Sport. Physiol, 2024, 16(61): 31-46, Doi: 10.22089/spj.2024.16068.2291

Sport Physiology

Journal hompage: https://spj.ssrc.ac.ir

Original Article

Variation in the TSC2(RAGs)/mTOR/4E-BPs Gene Pathway in Kidney Tissue of Male Rats Following Resistance Training and Spirulina Plantensis Supplementation

Hamid Reza Sadeghipour[1], Fatemeh Hamidi[2], Abdosalleh Zar[3], Rohollah Ranjbar[4]

1. Assistance Professor of Exercise physiology, Sport Science Department, Human Faculty, Semnan University, Semnan, Iran
2. M.Sc. Student of Exercise physiology, Sport Science Department, Human Faculty, Semnan University, Semnan, Iran
3. Associate Professor of Exercise physiology, Sport Science Department, Human Faculty, Persian Gulf University, Bushehr, Iran
4. Associate Professor, Department of Exercise Physiology, Faculty of Sport Sciences, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran

Received: 20/12/2023, Revised: 16/02/2024, Accepted: 03/07/2024

* Corresponding Author: Hamid Reza Sadeghipour, Tel: 0917330074, E-mail: h.rsadeghi@yahoo.com

How to Cite: Sadeghipour, H. R; Hamidi, F; Zar, A. Ranjbar, R. (2024). Variation in the TSC2(RAGs)/mTOR/4E-BPs Gene Pathway in Kidney Tissue of Male Rats Following Resistance Training and Spirulina Plantensis Supplementation. *Sport Shysiology*, 16(61), 31-46. In Persian.

Extended Abstract

Background and Purpose

Resistance training activates signaling pathways that regulate protein synthesis, protein degradation, transcription processes, and the behavior of satellite cells. The mTOR signaling pathway plays a central role in protein synthesis (1). Key downstream proteins of mTOR include P70S6K1 and 4E-BP1, while Rheb serves as an upstream regulatory factor of mTOR (2). Researches has shown that resistance training can activate the mTOR pathway. In recent years, considerable efforts have been made to clarify the cellular and molecular mechanisms triggered by resistance training, with a particular focus on the effects of combining these exercises with supplements (3). Spirulina, a type of seaweed, has been shown to enhance muscle protein synthesis (4). In kidney tissue, mTOR can be activated by different pathways. Some studies have shown that TSC is associated with the enlargement of benign tumors and cysts in the kidneys, which can ultimately lead to kidney failure (5). Inhibition of mTOR and its related pathways has been found to reduce cyst growth and kidney enlargement in rats (6). Given the high protein content of Spirulina, the aim of this study is to investigate the effect of eight weeks of resistance training combined with Spirulina platensis supplementation on the TSC2 (RAGs)/mTOR/4E-BPs signaling pathway in the kidney tissue of male rats.

Copyright: © 2023 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

Materials and Methods

A total of 32 male rats were randomly assigned into four groups (n=8): 1. Control group, 2. Supplement group, 3. Resistance training group, and 4. Resistance training + Spirulina supplement group. The resistance training protocol consisted of eight weeks of resistance exercises using a ladder with a height of one meter. The protocol included 3 sets of 5 repetitions, with a 1-minute rest between each repetition and a 2-minute rest between sets.

The initial weight used for the resistance training was set at 30% of the rat's body weight, and this was progressively increased to 100% by the final week of training. At the beginning of each week, the average body weight of each group was measured, and the weights for the training sessions were adjusted accordingly. Both the Spirulina supplement group and the exercise + Spirulina supplement group received Spirulina supplementation at a dose of 200 mg per kilogram of body weight, combined with water, administered daily (7). 24 hours after the final training session, the rats were anesthetized using a combination of 10% ketamine (52 mg/kg body weight) and 2% xylazine (10 mg/kg body weight) (3). After euthanizing the rats, the kidney tissue was collected, and the gene expression levels of the study variables were measured using Real-Time PCR. Data analysis was performed using two-way analysis of variance (ANOVA) followed by Tukey's post hoc test.

Findings

The results of the two-way analysis of variance (ANOVA) indicated that there was no significant difference in the expression of the TSC2 gene among the research groups ($P = 0.618$). Additionally, no significant increase in the expression of this gene was observed in the resistance training group ($P = 0.728$), the Spirulina supplement group ($P = 0.728$), or the combination of resistance training with Spirulina supplementation ($P = 0.804$) when compared to the control group. The results indicated that exercise had a significant effect on increasing the RAGs gene expression ($P = 0.001$). In addition, the group that received both resistance training and Spirulina supplementation showed a significant increase in RAGs gene expression ($P = 0.001$). Furthermore, Spirulina supplementation caused a significant increase in mTOR gene expression ($P = 0.001$), and a significant increase in mTOR gene expression was also observed in the resistance training group ($P = 0.014$).

Conclusion

Based on the findings of our study, eight weeks of resistance training, along with Spirulina supplementation, led to a significant increase in the expression of the 4E-BPs and RAGs genes. Additionally, eight weeks of resistance training had a significant effect on mTOR gene expression, although Spirulina supplementation did not significantly affect the expression of this gene. Considering that RAGs protein acts as a mediator for the activation of the mTOR pathway through amino acid signaling, and given the established role of mTOR in the progression of kidney diseases such as polycystic kidney disease and nephropathy, it is likely that Spirulina supplementation could be beneficial for individuals suffering from these conditions. However, since no significant increase in mTOR gene expression was observed in the group receiving both resistance training and Spirulina supplementation, further research is warranted. This is especially crucial given the critical role of kidney tissue in overall physiological function, and to better understand the potential interactions between resistance training, supplementation, and kidney health.

Keywords: Resistance training, Spirulina, mTOR, RAGs, TSC2, 4E_PBs

Ethical Considerations

The present research, with code IR-JUMS.REC.1398.011, has been approved by the Ethics Committee of Jahrom University of Medical Sciences.

Funding
This study received no funding from public, commercial, or non-profit Organizations.

Authors' Contributions
All authors contributed to the design, implementation, and writing of all parts of the present study.

Conflict of Interest
The authors declare that there is no conflict

Acknowledgment
This study is based on the master's thesis in the field of physiology and sports nutrition of the Persian Gulf University. We are grateful to all the respected professors and staff of the laboratory who helped in this research.

پژوهشگاه علوم انسانی و مطالعات فرهنگی
پرتال جامع علوم انسانی

فیزیولوژی ورزشی، بهار ۱۴۰۳، دوره ۱۶، شماره ۶۱، صص ۴۶-۳۱. Doi: 10.22089/spj.2024.16068.2291

فیزیولوژی ورزشی

Journal hompage: https://spj.ssrc.ac.ir

نوع مقاله: پژوهشی

تغییرات مسیر ژنی TSC2(RAGs)/mTOR /4E-BPs بافت کلیه موش‌های صحرایی نر به‌دنبال یک دوره تمرین مقاومتی و مصرف مکمل اسپیرولینا پلانتسیس

حمید رضا صادقی پور[۱]، فاطمه حمیدی[۲]، عبدالصالح زر[۳]، روح الله رنجبر[۴]

۱. استادیار ، گروه علوم ورزشی، دانشکده ادبیات و علوم انسانی، دانشگاه خلیج فارس، بوشهر، ایران.

۲. دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی وتغذیه ورزشی، دانشکده ادبیات و علوم انسانی، دانشگاه خلیج فارس، بوشهر، ایران

۳. دانشیار ، گروه علوم ورزشی، دانشکده علوم انسانی، دانشگاه خلیج فارس، بوشهر، ایران.

۴. دانشیار، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه شهید چمران اهواز، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۹/۲۹، تاریخ اصلاح: ۱۴۰۳/۰۲/۲۷ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۴/۱۳

* Corresponding Author: Hamid Reza Sadeghipour, Tel: 0917330074, E-mail: h.rsadeghi@yahoo.com

How to Cite: Sadeghipour, H. R; Hamidi, F; Zar, A. Ranjbar, R. (2024). Variation in the TSC2(RAGs)/mTOR/4E-BPs Gene Pathway in Kidney Tissue of Male Rats Following Resistance Training and Spirulina Plantensis Supplementation. *Sport Shysiology*, 16(61), 31-46. In Persian.

چکیده

هدف: تاثیر تمرینات مقاومتی در کنار مکمل‌های گیاهی بر مسیر پیام‌رسانmTOR در بافت‌های غیرعضلانی کمتر بررسی شده است. هدف از تحقیق حاضر ارزیابی تاثیر یک دوره تمرین مقاومتی و مکمل اسپیرولینا بر مسیر ژنی TSC2(RAGs)/mTOR /4E-BPs در بافت کلیه موش‌های صحرایی نر بود. روش: تعداد ۳۲ موش صحرایی ۳ماهه و با میانگین وزن ۲۰±۱۵۰ گرم به‌طور تصادفی به چهار گروه کنترل، تمرین مقاومتی، مکمل اسپیرولینا و تمرین+مکمل اسپیرولینا تقسیم شدند. گروه‌های مکمل هر روز ۲۰۰ mg/kg/day اسپیرولینا مصرف می‌کردند. پروتکل تمرین مقاومتی (بالا رفتن از نردبان) به مدت هشت هفته، هفته‌ای ۳ روز و یکبار در روز بود که به‌صورت ۳ ست ۵ تکراری انجام شد. وزنه انتخاب شده در شروع تمرین ۳۰ درصد وزن بدن رت‌ها بود و تا ۱۰۰ درصد وزن آن‌ها در هفته آخر افزایش یافت. ۲۴ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین، میزان بیان متغییرهای وابسته تحقیق با استفاده از روش Real Time_PCR اندازه‌گیری و با تحلیل واریانس دوراهه مورد تجزیه قرار گرفتند. یافته‌ها: افزایش معناداری در میزان بیان ژن 4E_PBs در گروه تعاملی مکمل اسپیرولینا و تمرین مشاهده شد (P=۰/۰۱۲)، ژن TSC2 در هیچ کدام از گروه‌ها نسبت به گروه کنترل افزایش معناداری نداشت. در فاکتور RAGs افزایش معناداری در هر سه گروه مکمل اسپیرولینا (P=۰/۰۰۱)،گروه تمرین مقاومتی (P=۰/۰۰۱) و گروه تعامل تمرین مقاومتی و مکمل (P=۰/۰۰۱) مشاهده شد. همچنین افزایش معناداری در میزان بیان ژن mTOR در گروه مکمل اسپیرولینا (P=۰/۰۰۱) و گروه تمرین مقاومتی (P=۰/۰۱۴) مشاهده شد. نتیجه گیری: با توجه به اینکه که در گروه تعامل تمرین مقاومتی با مصرف مکمل اسپیرولینا افزایش معناداری در بیان ژن mTOR مشاهده نشد و همچنین به دلیل نقش بافت کلیه در عملکرد فیزیولوژیکی بدن، انجام تحقیقات بیشتر در این زمینه امری ضروری بنظر می‌رسد.

کلیدواژه‌ها: تمرین مقاومتی ، اسپیرولینا ، mTOR، RAGs، TSC2، 4E_PBs

Copyright: © 2023 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

مقدمه

هایپرتروفی و قدرت عضلانی دو سازگاری کسب شده بر اثر تمرینات مقاومتی است. شدت بیشتر از ۶۰ درصد یک تکرار بیشینه برای کسب سازگاری‌های هایپرتروفی و قدرت از طریق تمرین مقاومتی ضروری است. ساز و کارهای درگیر در تغییرات عضلانی عوامل متفاوتی را در بر می‌گیردکه از جمله می‌توان به عوامل عصبی، هورمونی، متابولیکی و مکانیکی اشاره کرد (۱). تمرین مقاومتی منجر به افزایش حجم و سطح مقطع عضلانی و بهبود شاخص‌های فیزیولوژیک می‌شود (۲). همچنین، مسیرهای انتقال پیامی را فعال می‌کند که این فرآیند سنتز پروتئین، تخریب پروتئین و رونویسی و رفتار سلول‌های ماهواره‌ای را تنظیم می‌کند. پاسخ‌های هایپرتروفیک به تمرین مقاومتی نتیجه عوامل مختلف هورمونی، متابولیکی و مکانیکی است (۳, ۴). تمرین مقاومتی با فعالسازی مسیر (3PI(3)K/AKT) منجر به تولید فسفاتیدیل اینوزیتول ۳،۴،۱ تری‌فسفات و فعال کردنAKT می‌شود که می‌تواند باعث تحریک رونویسی ژن و در نهایت ستنز پروتئین و هایپرتروفی شود (۵). با توجه به شواهد موجود، مسیر پیام‌رسانی mTOR اصلی‌ترین ساز و کار در سنتز پروتئین است (۶). بنابر نتایج یافته‌ها، مسیر انتقال پیام آنابولیک mTOR سنتز پروتئین را افزایش می‌دهد و در نتیجه سبب افزایش هایپرتروفی می‌شود (۷).

mTOR در بدن انسان شرایطی را به وجود می‌آورد که برای رشد مثبت سلول بسیار مناسب می‌باشد. Mtor یک سرین _ترئوتین _کیناز بسیار محافظ شده می‌باشد که پروتئین کلیدی برای پروتئین‌ها و عملکردهای سلولی مانند رشد، تکثیر و تمایز سلولی، سنتز پروتئین، پیکربندی سیتواسکلتون، هوموستاز انرژی و سوبسترای متابولیسم است. این پروتئین به اسیدهای آمینه، استرس، انرژی، وضعیت اکسیژن و عوامل رشدی پاسخ می‌دهد و هنگامی که فعال شود سبب پاسخ‌های سلولی از جمله رونویسی، ترجمه، سنتز پروتئین و چربی، رشد و متابولیسم سلولی می‌شود (۸, ۹). mTOR به عنوان جزء جدایی‌ناپذیر مهم آبشار پیام‌رسان انسولین و یک حسگر مواد مغذی مستقل از انسولین می‌باشد. mTOR به طور مثبت توسط عوامل رشدی (IGF_1) و انسولین، توسط مسیر PI3K_AKt_TSC1/TSC2_Rheb تنظیم می‌شود (۱۰, ۱۱). مهم‌ترین پروتئین پایین‌دست mTOR، پروتئینP70s60k1 و 4E_BP1 است که هدف اصلی مسیر mTOR فسفوریلاسیون P70S6K1 و مهار 4E_BP1 است که از این طریق منجر به سنتز پروتئین و هایپرتروفی می‌شود (۱۱, ۱۲). به‌هرحال یکی از مسیرهای اصلی در سنتز پروتئین در پستانداران، مسیر mTOR است. این مسیر توسط عوامل مختلفی فعال می‌شود. برخی از مولکول‌های بالادست مسیر Mtor که منجر به فعال شدن این کمپلکس می‌شوند توسط تاثیرات مربوط به پیام‌رسان پروتئین کیناز B (PKB/AKT) است که از طریق سرکوب کردن فعالیت کمپلکس ۲ تیوبروز اسکلروز (TSC2) منجر به افزایش فعالیت mTOR می‌شود (۱۳, ۱۴). ژن Rheb (همولوگ Ras غنی شده در مغز) در یوکاریوت‌ها بسیار حفاظت شده است (۱۵, ۱۶). این ژن، GTPase کوچکی را کد می‌کند که ارتباط نزدیکی با RAS دارد که یا در حالت فعال (متصل به GTP) و یا در حالت غیرفعال (متصل به GDP)، وجود دارد (۱۷). Rheb یک فاکتور تنظیم‌کننده بالادست مسیر پیام‌رسانی mTOR است و Rheb_GTP می‌تواند mTOR را فعال کند (۱۸). تنظیم‌کننده بالادست Rheb، کمپلکس TSC2/TSC1 است که یک پروتئین فعال‌کننده GTPase (GAP) است و مسیر پیام‌رسانیmTOR را به وسیله تحریک هیدرولیز GTP، فرم فعال Rheb (Rheb_GTP) به فرم غیرفعال Rheb (Rheb_GDP) را مهار می‌کند (۱۶, ۱۹). سوالی که محققین در طول سال‌های اخیر به‌دنبال آن بوده‌اند، ارزیابی عوامل موثر در مهار Rheb بوده تا از این طریق بتوانند تاثیر این عوامل را بر فعال یا عدم فعال‌سازی mTOR مشخص کنند. از جمله عواملی که در سال‌های قبل مورد بررسی قرار گرفته است تمرینات مقاومتی بوده است و تحقیقات نشان داده

است که تمرینات مقاومتی می‌تواند با فعال‌سازی ژن‌های درگیر در مسیر عنوان شده و با مهار Rheb منجر به فعال‌سازی mTOR شده و از این طریق افزایش سنتز پروتئین را موجب شود. این موضوع نظر محققین را بر روی سایر بافت‌های عضلانی غیراسکلتی مانند کلیه به خود جلب کرده است.

در سال‌های اخیرتلاش زیادی برای روشن شدن سازوکارهای سلولی و مولکولی ناشی از تمرین مقاومتی شده است؛ با این وجود، به دلیل الگوهای متفاوت تمرین مقاومتی و همسو با آن، کشف و استفاده از مکمل‌های ورزشی گوناگون، انجام پژوهش-های نوین در راستای بررسی بیشترین اثربخشی پروتکل‌های تمرینی به همراه مصرف مکمل‌ها همچنان ادامه دارد (۲۰, ۲۱). یکی از مکمل‌هایی که امروزه توجه بسیاری به آن شده است، مکمل اسپیرولینا پلاتنسیس است. نشان داده شده که با مصرف اسپیرولینا میزان سنتز پروتئین عضله افزایش می‌یابد (۲۲) و مصرف اسپیرولینا به همراه ورزش باعث افزایش قابل توجهی در قدرت و استقامت ایزومتریک می‌شود (۲۳). اسپیرولینا پلاتنسیس یک سیانوباکتریوم رشته‌ای فتوسنتزکننده پلانکتونی است و از محبوب‌ترین ریزجلبک هاست که از دهه ۱۹۷۰ به‌عنوان یک ماده غذایی سالم و مواد افزودنی مورد استفاده قرارگرفته است (۲۴, ۲۵). نام علمی اسپیرولینا، آرتروسپیرا پلاتنسیس می‌باشد. زیست‌توده اسپیرولینا حاوی مقادیر قابل‌توجهی از پروتئین‌های دارای اسیدآمینه‌های ضروری، اسیدهای چرب اشباع نشده، ویتامین‌هایE و B، پلی‌ساکاریدها، املاح معدنی، سدیم، کلسیم، پتاسیم، آهن، منیزیم و سلنیوم، فیکوسیانین،کلروفیل‌ها، آلوفیکوسیانین، بتاکاروتن، لوتئین و گزانتین است (۲۵) و در چند دهه گذشته مورد توجه پژوهشگران و صنعتگران حوزه مواد غذایی، داروسازی و آرایشی- بهداشتی قرار گرفته است (۲۴). نکته قابل توجه اینکه اسپیرولینا حاوی ۵۲ تا۷۰ درصد پروتئین است که میزان بالایی است. مصرف اسپیرولینا باعث کاهش تجزیه پروتئین و افزایش سنتز آن می‌شود و به همین دلیل اسپیرولینا را به‌عنوان مکملی برای بازیابی وزن بدن و پروتئین عضلانی توصیه کرده‌اند (۲۵).

در بافت کلیه، مشابه با بافت عضلات اسکلتی، mTOR از مسیرهای مختلفی می‌تواند فعال شود که محققین به دنبال این هستند که مشخص کنند عوامل و مداخله‌هایی مانند تمرین و تغذیه از کدام طریق می‌توانند در فعال یا غیرفعال‌سازی mTOR نقش داشته باشند. mTOR تجزیه پروتئین را سرکوب می‌کند و خود به‌طور مستقیم با سطح اسیدهای آمینه داخل سلولی و به‌طورغیرمستقیم توسط عوامل رشدی از طریقAkt/PKB وضعیت انرژی سلول کنترل می‌شود (۲۶). به عبارت دیگر، بیوسنتز پروتئین به‌صورت هماهنگ و طی مراحل متعددی، تحت تنظیم محورهایS6K1-mTOR قرار دارد (۲۷). mTORC با فسفریله کردن 4E-BPs آغاز سنتز پروتئین را سبب می‌شود (۲۸). به عبارتی با فعال شدن mTOR، پروتئین پایین‌دست آن یعنی 4E-BPs فعال شده که این عامل مهمی در تکثیر سلولی می‌باشد. بنابراین در صورتی که مداخله‌های مورد نظر از قبیل تمرین و یا تغذیه بتواند باعث افزایش سطح 4E-BPs شود، می‌توان به تکثیر سلولی و پیشگیری از توقف بازچرخش و ادامه تجزیه سلولی سلول‌های عضلانی بافت کلیه امیدوار بود، هرچند در شرایط بیماری‌های مرتبط با کلیه، بررسی و تاثیر فعال یا غیرفعال‌سازی این مسیر به طور ویژه‌ای قابل بحث می‌باشد (۲۷). از طرف دیگر نتایج برخی از مطالعات نشان می‌دهد که در بافت کلیه، TSC با بزرگ شدن تومورهای خوش‌خیم و کیست‌ها ظاهر می‌شود که در نهایت باعث نارسایی کلیه می‌شود (۲۹). بنابراین مهار mTOR با مسیرهای پیام‌رسان مرتبط آن اعث کاهش رشد کیست و بزرگ شدن کلیه و در نتیجه حفظ عملکرد کلیه در رت‌ها شده است (۳۰).

در مطالعات اخیر گزارش شده است که رژیم غذایی غنی شده با اسپیرولینا بر روی نارسایی کلیوی و استرس اکسیداتیو در رت‌های صحرایی دیابتی تاثیرگذار بوده است. یافته‌های تحقیقی بر روی رت‌های نر ویستار با رژیم غذایی غنی‌شده با اسپیرولینا

نشان داد که ۳ هفته درمان با اسپیرولینا می‌تواند به‌طور قابل‌توجهی اختلال عملکرد کلیه را با کاهش استرس اکسیداتیو بهبود دهد (۳۱). در تحقیق صادقی‌پور و همکاران (۱۴۰۲)، هشت هفته مکمل‌دهی اسپیرولینا تغییر معناداری در میزان بیان ژن TSC2 ایجاد نکرد اما این مکمل در کنار تمرین مقاومتی افزایش معناداری در بیان ژن S6K را موجب شد (۳۲). به‌هرحال با توجه به درصد بالای پروتئین موجود در اسپیرولینا و تاثیری که این پروتئین‌ها در کنار تمرین مقاومتی می‌تواند بر سنتز پروتئین و فعالسازی mTOR داشته باشد، محققین به دنبال یافتن پاسخ این سؤال هستند که آیا مصرف اسپیرولینا و تمرین مقاومتی بر مسیر مورد نظرتأثیرگذار است یا خیر؟ بنابراین هدف از مطالعه حاضر بررسی تاثیر هشت هفته تمرین مقاومتی به همراه تجویز مکمل یاری اسپیرولیناپلاتنسیس بر مسیر پیام‌رسانی TSC2 (RAGs)/ mTORE/4E-BPs) در بافت کلیه موش-های صحرایی نر بود.

روش اجرای پژوهش

تعداد ۳۲ موش صحرایی نر جوان از دانشگاه علوم پزشکی شیراز تهیه و در مدت زمان تحقیق، هر موش در یک قفس مجزا از جنس پلی‌کربنات شفاف و در محیطی با دمای ۲±۲۲ درجه سانتی‌گراد، رطوبت ۴±۵۵ درصد و چرخه روشنایی تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت نگهداری شدند. موش‌ها، پس از مرحله سازگاری با محیط به صورت تصادفی به چهار گروه (هر گروه، ۸ سر) شامل ۱. گروه کنترل، ۲. گروه مکمل، ۳. گروه تمرین مقاومتی و ۴. گروه تمرین مقاومتی + مکمل اسپیرولینا تقسیم شدند. در طول مراحل اجرای پژوهش، تمامی مراحل از جمله نگهداری و کشتار موش‌ها، دستورالعمل نگهداری حیوانات آزمایشگاهی رعایت شد. مجوز اخلاق پزشکی برای اجرای این پژوهش از دانشگاه علوم پزشکی جهرم و با کد IR-JUMS.REC.1398.011 اخذ گردید.

روش اجرا

پروتکل تمرین مقاومتی شامل هشت هفته تمرین مقاومتی و با استفاده از نردبانی به ارتفاع یک متر و شامل ۳ ست ۵ تکراری با ۱ دقیقه استراحت بین هر تکرار (حرکت آزادانه در قفس) و ۲ دقیقه استراحت بین ست‌ها بود (۳۳, ۳۴). وزنه انتخاب شده در شروع تمرین ۳۰ درصد وزن بدن موش‌ها بود و تا ۱۰۰ درصد وزن آن‌ها در هفته آخر افزایش یافت. جهت انجام تمرین، در ابتدای هر هفته میانگین وزن هر گروه اندازه‌گیری و وزنه‌ها بر اساس میانگین وزن موش‌ها انتخاب شد. هر جلسه تمرین به این صورت بود که وزنه‌ها به وسیله چسب لوکوپلاست به ابتدای دم موش‌ها متصل می‌شد و در مراحل اجرای تمرین از شوک الکتریکی برای تحریک رت‌ها در بالا رفتن از نردبان استفاده نمی‌شد و تنها با فشار دادن دم حیوانات تحریک لازم صورت می‌گرفت. هر دو گروه مکمل اسپیرولینا و گروه تعاملی تمرین و مکمل، هر روز مکمل اسپیرولینا را با دوز ۲۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن در ترکیب با آب مصرف کردند (۳۵).

روش نمونه‌گیری

۲۴ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین، موش‌های صحرایی به وسیله تزریق کتامین ده درصد (با دوز ۵۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن) و زایلازین ۲ درصد (با دوز ده میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن) بی‌هوش شدند و در حالت بی‌هوشی وزن بدن به گرم اندازه‌گیری شد (۴). سپس بعد از قربانی شدن رت‌ها، بافت کلیه حیوان استخراج و برای بررسی‌های بعدی دردمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

اندازه‌گیری بیان ژن

میزان بیان ژن متغیرهای مطالعه با استفاده از روش Real Time-PCR اندازه‌گیری شد. برای استخراج RNA از کیت Cinnagen Inc ساخت کشور ایران و براساس دستورالعمل شرکت سازنده استفاده گردید. با اندازه‌گیری چگالی نوری ۲۸۰/۲۶۰ و ژل آگارز ۱ درصد، خلوص RNA استخراجی به وسیله الکتروفورز بررسی شد. برای اطمینان از کیفیت RNA استخراج شده، ۵ میکرولیتر از آن روی ژل آگارز الکتروفورز قرار گرفت و با استفاده از دستگاه پیک دراپ ساخت شرکت سیگما (ساخت امریکا) در طول موج ۳۶۲ نانومتر اندازه‌گیری شد. سپس RNA حاصله تا زمان استفاده در فریزر در دمای - ۸۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. برای ساخت cDNA از ۱ میکرولیتر RNA و با استفاده از کیت سنتز cDNA (Fermentas Inc) استفاده گردید. جهت بررسی بیان ژن‌ها برای گروه‌های سلولی از مخلوط PCR، RealQ 2x Master mix GreenDye (ساخت AMPLQON آلمان) طبق دستورالعمل کیت استفاده شد. تمام پرایمرها توسط نرم‌افزار Allele IDv7.8 جهت مشخص کردن بیان ژن‌ها با استفاده ازReal-time PCR طراحی گردید و به‌عنوان کنترل داخلی از ژن β2m (بتا 3 میکروگلوبولین) استفاده شد. تمام پرایمرها به صورت اتصال اگزون -اگزون طراحی شدند. جهت اطمینان از عدم تکثیرDNA ژنومی از ۲۵ نانوگرم cDNA و ۲۵ نانوگرمRNA درتیوب‌های جداگانه از واکنش PCR و به کارگیری از ژل آگاروز ۱/۵٪ استفاده شد. تکثیرcDNA و مشاهده باند مورد توجه توسط پرایمر اختصاصی و عدم تکثیر RNA بعد از واکنش PCR نمایانگر عدم تکثیر DNA ژنومی گردید. بعد از آن برای هر یک از پرایمرها کارایی PCR اندازه‌گیری و منحنی استاندارد برای آن‌ها رسم گردید. مقایسه و کمی‌سازی بیان ژن گروه‌ها با روش Fold Change انجام شد.

تجزیه و تحلیل آماری

جهت بررسی طبیعی بودن توزیع یافته‌ها از آزمون شاپیرو-ویلک و همچنین از آزمون لون جهت بررسی همگنی واریانس‌ها استفاده شد. جهت تجزیه و تحلیل استنباطی دادها از آزمون‌های تحلیل واریانس دو طرفه و آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. عملیات آماری توسط نرم افزار SPSS نسخه ۲۴ انجام و سطح معنی‌داری آزمون $P\leq ۰/۰۵$ در نظر گرفته شد (۳،۵).

یافته‌ها

در جدول ۱، میزان بیان ژن‌های تحقیق در هریک از گروه‌های تحقیق ارائه شده است.

جدول۱. میانگین ژن‌های RAGs، mTOR ، 4E_PBs و TSC2 کلیه موش‌های نر (میانگین و انحراف استاندارد)

متغیر	گروه			
	کنترل	اسپیرولینا	تمرین	تمرین+ اسپیرولینا
mTOR	۱	۲/۱ ± ۰/۷	۰/۹ ± ۰/۳	۱/۵ ± ۰/۳
TSC2	۱	۱/۲ ± ۰/۸	۱/۲ ± ۰/۷	۱/۳ ± ۰/۶
RAGs	۱	۶/۹ ± ۱/۶	۲/۲ ± ۱/۱	۱/۵ ± ۰/۶
4E_PBs	۱	۳/۱ ± ۲/۸	۲/۳ ± ۲/۸	۰/۵ ± ۰/۳

نتایج نشان داد که در مقایسه با گروه کنترل، افزایش معناداری در میزان بیان ژن 4E_BPs گروه مکمل اسپیرولینا مشاهده نشد (P=۰/۹۰۹). همچنین تمرین مقاومتی تاثیر معناداری در افزایش بیان ژن 4E_PBS نداشت (P=۰/۳۵۹). با این‌حال تمرین مقاومتی در تعامل با مکمل اسپیرولینا باعث افزایش معناداری در میزان بیان ژن 4E_PBs شد (P=۰/۰۱۲).

در ارتباط با ژن TSC2 یافته‌های تحلیل واریانس دوطرفه نشان داد که تفاوت معناداری در میزان بیان ژن TSC2 در بین گروه‌های تحقیق وجود نداشت (P=۰/۶۱۸) و در هر سه گروه تمرین مقاومتی (P=۰/۷۲۸)، مکمل اسپیرولینا (P=۰/۷۲۸) و همچنین گروه تمرین مقاومتی در تعامل با مکمل اسپیرولینا (P=۰/۸۰۴) افزایش معناداری در میزان بیان این ژن در مقایسه با گروه کنترل مشاهده نشد.

نتایج تحقیق افزایش معناداری در میزان بیان ژن RAGs در گروه مکمل اسپیرولینا نشان داد (P=۰/۰۰۱). همچنین تمرین اثر معناداری در افزایش میزان بیان ژن داشت (P=۰/۰۰۱) و در نهایت تعامل تمرین مقاومتی با مکمل اسپیرولینا اثر معناداری در افزایش میزان بیان ژن RAGs داشت (P=۰/۰۰۱).

در مورد بیان ژن mTOR نتایج تحقیق نشان داد مکمل اسپیرولینا افزایش معناداری در میزان بیان ژن mTOR ایجاد کرد (P=۰/۰۰۱). همچنین در گروه تمرین مقاومتی افزایش معناداری در میزان بیان ژن mTOR مشاهده شد (P=۰/۰۱۴)، با این وجود، تعامل تمرین مقاومتی با مکمل اسپیرولینا اثر معناداری در افزایش میزان بیان ژن mTOR نداشت (P=۰/۳۳۹).

بحث و نتیجه‌گیری

در تحقیق حاضر شاهد افزایش معنادار بیان ژن 4E_PBs در گروه تعاملی تمرین مقاومتی به همراه مصرف مکمل اسپیرولینا بودیم. اما در گروه تمرین مقاومتی و گروه مصرف مکمل افزایش معناداری در بیان این ژن مشاهده نشد که با تحقیق شرافتی‌مقدم و همکاران (۱۳۹۷) و شادمهری و همکاران (۱۳۹۷) همخوانی نداشت. شرافتی و همکاران (۱۳۹۷) با هدف بررسی تاثیر ۴ هفته تمرین تناوبی با شدت بالا بر محتوای پروتئین‌های AKT1،mTOR، P70S6K1 و 4E-BP1 در عضله اسکلتی نعلی موش‌های صحرایی مبتلا به دیابت نوع ۲ به این نتیجه دست یافتند که محتوای پروتئین‌های 4E-BP1 در بافت عضله اسکلتی نعلی در موش‌های مبتلا به دیابت نوع ۲ در گروه تمرین افزایش معناداری داشته است و در نتیجه منجر به سنتز پروتئین می‌شود (۳۶). یکی از دلایل ناهمسو بودن تحقیق یاد شده با تحقیق حاضر، عدم مطابقت نوع تمرین می‌باشد و از دیگر دلایل ناهمسو بودن را می‌توان مدت زمان پروتکل تمرینی ذکر کرد. شادمهری و همکاران (۱۳۹۷) در تحقیقی با هدف بررسی تاثیر ۸ هفته تمرین استقامتی بر محتوای تام فسفوریلاسیون پروتئین‌های AKT1، mTOR، P70S6K1 و4E-BP1 در عضله اسکلتی FHL موش‌های صحرایی مبتلا به دیابت نوع ۲ به این نتیجه رسیدند که فعالیت ورزشی در هیچ‌کدام از گروه‌ها نتوانست افزایش معناداری در محتوای پروتئین‌های تحقیق ایجاد کند و بنابراین نمی‌تواند منجر به سنتز پروتئین شود (۳۷). از دلایل ناهمسو بودن تحقیق شادمهری با تحقیق حاضر را می‌توان به نوع تمرین و همچنین مصرف مکمل در تحقیق حاضر نسبت داد.

در تحقیق حاضر بیان ژن TSC2 در هیچ‌کدام از گروه‌ها افزایش معناداری نداشت. این نتایج با یافته‌های زانچی و لانچا (۲۰۰۸) همخوانی داشت. در تحقیق یاد شده نیز در هر سه گروه تمرین مقاومتی، مکمل و ترکیب تمرین و مکمل، افزایش معنادار بیان ژن TSC2 مشاهده نشد (۳۸). نتایج تحقیق حاضر با تحقیق یانگ و همکاران (۲۰۱۱) همخوانی نداشت. در تحقیق ذکر شده افزایش معناداری در بیان ژن TSC2 در گروه تمرین نشان داده شد (۳۹). به نظر می‌رسد اسیدهای آمینه که در مکمل

اسپیرولینا نیز وجود دارد می‌توانند mTOR را به‌صورت موازی و مستقل از TSC2 فعال کنند که این موضوع اجازه می‌دهد اثرات سینرژیست هضم اسیدهای آمینه بر سنتز پروتئین‌ها بعد از تمرین مقاومتی اتفاق افتد (۴۰).

در پژوهش حاضر، افزایش معنادار بیان ژن RAGs در هر سه گروه تحقیق شامل گروه تمرین مقاومتی، گروه مکمل اسپیرولینا و گروه تعاملی تمرین مقاومتی و مکمل اسپیرولینا مشاهده شد. در تحقیق کیم و همکاران (۲۰۰۸) و سانکاک و همکاران (۲۰۰۸)، میزان بیان این ژن در گروه تمرین و گروه تعاملی تمرین و مکمل افزایش معنادار اما در گروه مکمل معنادار نبود. تحقیقات نشان داده است که بیش‌بیانیRAGs از جمله عوامل تاثیرگذار در بروز برخی از بیماری‌ها بوده و بر همین اساس افزایش بیان این ژن در نمونه‌های این تحقیق را نمی‌توان مثبت ارزیابی کرد. به نظر می‌رسدRAGs از طریق یک مجموع پروتئینی هتروتریمری به mTOR متصل می‌شود. این کمپلکس، mTOR را به غشای لیزوزوم متصل می‌کند و هترودایمر RAGsبه عنوان پلی بینmTOR و تنظیم کننده‌های آن عمل می‌کند (۴۱, ۴۲). تمرین می‌تواند منجر به فعال شدن مسیر mTOR شود که مهم‌ترین تاثیر این مسیر پیام‌رسانی بر پروتئین‌های درگیر در کنترل ترجمه است که یکی از آن‌ها P70S6K1 است. فسفوریلاسیون P70S6K باعث سنتز پروتئین در ریبوزوم می‌شود (۳۲).

ارتباطmTOR با غشای لیزوزومی، فعال شدن mTOR را با هم‌بیانی mTOR و Rheb افزایش می‌دهد که این به نوبه خود باعث فعال شدن mTOR توسط اسیدهای آمینه می‌شود (۴۳). آمینواسیدهای موجود در اسپیرولینا در مسیر فعال‌سازی mTOR به واسطه RAGs، mTOR را خارج از مسیر فعال‌کننده‌های دیگر فعال می‌کنند. قطع رابطه اصلی فعال‌کننده یعنی Rheb منجر به فعال نشدن mTOR می‌شود (۳۶). بنابراین با توجه به ترکیب اسیدهای آمینه موجود در مکمل اسپیرولینا به نظر می‌رسد فعال شدنRAGs با این هدف و مسیر پایین‌دست عنوان شده قابل توجیه باشد. در تحقیق حاضر در گروه مکمل اسپیرولینا و گروه تمرین مقامتی با افزایش بیان ژن RAGs میزان بیان ژن mTOR هم افزایش داشته است که این عامل در بیماری‌های کلیوی مانند پلی‌کیستیک و نفروپاتی می‌تواند آسیب‌رسان باشد. هرچند با توجه به محدود بودن تحقیقاتی که به بررسی این ژن در گروه‌های تمرینی و مکملی پرداخته باشند، نمی‌توان نظر قطعی درمورد تاثیر احتمالی این افزایش ارائه کرد، اما به‌هرحال تغییر در دوز مصرفی مکمل و شدت و مدت برنامه تمرینی می‌تواند نتایج مختلفی را نشان دهد که در تحقیقات بعدی می‌توان به این موارد پرداخت. در تحقیقات بعدی توصیه می‌شود این ژن در نمونه‌های دارای بیماری‌های کلیوی مورد بررسی قرار گیرد.

بر اساس یافته‌های تحقیق حاضر، بیان ژن mTOR در گروه مکمل اسپیرولینا و همچنین در گروه تمرین مقاومتی افزایش معناداری داشت اما در گروه تعاملی تمرین مقاومتی همراه با مصرف مکمل افزایش معناداری دیده نشد. همسو با تحقیق حاضر، در تحقیق قلی‌پور و همکاران (۱۳۹۹) افزایش معناداری در میزان بیان ژن mTOR عضله اسکلتی به‌دنبال هشت هفته تمرین مقاومتی در رت‌های سالم گزارش شد. در این تحقیق، تمرین استقامتی نتوانست تغییر معناداری در بیان این ژن ایجاد کند. در تحقیق نعمتی و همکاران (۱۳۹۴) بدنبال هشت هفته تمرین مقاومتی، افزایش معناداری در شکل فسفریله پروتئین mTOR دیده شد، اما افزایش معناداری در محتوای پروتئینی mTOR مشاهده نشد (۶). هرچند در تحقیق یاد شده میزان بیان ژنmTOR بررسی نشده بود، با این‌حال از آن‌جایی که شکل فسفریله mTOR فعال می‌باشد، به نظر می‌رسد تمرین مقاومتی استفاده شده در این تحقیق مشابه تحقیق حاضر توانسته است میزان بیان این ژن را افزایش دهد که این موضوع تاییدی بر تاثیر مثبت تمرینات مقاومتی بر فعال‌سازی ژن mTOR می‌باشد. موسوی‌زاده و همکاران (۲۰۲۰) گزارش دادند فشار مکانیکی ناشی از تمرینات مقاومتی می‌تواند با فسفوریلاسیون Akt در سلول‌های تاندونی باعث افزایش بیان ژن mTOR

شود (۴۴). به‌هرحال mTOR از مسیرهای مختلفی می تواند فعال شود، اما در مورد اینکه تمرینات مقاومتی از کدام مسیر می تواند این ژن و در نتیجه این پروتئین را فعال کند، به طور دقیق شناخته نشده است. یکی از مسیرهای پیشنهاد شده، مسیر IGF-A/PI3K/Akt می‌باشد که هنوز مورد تردید است، چرا که در مسدودسازی این مسیر نیز پروتئین mTOR به‌دنبال این نوع تمرینات گزارش شده است (۴۵). تمرین مقاومتی همچنین باعث افزایش مقادیر P70S6K می‌شود؛ به گونه‌ای که مقدار آن بیش از ۴۲ درصد بعد از تمرین افزایش می‌یابد و شدت بالاتر تمرین می‌تواند باعث افزایش در mTOR و p70S6K و همچنین کاهش سطح پروتئین MuRF-1 شود که این عوامل به افزایش توده عضلانی کمک می‌کند (۳۲). در مورد مکانیسم تاثیر مکمل در هایپرتروفی نیز به نظر می‌رسد اسپیرولینا با فعال کردن مسیرهای پیام‌رسان مربوطه اثرات خود را اعمال می‌کند. در همین زمینه می‌توان گفت اسیدهای آمینه موجود در اسپیرولینا احتمالا در دو مسیر PI3K-Akt-mTOR و Acid hVps34-mTOR-Amino فعال بوده و منجر به هیپرتروفی سلولهای عضلانی برخی بافت‌ها مانند بافت کلیه و قلب می‌شوند (۵، ۶).

بر خلاف نتایج تحقیق حاضر، در مطالعه موسایی و همکاران (۱۴۰۱) اثر تعاملی تمرین مقاومتی و مکمل تستوسترون توانست افزایش معناداری در بیان ژن mTOR تاندون عضلات اسکلتی رت‌های سالم ایجاد کند اما تمرین مقاومتی تنها و تستوسترون تنها نتوانست افزایش معناداری را ایجاد کند (۴۶). تستوسترون به واسطه فعال‌سازی مسیر IGF1/Akt/mTOR تاثیر مهمی در تکثیر بافت‌های همبند عضلات اسکلتی دارد و به نظر می‌رسد فعال‌سازی این مسیر یکی از راه‌های تاثیر این مکمل و تمرین مقاومتی بر بیان ژن mTOR باشد (۴۷). در واقع، تمرین مقاومتی می‌تواند با فعال کردن تستوسترون و در نتیجه فعال‌سازی مسیرهای درگیر در ژن mTOR باعث افزایش بیان ژن گردد (۴۶)، هرچند در تحقیق حاضر میزان فعال‌سازی این هورمون اندازه‌گیری نشد اما افزایش معنادار بیان ژن mTOR در گروه تمرین مقاومتی با شدت به کار رفته را می‌توان به این موضوع نسبت داد که در تحقیقات آتی می‌توان به این موضوع پرداخت. در تحقیق معینی و حسینی (۱۳۹۹)، هشت هفته تمرین مقاومتی و مکمل کورکومین باعث افزایش بیان ژن mTOR در بافت عضله قلبی شد. محققین اثر ترکیبی این تمرین و مکمل را باعث کاهش اثرات منفی چاقی بر بافت قلب دانستند (۴۸). احمدی و همکاران (۲۰۲۰) اثر هشت هفته تمرین مقاومتی و مکمل اسپیرولینا را بر بیان ژن mTOR عضله قلبی رت‌ها مورد بررسی قرار دادند. نتایج تحقیق یاد شده نشان داد که تمرین مقاومتی و تمرین همراه مکمل باعث افزایش بیان ژن mTOR شده اما مکمل تنها نتوانست تغییر معناداری در میزان بیان این ژن داشته باشد (۴۹). تفاوت در دوز مصرفی این مکمل همراه با تفاوت در تعداد نمونه‌ها می‌تواند از دلایل تفاوت یافته‌های این تحقیق باشد. شرافتی‌مقدم و همکاران (۱۳۹۷) با هدف بررسی تاثیر ۴ هفته تمرین تناوبی با شدت بالا بر محتوای پروتئین‌های mTOR، AKT1، P70S6K1 و 4E-BPs در عضله اسکلتی نعلی موش‌های صحرایی مبتلا به دیابت نوع ۲ به این نتیجه دست یافتند که محتوای پروتئین mTOR در بافت عضله اسکلتی نعلی در موش‌های مبتلا به دیابت نوع ۲ در گروه تمرین افزایش معناداری داشته است و در نتیجه منجر به سنتز پروتئین می‌شود (۳۶). در تحقیقی دیگر نیز تمرین ترکیب مقاومتی و مکمل اسپیرولینا افزایش معناداری در بیان ژن mTOR ایجاد نکرد اما تمرین مقاومتی تنها تنوانست میزان بیان این ژن را به طور معناداری افزایش دهد (۳۸). با توجه به این نکته که mTOR در سلول‌های اپیتلیال بافت سالم کلیه غیرفعال است، فعال شدن mTOR در بیماری‌های حاد کلیه مفید بوده و باعث افزایش ترمیم و بازسازی سلول‌ها می‌شود. اما در بیماری‌های کلیوی مانند نفروپاتی دیابتی و پلی‌کیستیک مضر بوده و با مهار آن می‌توان به بهبود بیماری کمک کرد. با توجه به نتایج تحقیق حاضر به نظر می‌رسد هم تمرین مقاومتی و هم مکمل اسپیرولینا می‌توانند با افزایش بیان ژن mTOR

نقش مفیدی در بازسازی سلول‌های کلیوی نمونه‌های سالم داشته باشند اما به‌دلیل عدم افزایش معنادار بیان این ژن در گروه تعامل تمرین و مکمل، این موضوع نیاز به بررسی‌های بیشتر دارد. مکمل اسپیرولینا مقادیر بالایی از پروتئین دارد و در مسیر فعال شدن mTOR، آمینواسیدها از طریق RAGs، خارج از مسیر فعال‌کننده‌های دیگر، این ژن را فعال می‌کنند. فعال نشدن mTORدر گروه تمرین و گروه مکمل می‌تواند به علت قطع Rheb به‌عنوان فعال‌کننده این ژن باشد. قابل ذکر است Rheb نقش مهمی در فعال‌سازیmTOR داشته و مهارکننده‌های ژنmTOR (مانند AMPK) از طریق فعال کردن TSC می‌توانند ارتباطRheb را قطع کنند. احتمالا ترکیب تمرین مقاومتی و مکمل اسپیرولینا با تاثیر بر AMPK باعث کاهش بیان ژن mTOR شده‌اند که این موضوع می‌تواند در تحقیقات بعدی مورد بررسی قرار گیرد.

بر اساس یافته‌های این مطالعه، هشت هفته تمرین مقاومتی همراه با مصرف مکمل اسپیرولینا افزایش معناداری در بیان ژن 4E_BPs و ژن RAGs ایجاد کرد. همچنین هشت هفته تمرین مقاومتی اثر معناداری بر بیان ژن mTOR داشت اما مصرف مکمل اسپیرولینا تاثیر معناداری بر این ژن نداشت. با توجه به اینکه پروتئین RAGs واسطه فعال‌کننده مسیر mTOR از شاخه آمینو اسیدها است و نقش mTOR در پیشرفت بیماری‌های کلیوی از جمله پلی‌کیستیک و نفروپاتی ثابت شده است، مصرف تنها مکمل اسپیرولینا برای افرادی که دچار این بیماری‌ها هستند احتمالا مفید نمی‌باشد. اما از آنجایی که در گروه تعامل تمرین مقاومتی با مصرف مکمل اسپیرولینا افزایش معناداری در بیان ژن mTOR مشاهده نشد و همچنین به دلیل نقش بافت کلیه در عملکرد فیزیولوژیکی بدن، انجام تحقیقات بیشتر در این زمینه امری ضروری به‌نظر می‌رسد.

تشکر و قدردانی

این مطالعه برگرفته از پایان نامه کارشناسی ارشد رشته فیزیولوژی و تغذیه ورزشی دانشگاه خلیج فارس است. از همه اساتید و کارکنان محترم آزمایشگاه که در این پژوهش یاری نمودند، تشکر و قدردانی می‌شود.

منابع

1. Moghadasi A, Fashi M, Ahmadizad S. The Effect of 4 Weeks of Resistance Training in Hypoxic Conditions on Hypertrophy and Function of Biceps Muscle in Healthy Men. Journal of Sport Biosciences. 2020;12(2):223-33.
2. Negaresh R, Ranjbar R, Gharibvand MMm ,Habibi A, Moktarzade M. Effect of 8-week resistance training on hypertrophy, strength, and myostatin concentration in old and young men. Iranian Journal of Ageing. 2017;12(1):56-67.
3. Hatami M, Nikooie R, Enhesari A. Presentation of Lacto-Resistance Training Method and Comparing Its Effect on Muscle Hypertrophy with Traditional Resistance Training In Professional Bodybuilders. Journal of Applied Exercise Physiology. 2019;15(29):169-81.
4. Schoenfeld BJ. The mechanisms of muscle hypertrophy and their application to resistance training. The Journal of Strength & Conditioning Research. 2010;24(10):2857-72.
5. Bodine SC, Stitt TN, Gonzalez M, Kline WO, Stover GL, Bauerlein R, et al. Akt/mTOR pathway is a crucial regulator of skeletal muscle hypertrophy and can prevent muscle atrophy in vivo. Nature cell biology. 2001;3(11):1014-9.
6. NEMATI J, Samadi M, Hadidi V, MACINTASH B. EFFECT OF RESISTANCE TRAINING ON MTOR AND P70S6K SIGNALING PATHWAY IN SKELETAL MUSCLE OF RATS. PHYSIOLOGY OF SPORT AND PHYSICAL ACTIVITY. 2015;8(1 #B00189).-:
7. Journal of Sport and Exercise Physiology. 2015;8(1):1149-56.

8. Laplante M, Sabatini DM. mTOR signaling in growth control and disease. cell. 2012;149(2):274-93.
9. Aghaei Bahmanbeglou n, sherafati moghadam m, daryanoosh f ,Shadmehri S, Jahani Golbar S. High intensity interval training leads to protein synthesis through the complex pathway of a target of rapamycin (mTORC1) in the heart muscle tissue of a type 1 diabetic rats. Journal of Sabzevar University of Medical Sciences. 2021;28(1):49-55.
10. Rivas DA, Lessard SJ, Coffey VG. mTOR function in skeletal muscle: a focal point for overnutrition and exercise. Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism. 2009;34(5):807-16.
11. Shadmehri S, Sherafati Moghadam M, Daryanoosh F ,Jahani Golbar S, Tanideh N. The effect of 8 weeks endurance exercise on the content of total and phosphorylated AKT1, mTOR, P70S6K1 and 4E-BP1 in skeletal muscle FHL of rats with type 2 diabetes. The Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences. 2018;26(12):1063-74.
12. Hoppeler H, Baum O, Lurman G, Mueller M. Molecular mechanisms of muscle plasticity with exercise. Comprehensive Physiology. 2011;1(3):1383-412.
13. Pernice HF, Schieweck R, Kiebler MA, Popper B. mTOR and MAPK: from localized translation control to epilepsy. BMC neuroscience. 2016;17(1):1-10.
14. Moghadam MS, Daryanoosh F, Salesi M, Fallahi A, Nafar MH. The effect of high intensity interval training on complex mammalian target of Rapamycin 1 (mTORC1) pathway in Flexor hallucis longus muscle (FHL) of streptozotocin-induced diabetic rats. Daneshvar Medicine. 2019;27(140):1-10.
15. Urano J, Ellis C, Clark GJ, Tamanoi F. Characterization of Rheb functions using yeast and mammalian systems. Methods in enzymology. 333: Elsevier; 2 .۰۰۱p. 217-31.
16. TOHIDI NEZHAD F, MOHAMMADABADI MR, ESMAILIZADEH AK, NAJMI NOORI A. COMPARISON OF DIFFERENT LEVELS OF RHEB GENE EXPRESSION IN DIFFERENT TISSUES OF RAINI CASHMIR GOAT. JOURNAL OF AGRICULTURAL BIOTECHNOLOGY. 2015;6.-:(٤)
17. Clark GJ, Kinch MS, Rogers-Graham K, Sebti SM, Hamilton AD, Der CJ. The Ras-related protein Rheb is farnesylated and antagonizes Ras signaling and transformation. Journal of Biological Chemistry. 1997;272(16):10608-15.
18. Castro AF, Rebhun JF, Clark GJ, Quilliam LA .Rheb binds tuberous sclerosis complex 2 (TSC2) and promotes S6 kinase activation in a rapamycin-and farnesylation-dependent manner. Journal of Biological Chemistry. 2003;278(35):32493-6.
19. Tee AR, Manning BD, Roux PP, Cantley LC, Blenis J. Tuberous sclerosis complex gene products, Tuberin and Hamartin, control mTOR signaling by acting as a GTPase-activating protein complex toward Rheb. Current biology. 2003;13(15):1259-68.
20. Damas F, Phillips S, Vechin FC, Ugrinowitsch C. A review of resistance training-induced changes in skeletal muscle protein synthesis and their contribution to hypertrophy. Sports medicine. 2015;45(6): 801-7.
21. Cheema BS, Chan D, Fahey P, Atlantis E. Effect of progressive resistance training on measures of skeletal muscle hypertrophy, muscular strength and health-related quality of life in patients with chronic kidney disease: a systematic review and meta-analysis. Sports Medicine. 2014;44(8):1125-38.
22. Gutiérrez-Salmeán G, Fabila-Castillo L, Chamorro-Cevallos G. Aspectos nutricionales y toxicológicos de Spirulina (arthrospira). Nutricion hospitalaria. 2015;32(1):34-40.
23. Sandhu J, Dheera B, Shweta S. Efficacy of Spirulina Supplementation on Isometric Strength and Isometric Endurance of Quadriceps in Trained and Untrained Individuals--a comparative study. Ibnosina Journal of Medicine & Biomedical Sciences. 2010;2.(٢)
24. Torabi S, Jahadi M, Ghasemisepro N. Effects of Agitation and Aeration on Growth Kinetics of Spirulina platensis and Production of Natural Pigments in Stirred Photobioreactor. Research and Innovation in Food Science and Technology. 2021;10(3):261-72.
25. Colla LM, Reinehr CO, Reichert C, Costa JAV. Production of biomass and nutraceutical compounds by Spirulina platensis under different temperature and nitrogen regimes. Bioresource technology. 2007;98(7):1489-93.

26. Mordier S, Deval C, Béchet D, Tassa A, Ferrara M. Leucine limitation induces autophagy and activation of lysosome-dependent proteolysis in C2C12 myotubes through a mammalian target of rapamycin-independent signaling pathway. Journal of Biological Chemistry. 2000;275(38):29900-6.
27. Magnuson B, Ekim B, Fingar DC. Regulation and function of ribosomal protein S6 kinase (S6K) within mTOR signalling networks. Biochemical Journal. 2012;441(1):1-21.
28. Gingras A-C, Gygi SP, Raught B, Polakiewicz RD, Abraham RT, Hoekstra MF, et al. Regulation of 4E-BP1 phosphorylation: a novel two-step mechanism. Genes & development. 1999;13(11):1422-37.
29. Barone S, Zahedi K, Brooks M, Henske EP, Yang Y, Zhang E, et al .Kidney intercalated cells and the transcription factor FOXi1 drive cystogenesis in tuberous sclerosis complex. Proceedings of the National Academy of Sciences. 2021;118(6):e2020190118.
30. Torres VE, Boletta A, Chapman A, Gattone V, Pei Y, Qian Q, et al .Prospects for mTOR inhibitor use in patients with polycystic kidney disease and hamartomatous diseases. Clinical Journal of the American Society of Nephrology. 2010;5(7):1312-29.
31. Gao H, Xue Y, Wu L, Huo J, Pang Y, Chen J, et al. Protective effect of Lycium ruthenicum polyphenols on oxidative stress against acrylamide induced liver injury in rats. Molecules. 2022;27(13):4100.
32. Sadeghipour HR, Raeisi F, Zar A. The effect of eight weeks of resistance training and Spirulina platensis supplementation on the signaling pathway of Wnt-GSK3β-TSC2-S6K in the kidney tissue of male rats. Journal of Applied Health Studies in Sport Physiology. 2024.
33. Ghodsbin S, Farsi S, Hosseini SA. Correlation between CRP and IL-6 serum levels after induction of diabetes and eight weeks resistance training in rats. Report of Health Care. 2017;3(4):1-9.
34. Dehghan F, Hajiaghaalipour F, Yusof A, Muniandy S, Hosseini SA, Heydari S, et al. Saffron with resistance exercise improves diabetic parameters through the GLUT4/AMPK pathway in-vitro and in-vivo. Scientific reports. 2016;6(1):25139.
35. Zar A, & Ahmadi, F. Evaluation of CITED4 Gene Expression in The Cardiac Muscle of Male Rats as a Result of Resistance Exercise and Spirulina Supplement. Jorjani Biomedicine Journa. 2021.٤٤-٣٦:(٢)٩;
36. Sherafati Moghadam M, Salesi M, Daryanoosh F, Hemati Nafar M, Fallahi A. The effect of 4 weeks of high intensity interval training on the content of AKT1, mTOR, P70S6K1 and 4E-BP1 in soleus skeletal muscle of rats with type 2 diabetes: An experimental study. Journal of Rafsanjan University of Medical Sciences. 2018;17(9):843-54.
37. Shadmehri S, Moghadam MS, Daryanoosh F, Golbar SJ, Tanideh N. The effect of 8 weeks endurance exercise on the content of total and phosphorylated AKT1, mTOR, P٧٠S6K1 and 4E-BP1 in skeletal muscle FHL of rats with type 2 diabetes. Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences. 2019.
38. Zanchi NE, Lancha AH. Mechanical stimuli of skeletal muscle: implications on mTOR/p70s6k and protein synthesis. European journal of applied physiology. 2008;102:253-63.
39. Yang F-y, Niu Y-m, Liu Y-h, Chen N, Wang J-z, Fu L. Effect of aerobic exercise on the expression of tuberous sclerosis complex-2 and insulin receptor substrate 1 serine phosphorylation of skeletal muscle in mice. Chinese Journal of Tissue Engineering Research. 2011;15(7):1232.
40. Gonzalez AM, Hoffman JR, Jajtner AR, Townsend JR, Boone CH, Beyer KS, et al. Protein supplementation does not alter intramuscular anabolic signaling or endocrine response after resistance exercise in trained men. Nutrition research. 2015;35(11):990-1000.
41. Sancak Y, Peterson TR, Shaul YD, Lindquist RA, Thoreen CC, Bar-Peled L, et al. The Rag GTPases bind raptor and mediate amino acid signaling to mTORC1. Science. 2008;3.٥٠١-١٤٩٦:(٥٨٨٢)٢٠
42. Kim E, Goraksha-Hicks P, Li L, Neufeld TP, Guan K-L. Regulation of TORC1 by Rag GTPases in nutrient response. Nature cell biology. 2008;10(8):935-45.
43. Sancak Y, Bar-Peled L, Zoncu R, Markhard AL, Nada S, Sabatini DM. Ragulator-Rag complex targets mTORC1 to the lysosomal surface and is necessary for its activation by amino acids. Cell. 2010;141(2):290-303.

44. Mousavizadeh R, Hojabrpour P, Eltit F, McDonald PC, Dedhar S, McCormack RG, et al. β1 integrin, ILK and mTOR regulate collagen synthesis in mechanically loaded tendon cells. Scientific Reports. 2020;10(1):12644.
45. Philp A, Hamilton DL, Baar K. Signals mediating skeletal muscle remodeling by resistance exercise: PI3-kinase independent activation of mTORC1. Journal of Applied Physiology. 2011;110(2):561-8.
46. Mousaei M, Azarbayjani MA, Peeri M, Hosseini SA. The Eeffect of 4 Weeks Resistance Training and Testosterone Supplementation on mTOR Gene Expression in Tendon Tissue of Male Rats. Razi Journal of Medical Sciences. 2022.۵۲-۱٤٤:(۱)۲۹;
47. Gharahdaghi N, Rudrappa S, Brook MS, Idris I, Crossland H, Hamrock C, et al. Testosterone therapy induces molecular programming augmenting physiological adaptations to resistance exercise in older men. Journal of Cachexia, Sarcopenia and Muscle. 2019;10(6):1276-94.
48. Moieni A, Hosseini SA. Effect of Resistance Training Combined with Curcumin Supplementation on Expression of Regulatory Genes Related to Myocardial Remodeling in Obese Rats. Journal of Applied Health Studies in Sport Physiology. 2020;7(2):45-52.
49. Ahmadi F, Zadeh MG, Habibi A, Karimi F. Effect of resistance training with Spirulina platensis on PI3K/Akt/mTOR/p70S6k signaling pathway in cardiac muscle. Science & Sports. 2020;35(2):91-8.

پژوهشگاه علوم انسانی و مطالعات فرهنگی
پرتال جامع علوم انسانی