

Research Paper  

## The effect of resistance training and Spirulina supplementation on EGF/ERK1/2/TSC2/mTOR signaling in male rat kidneys

Abdosaleh Zar<sup>1\*</sup>, Mahsa Ramazani<sup>2</sup>, Hamid Reza Sadeghipour<sup>1</sup>

Received: January 11, 2025

Revised: April 26, 2025

Accepted: May 07, 2025

### ABSTRACT

**Objective:** Despite the increasing use of Spirulina supplements among athletes, little information is available about the effects of this supplement in combination with resistance training on various body tissues. The aim of the present study was to investigate the effect of resistance training and Spirulina supplementation EGF/ERK1/2/TSC2/mTOR in male rat kidneys.

**Methodology:** Thirty-two male Sprague-Dawley rats, 3 months old and with a mean weight of 150±20 g, were randomly divided into four groups: control, resistance training, Spirulina supplementation, and training-supplementation. The supplement groups performed resistance training for 8 weeks, and the supplement groups consumed 200 mg/kg/day of Spirulina dissolved in water. The expression levels of the dependent variables of the study were measured using the REAL TIME-PCR method.

**Results:** In compared to the control group, EGF gene expression did not increase significantly in any of the groups. In ERK factor, changes were significant in the Spirulina supplement group and the control group ( $p=0.03$ ). Changes in TSC2 gene did not have a significant effect in any of the groups compared to the control group. In the mTOR variable, changes were significant in the Spirulina group ( $p=0.01$ ), but in resistance training (0.16) and the interaction of training and supplementation ( $p=0.06$ ), despite an increase in gene expression, there were no significant changes.

**Conclusion:** Taking Spirulina supplement alone has a more significant effect on the investigated signaling pathway. The use of a training program with different intensities along with different doses of the supplement is recommended to accurately evaluate the effect of resistance training along with this supplement.

**Keywords:** Resistance training, Spirulina, EGF/ ERK1/2/ TSC2/ mTOR

<sup>1</sup> Associate Professor of Exercise Physiology, Department of Sport Science, School of Literature and Humanities, Persian Gulf University, Bushehr, Iran. <sup>2</sup> MSc in Exercise Physiology, Department of Sport Science, School of Literature and Humanities, Persian Gulf University, Bushehr, Iran.

\*Corresponding Author: Abdosaleh Zar . Email: salehzar@pgu.ac.ir

**Cite this article:** Abdosaleh Zar, Mahsa Ramazani, Hamid Reza Sadeghipour. (2025). The effect of resistance training and Spirulina supplementation on EGF/ERK1/2/TSC2/mTOR signaling in male rat kidneys. *Journal of Metabolism and Exercise*, 15 (1), 88-102.

DOI: <https://doi.org/10.22124/jme.2025.29539.387>

## Extended Abstract

### Introduction and State of Problem

**S**pirulina is known as a dietary supplement that has antioxidant properties (1). The anabolic mTOR signaling pathway can increase protein synthesis, resulting in increased hypertrophy (2). Rheb, an upstream regulator of the mTOR signaling pathway and an upstream regulator of the TSC1/TSC2 complex (3). EGFR activation has also been associated with kidney development, acute kidney injury, and chronic kidney disease (CKD) (4). Researchers in an animal study concluded that 12 weeks of treadmill exercise can partially improve diabetic nephropathy (5). Although the combination of exercise and Spirulina supplementation not only has an effect on adaptive responses related to metabolic damage, limited studies have examined the simultaneous use of exercise training and Spirulina supplementation. The aim of the present study was to investigate the combined effect of resistance training and Spirulina supplementation on EGF/ERK1/2/TSC2/mTOR signaling in male rat kidney.

### Methodology

Thirty-two young male Sprague-Dawley rats, 120 weeks old and weighing  $150 \pm 20$  g, were obtained from the Animal Center of Shiraz University of Medical Sciences. Each rat was housed in a separate cage made of transparent polycarbonate in an environment with a temperature of  $22 \pm 2$  °C and a humidity of  $55 \pm 4\%$  under a 12/12-hour light/dark cycle. All animals were given free access to standard rat food (specially designed for rats supplied by Parsfeed Company) and were cared for humanely according to the relevant instructions. After the adaptation phase to the environment, the rats were randomly divided into four groups (each group, 8 rats) including the control group, the supplement group, the resistance training group, and the resistance training + Spirulina supplement group. After completing one week of adaptation, in order to familiarize the rats with resistance training and how to climb the ladder, they were introduced to resistance training and ladder climbing training for 3 days, once a day. The eight-week training protocol included climbing a two-sided ladder with a vertical slope of 1 m and a distance between each step of 4 cm. To warm up before starting the training, the rats climbed the ladder three times without weights and without rest between repetitions. Resistance training consisted of 3 sets of 5 repetitions with 1-minute rest between each repetition and 2 minutes' rest between sets. The weight selected at the beginning of the training was 30% of the rats' body weight and increased to 100% of their body weight in the last week. Spirulina supplement was also added to the drinking water of the rats in the SP and SP+RT groups at a rate of 200 mg/kg/day. The rats did not have access to drinking water without supplements each day until the water containing the supplement was completely consumed (6). Animal samples were taken 24 hours after the last training session. To measure the parameters, each rat was anesthetized for about 5 minutes by injecting 10% ketamine (50 mg/kg body weight) and 2% xylazine (10 mg/kg body weight). After separating the animal's heart from the chest, the left ventricle was separated from the heart.

### Results

The results showed that Spirulina consumption had no significant effect on the increase in EGF in male rats ( $p=0.469$ ). Exercise had no significant effect on EGF in male rats (0.620). However, exercise and Spirulina consumption did not have a significant interaction effect on the increase in EGF in male rats ( $p=0.977$ ) (Table 2). The results also showed that Spirulina consumption had a significant effect on the increase in ERK in male rats ( $p=0.03$ ). Exercise had no significant effect on ERK in male rats ( $p=0.497$ ), however, exercise and Spirulina consumption did not have a significant interaction effect on the increase in ERK in male rats ( $p=0.358$ ). Regarding the TSC2 variable, the results showed that Spirulina consumption had no significant effect on the increase in TSC2 in male rats ( $p=0.533$ ). Exercise had no significant effect on TSC2 in male rats (0.923). However, exercise and Spirulina consumption did not have a significant interaction effect on increasing TSC2 in male rats ( $p=0.728$ ) (Table 2). The results also showed that Spirulina consumption had a significant effect on increasing mTOR in male rats ( $p=0.01$ ). Exercise had no significant effect on mTOR in male rats (0.16), however, exercise and Spirulina consumption did not have a significant interaction effect on increasing mTOR in male rats ( $p=0.06$ ).

### Discussion and Conclusion

Studies have reported that exercise can modulate the activity of the mTOR pathway in various tissues, including the kidney (7,8). Exercise, especially resistance training, has been shown to increase mTOR signaling and downstream processes, such as protein synthesis and cell growth (9). Given that mTOR activation in kidney tissue is associated with the occurrence of some diseases, the inactivation of this factor is considered an advantage for the kidney because it prevents mTOR activation. ERK can also modulate mTOR signaling and contribute to disease progression by inactivating TSC2. The results showed that despite the intervention, EGF levels did not decrease and were not considered a serious risk for kidney tissue. ERK levels were changed by spirulina consumption, but in most studies, physical activity increases ERK gene and protein expression. Inhibition and increase of TSC2 through resistance training can affect the fate of mTOR and hypertrophy. Based on the results of the study, it can be concluded that Spirulina may have a significant effect on mTOR and its pathway in the kidney.

### Originality/Value

Spirulina consumption significantly increased mTOR. While the interaction of exercise and spirulina supplementation did not result in significant increases in ERK and mTOR, it is possible that the benefits of spirulina can be utilized in conjunction with exercise in a way that does not harm humans. It is imperative that further research on this issue be conducted due to its importance.

### Research Limitations/Implications

The lack of precise control over the amount of physical activity of the mice, the inability to examine physical injuries caused by the mice's physical activity, and the lack of examination and control of the level of possible stress on the mice, all of which may affect the levels of the variables studied, were among the limitations of the present study.

### Ethical Considerations

#### Compliance with ethical guidelines

The study was approved by the Ethics Committee of Jahrom University of Medical Sciences (IR.JUMS.REC.1398.011) and was conducted in strict compliance with the United States Institute of Animal Research Guidelines for the Care and Use of Laboratory Animals.

#### Funding

This research did not receive specific grants from funding agencies in the public, commercial, or not-for-profit sectors

#### Authors' contribution

All authors contributed equally in all parts of the study.

#### Conflict of interest

The authors declare that they have no competing interests

#### Acknowledgments

We appreciate all those who participated in the preparation of this article and helped us in this way.

#### References

1. Hozayen WG, Mahmoud AM, Soliman HA, Mostafa SR. Spirulina versicolor improves insulin sensitivity and attenuates hyperglycemia-mediated oxidative stress in fructose-fed rats. *Journal of Intercultural Ethnopharmacology*. 2016;5(1):57. [<http://10.5455/jice.20151230055930>]
2. Nemati J, Samadi M, Hadidi V, Macintosh B. Effect of Resistance Training on Mtor and P70s6k Signaling Pathway in Skeletal Muscle of Rats. 2015. [<https://www.sid.ir/paper/264973/en>]
3. Hay N, Sonenberg N. Upstream and downstream of mTOR. *Genes & development*. 200-1926;(16)18;4.45 [[doi:10.1101/gad.1212704v](https://doi.org/10.1101/gad.1212704v)]
4. Harris RC, Chung E, Coffey RJ. EGF receptor ligands. The EGF Receptor Family. 2003;3-14. [<https://doi.org/10.1016/B978-012160281-9/50002-5>]
5. Atashgahian R, Kashef M. Relationship of BMI with Proteinuria and Hematuria after One Session of Intense Continuous and Interval Exercise in Girls. *Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences*. 2022. [<https://doi.org/10.18502/ssu.v30i5.10158>]
6. 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 [<https://doi.org/10.1016/j.scispo.2019.06.003>].
7. Drummond MJ, Fry CS, Glynn EL, Dreyer HC, Dhanani S, Timmerman KL, et al. Rapamycin administration in humans blocks the contraction-induced increase in skeletal muscle protein synthesis. *The Journal of physiology*. 2009;587(7):1535-46. [<https://doi.org/10.1113/jphysiol.2008.163816>]
8. Ahmadi F. Effect of Eight Weeks of Resistance Training with Spirulina Supplementation on Cardiac Troponin T, Brain Natriuretic Peptide, and Creatine Kinase in the Myocardium. *Journal of Nutrition, Fasting and Health*. 2025;13(2):100-8. [[10.22038/jnfh.2024.83418.1540](https://doi.org/10.22038/jnfh.2024.83418.1540)]
9. Vignaud J, Loiseau C, Côme M, Martin I, Rasoanarivo R, Hérault J, et al. Combined Effects of Spirulina Liquid Extract and Endurance Training on Aerobic Performance and Muscle Metabolism Adaptation in Wistar Rats. *Nutrients*. 2025;17(2):283. [<https://doi.org/10.3390/nu17020283>]



## تأثیر تمرین مقاومتی و مکمل اسپیرولینا بر سیگنالینگ EGF/ ERK1/2/ TSC2/ mTOR در

## کلیه رت های نر

عبدالصالح زر<sup>1\*</sup>، مهسا رضانی<sup>2</sup>، حمید رضا صادقی پور<sup>1</sup>

تاریخ دریافت: 1403/10/22

تاریخ بازنگری: 1404/02/06

تاریخ پذیرش: 1404/02/17

## چکیده

**هدف:** علیرغم افزایش مصرف مکمل اسپیرولینا در بین ورزشکاران، از تاثیر این مکمل در کنار تمرینات مقاومتی بر بافت‌های مختلف بدن اطلاعات کمی در دسترس است. هدف از پژوهش حاضر بررسی تاثیر تمرین مقاومتی و مکمل اسپیرولینا بر سیگنالینگ EGF/ ERK1/2/ TSC2/ mTOR در کلیه رت‌های نر بود.

**روش‌شناسی:** 32 رت نر جوان از نژاد اسپراگ داوولی با 3 ماه سن و میانگین وزن  $150 \pm 20$  گرم به طور تصادفی به چهار گروه کنترل، تمرین مقاومتی، مکمل اسپیرولینا و تمرین-مکمل تقسیم شدند. گروه‌های مکمل به مدت 8 هفته تمرین مقاومتی انجام و گروه‌های مکمل، مقدار  $200 \text{mg/kg/day}$  اسپیرولینا به صورت محلول در آب مصرف کردند. بیان متغیرهای وابسته مطالعه با استفاده از روش REAL TIME-PCR اندازه‌گیری شد.

**یافته‌ها:** افزایش بیان ژن EGF در هیچ کدام از گروه‌ها نسبت به گروه کنترل معنی‌دار نبود. در فاکتور ERK تغییرات در گروه مکمل اسپیرولینا و کنترل ( $p=0/03$ ) معنی‌دار بود. تغییرات ژن TSC2 در هیچ یک از گروه‌ها نسبت به گروه کنترل تغییر معنادار نداشت. در متغیر mTOR تغییرات در گروه اسپیرولینا ( $p = 0/01$ ) معنی‌دار اما افزایش آن در گروه تمرین مقاومتی ( $0/16$ ) و تعامل تمرین و مکمل ( $p=0/06$ ) معنی‌دار نبود.

**نتیجه‌گیری:** به نظر می‌رسد مصرف مکمل اسپیرولینا به تنهایی اثر معنادار بیشتری بر مسیر سیگنالینگ بررسی شده دارد. استفاده برنامه تمرینی با شدت متفاوت در کنار دوزهای متفاوت مکمل جهت ارزیابی دقیق تاثیر تمرین مقاومتی در کنار این مکمل توصیه می‌شود.

**واژه‌های کلیدی:** تمرین مقاومتی، اسپیرولینا، EGF/ ERK1/2/ TSC2/ mTOR

1. دانشیار فیزیولوژی ورزش، گروه علوم ورزشی، دانشکده ادبیات و علوم انسانی، دانشگاه خلیج فارس، بوشهر، ایران
2. کارشناسی ارشد فیزیولوژی ورزشی، گروه علوم ورزشی، دانشکده ادبیات و علوم انسانی، دانشگاه خلیج فارس، بوشهر، ایران

نویسنده مسئول: عبدالصالح زر، ایمیل: [salehzar@pgu.ac.ir](mailto:salehzar@pgu.ac.ir)

استناد: عبدالصالح زر، مهسا رضانی، حمید رضا صادقی پور. (1404). تأثیر تمرین مقاومتی و مکمل اسپیرولینا بر سیگنالینگ EGF/ ERK1/2/ TSC2/ mTOR در کلیه رت‌های نر. نشریه سوخت و ساز و فعالیت ورزشی، 15 (1)، 88 - 102

DOI: <https://doi.org/10.22124/jme.2025.29539.387>

## نوآوری پژوهش و پیام کلی

مصرف اسپیرولینا باعث افزایش معنی‌داری mTOR شده است. درحالی‌که تعامل تمرین و مکمل اسپیرولینا افزایش معنی‌داری در ERK و mTOR مشاهده نشد، شاید بتوان از مزایای اسپیرولینا همراه با ورزش استفاده کرد به شکلی که به انسان آسیبی وارد نشود. لزوماً به دلیل اهمیت کلیه تحقیقات بیشتر در این امر ضروری و مهم به نظر می‌رسد.





## مقدمه

امروزه اسپیرولینا به عنوان یک مکمل غذایی شناخته می‌شود که نقش آنتی‌اکسیدانی داشته و دارای مواد مغذی مانند فیکوسیانین، کلروفیل، پلی‌ساکاریدها و سولفولیپیدهاست (1). مطالعات تجربی در مورد اثربخشی اسپیرولینا در درمان کم‌خونی، مسمومیت کبدی، بیماری‌های قلبی-عروقی، هایپرگلیسمی، هایپرلیپیدمی، افزایش عملکرد ایمنی، کاهش کلسترول خون و بیماری‌های ویروسی انجام شده است. علاوه بر این، اسپیرولینا دارای پروتئین بالا (بیش از 60٪ در ماده خشک) و آمینواسیدهای ضروری (2) بوده و علاوه بر این، مصرف آن می‌تواند سنتز پروتئین عضله را افزایش دهد (3). با توجه به سنتز پروتئین عضلانی و پاسخ هایپرتروفیک به ورزش مقاومتی، مسیر انتقال پیام آنابولیک<sup>1</sup> mTOR می‌تواند سنتز پروتئین را افزایش دهد و در نتیجه هایپرتروفی افزایش می‌یابد، در واقع هایپرتروفی ناشی از تمرین مقاومتی با افزایش فسفریلاسیون mTOR همراه است (4). mTORC1 با حس کردن وضعیت تغذیه و انرژی یک سلول و با فسفریلاسیون زیرلایه‌های هدف، انواع واکنش‌های پایین دست را آغاز می‌کند. که شامل فعال‌سازی بیوزنز ریبوزوم، ترجمه پروتئین و ورود مواد مغذی می‌شود و همچنین از اتوفاژی و رونویسی در پاسخ به استرس جلوگیری می‌کند (5).<sup>2</sup> Rheb یک فاکتور تنظیم کننده بالا دست مسیر سیگنال دهی mTOR است و آن را فعال می‌کند (6). Rheb تنظیم کننده بالا دست کمپلکس<sup>3</sup> TSC1/TSC2 می‌باشد که یک پروتئین فعال کننده (GAPase) است و مسیر سیگنال-دهی mTOR را به وسیله تحریک هیدرولیز GTP فرم فعال Rheb (Rheb-GTP) به فرم غیر فعال مهار می‌کند (7). همچنین تمرینات مقاومتی از طریق گیرنده‌های مکانیکی، TSC2 را مهار می‌کند و منجر به فعال شدن Rheb و mTOR می‌شوند. از آنجایی که افزایش سنتز پروتئین اصلی‌ترین عامل هایپرتروفی بوده و با توجه به شواهد بیان شده، mTOR اصلی‌ترین مکانیسم سنتز پروتئین است و احتمالاً تمرین مقاومتی از طریق فعال کردن این مسیر باعث هایپرتروفی می‌شود (8).

یکی از معروف‌ترین پروتئین‌کینازها، پروتئین کیناز فعال شده توسط میتوزن (MAPK)<sup>4</sup> است که عملکردهای بی‌شمار سلولی را کنترل می‌کند. میتوزن‌ها سیگنال‌هایی هستند که از قسمت خارجی سلول، پیام‌هایی را برای القای میتوز و تقسیم سلولی القا می‌کنند. یکی از زیرواحدهای MAPK، کیناز مرتبط با پیام‌رسانی خارج سلولی (Erk)<sup>5</sup> می‌باشد (9). فعالیت‌بدنی از طریق مکانیسم‌های متفاوت از قبیل ترشح فاکتورهای رشدی و کشش عضلانی، اکسیدان‌ها و کاهش PH می‌تواند مسیر MAPK و به خصوص ERK را فعال کند و این امر می‌تواند عامل‌های رونویسی زیادی را فعال کرده و باعث بیان بیش از 600 ژن شود (10). فاکتور رشد اپیدرمی (EGF)<sup>6</sup> به عنوان فاکتور رشد شناخته شده پروتئینی است که با اتصال به گیرنده آن، گیرنده فاکتور رشد اپیدرمی (EGFR)<sup>7</sup>، رشد و تمایز سلولی را تحریک می‌کند (11). فعال‌سازی EGFR با رشد کلیه، آسیب حاد کلیه، و بیماری مزمن کلیه (CKD)<sup>8</sup> نیز مرتبط است (12). EGFR یک

<sup>1</sup> Mammalian Target of Rapamycin

<sup>2</sup> Ras homolog enriched in brain

<sup>3</sup> Tuberosus sclerosis proteins

<sup>4</sup> Mitogen-activated protein kinase

<sup>5</sup> Extracellular signal-regulated kinases

<sup>6</sup> Epidermal growth factor

<sup>7</sup> Epidermal growth factor receptor

<sup>8</sup> Chronic Kidney Disease



گیرنده تیروزین کیناز<sup>1</sup> غشایی است که پس از آسیب کلیوی در کلیه فعال شده و به عنوان یک هدف درمانی در درمان CKD می‌باشد (13). مطالعات نشان داده‌اند که فعالیت بدنی و EGF بیان ژن پروتئین ERK را افزایش می‌دهد و فعال-سازی ERK تعیین می‌کند که کدام برنامه‌ها پاسخ سلولی را آغاز کنند. همچنین فسفوریلاسیون ERK منجر به تفکیک TSC1-TSC2 شده و به طور قابل توجهی توانایی TSC2 را برای مهار سیگنال‌دهی mTOR، تکثیر سلولی و تبدیل انکوژنیک مختل می‌کند (14). حتی ERK ممکن است سیگنال‌دهی mTOR را تعدیل کند و از طریق فسفوریلاسیون و غیرفعال کردن TSC2 به پیشرفت بیماری کمک کند (9, 14). اخیراً پیشنهاد شده است که سیگنال‌دهی EGFR از طریق فعال‌سازی مسیرهای سیگنال‌دهی ERK و فسفاتیدیل‌نوزیتول-3-فسفات<sup>2</sup> کیناز منجر به آسیب مزمن کلیه می‌شود (15). علاوه بر این، فاکتورهای رشدی مانند EGF، هنگامی که بیش از حد بیان شوند، فعالیت بیماری‌های خود ایمنی و تومورزایی را تسهیل می‌کنند (16). از اولین نشانه‌های بیماری کلیوی دفع پروتئین است و همچنین شدت فعالیت ورزشی عامل موثری بر پروتئینوری است (17).

هایپرتروفی کلیه نیز باعث افزایش فیلتراسیون گلومرولی شده که به آن اولترا فیلتراسیون گفته می‌شود. ورزش باعث ایجاد تغییرات عمیق در همودینامیک کلیوی و دفع پروتئین می‌شود. محققین در پژوهشی بر روی حیوانات نتیجه گرفتند که 12 هفته ورزش روی ترمیم می‌تواند باعث بهبود نسبی نوروباتی دیابتی شود (18). همچنین در پژوهشی به این نتیجه رسیدند که 8 هفته فعالیت هوازی روی ترمیم می‌تواند در پیشگیری از بیماری مزمن کلیه موثر باشد (19). تحقیقات محدودی به بررسی همزمان تمرینات ورزشی با مصرف مکمل اسپیرولینا پرداخته‌اند (20). در مطالعه‌ای، هشت هفته تمرین مقاومتی دایره‌ای توام با مصرف اسپیرولینا در مردان دارای اضافه وزن و چاقی افزایش معنی‌داری را در سطوح آپریزین مشاهده کردند (21). افزایش غلظت گلوکز داخل سلولی به دلیل هیپرگلیسمی، فعالیت AMP<sup>3</sup> کیناز را سرکوب می‌کند و mTORC1 را فعال می‌کند. علاوه بر هیپرگلیسمی، چاقی و دیابت نوع 2، هیپرانسولینمی و اسیدهای آمینه اضافی مرتبط با پرخوری عواملی هستند که برای افزایش فعالیت mTORC1 مورد نیاز هستند، که در کلیه‌ها مشاهده می‌شود (22). به‌رحال یافته‌های تحقیقی نشان می‌دهد که اسپیرولینا اثر محافظتی آنتی‌اکسیدانی بر بافت کلیه در موش‌های مسموم با آکریل آمید دارد (23). ترکیب ورزش و مکمل اسپیرولینا نه تنها تأثیر بر پاسخ‌های سازگاری مرتبط با آسیب‌های متابولیکی دارد (24)، بلکه می‌تواند گلوکز خون و عملکرد کلیه را بهبود بخشد و آسیب کلیوی را برای دیابت نوع 2 کاهش دهد (25). علیرغم اینکه در برخی از تحقیقات قبل اثرات تمرین مقاومتی و مکمل اسپیرولینا بر بیماری مزمن کلیوی بررسی شده است، تحقیقات محدودی به ارزیابی تأثیر ترکیبی این دو مداخله بر مسیرهای ژنی مرتبط با هایپرتروفی بافت کلیه پرداخته است. از آن جایی که شناخت مسیرهای مولکولی موثر در این حوزه تحقیقاتی شاید بتواند به شناسایی راهکارهایی در توسعه درمان غیردارویی بافت کلیه کمک کند، لذا هدف از مطالعه حاضر تأثیر ترکیبی تمرین مقاومتی و مکمل اسپیرولینا بر سیگنالینگ EGF/ERK1/2/ TSC2/ mTOR در کلیه رت‌های نر می‌باشد.

<sup>1</sup> Tyrosin kinase

<sup>2</sup> Phosphatidylinositol 3-phosphate

<sup>3</sup> Adenosine monophosphate-activated protein kinase

## جامعه و نمونه آماری

تعداد 32 سر رت نر جوان از نژاد Sprague-Dawley با 120 هفته سن و وزن  $150 \pm 20$  گرم از خانه مرکز حیوانات دانشگاه علوم پزشکی شیراز تهیه و سپس به قفس پلی کربنات آزمایشگاهی منتقل شدند. هر رت صحرایی در یک قفس جداگانه از پلی کربنات شفاف نگهداری شد و در محیطی با درجه حرارت  $22 \pm 2$  سانتی گراد و رطوبت  $55 \pm 4$  درصد زیر چرخه نور/تاریکی 12/12 ساعت نگهداری شد. به همه حیوانات دسترسی آزاد به غذای استاندارد رت (طراحی ویژه برای رت‌های صحرایی عرضه شده توسط شرکت پارسفید) داده شد و طبق دستورالعمل مربوطه تحت مراقبت انسانی قرار گرفتند. تمام روش‌های مربوط به آزمایش‌های حیوانی تأیید شد و مطابق با دستورالعمل‌های مؤسسه تحقیقات حیوانات ایالات متحده مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی انجام شد (26). کد اخلاق این مطالعه از دانشگاه علوم پزشکی جهرم دریافت شد (IR.JUMS.REC.1398.011).

## روش اجرا

پس از مرحله سازگاری با محیط رت‌ها به صورت تصادفی به چهار گروه (هر گروه، 8 سر) شامل گروه کنترل، گروه مکمل، گروه تمرین مقاومتی و گروه تمرین مقاومتی + مکمل اسپیرولینا تقسیم شدند. پس از اتمام یک هفته سازگاری، جهت آشنایی رت‌ها با تمرین مقاومتی ونحوه بالارفتن از نردبان، به مدت 3 روز و در هر روز یک بار، با نحوه انجام تمرین مقاومتی و آموزش نحوه بالارفتن از نردبان آشنا شدند. پروتکل تمرینی هشت هفته‌ای شامل صعود از نردبان دوطرفه با شیب قائم به ارتفاع یک متر و فاصله بین هر دو پله چهار سانتی متر بود. جهت گرم کردن قبل از شروع تمرین، رت‌ها بدون وزنه و بدون استراحت بین تکرارها سه بار از نردبان بالا می‌رفتند. تمرین مقاومتی، شامل 3 ست 5 تکراری با 1 دقیقه استراحت بین هر تکرار و 2 دقیقه استراحت بین ست‌ها در نظر گرفته شده بود. وزنه انتخاب شده در شروع تمرین 30 درصد وزن بدن رت‌ها بود و تا 100 درصد وزن آن‌ها در هفته آخر افزایش می‌یافت. جهت انجام تمرین در ابتدای هر هفته میانگین وزن هر گروه اندازه‌گیری و وزنه‌ها بر اساس میانگین وزن رت‌ها انتخاب می‌شد. در هر جلسه تمرین وزنه‌ها به وسیله چسب لوکوپلاست (پیش از تمرین حساسیت دم رت‌ها به این نوع چسب، بررسی شدند) به ابتدای دم رت‌ها متصل می‌شد (27). مکمل اسپیرولینا نیز به میزان  $200 \text{ mg/kg/day}$  به آب آشامیدنی رت‌های گروه SP و SP+RT اضافه شد. رت‌ها در هر روز تا مصرف کامل آب حاوی مکمل، به آب آشامیدنی بدون مکمل دسترسی نداشتند (28).

## نمونه‌گیری و بیان ژن

نمونه برداری از حیوانات 24 ساعت پس از آخرین جلسه آموزش انجام شد. برای اندازه‌گیری پارامترها هر رت برای حدود 5 دقیقه با تزریق کتامین 10٪ (50 میلی گرم/کیلوگرم وزن بدن) و زایلازین 2٪ (10 میلی گرم/کیلوگرم وزن بدن) بیهوش شد. پس از جداسازی قلب حیوان از قفسه سینه بطن چپ از قلب جدا شد. بافت بطن چپ بلافاصله در مخازن نیتروژن قرار گرفت و برای استخراج اسید ریبونوکلئیک (RNA) به یک یخچال  $-80$  درجه سانتی‌گراد منتقل شد (26). میزان بیان ژن متغیرهای مطالعه با استفاده از روش Real-Time PCR اندازه‌گیری شد. کل RNA با استفاده از کیت استخراج RNA از بافت قلب جدا شد (Cinnagen Inc., Iran). خلوص، یکپارچگی و غلظت RNA با اندازه‌گیری تراکم نوری 280/260 و الکتروفورز ژل آگاروز (1٪) تعیین شد. Complementary DNA (cDNA) از 1 میکروگرم RNA با استفاده از کیت سنتز cDNA سنتز شد (Fermentas Inc.). جهت بررسی بیان ژن‌ها برای گروه‌های سلولی از مخلوط PCR مطابق با پروتکل Real Q Plus 2x Master Mix Green (Ampliqon Inc.) استفاده شد.

## تحلیل آماری

جهت بررسی طبیعی بودن توزیع یافته‌ها از آزمون شاپیروویلیک و جهت تجزیه و تحلیل استنباطی داده‌ها و تأثیر مداخلات در گروه‌های پژوهشی از آزمون ANOVA دو طرفه و همچنین از آزمون تعقیبی توکی برای مقایسه میانگین‌ها در سطح معناداری ( $p \leq 0/05$ ) توسط نرم افزار SPSS نسخه 26 استفاده گردید (28)

## یافته‌ها

آمار توصیفی مربوط به بیان ژن‌های مورد مطالعه در جدول 1 و یافته‌های مربوط با تحلیل واریانس دو طرفه در جدول 2 نشان داده شده است. نتایج نشان داد مصرف اسپیرولینا اثر معناداری بر افزایش EGF رت‌های نر ندارد ( $p = 0/469$ ). تمرین اثر معناداری بر EGF رت‌های نر ندارد ( $0/620$ ). با این وجود تمرین و مصرف اسپیرولینا دارای اثر تعاملی معناداری در افزایش EGF رت‌های نر نیستند ( $p = 0/977$ ) (جدول 2). همچنین نتایج نشان داد مصرف اسپیرولینا اثر معناداری بر افزایش ERK رت‌های نر دارد ( $p = 0/03$ ). تمرین اثر معناداری بر ERK رت‌های نر ندارد ( $p = 0/497$ ). با این حال تمرین و مصرف اسپیرولینا دارای اثر تعاملی معناداری در افزایش ERK رت‌های نر نیستند ( $p = 0/358$ ) (جدول 2).

در ارتباط با متغیر TSC2 نتایج نشان داد مصرف اسپیرولینا اثر معناداری بر افزایش TSC2 رت‌های نر ندارد ( $p = 0/533$ ). تمرین اثر معناداری بر TSC2 رت‌های نر ندارد ( $0/923$ ). با این حال تمرین و مصرف اسپیرولینا دارای اثر تعاملی معناداری در افزایش TSC2 رت‌های نر نیستند ( $p = 0/728$ ) (جدول 2). نتایج همچنین نشان داد مصرف اسپیرولینا اثر معناداری بر افزایش mTOR رت‌های نر دارد ( $p = 0/01$ ). تمرین اثر معناداری بر mTOR رت‌های نر ندارد ( $0/16$ ). با این حال تمرین و مصرف اسپیرولینا دارای اثر تعاملی معناداری در افزایش mTOR رت‌های نر نیستند ( $p = 0/06$ ) (جدول 2).

جدول 1. میزان بیان ژن‌های EGF/ ERK1/2/ TSC2/ mTOR در گروه‌های تحقیق

Table 1. Expression levels of EGF/ERK1/2/TSC2/mTOR genes in research groups

گروه				
متغیر	کنترل	تمرین	اسپیرولینا	تمرین + اسپیرولینا
EGF	1 ± 1/32	1/96 ± 0/80	0/86 ± 0/33	1/53 ± 0/31
ERK	1 ± 0/82	2/56 ± 1/75	1/91 ± 0/84	1/77 ± 1/45
TSC2	1 ± 0/58	7/26 ± 1/96	2/15 ± 1/05	1/55 ± 0/60
mTOR	1 ± 0/64	0/73 ± 0/56	0/86 ± 0/34	0/98 ± 0/49

داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف استاندارد گزارش شده‌اند.

جدول 2. نتایج آزمون آنالیز واریانس دوطرفه متغیر EGF، ERK، TSC2 و mTOR  
Table 2. Results of two-way ANOVA test for EGF, ERK, TSC2, and mTOR variables

متغیر	منبع تغییرات	میانگین مربعات	درجات آزادی	F	P
EGF	اسپیروولینا	19/829	1	0/540	0/469
	تمرین	42/523	1	0/252	0/620
	تعامل تمرین و اسپروولینا	0/069	1	0/001	0/977
ERK	اسپیروولینا	400/399	1	5/263	* 0/030
	تمرین	36/057	1	0/476	0/497
	تعامل تمرین و اسپروولینا	66/659	1	0/876	0/358
TSC2	اسپیروولینا	0/179	1	0/398	0/533
	تمرین	0/004	1	0/009	0/923
	تعامل تمرین و اسپروولینا	0/055	1	0/123	0/728
mTOR	اسپیروولینا	2/95	1	13/36	* 0/01
	تمرین	0/14	1	2/44	0/16
	تعامل تمرین و اسپروولینا	0/65	1	5/37	0/06

\*: نشان دهنده تفاوت معنی داری

### بحث

مطالعه حاضر با هدف بررسی تأثیر هشت هفته تمرین مقاومتی به همراه مکمل یاری اسپروولینا پلاتنسیس بر بیان پارامترهای EGF/ ERK1/2/ TSC2/ mTOR بافت کلیه رت‌های نر انجام شد. نتایج به دست آمده از تحقیق حاضر نشان داد بیان ژن EGF در هیچ یک از گروه‌ها افزایش معنی‌داری نداشته است. نتایج به دست آمده با تحقیق جعفری و همکاران (2022) ناهمسو بود (29). از دلایل ناهمسویی آن تمرین مقاومتی شدید است که توانسته بود بیان ژن EGF را افزایش دهد. همچنین در تحقیق زرپو و همکاران (2021) بیان ژن EGF در گروه تمرین تناوبی سریع<sup>1</sup> (SIT) افزایش یافته بود (30) که با تحقیق حاضر ناهمسو است. از دلایل مهم ناهمسویی با تحقیقات فوق، تفاوت در نوع برنامه تمرینی استفاده شده است چرا که نوع و شدت فعالیت بر سطوح EGF تأثیر بسزایی دارد. ورزش بیان ژن فاکتور رشد اپیدرمی متصل به هیپارین HB-EG را در عضلات اسکلتی تنظیم می‌کند به نظر می‌رسد افزایش EGF پس از تمرین مقاومتی با هایپرتروفی و افزایش سنتز پروتئین همراه است. EGF مسیرهای تکثیر و تمایز سلولی مانند مسیرهای mTOR و پروتئین کیناز AKT را تحریک می‌کند. از آن جایی که کاهش EGF با عملکرد کلیوی و بیماری مزمن کلیه مرتبط است و کاهش سطح EGF کلیه‌ها را مستعد ابتلا به بیماری کلیوی پیشرونده می‌کند، در این تحقیق با وجود مداخلات انجام شده، کاهش نداشته و نمی‌تواند خطرناک باشد.

در تحقیق حاضر در گروه اسپروولینا بیان ژن ERK افزایش معنی‌داری داشته است اما در گروه‌های تمرین و تعامل تمرین و مکمل این افزایش معنی دار نبوده است. نتایج تحقیق حاضر با نتایج تحقیق نعمتی و همکاران (2018) همسو بوده و



تمرین مقاومتی طولانی مداخله مناسبی برای فعال سازی ERK محسوب نمی‌شود (31). در تحقیق عزیزاده و همکاران (2018) بیان ژن ERK در گروه تمرین ورزشی به طور معناداری کاهش یافته بود (32) که با تحقیق حاضر ناهمسو بوده است. همچنین با تحقیق یان و همکاران (2017) ناهمسو بوده است. از دلایل ناهمسویی این بوده است که ورزش هوازی طولانی مدت فسفوریلاسیون ERK را افزایش داده است (33). همچنین این نتایج با تحقیق لیزنکو و همکاران (2019) ناهمسو بوده است که مقدار فسفوریلاسیون ERK با توجه با شدت بار متوسط افزایش یافته بود (34). از آن جایی که ERK یک تنظیم کننده مثبت mTOR محسوب می‌شود و با فعالیت بدنی بیان ژن ERK افزایش می‌یابد و با فعال شدن mTOR به هیپرتروفی عضله اسکلتی کمک می‌کند. در بسیاری از سیستم‌ها EGF باعث فعال شدن ERK می‌شود. فسفوریلاسیون وابسته به ERK منجر به تفکیک TSC1-TSC2 می‌شود و به طور قابل توجهی توانایی TSC2 را برای مهار سیگنال دهی mTOR مختل می‌کند. بنابراین، مهار Akt و ERK توسط تمرین ورزشی می‌تواند مسئول مهار mTOR باشند. حتی ERK ممکن است سیگنال دهی mTOR را تعدیل کند و از طریق فسفوریلاسیون و غیرفعال کردن TSC2 به پیشرفت بیماری و حتی هیپرتروفی کمک کند (14).

نتایج تحقیق حاضر نشان داد بیان ژن TSC2 در هیچ یک از گروه‌ها افزایش نداشته است. نتایج تحقیق حاضر با تحقیق دسوزا و همکاران (2013) همسو بوده است که تمرینات قدرتی و استقامتی مسیرهای درون سلولی را در عضله اسکلتی موش‌ها فعال نکرده است (35). همچنین نتایج با تحقیق ابوساوان و همکاران (2018) همسو بوده است (36). در تحقیق صادقی پور و همکاران (2025) تمرین مقاومتی به تنهایی توانست بر مسیر TSC1 اثر بگذارد اما مکمل تاثیر معناداری بر این متغیر نداشت (37). تمرینات مقاومتی از طریق گیرنده‌های مکانیکی، TSC2 را مهار می‌کنند و منجر به فعال شدن Rheb و mTOR می‌شوند (14). همچنین با نتایج تحقیق ساس و همکاران (2019) ناهمسو بوده است (38). عملکرد TSC2 با هدف مهار mTOR انجام می‌شود که منجر به هایپرتروفی نمی‌شود. علاوه بر این TSC2 مستقیماً توسط Akt فسفریله می‌شود و مهار TSC2 منجر به هایپرتروفی می‌شود (39).

در پژوهش حاضر افزایش معنی داری بیان ژن mTOR در گروه مصرف مکمل اسپیرولینا مشاهده شد، اما در گروه تمرین مقاومتی و تعامل تمرین و مصرف اسپیرولینا با وجود افزایش بیان ژن این افزایش معنی دار نبود. نتایج به دست آمده با نتایج برخی تحقیقات همسو بوده است زیرا اثرات تمرین مقاومتی و تناوبی شدید و استقامتی موجب فعال سازی mTOR نشد (35, 40). از طرف دیگر نتایج مطالعه حاضر با نتایج برخی مطالعات ناهمسو بود (26, 41). از دلایل ناهمسویی پروتکل تمرین مقاومتی و استقامتی و شدت و حجم تمرینات ورزشی است که می‌تواند موجب فسفریله و فعال سازی mTOR نشود. کاکیچی و همکاران (2014) در تحقیق خود به بررسی تأثیر مصرف پروتئین وی پس از یک جلسه تمرین مقاومتی، بر مسیر سیگنالی mTOR در عضله اسکلتی انسان پرداختند. یافته‌ها نشان داد که تمرین مقاومتی به تنهایی باعث تغییر mTOR نشده ولی مصرف پروتئین وی بعد از ورزش مقاومتی، سیگنالینگ mTOR را در مردان تمرین نکرده فعال می‌کند (42). هاراگوچی و همکاران (2014)، به بررسی اثرات تمرین مقاومتی بر بیان mTOR با و بدون مصرف پروتئین وی پرداختند. نتایج نشان داد که بیان mTOR با ورزش کاهش می‌یابد، اما زمانی که پروتئین وی مصرف می‌شود، افزایش می‌یابد (43). همچنین عیدی زاده و همکاران (1398) نشان دادند استفاده از مکمل یاری اسپیرولینا احتمالاً به تنهایی می‌تواند باعث فعال شدن مسیر سیگنالی mTORc1 در کلیه شود که این امر می‌تواند باعث ایجاد یا پیشرفت بیماری‌های کلیوی گردد؛ اما در گروه‌هایی که همزمان با تمرین، از مکمل اسپیرولینا استفاده کردند تغییری در mTORc1 مشاهده نشد که نشان دهنده بی‌ضرر بودن این مکمل برای بافت کلیه ورزشکاران است (6). با توجه به نقش mTOR در بیماری کلیوی از قبیل پلی کیستیک و نروپاتی دیابتی به نظر می‌رسد اسپیرولینا با فعال کردن mTOR می‌تواند در این بیماران خطرناک باشد. قابل ذکر است که طبق تحقیقات صورت گرفته mTOR در سلول‌های اپتلیال کلیه‌های سالم غیر



فعال است و تأثیری بر کلیه‌های سالم ندارد. طبق تحقیقات صورت گرفته فعال شدن mTOR در بیماران حاد کلیوی مفید بوده و به ترمیم و بازسازی کلیه کمک می‌کند، اما در بیماری‌های کیست و نفروپاتی و مزمن کلیوی برعکس عمل کرده و می‌تواند باعث پیشرفت بیماری شود و مهار آن به کنترل بیماری کمک می‌کند (44). چنین به نظر می‌رسد که مصرف اسپیرولینا به تنهایی در بیماران کلیوی خطرناک بوده اما مصرف مکمل اسپیرولینا به همراه تمرین مقاومتی این خطر را کمتر خواهد کرد. به این دلیل که افزایش معنی‌داری در فاکتور mTOR در گروه تمرین و تعامل تمرین و اسپیرولینا دیده نشده است. به نظر می‌رسد فعال شدن mTOR در گروه مصرف مکمل اسپیرولینا به علت پروتئین بالای این مکمل باشد زیرا فعالیت بدنی بیان ژن ERK را افزایش می‌دهد. مطالعاتی گزارش کرده اند که ورزش می‌تواند فعالیت مسیر mTOR را در بافت‌های مختلف از جمله کلیه‌ها تعدیل کند (45, 46). نشان داده شده است که ورزش، به ویژه تمرینات مقاومتی، سیگنال‌دهی mTOR و فرآیندهای پایین دست، مانند سنتز پروتئین و رشد سلولی را افزایش می‌دهد (47). با توجه به اینکه فعال شدن mTOR در بافت کلیه با بروز برخی از بیماری‌ها همراه هست بنابراین فعال نشدن این فاکتور برای کلیه یک مزیت محسوب می‌شود چون مانع از فعال شدن mTOR می‌شود (48). اجزای تنظیمی، مانند کمپلکس TSC1/TSC2، مسیر AMPK (پروتئین کیناز فعال شده با AMP)، و آبشارهای سیگنالینگ مختلف با واسطه فاکتور رشد، ممکن است نقش مهمی در تعدیل فعالیت mTOR ایفا کنند (49) هم چنین ERK می‌تواند سیگنال‌دهی mTOR تعدیل کند و با غیر فعال شدن TSC2 به پیشرفت بیماری کمک کند (14). عدم کنترل دقیق میزان فعالیت بدنی موش‌ها، عدم امکان بررسی آسیب‌های بدنی متاثر از فعالیت مقامتی موش‌ها و همچنین عدم بررسی و کنترل سطح استرس احتمالی وارد بر موش‌ها که همگی ممکن است بر سطوح متغیرهای بررسی شده تأثیر داشته باشند از جمله محدودیت‌های تحقیق حاضر بود.

#### نتیجه‌گیری کلی و پیام مقاله

نتایج نشان داد که با وجود مداخله سطح EGF کاهش پیدا نکرده است و خطر جدی برای بافت کلیه محسوب نمی‌شود. با مصرف اسپیرولینا سطح ERK تغییر داشت اما در بیشتر مطالعات فعالیت بدنی بیان ژن و پروتئین ERK را افزایش می‌دهد. مهار و افزایش TSC2 از طریق تمرین مقاومتی می‌تواند در سرنوشت mTOR و هایپرتروفی تأثیر بگذارد. بر اساس نتایج پژوهش می‌توان نتیجه گرفت اسپیرولینا احتمالاً اثر معنی‌داری بر mTOR و مسیر آن بر کلیه داشته باشد. مصرف اسپیرولینا بر کلیه تأثیر می‌گذارد، اما ترکیب تمرین مقاومتی و مکمل اسپیرولینا برای کلیه‌ها خطر جدی محسوب نمی‌شود و سلامت کلیه رو به خطر نمی‌اندازد.

#### محدودیت‌ها

عدم کنترل دقیق میزان فعالیت بدنی موش‌ها، عدم امکان بررسی آسیب‌های بدنی متاثر از فعالیت مقامتی موش‌ها و همچنین عدم بررسی و کنترل سطح استرس احتمالی وارد بر موش‌ها که همگی ممکن است بر سطوح متغیرهای بررسی شده تأثیر داشته باشند از جمله محدودیت‌های تحقیق حاضر بود.

#### پیشنهاد برای مطالعات آتی

طبیعتاً دوز مصرفی مکمل می‌تواند بر نتیجه اثرگذار باشد. بنابراین می‌توان از دوزهای مصرفی دیگری در مطالعه‌های آینده طبق تحقیق حاضر استفاده کرد.

پژوهشی مشابه با پژوهش حاضر اثر تمرین مقاومتی و مکمل اسپیرولینا را بر روی مسیر سیگنالی با روشی دیگر و غیر از REAL TIME-PCR اندازه‌گیری شود.



## ملاحظات اخلاقی

## رعایت دستورالعمل‌های اخلاقی

این مطالعه توسط کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی جهرم (IR.JUMS.REC.1398.011) تأیید شد و با رعایت دقیق دستورالعمل‌های موسسه تحقیقات حیوانات ایالات متحده برای مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی انجام شد.

## منابع مالی

این تحقیق هیچ کمک مالی خاصی از سازمان‌های تأمین مالی در بخش‌های دولتی، تجاری یا غیرانتفاعی دریافت نکرده است.

## مشارکت نویسندگان

همه نویسندگان در تمام بخش‌های مطالعه به طور مساوی مشارکت داشتند.

## تعارض منافع

نویسندگان این مقاله، هیچ نفع متقابلی از انتشار آن ندارند.

## تقدیر و تشکر

از تمام کسانی که در تهیه این مقاله شرکت داشتند و ما را در این راه یاری کردند، قدردانی می‌کنیم.

## References

1. Hozayen WG, Mahmoud AM, Soliman HA, Mostafa SR. Spirulina versicolor improves insulin sensitivity and attenuates hyperglycemia-mediated oxidative stress in fructose-fed rats. *Journal of Intercultural Ethnopharmacology*. 2016;5(1):57. [<http://10.5455/jice.20151230055930>]
2. Mišurcová L, Buňka F, Ambrožová JV, Machů L, Samek D, Kráčmar S. Amino acid composition of algal products and its contribution to RDI. *Food chemistry*. 2014;151:120-5. [<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.11.04/>].
3. Gutiérrez-Salmeán G, Fabila-Castillo L, Chamorro-Cevallos G. Aspectos nutricionales y toxicológicos de Spirulina (arthrospira). *Nutricion hospitalaria*. 2015;32(1):34-40. [<https://dx.doi.org/10.3305/nh.2015.32.1.9001>]
4. NEMATI J, SAMADI M, HADIDI V, MACINTASH B. Effect of Resistance Training on Mtor and P70s6k Signaling Pathway in Skeletal Muscle of Rats. 2015. [<https://www.sid.ir/paper/264973/en>]
5. Saxton RA, Sabatini DM. mTOR signaling in growth, metabolism, and disease. *Cell*. 2017;168(6):960-76. [[https://www.cell.com/cell/fulltext/S0092-8674\(17\)30182-4](https://www.cell.com/cell/fulltext/S0092-8674(17)30182-4)]
6. Eidizadeh H, Avandi SM, Zar A, Sadeghipour HR. The effect of eight weeks of resistance training with spirulina platensis supplementation on the RAGs/Rheb/mTORC/S6K pathway in male rat kidneys. *Jorjani Biomedicine Journal*. 2024;12(1):23-7. [[10.29252/jorjanibiomedj.12.1.23](https://doi.org/10.29252/jorjanibiomedj.12.1.23)]
7. Hay N, Sonenberg N. Upstream and downstream of mTOR. *Genes & development*. 2004;18(16):1926-45. [[doi:10.1101/gad.1212704v](https://doi.org/10.1101/gad.1212704v)]
8. Cheragh Birjandi sADEGH RDS, Yaghobi Ali. The effect of resistance and endurance training on the expression of MURF1 and MTOR genes in aged male rats. *Metabolism and Exercise*. 2024;14(2):20-34. [<https://doi.org/10.22124/jme.2024.26222.338>]
9. Wackerhage H, Smith J, Wisneiwski D. Molecular exercise physiology. *Oxford textbook of childrenVs sport and exercise medicine*. 2017:430-40. [<https://books.google.co.kr/books?>]
10. Lee CJ, Nicoll JX. Time Course Evaluation of Mitogen-Activated Protein Kinase Phosphorylation to Resistance Exercise: A Systematic Review. *The Journal of Strength & Conditioning Research*. 2023;37(3):710-25. [<http://10.1519/JSC.0000000000004409>]
11. Steelman LS, Chappell WH, Abrams SL, Kempf CR, Long J, Laidler P, et al. Roles of the Raf/MEK/ERK and PI3K/PTEN/Akt/mTOR pathways in controlling growth and sensitivity to therapy-implications for cancer and aging. *Aging (Albany NY)*. 2011;3(3):192. [[doi: 10.18632/aging.100296](https://doi.org/10.18632/aging.100296)]
12. Harris RC, Chung E, Coffey RJ. EGF receptor ligands. *The EGF Receptor Family*. 2003:3-14. [<https://doi.org/10.1016/B978-012160281-9/50002-5>]



- .13 Zeng F, Singh AB, Harris RC. The role of the EGF family of ligands and receptors in renal development, physiology and pathophysiology. *Experimental cell research*. 2009;315(4):602-10.[<https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2008.08.005>]
- .14 Rayego-Mateos S, Rodrigues-Diez R, Morgado-Pascual JL, Valentijn F, Valdivielso JM, Goldschmeding R, et al. Role of epidermal growth factor receptor (EGFR) and its ligands in kidney inflammation and damage. *Mediators of inflammation*. 2018;2018.[<https://doi.org/10.1155/2018/8739473>]
- .15 Ma L, Chen Z, Erdjument-Bromage H, Tempst P, Pandolfi PP. Phosphorylation and functional inactivation of TSC2 by Erk: implications for tuberous sclerosis and cancer pathogenesis. *Cell*. 2005;121(2):179-93.[[https://www.cell.com/fulltext/S0092-8674\(05\)00198-4](https://www.cell.com/fulltext/S0092-8674(05)00198-4)]
- .16 Tang J, Liu N, Zhuang S. Role of epidermal growth factor receptor in acute and chronic kidney injury. *Kidney international*. 2013;83(5):804-10.[<https://doi.org/10.1038/ki.2012.435>]
- .17 Kasza A. IL-1 and EGF regulate expression of genes important in inflammation and cancer. *Cytokine*. 2013;62(1):22-33.[<https://doi.org/10.1016/j.cyto.2013.02.007>]
- .18 Atashgahian R, Kashef M. Relationship of BMI with Proteinuria and Hematuria after One Session of Intense Continuous and Interval Exercise in Girls. *Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences*. 2022.[<https://doi.org/10.18502/ssu.v30i5.10158>]
- .19 Faramarziyan N, Salehi M, Rezaei R, Jahromi MK. Effects of Six Weeks High-Intensity Interval Training on TGF- $\beta$ 1 and SMAD7 Genes Expression in the Kidney Tissue of Elderly Diabetic Male Wistar Rats. *Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences*. 2023.[<https://doi.org/10.18502/ssu.v30i12.11965>]
- .20 RAFATI FM, Taghian F, Pakfetrat M, Daryanoosh F, Mohammadi H. The effect of aerobic training on the amount of GFR and excreted of creatinine in patients with chronic kidney. 2012.[<http://www.sid.ir/paper/96526/en>][<http://tmuj.iautmu.ac.ir>]
- .21 Fariba Pourasghar jb, Roghayeh Pouzesh Jadidi, Hassan Pourrazi, Mir Alireza Nourazar The effect of high-intensity interval training and melatonin supplementation on some apoptotic indices in the kidney tissue of male rats after renal ischemia-reperfusion. *Metabolism and Exercise*. 2024;14(1):151-67.[<https://doi.org/10.22124/jme.2024.26340.343>]
- .22 Dehghani K, Mogharnasi M, Saghebjo M, Malekaneh M, Sarir H. Effect of Spirulina platensis green-blue algae consumption, and circuit resistance training (CRT) on lipid profile in overweight and obese middle-aged men. *Journal of Birjand University of Medical Sciences*. 2021;28(3):248-59.[<https://journal.bums.ac.ir/article-1-3012-en.html&sw=Er>]
- .23 Dehghani K, Mogharnasi M, Saghebjo M, Sarir H, Malekaneh M. The effect of eight weeks of circuit resistance training and spirulina supplementation on plasma levels of irisin and some body composition in overweight and obese men. *Armaghane danesh*. 2020;25(3):332-45.[<https://www.sid.ir/paper/370020/en>]
- .24 Kitada M, Ogura Y, Monno I, Koya D. A low-protein diet for diabetic kidney disease :its effect and molecular mechanism, an approach from animal studies. *Nutrients*. 2018;10(5):544.[<https://doi.org/10.3390/nu10050544>]
- .25 Bin-Jumah MN, Al-Huqail AA, Abdelnaeim N, Kamel M, Fouda M, Abulmeaty M, et al. Potential protective effects of Spirulina platensis on liver, kidney, and brain acrylamide toxicity in rats. *Environmental Science and Pollution Research*. 2021;28(21):26653-63.[<https://doi.org/10.1007/s11356-021-12422-x>]
- .26 Jalali MJ, Fathi R, Nasiri K, Akbari A. The effect of eight weeks of spirulina supplementation and resistance and interval aerobic training on skeletal muscle CXCL1 gene expression and liver enzymes in male rats. *Journal of Sport and Exercise Physiology*. 2023;16(1):23-34 .[[10.52547/joeppa.16.1.23](https://doi.org/10.52547/joeppa.16.1.23)]
- .27 Hong-zhu Z, Mei-ju Z, Zhi-gang Z, Xiao-min D, Ren-le W. Effects of Aerobic Exercise plus Spirulina Supplement on the Expression of TLR4/NF- $\kappa$ B-p65 and Inflammatory Factor in Kidney Tissue of Type 2 Diabetes Rats. *NATURAL PRODUCT RESEARCH AND DEVELOPMENT*. 2017;29(7):1119.[<http://doi:10.12047/j.cjap.6065.2021.058>.]
- .28 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[<https://doi.org/10.1016/j.scispo.2019.06.003>].

- .29 Sadeghipour Hamid Reza RF, Zar Abdossalehleh zar The effect of eight weeks of resistance training and Spirulina platensis supplementation on the signaling pathway of Wnt-GSK3 $\beta$ -TSC2-S6K in the kidney tissue of male rats. *Journal of Applied Health Studies in Sport Physiology*. 2024[ [10.22049/jahssp.2024.29148.1601](https://doi.org/10.22049/jahssp.2024.29148.1601)]
- .30 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 Journal*. 2021;9(2):36-44.[ <http://goums.ac.ir/jorjanijournal/article-1->]
- .31 Jafari Khooshan Abadi A, Ramezani S, Nayebifar S. The effect of HIIT and CGRP inhibition on EGF and EGFR gene expression in the hippocampal tissue of male Wistar rats. *Daneshvar Medicine*. 2023;30(6):10-9.[ [10.22070/daneshmed.2023.17102.1298](https://doi.org/10.22070/daneshmed.2023.17102.1298)]
- .32 Yasar Z, Elliott BT, Kyriakidou Y, Nwokoma CT, Postlethwaite RD, Gaffney CJ, et al. Sprint interval training (SIT) reduces serum epidermal growth factor (EGF), but not other inflammatory cytokines in trained older men. *European Journal of Applied Physiology*. 2021;121:1909-19.[ <https://doi.org/10.1007/s00421-021-04635-2>]
- .32 Nemati J, Samadi M, Hadidi V, Ghodrat L. The effect of 8 weeks of resistance training on total and phosphorylated extracellular signal regulated kinases (ERK (in flexor hallucis longus muscle of rats. *Journal of Practical Studies of Biosciences in Sport*. 2018;6(12):117-26.[ [10.22077/jpsbs.2017.318.1129](https://doi.org/10.22077/jpsbs.2017.318.1129)]
- .34 Alizadeh AM, Heydari Z, Rahimi M, Bazgir B, Shirvani H, Alipour S, et al. Oxytocin mediates the beneficial effects of the exercise training on breast cancer. *Experimental physiology*. 2018;103(2):222-35.[ <https://doi.org/10.1113/EP086463>]
- .35 Li Y-H, Yi X-J. The effects of aerobic exercise on ERK1/2 activity in skeletal muscle of type 2 diabetic rats. *Zhongguo Ying Yong Sheng li xue za zhi= Zhongguo Yingyong Shenglixue Zazhi= Chinese Journal of Applied Physiology*. 2017;33(1):33-7.[ <https://doi.org/10.12047/j.cjap.5448.2017.008>]
- .36 Lysenko EA, Popov DV, Vepkhvadze TF, Sharova AP, Vinogradova OL. Signaling responses to high and moderate load strength exercise in trained muscle. *Physiological reports*. 2019;7(9):e14100.[ <https://doi.org/10.14814/phy2.14100>]
- .37 De Souza E, Tricoli V, Bueno Junior C, Pereira MG, Brum PC, Oliveira EMD, et al. The acute effects of strength, endurance and concurrent exercises on the Akt/mTOR/p70 S6K1 and AMPK signaling pathway responses in rat skeletal muscle. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*. 2013;46:343-7.[ <https://doi.org/10.1590/1414-431X20132557>]
- .38 Abou Sawan S, Van Vliet S, Parel JT, Beals JW, Mazzulla M, West DW, et al. Translocation and protein complex co-localization of mTOR is associated with postprandial myofibrillar protein synthesis at rest and after endurance exercise. *Physiological reports*. 2018;6(5):e13628.[ <https://doi.org/10.14814/phy2.13628>]
- .39 Sadeghipour HR, Zakeri Dehvasati B, Zar A, Khaleghi MM. The effect of eight weeks of resistance training combined with spirulina supplementation on the TNF- $\alpha$ /IKK $\beta$ /TSC1/Rheb gene expression in male rat kidney tissue. *Daneshvar Medicine*. 2025;32(6):53-67 [ [10.22070/daneshmed.2025.19914.1574](https://doi.org/10.22070/daneshmed.2025.19914.1574)]
- .40 Sase K, Kido K, Ato S, Fujita S. The effect of a bout of resistance exercise on skeletal muscle protein metabolism after severe fasting. *Physiological Reports*. 2019;7(21):e14270.[ <https://doi.org/10.14814/phy2.14270>]
- .41 Inoki K, Li Y, Zhu T, Wu J, Guan K-L. TSC2 is phosphorylated and inhibited by Akt and suppresses mTOR signalling. *Nature cell biology*. 2002;4(9):648-57.[ <https://doi.org/10.1038/ncb839>]
- .42 Aghaei Bahman Beglou N, Shadmehri S, Jahani Golbar S, Sharafati Moghadam M. The effect of four weeks high-intensity interval training (HIIT) on the content of AKT1, mTOR, P70S6K1, 4EBP1 proteins in the Left ventricular muscle tissue of the heart obese rats with type 2 diabetic. *Journal of Sport and Exercise Physiology*. 2021;14(1):85-94[ [10.52547/joeppa.14.1.85](https://doi.org/10.52547/joeppa.14.1.85)].
- .43 Mazo CE, D'Lugos AC, Sweeney KR, Haus JM, Angadi SS, Carroll CC, et al. The effects of acute aerobic and resistance exercise on mTOR signaling and autophagy markers in untrained human skeletal muscle. *European journal of applied physiology*. 2021;121(10):2913-24.[ <https://doi.org/10.1007/s00421-021-04758-6>]

- .44 Kakigi R, Yoshihara T, Ozaki H, Ogura Y, Ichinoseki-Sekine N, Kobayashi H, et al. Whey protein intake after resistance exercise activates mTOR signaling in a dose-dependent manner in human skeletal muscle. *European journal of applied physiology*. 2014;114:735-42. [<https://doi.org/10.1007/s00421-013-2812-7>]
- .45 Haraguchi FK, de Brito Magalhães CL, Neves LX, dos Santos RC, Pedrosa ML, Silva ME. Whey protein modifies gene expression related to protein metabolism affecting muscle weight in resistance-exercised rats. *Nutrition*. 2014;30(7-8):876-81. [<https://doi.org/10.1016/j.nut.2013.12.007>]
- .46 Shi J, Liu X, Jiao Y, Tian J, An J, Zou G, et al. mTOR pathway: A key player in diabetic nephropathy progression and therapeutic targets. *Genes & Diseases*. 2025;12(2):101260. [<https://doi.org/10.1016/j.gendis.2024.101260>]
- .47 Drummond MJ, Fry CS, Glynn EL, Dreyer HC, Dhanani S, Timmerman KL, et al. Rapamycin administration in humans blocks the contraction-induced increase in skeletal muscle protein synthesis. *The Journal of physiology*. 2009;587(7):1535-46. [<https://doi.org/10.1113/jphysiol.2008.163816>]
- .48 Ahmadi F. Effect of Eight Weeks of Resistance Training with Spirulina Supplementation on Cardiac Troponin T, Brain Natriuretic Peptide, and Creatine Kinase in the Myocardium. *Journal of Nutrition, Fasting and Health*. 2025;13(2):100-8. [[10.22038/jnfh.2024.83418.1540](https://doi.org/10.22038/jnfh.2024.83418.1540)]
- .49 Vignaud J, Loiseau C, Côme M, Martin I, Rasoanarivo R, Hérault J, et al. Combined Effects of Spirulina Liquid Extract and Endurance Training on Aerobic Performance and Muscle Metabolism Adaptation in Wistar Rats. *Nutrients*. 2025;17(2):283. [<https://doi.org/10.3390/nu17020283>]
- .50 Gao Y, Tian T. mTOR signaling pathway and gut microbiota in various disorders: Mechanisms and potential drugs in pharmacotherapy. *International Journal of Molecular Sciences*. 2023;24(14):11811. [<https://doi.org/10.3390/ijms241411811>]
- .51 Yuan X, Wang Q, Dai M, Wang H, Xiong X, Pan L, et al. TSC2 gene characterization and mechanism of ammonia nitrogen stress inhibiting growth through AMPK/mTOR pathway mediated by TSC2 in *Megalobrama amblycephala*. *Aquaculture Reports*. 2024;38:102342. [<https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2024.102342>]