات حیوانی نشان داده است که تائورین می‌تواند عوارض مختلف دیابت از جمله اختلال عملکرد اندوتلیال، نوروپاتی دیابتی، رتینوپاتی دیابتی<sup>۱</sup>، آب مروارید دیابتی، نوروپاتی دیابتی<sup>۲</sup>، کاردیومیوپاتی دیابتی<sup>۳</sup> و غیره را بهبود بخشد (۱۸). اگرچه تعداد اندکی کارآزمایی بالینی کنترل شده برای مطالعه اثرات مکمل تائورین در بیماران مبتلا به دیابت انجام شده است، اما اثربخشی مکمل تائورین برای دیابت در مطالعات انسانی متناقض بوده است. گزارش شده است که مکمل تائورین دارای اثرات ضدالتهابی بوده و از تغییرات قابل توجه اینترلوکین شش<sup>۴</sup> (IL-6)، عامل نکروز دهنده تومور آلفا<sup>۵</sup> (TNF $\alpha$ ) و پروتئین واکنشگر سی<sup>۶</sup> (CRP) جلوگیری می‌کند (۱۹، ۲۰). در مقابل، گزارش شده است که مکمل تائورین و تمرینات ترکیبی بر TNF $\alpha$  و IL-6 سرم در موش‌های دیابتی تاثیر معنی‌داری نداشته است (۲۱).

با توجه به موارد یاد شده، نوروپاتی دیابتی علاوه بر سازوکارهای متابولیکی، تحت تاثیر مسیرهای التهابی و شبه هاپیوکسیک نیز قرار دارد. در این بیماری، فشار اکسایشی ناشی از هاپیروکسیسمی منجر به فعال شدن مسیر سیگنال دهی وابسته به عامل هسته‌ای کاپا<sup>۷</sup> (NF-KB) و افزایش کموکاین‌هایی نظیر CCL2 می‌شود که نفوذ سلول‌های التهابی به بافت کلیه و پیشرفت فیبروز را تسهیل می‌کند. هم‌زمان، تغییرات میکروسیرکولاسیون و اختلال در تنظیم اکسیژن سلولی موجب فعال شدن عوامل مرتبط با هاپیوکسی از جمله HIF-1 $\alpha$  می‌شود. به نظر می‌رسد که مداخلات تمرینی منظم می‌توانند با کاهش فشار اکسایشی از طریق مهار NF-KB و کاهش تحریک HIF-1 $\alpha$  در کنترل التهاب و آسیب کلیوی نقش داشته باشد. همچنین، تائورین به واسطه اثرات ضد اکسایشی و ضدالتهابی و نیز تعدیل مسیرهای وابسته به پاسخ به هاپیوکسی/شبه هاپیوکسی، می‌تواند بیان این شاخص‌های مولکولی را کاهش داده و از پیشرفت آسیب کلیوی جلوگیری نماید. علاوه بر این، با توجه به این که تمرینات هوازی با مصرف انرژی از طریق سوخت و ساز گلوکز در عضلات و افزایش حساسیت انسولین و تمرینات مقاومتی با بهبود توده عضلانی که منبع ذخایر گلیکوژن است، می‌تواند در کنترل بیماری دیابت و اثر آن بر بافت کلیه موثر باشد. علاوه بر این، اجرای تمرینات ترکیبی با اثربخشی بر GFR عملکرد کلیوی را حفظ می‌کند. بر این اساس، بررسی اثر هم‌زمان تمرین ترکیبی و مصرف تائورین بر بیان ژن‌های CCL2 و HIF-1 $\alpha$  در مدل نوروپاتی دیابتی حائز اهمیت است. بنابراین، با توجه به محدود بودن شواهد موجود درباره اثر مداخلات تمرینی و تغذیه‌ای به صورت هم‌زمان بر مسیرهای التهابی و شبه هاپیوکسیک در نوروپاتی دیابتی، مطالعه حاضر با هدف اثر هشت هفته تمرین ترکیبی (استقامتی و مقاومتی) همراه با مصرف مکمل تائورین بر روی بیان ژن CCL2 و HIF1a در بافت کلیه موش‌های صحرایی نر ویستار دیابتی انجام گردید.

## روش تحقیق

<sup>1</sup> Diabetic retinopathy

<sup>2</sup> Diabetic neuropathy

<sup>3</sup> Diabetic cardiomyopathy

<sup>4</sup> Interleukin 6

<sup>5</sup> Tumor necrosis factor-Alpha

<sup>6</sup> C-Reactive Protein

<sup>7</sup> Nuclear factor kappa B



پژوهش حاضر توسط کمیته اخلاق دانشگاه محقق اردبیلی بررسی و با شناسه IR.UMA.REC.1404.046 ثبت گردید. در این مطالعه تجربی، ۵۰ سر موش صحرایی نر سالم نژاد ویستار با سن هشت هفته از مرکز پرورشی دنیای شاد جوندگان تبریز تهیه گردید. سپس وزن کشی صورت گرفت و تقسیم بندی محدوده وزنی از ۱۵۰ تا ۲۵۰ گرم برای موش‌ها در نظر گرفته شد (۱۵۰-۱۸۰، ۱۸۰-۲۰۰، ۲۰۰-۲۳۰، ۲۳۰-۲۵۰)، سپس در هر قفس به صورت متناوب و تصادفی از هر رده وزنی نمونه حیوانی انتخاب گردید و پس از اتمام نمونه‌گیری، نام‌گذاری گروه نیز به صورت تصادفی انجام گرفت. گروه‌های پژوهش حاضر شامل کنترل سالم (۱۰ سر)، کنترل دیابتی (۱۰ سر)، مکمل دیابتی (۱۰ سر)، تمرین دیابتی (۱۰ سر) و تمرین+مکمل دیابتی (۱۰ سر) بود. بر اساس مطالعات پیشین، تعداد نمونه در هر گروه ۱۰ سر در نظر گرفته شد (۲۲). نمونه‌ها در آزمایشگاه با شرایط چرخه تاریکی و روشنایی ۱۲ ساعته، دمای  $22 \pm 2$  درجه سانتی‌گراد و رطوبت  $45 \pm 5$  درصد و دسترسی آزاد به آب و غذا نگهداری شدند (۲۳). پس از یک هفته آشناسازی، در حالت ناشتایی ۱۲ ساعته، از دم نمونه‌های حیوانی خونگیری به عمل آمد و نتایج ثبت گردید و پس از آن در حالت ناشتایی به منظور دیابتی کردن موش‌ها از استرپتوزوسین<sup>۱</sup> (STZ)، به صورت محلول در بافر سیترات ۰/۰۵ مولار با pH ۴/۵ با دوز ۵۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم با استفاده از سرنگ انسولین به میزان پنج سی‌سی و به صورت تزریق درون صفاقی انجام گرفت و به صورت مجدد پس از گذشت ۷۲ ساعت در حالت ناشتایی ۱۲ ساعته خونگیری از دم موش‌ها به عمل آمد تا سطح قند خون مورد بررسی قرار گیرد و دیابتی بودن نمونه‌ها بررسی گردد. طبق مطالعات انجام گرفته، موش‌هایی که دارای قند خون ۳۰۰ و یا بالاتر از ۳۰۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر بود، به عنوان موش دیابتی در نظر گرفته شدند (۲۴). معیار خروج در پژوهش حاضر، مرگ در طول دوره پژوهش، عدم اجرای تمرین بر روی نوارگردان و نردبان، زخم ناشی از القای دیابت بود. در صورت عدم دیابتی شدن، نمونه حیوانی با نمونه گروه کنترل سالم جایجا شده (به علت عوارض ناشی از تزریق مجدد STZ) و تزریق STZ انجام گرفت. همچنین، به منظور القای استرس تزریق به موش‌های گروه کنترل سالم، تزریق درون صفاقی نرمال سالین انجام گرفت. (لازم به ذکر است که استفاده از STZ به‌تنهایی موجب القای دیابت نوع یک می‌گردد، اما هدف در پژوهش حاضر ایجاد وضعیت هایپرگلیسمی پایدار به همراه آسیب و التهاب بافت کلیه بود).

پس از یک هفته آشناسازی و سازگاری با محیط، برنامه تمرینی اعمال شد. برنامه تمرینی ترکیبی در پژوهش حاضر بدین صورت بود که نمونه‌ها به مدت هشت هفته و پنج جلسه در هفته و در روزهای مشخص (شنبه، یکشنبه، سه‌شنبه، چهارشنبه، پنج‌شنبه) صبح و عصر به اجرای تمرینات ترکیبی که شامل تمرین مقاومتی بر روی نردبان و تمرین هوازی بر روی نوارگردان مخصوص جوندگان پرداختند (۲۲). تمرینات مقاومتی هشت هفته، با پنج جلسه در هفته اجرا شد. این تمرین شامل صعود از پله‌های نردبان بوده که در سه هفته اول، شدت تمرین به ترتیب شامل دو نوبت با چهار تکرار، دو نوبت با پنج تکرار و دو نوبت با شش تکرار در هر جلسه و بدون وزنه بود. در هفته چهارم تا پایان هفته هشتم، تعداد نوبت‌ها به سه نوبت و تعداد تکرار در هر نوبت پنج بار بود و موش‌ها وزنه‌ای معادل سه درصد از وزن بدنشان را که به دم آن‌ها متصل شد، حمل کردند. استراحت بین نوبت‌ها سه دقیقه و بین تکرارها یک دقیقه بود (جدول ۱) (۲۲). پس از تمرین مقاومتی، بخش تمرین استقامتی از سرعت اولیه ۱۵ متر بر دقیقه آغاز شد و به مدت ۱۵ دقیقه (معادل شدت ۴۰ درصد از اکسیژن مصرفی بیشینه) روی نوارگردان مخصوص جوندگان بدون شیب انجام گرفت. در پایان هفته سوم،

<sup>1</sup> Streptozocin



سرعت نوارگردان به ۱۷ متر بر دقیقه افزایش یافت و مدت زمان تمرین به ۴۰ دقیقه (معادل شدت ۶۰ درصد از اکسیژن مصرفی بیشینه) رسید. از هفته چهارم تا هشتم، سرعت و مدت زمان تمرین ثابت بود، به طوری که با سرعت ۲۰ متر بر دقیقه و مدت ۴۰ دقیقه ادامه داشت (جدول ۲). همچنین، شیب نوارگردان در تمام جلسات برابر با صفر درجه تنظیم بود (۲۲). برای تبدیل سرعت نوارگردان به بیشینه اکسیژن مصرفی از روش هویدال<sup>۱</sup> و همکاران در سال ۲۰۰۷ استفاده شد (۲۵). به این ترتیب که ابتدا حیوانات به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۱۰ متر در دقیقه مرحله گرم کردن را سپری کردند، سپس آزمون فرآینده ورزشی آغاز شد. در این مرحله هر دو دقیقه، سرعت نوارگردان ۰/۰۳ متر بر ثانیه (حدود ۲-۱/۸ متر بر دقیقه) افزایش یافت، تا جایی که موش‌ها قادر به ادامه فعالیت ورزشی نباشند. سپس میزان بیشینه اکسیژن مصرفی طبق فرمول  $Y=162X-1$  به دست آمد که X سرعت دویدن (متر بر ثانیه) و Y پاسخ اکسیژن مصرفی<sup>۲</sup> (VO2) است (۲۵).

روش مصرف مکمل تائورین: علاوه بر این، مکمل تائورین با برند تجاری مای پروتئین<sup>۳</sup> با خلوص ۱۰۰ درصد محصول کشور انگلستان تهیه گردید و با استفاده از نرمال سالین ۰/۹ درصد به شکل محلول درآمد و با استفاده از سرنگ انسولین به میزان پنج سی سی (۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم) به صورت درون صفاقی به نمونه‌های حیوانی به مدت هشت هفته و پنج روز در هفته همزمان با اجرای تمرینات ترکیبی (یک ساعت پس از پایان جلسه تمرینی) تزریق شد (۲۶).

جدول ۱. برنامه تمرین مقاومتی

هفته	هفته اول	هفته دوم	هفته سوم	هفته چهارم	هفته پنجم	هفته ششم	هفته هفتم	هفته هشتم
شدت (درصدی از وزن بدن)	-	-	-	۳	۳	۳	۳	۳
تعداد نوبت و تکرارها	۲ نوبت با ۴ تکرار (بدون وزنه)	۲ نوبت با ۵ تکرار (بدون وزنه)	۲ نوبت با ۶ تکرار (بدون وزنه)	۳ نوبت با ۵ تکرار (با وزنه)	۳ نوبت با ۵ تکرار (با وزنه)	۳ نوبت با ۵ تکرار (با وزنه)	۳ نوبت با ۵ تکرار (با وزنه)	۳ نوبت با ۵ تکرار (با وزنه)

جدول ۲. برنامه تمرین هوازی

متغیر/هفته	هفته اول	هفته دوم	هفته سوم	هفته چهارم	هفته پنجم	هفته ششم	هفته هفتم	هفته هشتم
مدت (دقیقه)	۱۵	۳۰	۴۰	۴۰	۴۰	۴۰	۴۰	۴۰

<sup>1</sup> Hoydal<sup>2</sup> Oxygen uptake<sup>3</sup> My protein



۲۰	۲۰	۲۰	۲۰	۲۰	۱۷	۱۵	۱۵	سرعت (متر بر دقیقه)
----	----	----	----	----	----	----	----	---------------------

پس از گذشت هشت هفته و اجرای تمرین ترکیبی و تزریق مکمل تائورین به نمونه‌های حیوانی، تمام موش‌ها در شرایط یکسان و کاملاً مشابه تشریح شدند. بدین منظور، ۴۸ ساعت بعد از اجرای آخرین جلسه تمرینی و اعمال ۱۲ ساعت ناشتایی، در ابتدا خونگیری از دم موش‌ها جهت بررسی گلوکز با استفاده از دستگاه گلوکومتر به عمل آمد و نتایج ثبت گردید و پس از آن نمونه‌ها با استفاده از کتامین ۰/۵۰ میلی لیتر و زایلازین ۰/۰۵ میلی لیتر (بیهوش شدند (۲۷). سپس خونگیری مستقیم از بطن چپ جهت سنجش میزان انسولین انجام گرفت. پس از آن تشریح انجام شد و بافت کلیه استخراج گردید و اطلاعات مربوط آن اندازه‌گیری و ثبت شد و پس از شستشو با فسفات سالین درون میکروتیوب قرار گرفته و در یخچال منفی ۸۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید تا به آزمایشگاه ارسال گردد. در هنگام تشریح، به منظور پیشگیری از اثر تداخل زمان، نمونه‌های حیوانی به صورت متناوب از هر گروه انتخاب شده و تشریح شدند (۲۷). ارزیابی میزان انسولین با استفاده از روش الایزا صورت گرفت. ارزیابی بیان ژن متغیرهای وابسته پژوهش حاضر با استفاده از روش ریئل تایم پی سی آر<sup>۱</sup> (qPCR) انجام گرفت. همچنین، ارزیابی مقاومت به انسولین با استفاده از معادله زیر انجام شد:

$$405 \pm \text{گلوکز} \times \text{انسولین} = \text{مقاومت به انسولین}$$

**استخراج RNA از بافت کلیه:** ابتدا بافت کلیه از گروه‌های مورد مطالعه جمع‌آوری شد و با استفاده از کیت استخراج تام RNA<sup>۲</sup> برند فیوژن<sup>۳</sup> شرکت یکتا تجهیز آزما انجام گرفت. بدین ترتیب، بافت با یک میلی لیتر محلول ترایزول<sup>۴</sup> توسط دستگاه ورتکس به مدت ۳۰ ثانیه تا یک دقیقه هموژنیزه گردید و پس از آن به مدت پنج دقیقه در دمای اتاق انکوبه شد. سپس حدود ۲۰۰ لاندا (میکرولیتر) کلروفرم<sup>۵</sup> اضافه گردید و اجازه داده شد به مدت ۱۰ دقیقه انکوبه شد. به مدت ۱۵ دقیقه در دمای چهار درجه سانتی‌گراد و با دور ۱۲۰۰۰ دور بر دقیقه با استفاده از سانترفیوژ یخچال دار ساخت کمپانی زیگما<sup>۶</sup> سانترفیوژ شد. بعد از سانترفیوژ، محلول درون تیوپ به صورت سه فازی درآمد که فاز رویی به رنگ آبی شفاف را به یک میکروتیوپ ۱/۵ میلی لیتری جدید انتقال داده شد و یک میلی لیتر ایزوپروپانول<sup>۷</sup> سرد به آن اضافه و تیوپ به آرامی سرو ته گردید. به مدت ۲۰ دقیقه در فریزر انکوباسیون انجام گرفت. سپس به مدت ۲۰ دقیقه تیوپ مورد نظر با شرایط قبلی یعنی دور ۱۲۰۰۰ دور بر دقیقه و دمای چهار درجه سانتی‌گراد و به مدت ۱۵ دقیقه سانترفیوژ شد. بعد از انجام سانترفیوژ، رسوب RNA به صورت یک پلیت<sup>۸</sup> در کف میکروتیوپ ظاهر شد. ابتدا تمام سوپرناتانت<sup>۹</sup> حذف

<sup>۱</sup> Real-Time-PCR

<sup>۲</sup> Total RNA Extraction

<sup>۳</sup> Favorgene

<sup>۴</sup> Trizol

<sup>۵</sup> Chloroform

<sup>۶</sup> Sigma

<sup>۷</sup> Isopropyl alcohol

<sup>۸</sup> Plate

<sup>۹</sup> Supernatant



و بعد به میکروتیوپ یک میلی لیتر اتانول<sup>۱</sup> ۷۰-۷۵ درصد اضافه گردید. به مدت ۱۰ دقیقه در دمای چهار درجه سانتی گراد و دور ۷۵۰۰ دور بر دقیقه سانتریفیوژ انجام شد. بعد از انجام سانتریفیوژ، ابتدا سوپرناتانت حذف گردید سپس پلیت در هوای محیط کاملاً خشک شد. سپس حدود ۴۰ میکرولیتر از محلول آب دیس<sup>۲</sup> که نوعی آب تصفیه شده است، اضافه گردید. با استفاده از دستگاه انکوباتور حمام خشک<sup>۳</sup>، رسوب و RNA در دمای ۶۰ درجه سانتی گراد به مدت ۱۵ دقیقه قرار گرفت تا در آب حل شوند. بعد از انجام چرخش جهت حل شدن، غلظت نمونه با استفاده از دستگاه نانودراپ<sup>۴</sup> خوانده شد.

**سنتز cDNA (با استفاده کیت سنتز cDNA شرکت یکتا تجهیز آزما):** در مرحله بعد، مقدار مشخصی از RNA با استفاده از آنزیم رونویسی معکوس<sup>۵</sup> به cDNA تبدیل شد. برای این کار، RNA ابتدا با پرایمر دی تی الیگو<sup>۶</sup> به میزان یک میکرولیتر (همراه گردید و سپس پرایمر رندوم هگزامر<sup>۷</sup> به میزان یک میکرولیتر تنظیم شد. پس از انجام واکنش رونویسی معکوس، cDNA تولیدشده در دمای پایین (منفی ۲۰ درجه سانتی گراد) نگهداری شد تا برای واکنش های qPCR استفاده گردد.

**Real-time PCR برای بیان ژن CCL2 و HIF1α:** سنجش بیان ژن CCL2 و HIF1α توسط qPCR انجام شد. در این مرحله، واکنش های PCR با استفاده از cDNA به عنوان الگو، پرایمرهای اختصاصی ژن های هدف آماده شدند. سپس مخلوط واکنش در دستگاه چرخه حرارتی Real-time قرار گرفت و برنامه دمایی شامل مراحل واسرشته سازی<sup>۸</sup> (۹۴ درجه سانتی گراد)، حرارت دهی<sup>۹</sup> (۵۹ درجه سانتی گراد) و طولیل سازی<sup>۱۰</sup> (۷۲ درجه سانتی گراد) تکرار شد تا تکثیر اختصاصی رخ دهد. در ادامه، داده های فلورسنس<sup>۱۱</sup> بر اساس آستانه تعیین شده، مقادیر Ct را برای هر ژن استخراج کرد. برای نرمال سازی، یک ژن مرجع<sup>۱۲</sup>، GAPDH استفاده شد و بیان نسبی ژن ها با روش  $\Delta\Delta Ct$ <sup>۱۲</sup> محاسبه گردید. این محاسبات امکان مقایسه بیان CCL2 و HIF1α بین گروه های مختلف را فراهم کرد و نتایج در نهایت به صورت بیان نسبی گزارش شدند.

$$\Delta CT = \text{ژن مرجع (تومور)} Ct - \text{ژن هدف (تومور)} Ct$$

$$\Delta CT = \text{ژن مرجع (کنترل)} Ct - \text{ژن هدف (کنترل)} Ct$$

$$\text{نسبت بیان ژن} = 2^{-\Delta CT}$$

<sup>1</sup> Ethanol

<sup>2</sup> Depec water

<sup>3</sup> Dry-Bath incubator machine

<sup>4</sup> Nano drop

<sup>5</sup> Reverse transcriptase

<sup>6</sup> Oligo dt

<sup>7</sup> Random hexamer

<sup>8</sup> Denaturation

<sup>9</sup> Annealing

<sup>10</sup> Extension

<sup>11</sup> Fluorescence

<sup>12</sup> Housekeeping gene



توالی پرایمرهای ژن های CCL2 و HIF1a در جدول ۳ مشخص شده است. تحلیل آماری با استفاده از نرم افزار اس پی اس<sup>۱</sup> نسخه ۲۷ انجام گرفت. در ابتدا، از آزمون شاپیروویلک<sup>۲</sup> جهت بررسی طبیعی بودن توزیع داده ها و از آزمون لون<sup>۳</sup> به منظور بررسی همگنی واریانس ها استفاده شد. سپس، جهت مقایسه بین گروه ها از آزمون تحلیل واریانس یک طرفه<sup>۴</sup> با آزمون تعقیبی بونفرونی<sup>۵</sup> و گیمز هاول<sup>۶</sup> در سطح معنی داری ۰/۰۵  $p \leq$  استفاده شد.

جدول ۳. توالی پرایمرها

ژن	توالی پرایمرها
CCL2	forward 5' TTTAATGCCGTTGAACCTATTTGT3'
	reverse 5' TTCCTTATTGGGGTCAGCAC3'
HIF1a	forward 5' GAGCCTTAACCTATCTGTCA3'
	reverse 5' CACAATCGTAACTGGTCAGC3'
GAPDH	forward 5'GCTGGTCATCAACGGGAAA3'
	Reverse 5'CGCCAGTAGACTCCACGACAT3'

## یافته ها

جدول ۴ وزن نمونه های حیوانی در ابتدا و پایان پژوهش را نشان می دهد و تغییرات وزن بر حسب گرم و درصد مشخص شده است که بر این اساس بیشترین تغییرات وزن مربوط به گروه کنترل سالم (۳۶ درصد) و کمترین تغییرات مربوط به گروه مکمل دیابتی (۱ درصد) است. همچنین، آمار توصیفی مربوط به متغیرهای دیابت و متغیرهای وابسته پژوهش در جدول ۵ مشخص شده است.

جدول ۴. آمار توصیفی مربوط به وزن نمونه ها در ابتدا و پایان پژوهش و تغییرات وزن مربوط به آن

درصد تغییرات وزن	هفته هشتم		گروه / هفته
	انحراف استاندارد میانگین	ابتدای پژوهش (گرم) انحراف استاندارد میانگین	
۳۶	۳۴۵/۰۰ ± ۴۰/۷۴	۲۰۳/۳۰ ± ۳۶/۷۹	کنترل سالم

<sup>1</sup> SPSS

<sup>2</sup> Shapiro-Wilk

<sup>3</sup> Leven

<sup>4</sup> ANOVA

<sup>5</sup> Bonferroni

<sup>6</sup> Games-Howell



۱۵	۲۵۹/۲۰±۹۰/۵۸	۲۰۹/۵۰±۲۸/۹۴	کنترل دیابتی
۱	۲۲۹/۷۰±۵۵/۲۲	۲۱۰/۴۰±۲۲/۴۸	مکمل دیابتی
۹	۲۲۰/۵۰±۴۳/۶۴	۲۱۱/۶۰±۳۱/۸۰	تمرین دیابتی
۱۸	۲۶۶/۶۰±۵۷/۷۰	۲۰۹/۴۰±۱۹/۳۴	تمرین+مکمل دیابتی

جدول ۵. میانگین و انحراف استاندارد متغیرهای پژوهش

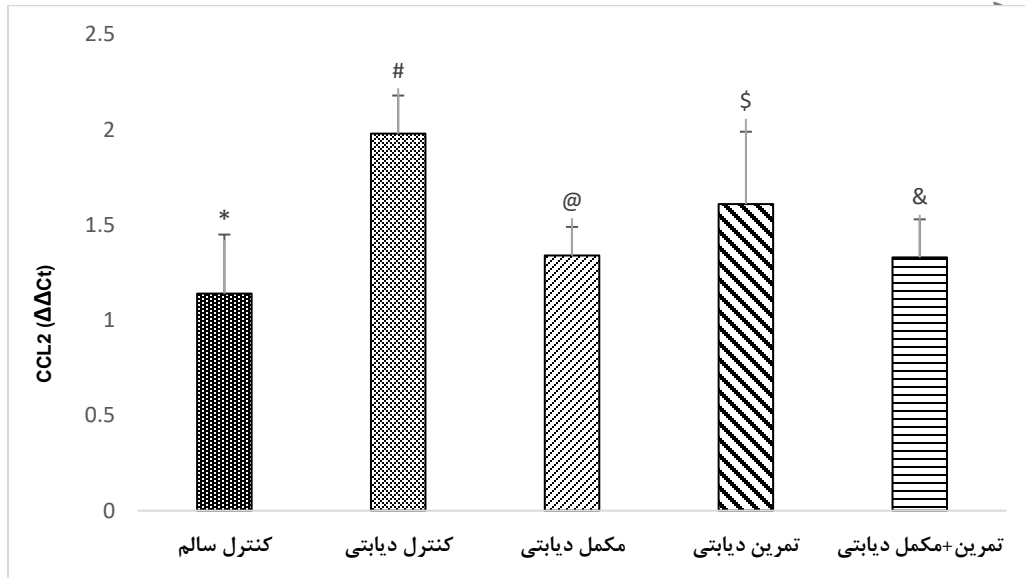
شاخص‌ها/گروه‌ها	کنترل سالم	کنترل دیابتی	مکمل دیابتی	تمرین دیابتی	تمرین+مکمل دیابتی
	میانگین±انحراف استاندارد	میانگین±انحراف استاندارد	میانگین±انحراف استاندارد	میانگین±انحراف استاندارد	میانگین±انحراف استاندارد
گلوکز (پیش آزمون) (میلی گرم بر دسی لیتر)	۷۴/۷۰±۶/۲۲	۷۷/۶۰±۱۳/۸۳	۸۶/۵۰±۸/۷۸	۷۹/۷۰±۱۴/۳۸	۷۲/۲۰±۶/۳۶
گلوکز (پس آزمون) (میلی گرم بر دسی لیتر)	۷۵/۱۰±۹/۷۲	۳۳۸/۵۰±۲۶/۸۳	۳۶۱/۸۰±۶۸/۳۵	۴۰۷/۴۰±۷۷/۴۰	۳۷۲/۶۰±۶۵/۱۶
گلوکز (پایانی) (میلی گرم بر دسی لیتر)	۷۳/۵۰±۷/۳۲	۳۵۱/۷۰±۲۲/۶۶	۳۴۶/۵۰±۵۸/۴۶	۳۸۰/۱۰±۶۵/۵۷	۲۸۱/۳۰±۶۵/۹۱
انسولین (نانوگرم بر میلی لیتر)	۰/۶۳±۰/۰۸	۵/۰۸±۰/۲۱	۳/۲۱±۰/۱۷	۴/۱۸±۰/۱۸	۲/۴۱±۰/۲۵
مقاومت به انسولین	۰/۱۴±۰/۰۲	۴/۶۰±۰/۲۶	۱/۶۳±۰/۲۴	۲/۶۵±۰/۲۶	۱/۴۴±۰/۱۵
CCL2 (ΔΔCt)	۱/۱۴±۰/۳۱	۱/۹۸±۰/۲۰	۱/۳۴±۰/۱۵	۱/۶۱±۰/۳۸	۱/۳۳±۰/۲۰
HIF1a (ΔΔCt)	۳/۱۷±۰/۳۶	۲/۲۹±۰/۶۶	۲/۷۸±۰/۷۹	۲/۵۵±۰/۲۶	۲/۴۰±۰/۴۶

نتایج آزمون شاپیروویلیک نشان داد که داده‌های مربوط به CCL2 و HIF-1a از توزیع طبیعی برخوردار بودند ( $p > 0.05$ ). نتایج آزمون تحلیل واریانس یک طرفه برای بیان ژن CCL2 بافت کلیه نشان داد که در بین گروه‌ها تفاوت معنی‌داری وجود دارد ( $F_{(4,45)} = 15/025, p = 0/001, \eta^2 = 0/572$ ) (جدول ۶). در ادامه نتایج آزمون بونفرونی نشان داد که بیان ژن CCL2 بافت کلیه در گروه کنترل دیابتی نسبت به گروه کنترل سالم به طور معنی‌داری بالاتر بوده است ( $p = 0/001$ ) (شکل ۱). اما، این متغیر در گروه‌های تمرین دیابتی ( $p = 0/03$ )، تمرین+مکمل دیابتی ( $p = 0/001$ ) و مکمل دیابتی ( $p = 0/001$ ) نسبت به گروه کنترل دیابتی به طور معنی‌داری پایین‌تر بوده است (شکل ۱). همچنین، بیان ژن CCL2 بافت کلیه در گروه تمرین دیابتی نسبت به گروه تمرین+مکمل دیابتی تفاوت معنی‌داری نداشته است ( $p = 0/19$ ) (شکل ۱).

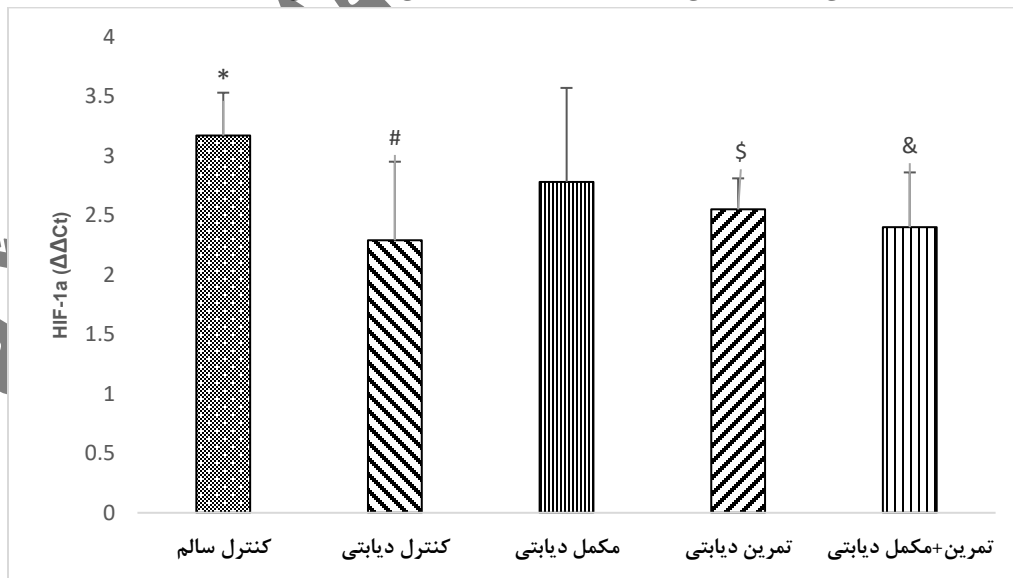
نتایج آزمون تحلیل واریانس یک طرفه نشان داد برای بیان ژن HIF1a در بافت کلیه نشان داد که در بین گروه‌ها تفاوت معنی‌داری وجود دارد ( $F_{(4,45)} = 4/133, p = 0/006, \eta^2 = 0/269$ ) (جدول ۶). با توجه به عدم همگنی واریانس‌ها از آزمون تعقیبی گیمز هاول استفاده شد. نتایج آزمون تعقیبی گیمز هاول نشان داد که بیان ژن HIF1a بافت کلیه در گروه کنترل دیابتی نسبت به گروه کنترل سالم به



طور معنی‌داری پایین‌تر بوده است ( $p=0/01$ ) (شکل ۲). اما این متغیر در گروه‌های تمرین دیابتی ( $p=0/78$ )، تمرین+مکمل دیابتی ( $p=0/99$ ) و مکمل دیابتی ( $p=0/57$ ) نسبت به گروه کنترل دیابتی تفاوت معنی‌داری نداشت. در صورتی که، بیان ژن HIF1a بافت کلیه در گروه‌های تمرین دیابتی ( $p=0/003$ ) و تمرین+مکمل دیابتی ( $p=0/005$ ) نسبت به گروه کنترل سالم به طور معنی‌داری پایین‌تر بوده است (شکل ۲).



شکل ۱. مقایسه بیان ژن CCL2 بافت کلیه در گروه‌های مختلف؛ \* نشانه معنی‌دار نسبت به گروه‌های کنترل دیابتی و تمرین دیابتی؛ # نشانه معنی‌دار نسبت به سایر گروه‌ها؛ @ نشانه معنی‌دار نسبت به گروه کنترل دیابتی؛ \$ نشانه معنی‌دار نسبت به گروه‌های کنترل سالم و کنترل دیابتی؛ & نشانه معنی‌دار نسبت به گروه کنترل دیابتی؛ سطح معنی‌داری  $p < 0/05$ .





شکل ۲. بیان ژن **HIF1a**: \* تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه‌های کنترل دیابتی، تمرین دیابتی و تمرین+مکمل دیابتی؛ # تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه کنترل سالم؛ \$ تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه کنترل سالم؛ & تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه کنترل سالم؛ سطح معنی‌داری p<0/05

### بحث

به‌طور کلی، یافته‌های پژوهش حاضر نشان داد القای دیابت در موش‌های صحرایی نر ویستار باعث افزایش معنی‌دار بیان ژن CCL2 در بافت کلیه شد که بیانگر فعال شدن مسیرهای التهابی وابسته به هایپرگلیسمی، از جمله مسیر NF-KB و افزایش تولید کموکاین‌های جاذب ماکروفاژ است. با این حال، اجرای تمرین ترکیبی و مصرف مکمل تائورین، چه به‌صورت منفرد و چه به‌صورت هم‌زمان، موجب کاهش معنی‌دار بیان CCL2 گردید. بیشترین کاهش به ترتیب در گروه تمرین+تائورین (۴۹ درصد)، گروه تائورین (۴۸ درصد) و گروه تمرین (۲۳ درصد) مشاهده شد و اختلاف اندکی بین دو گروه تمرین+تائورین و تائورین وجود داشت؛ موضوعی که نشان می‌دهد تائورین احتمالاً عامل اصلی اثر ضدالتهابی در این مدل بوده است. به نظر می‌رسد اثر ضدالتهابی تائورین تا حدی از طریق افزایش اینترلوکین ۱۰<sup>۱</sup> (IL-10) (۲۸) و کاهش اینترفرون گاما<sup>۲</sup> (IFN-γ) اعمال می‌شود (۲۹). از آنجا که IFN-γ در القای برخی کموکاین‌ها به‌ویژه خانواده CXC نقش دارد، این کموکاین‌ها در تخریب سلول‌های β پانکراس مؤثر هستند (۳۰). کاهش IFN-γ می‌تواند به کاهش CCL2 نیز منجر شود، هرچند برای تأیید این سازوکار به مطالعات بیشتری نیاز است. نتایج این پژوهش با یافته‌های ایشیوچی<sup>۳</sup> و همکاران (۲۰۱۸) (۳۱)، فیلگوئیرا<sup>۴</sup> و همکاران (۲۰۲۳) (۳۲)، اسماعیلیان و همکاران (۲۰۲۲) (۱۱)، باری<sup>۵</sup> و همکاران (۲۰۱۸) (۳۳)، همسو است. این مطالعات نشان داده‌اند که تمرین ورزشی می‌تواند موجب کاهش کموکاین‌های التهابی مانند CXCL10 (۳۱)، CXCL8/IL-8 و CCL2 و همچنین کاهش گیرنده‌های مرتبط با آن‌ها شود. برای مثال، تمرین روی نوارگردان کاهش معنی‌دار CXCL10 در عضله موش‌ها را نشان داده و تمرینات طولانی‌مدت ورزشی نیز با کاهش CXCL8، CCL2 و IFN-γ و افزایش سایتوکاین‌های ضدالتهابی مانند IL-10 همراه بوده‌اند (۳۲). همچنین گزارش شده است که تمرین هوازی غیرمتداوم باعث کاهش CCL2، CCL5 و CCR2 در مدل‌های حیوانی شده است (۱۱). علاوه بر این، نشان داده شده است که تمرین تداومی با شدت متوسط درصد مونسیت‌های مثبت برای CCR2 و بیان پروتئین سطحی CXCR2 را بر روی مونسیت‌ها کاهش داد (۳۳). در مقابل، برخی مطالعات نتایج متفاوتی گزارش کرده‌اند. برای مثال، باری<sup>۶</sup> و همکاران (۲۰۱۸) نشان دادند تمرین تناوبی با شدت بالا موجب افزایش بیان برخی گیرنده‌های کموکاینی مانند CCR5 می‌شود (۳۳). وسدی و همکاران (۲۰۲۲) نیز افزایش بیان کموکاین‌ها را پس از تمرین تناوبی شدید (دویدن روی نوارگردان به مدت ۸ دقیقه با شدت ۸۵-۹۰٪ VO2max و ۲ دقیقه با شدت ۵۰-۶۰٪ VO2max) گزارش کردند (۳۴). این ناهمسویی احتمالاً به تفاوت در نوع و شدت تمرین مربوط است؛ زیرا تمرینات با شدت بسیار بالا می‌توانند خود موجب افزایش استرس فیزیولوژیک و پاسخ‌های التهابی شوند، در حالی که تمرین ترکیبی با شدت متوسط - مشابه پروتکل پژوهش حاضر بیشتر با اثرات ضدالتهابی همراه است. از نظر سازوکار، کموکاین‌های پیش‌التهابی با اتصال به گیرنده‌های خود موجب فعال‌سازی

<sup>1</sup> Interleukin 10

<sup>2</sup> Interferon-gamma

<sup>3</sup> Ishiuchi

<sup>4</sup> Filgueira

<sup>5</sup> Barry

<sup>6</sup> Barry



مسیرهایی مانند NF-KB و پروتئین کیناز فعال شده با آدنوزین پنچ-مونوفسفات<sup>۱</sup> (AMPK) شده و وضعیت پیش‌التهابی را تقویت می‌کنند (۳۰). در پژوهش حاضر نیز القای دیابت باعث افزایش ۴۲ درصدی بیان CCL2 شد، در حالی که تمرین ترکیبی، مصرف تائورین و ترکیب آن‌ها توانست این افزایش را به‌طور معنی‌داری کاهش دهد. احتمالاً تمرین و تائورین با مهار این مسیرهای سیگنال‌دهی التهابی عمل می‌کنند. همچنین شواهد نشان می‌دهد که کموکاین‌های القاشده توسط IFN- $\gamma$  می‌توانند با فعال‌سازی مسیرهایی مانند پروتئین کیناز B<sup>۲</sup> (Akt)، کیناز N-ترمینال c-Jun<sup>۳</sup> (JNK) و تجزیه پروتئین کیناز ۲ فعال شده با p21<sup>۴</sup> (PAK-2) و از طریق گیرنده نافیسی شکل نوع چهار<sup>۵</sup> (TLR4)، تکثیر سلول‌های  $\beta$  را به سمت آپوپتوز سوق دهند و ترشح انسولین را مختل کنند (۳۰). از این رو، کاهش IFN- $\gamma$  ناشی از فعالیت بدنی می‌تواند به کاهش کموکاین‌های التهابی و بهبود وضعیت متابولیکی کمک کند. علاوه بر این، برخی شواهد نشان می‌دهد کموکاین‌ها از طریق فعال‌سازی مسیر هدف مکانیکی راپامایسین در سلول<sup>۶</sup> (mTOR) می‌توانند در تنظیم تکثیر سلولی و فرایندهای متابولیکی نقش داشته باشند؛ مسیری که با افزایش جذب گلوکز، تولید انرژی و گلیکولیز همراه است (۱۱). بنابراین، احتمال دارد تمرین ورزشی و تائورین از طریق تعدیل این مسیرها نیز در کاهش التهاب و بهبود عملکرد متابولیکی نقش داشته باشند.

از طرفی، نتایج پژوهش حاضر نشان داد القای دیابت موجب کاهش معنی‌دار (۲۸ درصدی) بیان ژن HIF-1 $\alpha$  در بافت کلیه موش‌های صحرایی نر ویستار شد. با این حال، تمرین ترکیبی، مصرف تائورین و ترکیب این دو تنها افزایش‌های غیرمعنی‌دار ۱۰، ۱۸ و ۴ درصدی در بیان HIF-1 $\alpha$  ایجاد کردند. این یافته برخلاف انتظار اولیه مبنی بر افزایش HIF-1 $\alpha$  در شرایط دیابت و فشار اکسایشی است، اما با مطالعاتی که نشان داده‌اند افزایش ROS ناشی از هایپرگلیسمی می‌تواند مسیر سیگنالینگ HIF-1 $\alpha$  را مهار کند (۳۵)، همسو می‌باشد. به نظر می‌رسد شدت بالای فشار اکسایشی و التهاب در این مدل دیابتی باعث کاهش حساسیت یا غیرفعال شدن این مسیر شده باشد. همچنین، هیچ‌یک از مداخلات نتوانستند کاهش HIF-1 $\alpha$  را به‌طور کامل جبران کنند. احتمالاً تمرین و تائورین اگرچه دارای اثرات ضدالتهابی و ضداکسایشی هستند، اما در این مدل تأثیر مستقیمی بر تنظیم HIF-1 $\alpha$  نداشته‌اند یا مدت و شدت مداخله برای فعال‌سازی این مسیر کافی نبوده است. از سوی دیگر، ممکن است اثرات این مداخلات در مراحل اولیه دیابت یا دوره‌های طولانی‌تر تمرین آشکارتر شود. در زمینه اثر تائورین بر HIF-1 $\alpha$  مطالعات محدودی وجود دارد. برخی پژوهش‌ها نشان داده‌اند که تائورین موجب کاهش بیان mRNA و پروتئین HIF-1 $\alpha$  و ژن‌های مرتبط با گلیکولیز می‌شود (۳۵) که با یافته‌های حاضر ناهمسو است. همچنین گزارش شده است که هایپرگلیسمی از طریق مسیر وابسته به پرولیل هیدروکسیلاز<sup>۷</sup> (PHD) باعث سرکوب HIF-1 می‌شود و اختلال در سیگنالینگ HIF-1 $\alpha$  با افزایش تولید ROS میتوکندریایی همراه است؛ در حالی که بازیابی عملکرد HIF-1 $\alpha$

<sup>1</sup> AMP-activated protein kinase

<sup>2</sup> Protein kinase B

<sup>3</sup> c-Jun N-terminal kinase

<sup>4</sup> p21-activated kinase

<sup>5</sup> Toll-like receptor 4

<sup>6</sup> Mammalian Target of Rapamycin

<sup>7</sup> Prolyl hydroxylase



می‌تواند از آسیب کلیوی دیابتی جلوگیری کند (۳۶). بنابراین، احتمال دارد تاثرین از طریق تعدیل این مسیرها نقش حفاظتی داشته باشد، هرچند برای تأیید این موضوع به مطالعات بیشتری نیاز است. در ارتباط با تمرین ورزشی، نتایج پژوهش حاضر نشان داد تمرین ترکیبی موجب افزایش غیرمعنی دار HIF-1 $\alpha$  شد. HIF-1 $\alpha$  یکی از عوامل اصلی پاسخ به هایپوکسی است که در سازگاری سلولی به کمبود اکسیژن نقش دارد و فعالیت آن تحت تأثیر فشار اکسایشی، AMPK و شدت تمرین قرار می‌گیرد. برخی مطالعات، از جمله پژوهش‌های زارع‌زاده مهریزی و همکاران (۲۰۲۰) (۳۷)، باقریان و همکاران (۲۰۲۲) (۳۸)، سلطانی و همکاران (۲۰۱۹) (۳۹)، رضانی و همکاران (۲۰۲۵) (۴۰) و بختیاری و همکاران (۲۰۱۹) (۴۱)، افزایش معنی‌دار HIF-1 $\alpha$  را پس از تمرینات هوازی یا HIIT گزارش کرده‌اند که تا حدودی با روند افزایشی مشاهده‌شده در مطالعه حاضر همسو است. در مقابل، مونییر<sup>۱</sup> و همکاران (۲۰۰۹) (۴۲) و نیز عیدی و همکاران (۲۰۱۵) (۴۳) کاهش HIF-1 $\alpha$  را پس از تمرین گزارش کردند. این تفاوت‌ها احتمالاً ناشی از تفاوت در نوع، شدت و مدت تمرین، نوع بیماری و مدل آزمودنی‌ها است. به طور کلی، هایپوکسی سلولی که به دنبال اجرای فعالیت ورزشی به وجود می‌آید، موجب تحریک HIF1a می‌گردد تا سبب حفاظت سلول از فشار اکسایشی گردد. فعالیت HIF1a به وسیله عوامل اکسایشی و آنتی‌اکسیدان‌ها تحریک می‌شود که فعالیت هر دوی آنها از طریق فعالیت بدنی فعال می‌گردد، در درون سلول‌های بدن اکسیژن مولکولی به صورت گسترده تنظیم شده و HIF1a جزء عوامل کلیدی این مسیر است. در زمانی که کمبود اکسیژن وجود دارد، HIF1a برای سازگاری سلول اهمیت داشته و فعال‌سازی آن موجب بیان ژن‌های مرتبط در آنژیوژنز و نوروژنز می‌شود. علاوه بر این، AMPK به عنوان مسیر سیگنالیک بالادستی HIF1a می‌تواند سبب تحریک HIF1a گردد (۳۷). عاملی که در افزایش AMPK تأثیر دارد، شدت تمرین است (۳۷). بر اساس یافته‌های پژوهش، به نظر می‌رسد تمرین ترکیبی (هوازی-مقاومتی) در موش‌های مبتلا به دیابت نوع دو باعث افزایش غیرمعنی‌دار بیان ژن HIF-1 $\alpha$  در بافت کلیه شد. این امر نشان می‌دهد تمرین احتمالاً تا حدی تعادل اکسیژنی، عملکرد میتوکندری و سوخت و ساز انرژی را بهبود داده و فشار اکسایشی و التهاب را کاهش داده است، اما شدت و مدت مداخله برای فعال‌سازی معنی‌دار مسیر HIF-1 $\alpha$  کافی نبوده است. به‌طور کلی، تمرین ترکیبی اثر محافظتی محدود بر مسیر هایپوکسی در کلیه دیابتی دارد و نقش اصلی آن احتمالاً از طریق کاهش التهاب و فشار اکسایشی اعمال می‌شود، نه فعال‌سازی مستقیم HIF-1 $\alpha$ .

**نتیجه‌گیری:** بر اساس یافته‌های پژوهش حاضر در رابطه با اثربخشی تمرین و مکمل تاثرین بر روی کاهش CCL2 و عدم تأثیر معنی‌دار تمرین+مکمل بر روی CCL2 و HIF1 $\alpha$  به نظر می‌رسد که تمرین ترکیبی و مصرف مکمل تاثرین موجب تعدیل فرایندهای التهابی مرتبط با دیابت در بافت کلیه می‌باشد. اما افزودن مکمل تاثرین به برنامه تمرینی تأثیر قابل توجهی بر کاهش التهاب و مسیرهای مرتبط با هایپوکسی ندارد.

از آنجایی که مدل حاضر تمام ویژگی‌های پاتوفیزیولوژیک دیابت نوع دو را منعکس نمی‌کند و بنابراین تعمیم‌پذیری نتایج به دیابت نوع دو در انسان باید با احتیاط انجام شود که این موضوع به‌عنوان یکی از محدودیت‌های مطالعه می‌باشد و پیشنهاد می‌گردد که پژوهش‌های آینده از مدل‌های نزدیک‌تر به دیابت نوع دو، مانند ترکیب رژیم پرچرب با STZ یا استفاده از نیکوتینامید<sup>۲</sup> بهره ببرند.

## تعارض منافع

<sup>1</sup> Mounier

<sup>2</sup> Nicotinamide



تضاد منافی بین نویسندگان گزارش نشده است.

### قدردانی و تشکر

پژوهش حاضر حاصل رساله دکتری فیزیولوژی ورزشی دانشگاه محقق اردبیلی است و از تمام افرادی که در این امر مهم ما را یاری کردند، تشکر و قدردانی می‌شود.

### منابع

1. Choobineh S, Hosseini SE, Soori R, Pourrahim A. The Effect of Eight Weeks of Combined Aerobic and Resistance Exercises with Taurine Supplement Consumption on Some Indices of Heart Atrophy in Diabetic Rats. *Yafteh*. 2023;24(4):15-27. [in persian]. <https://doi.org/10.32592/Yafteh.2023.24.4.2>
2. Chen J, Liu Q, He J, Li Y. Immune responses in diabetic nephropathy: Pathogenic mechanisms and therapeutic target. *Frontiers in Immunology*. 2022;13:958790. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.958790>
3. Yang M, Zhang C. The role of innate immunity in diabetic nephropathy and their therapeutic consequences. *Journal of Pharmaceutical Analysis*. 2024;14(1):39-51. <https://doi.org/10.1016/j.jpaha.2023.09.003>
4. Ruster C, Wolf G. The role of chemokines and chemokine receptors in diabetic nephropathy. *Front Biosci*. 2008;13(1):944-55. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18270815/>
5. Ghasemi E, Abbaszadeh Bazzi N, Nakhzari Khodakheir J, Sadeghinejad M. The effect of a resistance training with blood flow restriction on hypoxia-inducible factor, vascular endothelial growth factor, and nitric oxide in older adults. *Journal of Practical Studies of Biosciences in Sport*. 2025;13(36):72-87. [in persian]. <https://doi.org/10.22077/jpsbs.2025.10077.1998>
6. Albadari N, Deng S, Li W. The transcriptional factors HIF-1 and HIF-2 and their novel inhibitors in cancer therapy. *Expert opinion on drug discovery*. 2019;14(7):667-82. <https://doi.org/10.1080/17460441.2019.1613370>
7. Li R-Y, Guo L. Exercise in diabetic nephropathy: protective effects and molecular mechanism. *International Journal of Molecular Sciences*. 2024;25(7):3605. <https://doi.org/10.3390/ijms25073605>
8. Cai Z, Yang Y, Zhang J. Effects of physical activity on the progression of diabetic nephropathy: a meta-analysis. *Bioscience Reports*. 2021;41(1):BSR20203624. <https://doi.org/10.1042/BSR20203624>
9. Kotake H, Yamada S, Ogura Y, Watanabe S, Inoue K, Ichikawa D, et al. Endurance exercise training-attenuated diabetic kidney disease with muscle weakness in spontaneously diabetic Torii fatty rats. *Kidney and Blood Pressure Research*. 2022;47(3):203-18. <https://doi.org/10.1159/000522084>
10. Amaral LSdB, Souza CS, Lima HN, Soares TdJ. Influence of exercise training on diabetic kidney disease: A brief physiological approach. *Experimental biology and medicine*. 2020;245(13):1142-54. <https://doi.org/10.1177/1535370220915159>
11. Esmailian M, Kargarfard M, Esfarjani F, Vaseghi G. Effects of 8-week noncontinuous aerobic exercise on the levels of CCL2, CCL5, and their respective receptors in female BALB/C mice suffering from breast cancer. *International Journal of Preventive Medicine*. 2022;13(1):55. [in persian]. <https://doi.org/10.4103/ijpvm.IJPVM9320>
12. Alavizadeh NS, Rashidlamir A, Hejazi SM. Effect of Eight Weeks of Aerobic and Aerobic-Resistance Trainings after Coronary Artery Bypass Grafting on Expression of CCL2 and CCL5 in Middle-Aged Men. *Medical Laboratory Journal*. 2021;15(1):- [in persian]. <https://mlj.goums.ac.ir/article-1-1376-en.html>
13. Razavi Dehkordi SM, Keshavarz S, Banaei Borojeni J, Eftekhari E. The Effect of Eight Weeks of Combined Exercises on the Expression of HIF1, VEGF, UCP1 Genes, and the Body Composition of Overweight Elderly Men. *Journal of Research in Behavioural Sciences*. 2024;21(4):729-40. [in persian]. <http://dx.doi.org/10.48305/21.4.729>
14. Tao X, Zhang Z, Yang Z, Rao B. The effects of taurine supplementation on diabetes mellitus in humans: A systematic review and meta-analysis. *Food Chemistry: Molecular Sciences*. 2022;4:100106. <https://doi.org/10.1016/j.fochms.2022.100106>



15. Fatma El Zahraa Z MM, El Maraghy NN, Ahmed AF. Effect of Cordyceps sinensis and taurine either alone or in combination on streptozotocin induced diabetes. . Food and chemical toxicology. 2012;50(3-4):1159-65. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2011.12.020>
16. Mohamed N GH. Taurine dietary supplementation attenuates brain, thyroid, testicular disturbances and oxidative stress in streptozotocin-induced diabetes mellitus in male rats. . Beni-Suef University journal of basic and applied sciences. 2017;6(3):247-52. <https://doi.org/10.1016/j.bjbas.2017.01.003>
17. Sak D, Erdenen F, Müderrisoglu C, Altunoglu E, Sozer V, Gungel H, et al. The relationship between plasma taurine levels and diabetic complications in patients with type 2 diabetes mellitus. Biomolecules. 2019;9(3):96. <https://doi.org/10.3390/biom9030096>
18. Ito T, Schaffer SW, Azuma J. The potential usefulness of taurine on diabetes mellitus and its complications. Amino acids. 2012;42:1529-39. <https://doi.org/10.1007/s00726-011-0881-5>
19. Shirvani H, Rostamkhani F, Sobhani V. The Interactive Effect of Taurine Supplementation and Intensive Training Protocols on Serum Inflammatory Cytokines (IL-6 and TNF- $\alpha$ ) levels in Elite Soccer Players. Iranian Journal of Nutrition Sciences and Food Technology. 2015;10(3):29-38. [in persian]. <https://nsft.sbm.ac.ir/article-1-1712-fa.html>
20. Shirvani H, Nikbakht H, Ebrahim Kh G. The effects of soccer specific exercise and Taurine supplementation on serum cytokine response in male elite soccer players. Ann Biol Res. 2013;5(2):59-79. [in persian]. <https://doi.org/10.22059/jsb.2013.35040>
21. Pahlevani M BJ, Pozesh Jadidi R, Hashem Kandi Asadi R, Dadkhah M. The simultaneous effect of two months of combined training and taurine supplementation on BDNF, CRP and IL-6 indices in diabetic rats. Metabolism and Exercise A bioannual journal. 2022;11.(2):151-169. [in persian]. <https://doi.org/10.22124/jme.2023.23972.257>
22. Akbari Vargesaran F, Pourrahim Ghouroughchi A. The effect of 8 weeks of endurance-resistance training with taurine supplementation on the serum level of osteopontin and osteocalcin in Wistar diabetic male rats treated with streptozocin. Daneshvar Medicine. 2023;31(1):34-45. [in persian]. <https://doi.org/10.22070/daneshmed.2023.16988.1292>
23. Hashemi m, Ghasemnyian AA, karimi asl a, hadi s. Effect of two types of intense training on the levels of thioredoxin reductase-1 enzyme and malondialdehyde in testicular tissue of male wistar rats. Metabolism and Exercise. 2023;13(1):101-15. [in persian]. <https://doi.org/10.22124/jme.2023.24158.286>
24. Rahmatollahi M, Pourrahim Ghouroughchi A. Improving cardiac inflammatory markers via akt gene expression, cardiac pi3k, and serum il-1 $\beta$  by combined exercise and taurine supplementation in diabetic male wistar rats. Studies in Medical Sciences. 2024;35(3):204-17. [in persian]. <http://dx.doi.org/10.61186/umi.35.3.204>
25. Høydal MA WU, Kemi OJ, Ellingsen Ø. Running speed and maximal oxygen uptake in rats and mice: practical implications for exercise training. . European Journal of Preventive Cardiology. 2007 Dec 1;14(6):753-60. <https://doi.org/10.1097/HJR.0b013e3281eace12>
26. Sajid I, Muddasir S, Emad S, Batool Z, Khaliq S, Anis L, et al. Enhanced physical endurance and improved memory performance following taurine administration in rats. Pakistan journal of pharmaceutical sciences. 2017;30(5):1957. [in persian]. <https://pjps.pk/wp-content/uploads/pdfs/30/5/Paper-34.pdf>
27. Hadi S, Rezagholizadeh M, Nemati V, Mostafavi R. The effect of linear endurance trainings along with the salvia extract supplementation on liver gene expression of some inflammatory markers in male wistar rats. Journal of Sport Physiology Special Groups. 2023;1(1):1-16. [in persian]. <https://jsspgs.ssrc.ac.ir/article-1-58-en.html>
28. Zhu F-L, Huang T, Lv Z-L, Liang G, Yao Z, Lan L-C, et al. Taurine regulates the expression of interleukin- 17 10/ and intestinal Flora and Protects the liver and intestinal mucosa in a nonalcoholic fatty liver disease rat model. Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity. 2024;675-89. <https://doi.org/10.2147/DMSO.S442241>
29. Samari Ebrahimzadeh Z, Azamian Jazi A, Akbarpour Beni M. The Effect of 12 Weeks of Multi-Component Exercise Training on Serum Levels of Interferon-Gamma and Interleukin-17 in Healthy Elderly Men. Journal of Sport and Exercise Physiology. 2025;1(0):- [in persian]. <https://doi.org/10.48308/JOEPPA.2025.240980.1386>



30. Pan X, Kaminga AC, Wen SW, Liu A. Chemokines in prediabetes and type 2 diabetes: a meta-analysis. *Frontiers in Immunology*. 2021;12:622438. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.622438>
31. Ishiuchi Y, Sato H, Tsujimura K, Kawaguchi H, Matsuwaki T, Yamanouchi K, et al. Skeletal muscle cell contraction reduces a novel myokine, chemokine (CXC motif) ligand 10 (CXCL10): potential roles in exercise-regulated angiogenesis. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*. 2018;82(1):97-105. <https://doi.org/10.1080/09168451.2017.1371413>
32. Filgueira TO, Carvalho PRC, de Sousa Fernandes MS, Castoldi A, Teixeira AM, de Albuquerque RB, et al. The impact of supervised physical exercise on chemokines and cytokines in recovered COVID-19 patients. *Frontiers in Immunology*. 13:1051059;2023. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.1051059>
33. Barry JC, Simtchouk S, Durrer C, Jung ME, Little JP. Short-term exercise training alters leukocyte chemokine receptors in obese adults. *Medicine & Science in Sports & Exercise*. 2017;49(8):1631-40. <https://doi.org/10.1249/MSS.0000000000001268>
34. Vosadi E, Gholami F, Amirsalary M. Effect of Eight Weeks of High-Intensity and Low-Intensity Interval Training on Chemokine Gene Expression and Vascular Endothelial Growth Factor in Male Adult Rats. *Journal of Ilam University of Medical Sciences*. 2022;30(4):86-93. [in persian]. <http://dx.doi.org/10.52547/sjimu.30.4.86>
35. Chen X, Wenting A, Zhiqing H, Jia G, Zhao H. Taurine reduces glycolysis of pig skeletal muscle by inhibiting HIF-1 $\alpha$  signaling. *Journal of Cellular Physiology*. 2025;240(1):e31461. <https://doi.org/10.1002/jcp.31461>
36. Zheng X, Narayanan S, Xu C, Eliasson Angelstig S, Grünler J, Zhao A, et al. Repression of hypoxia-inducible factor-1 contributes to increased mitochondrial reactive oxygen species production in diabetes. *elife*. 2022;11:e70714. <https://doi.org/10.7554/eLife.70714>
37. Zarezadehmehrizi A, Rajabi H, Gharakhanlou R, Naghdi N, Azimidokht SMA. Effect of 8 weeks of Aerobic Training on Genes Expression of Hypoxia Inducible Factor HIF-1 $\alpha$ , Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) and Angiostatin in Hippocampus of Male Rats with Wistar Model. *The Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences*. 2020;27(11):2063-75. [in persian]. <http://dx.doi.org/10.18502/ssu.v27i11.2493>
38. Bagherian M, Banaeifar A, Arshadi S, Azarbayjani MA. Effect of Training Intensity on HIF-1 $\alpha$  Gene Expression and Cardiac TG Content in Rats with Non-Alcoholic Fatty Liver Disease. *SSU\_Journals*. 2022;30(7):5062-76. [in persian]. <http://dx.doi.org/10.18502/ssu.v30i7.10753>
39. Soltani R, Kordi MR, Gaeini AA, Nuri R. The effects of 8 weeks aerobic training on HIF-1 $\alpha$ , miR-21 and VEGF gene expression in female Balb/c with breast cancer. *scientific magazine yafte*. 2019;21(1):63-74. [in persian]. <https://yafteh.lums.ac.ir/article-1-3011-en.html>
40. Ramezani S, Moazami M, Bijeh N, Rashid Lamir A. The Effect of Aerobic Training and Adenosine Injection on Rat Brain HIF-1 $\alpha$  Gene Expression Following Ischemic Stroke. *Sport Physiology*. 2025 Dec 22;17(68):107-22. [in persian]. <https://doi.org/10.22089/spj.2025.18359.2391>
41. Bakhtiani F, Matin Homae H, Ghazalian F. The Effects of 4 Weeks Aerobic Training on Oxidative and Angiogenesis Markers of Cardiac Tissue in Type 2 Diabetic Male Wistar Rats. *Armaghane Danesh*. 2019;24(5):892-905. [in persian]. <http://dx.doi.org/10.52547/armaghanej.24.5.2.892>
42. Mounier R, Pialoux V, Roels B, Thomas C, Millet G, Mercier J, et al. Effect of intermittent hypoxic training on HIF gene expression in human skeletal muscle and leukocytes. *European journal of applied physiology*. 2009;105(4):515-24. <https://doi.org/10.1007/s00421-008-0928-5>
43. Eidi Yusef Abad H, Nezamdoust Z. The response of serum levels of hypoxia inducible factor-1 $\alpha$ , vascular endothelial growth factor and peripheral capillary oxygen saturation to one session of underwater swimming training (Apnea) in young men. *Journal of Applied Exercise Physiology*. 2015;12(23):181-191. [in persian]. <https://jaep.ssrc.ac.ir/article-1-162-en.html>



مطالعات کاربردی

# علوم زیستی در ورزش



## The effect of eight weeks of combined training and taurine supplementation on the expression of CCL2 and HIF1a genes in the kidney tissue of male Wistar rats with type 2 diabetes

Belal Mahdavi<sup>1</sup>, Roghayeh Afroudeh<sup>2\*</sup>, Ameneh Pourrahim<sup>3</sup>, Abolfazl Bayrami<sup>4</sup>

### Abstract

**Introduction and Objective:** Diabetic nephropathy (DN) is a common complication of type 2 diabetes, and physical activity along with proper nutrition may help control its associated inflammation. The present study aimed to investigate the effects of eight weeks of combined training and taurine supplementation on the gene expression of CCL2 and HIF1 $\alpha$  in the kidney tissue of diabetic male rats. **Materials and Methods:** In this experimental study, 50 eight-week-old male Wistar rats were randomly assigned into five equal groups: healthy control, diabetic control, diabetic supplement, diabetic training, and diabetic training+supplement. Diabetes was induced by intraperitoneal injection of streptozotocin. The combined training program (resistance and endurance) was performed for eight weeks, five sessions per week. Resistance training started with three sets of four repetitions and progressed to three sets of five repetitions using weights equivalent to 3% of body weight. Endurance training began at 15 m/min for 15 minutes and increased to 20m/min for 40minutes. Taurine supplementation was administered intraperitoneally at a dose of 20 mg/kg after exercise sessions. 48hours after the final session, kidney tissues were collected and gene expression was analyzed using Real-Time PCR. Data were analyzed using ANOVA at a significance level of  $p \leq 0.05$ . **Results:** CCL2 gene expression was significantly reduced in the diabetic training+supplement group ( $p=0.001$ ) and the diabetic training group ( $p=0.03$ ) compared with the diabetic control group. However, no significant difference was observed between the diabetic training and diabetic training+supplement groups ( $p=0.19$ ). In addition, HIF1 $\alpha$  gene expression showed no significant changes in the diabetic training+supplement group ( $p=0.99$ ) or the diabetic training group ( $p=0.78$ ) compared with the diabetic control group. **Conclusion:** Combined training and taurine supplementation may reduce diabetes-related renal inflammation through decreasing CCL2 expression; however, adding taurine to exercise did not produce additional effects on CCL2 expression. Moreover, these interventions did not show significant effects on hypoxia-related pathways.

**Keywords:** Diabetes, Combined training, Taurine supplementation, Inflammation.

1. Ph.d student in exercise physiology, Department of Sport Science, Faculty of education science & psychology, Mohaghegh Ardabili University, Ardabil, Iran.

2. \* Associate professor in exercise physiology, Department of Sport Science, Faculty of education science & psychology, Mohaghegh Ardabili University, Ardabil, Iran. E-mail: Afroudeh@uma.ac.ir

3. Associate professor in exercise physiology, Department of Sport Science, Faculty of education science & psychology, Mohaghegh Ardabili University, Ardabil, Iran.

4. Associate professor in biology, Department of Biology, Faculty of sciences, Mohaghegh Ardabili University, Ardabil, Iran.