

Original article

## The Effect of Resistance Training and Spirulina Supplementation on the Expression of IGF-1, AKT, Rheb, and TSC2 Genes in Kidney of Male Rats

Zahra Kargar Dolatabadi<sup>1</sup>, Abdossaleh Zar<sup>\*1</sup>, Sara Zare karizak<sup>1</sup>, Rouhollah Ranjbar<sup>\*2</sup>

1. Department of Sports Sciences, Faculty of Literature and Humanities, Persian Gulf University, Bushehr, Iran

2. Department of Sport Physiology, Faculty of Sport Sciences, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran

<sup>\*</sup> **Corresponding author.** Tel: +987733444575, Fax: +987733440376, E-mail: salehzar@pgu.ac.ir

### Article info

#### Article history:

Received: Jan 10, 2025

Accepted: Mar 12, 2025

#### Keywords:

Resistance training

Spirulina

Kidney

Rat

### ABSTRACT

**Background:** Various signaling pathways are involved in causing hypertrophy in different organs of the body. One of these important pathways is the mTOR signaling pathway, which, as a key regulator in cellular growth and metabolism processes, plays an important role in muscle hypertrophy and kidney function. The aim of the present study was to investigate the effect of resistance training and Spirulina supplementation on the expression of IGF-1, AKT, Rheb, and TSC2 genes in male rats.

**Methods:** 32 male Sprague Dawley rats, 3 months old and weighing  $150 \pm 20$  g, were randomly assigned to four groups: resistance training + spirulina supplement, resistance training, spirulina supplement, and control. Spirulina was orally administered to rats in the spirulina and resistance training plus spirulina groups at a dose of 200 mg/kg body weight per day for eight weeks. The resistance training protocol consisted of eight weeks of ladder climbing to a height of one meter. The expression levels of IGF-1, AKT, Rheb, and TSC2 were measured using Real-time PCR.

**Results:** The expression levels of IGF-1 ( $p < 0.001$ ), AKT ( $p < 0.0001$ ) and Rheb ( $p < 0.0001$ ) genes showed a significant increase in the exercise + supplement group. While the expression of TSC2 gene was significantly decreased in the exercise + supplement group ( $p < 0.0001$ ).

**Conclusion:** The findings indicate a positive effect of resistance training and Spirulina supplementation on the expression of IGF-1, AKT, Rheb, and TSC2 genes in kidney tissue.

How to cite this article: Kargar Dolatabadi Z, Zar A, Zare karizak S, Ranjbar R. The Effect of Resistance Training and Spirulina Supplementation on the Expression of IGF-1, AKT, Rheb, and TSC2 Genes in Kidney of Male Rats . J Ardabil Univ Med Sci. 2025;24(4):475-487.

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-Non Commercial 4.0 International License.

## Extended Abstract

**Background:** Various signaling pathways are involved in causing hypertrophy in different organs of the body. One of these important pathways is the mTOR signaling pathway, which, as a key regulator in cellular growth and metabolism processes, plays an important role in muscle hypertrophy and kidney function. Studies have shown that resistance training activates the mTOR pathway, especially mTORC1, which is crucial for muscle hypertrophy. Additionally, spirulina, a blue-green microalga, has gained popularity as a dietary supplement due to its nutrient-rich profile and potential health benefits. This is due to its antioxidant properties, which are primarily attributed to phycocyanin (a protein pigment complex that helps scavenge free radicals and reduce oxidative stress).

Despite the well-known benefits of exercise training and supplementation on renal function, there are significant gaps in understanding the combined effects of resistance training and specific supplements, such as spirulina, on renal hypertrophy. The interaction between exercise-induced molecular pathways and nutritional supplementation may reveal novel strategies to improve renal function and prevent complications associated with hypertrophy. The present study aimed to investigate the effect of resistance training and Spirulina supplementation on the expression of IGF-1, AKT, Rheb, and TSC2 genes in male rats.

**Methods:** The present study is a basic and experimental study that was conducted in the period 2020-2021. This study was conducted on 32 Sprague-Dawley rats purchased from the Animal Laboratory of Marvdasht Azad University. The inclusion criteria for the study were 3 months of age, an average weight of  $150 \pm 20$  grams, and male gender. During the study, the rats were kept in separate transparent polycarbonate cages in an environment with a temperature of  $22 \pm 2$  degrees Celsius, a humidity of  $55 \pm 4$  percent, and a light cycle of 12:12 hours. All the rats were fed with a standard pellet which was

provided by Pars Animal Feed Company. Rats were randomly divided into four groups: Group 1: Control, Group 2: Resistance training (without receiving Spirulina supplements), Group 3: Supplementation (without resistance training and receiving Spirulina supplements), Group 4: Resistance training + supplementation (receiving Spirulina supplements).

The training protocol consisted of 8 weeks of resistance training using a rodent ladder designed to be 1 meter high and 4 cm in height with a vertical slope to the ground. Before starting the training program, rats performed three repetitions without weights and without rest between repetitions to prepare their bodies. The weight chosen to start the program was 30% of the rats' body weight, which was increased to 100% in the final weeks. In this study, 24 hours before the start of training, 200 mg/kg/day of Spirulina was added to the drinking water of rats in the Spirulina consumption groups (supplement group and resistance training + supplement group). This daily intake continued until the end of the eighth week. The expression levels of IGF-1, AKT, Rheb, and TSC2 were measured using Real-time PCR.

**Results:** The results showed that the expression level of the IGF-1 gene increased in the resistance training group ( $p < 0.01$ ), the Spirulina supplement group ( $p > 0.05$ ) and the resistance training + Spirulina supplement group ( $p < 0.001$ ) compared to the control group. Also, the expression level of the IGF-1 gene increased in the resistance training + Spirulina supplement group compared to the resistance training group ( $p > 0.05$ ) and the Spirulina supplement group ( $p < 0.01$ ) and in the resistance training group compared to the Spirulina supplement group ( $p < 0.05$ ).

Also, in examining the expression level of the AKT gene, the results showed that resistance training ( $p < 0.01$ ), Spirulina supplementation ( $p > 0.05$ ) and resistance training + Spirulina supplementation ( $p < 0.001$ ) increased the expression level of the AKT gene. Also, the expression level of the AKT gene in the resistance training +

Spirulina supplementation group was higher than that in the resistance training group ( $p<0.001$ ) and the Spirulina supplementation group ( $p<0.0001$ ), and in the resistance training group was higher than that in the Spirulina supplementation group ( $p<0.05$ ).

In the present study, our findings from evaluating the expression level of the TSC2 gene indicated that resistance training ( $p<0.01$ ), Spirulina supplementation ( $p>0.05$ ), and resistance training + Spirulina supplementation ( $p<0.0001$ ) reduced the expression level of the TSC2 gene. Also, the expression level of the TSC2 gene in the resistance training + Spirulina supplementation group was lower than that in the resistance training group ( $p<0.01$ ) and Spirulina supplementation group ( $p<0.0001$ ), and in the resistance training group compared to the Spirulina supplementation group ( $p<0.01$ ).

Examination of Rheb changes showed that resistance training ( $p<0.0001$ ), Spirulina supplementation ( $p>0.05$ ) and resistance training + Spirulina supplementation ( $p<0.0001$ ) increased Rheb gene expression. Also, Rheb gene expression in the resistance training + Spirulina supplementation group decreased compared to the resistance training group ( $p>0.05$ ) and increased compared to the Spirulina supplementation

group ( $p<0.0001$ ), and in the resistance training group increased compared to the Spirulina supplementation group ( $p<0.0001$ ).

**Conclusion:** The findings of this study clearly show that resistance training and Spirulina supplementation have positive effects on the expression of key genes related to growth and metabolism in male rat kidneys. The significant increase in IGF-1, AKT, and Rheb gene expression and the significant decrease in TSC2 gene expression in the resistance training and Spirulina supplementation groups indicate the synergistic effects of these two factors on biological processes that help improve organ function and metabolism. This study emphasizes the need for further research to more accurately investigate the biochemical mechanisms and long-term effects of the combination of resistance training and Spirulina supplementation. These findings can be a guide to designing optimal training and nutritional programs to promote the health and function of body systems. On the other hand, to more accurately investigate the positive effects of resistance training and Spirulina on the kidney, it is necessary to conduct biochemical factors indicative of kidney function and its histological evaluation.

## تأثیر تمرین مقاومتی و مکمل اسپیرولینا بر بیان ژن‌های IGF-1، AKT، TSC2، Rheb در کلیه موش‌های صحرایی نر

زهرا کارگر دولت آبادی<sup>۱</sup>، عبدالصالح زر<sup>۱\*</sup>، سارا زارع کاریزک<sup>۱</sup>، روح الله رنجبر<sup>۲</sup>

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

۲. گروه فیزیولوژی ورزش، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

\* نویسنده مسئول. تلفن: ۰۷۷۳۳۴۴۵۷۵ فاکس: ۰۷۷۳۳۴۴۰۳۷۶ پست الکترونیک: salehzar@pgu.ac.ir

### چکیده

**زمینه و هدف:** مسیرهای سیگنالی مختلفی در ایجاد هیپرتروفی در اندام‌های مختلف بدن درگیر می‌باشند، یکی از این مسیرهای مهم، مسیر سیگنالی mTOR می‌باشد که به عنوان یک تنظیم‌کننده کلیدی در فرآیندهای رشد و متابولیسم سلولی، نقش مهمی در هیپرتروفی عضلانی و عملکرد کلیه ایفا می‌کند. هدف مطالعه حاضر بررسی اثر تمرین مقاومتی و مکمل اسپیرولینا بر بیان ژن‌های IGF-1، AKT، TSC2، Rheb در موش‌های صحرایی نر می‌باشد.

**روش کار:** تعداد ۳۲ سر موش‌های صحرایی نر نژاد اسپراگ داوولی با سن ۳ ماه و میانگین وزن  $20 \pm 150$  گرم به صورت تصادفی در چهار گروه کنترل، تمرین مقاومتی، مکمل اسپیرولینا و تمرین مقاومتی + مکمل اسپیرولینا قرار گرفتند. اسپیرولینا به صورت خوراکی به موش‌های صحرایی در گروه اسپیرولینا و گروه تمرین مقاومتی + اسپیرولینا با دوز ۲۰۰ میلی گرم/کیلوگرم وزن بدن در روز به مدت هشت هفته تجویز شد. پروتکل تمرین مقاومتی شامل هشت هفته بالا رفتن از نردبان به ارتفاع یک متر بود. میزان بیان IGF-1، AKT، TSC2، Rheb با استفاده از روش Real-time PCR اندازه‌گیری گردید.

**یافته‌ها:** میزان بیان ژن‌های IGF-1 ( $p < 0.001$ )، AKT ( $p < 0.001$ ) و Rheb ( $p < 0.001$ ) در گروه تمرین + مکمل اسپیرولینا افزایش معناداری نشان دادند. در حالیکه بیان ژن TSC2 در گروه تمرین + مکمل اسپیرولینا کاهش معنادار یافت ( $p < 0.001$ ).

**نتیجه‌گیری:** یافته‌ها حاکی از تأثیر مثبت تمرینات مقاومتی و مکمل اسپیرولینا بر بیان ژن‌های IGF-1، AKT، TSC2، Rheb در بافت کلیه می‌باشند.

**واژه‌های کلیدی:** تمرین مقاومتی، اسپیرولینا، کلیه، موش صحرایی

دریافت: ۱۴۰۳/۱۰/۲۱ پذیرش: ۱۴۰۳/۱۲/۲۲

### مقدمه

مسیرهای مهم، مسیر سیگنالی mTOR<sup>۱</sup> می‌باشد که به عنوان یک تنظیم‌کننده کلیدی در فرآیندهای رشد و متابولیسم سلولی، نقش مهمی در هیپرتروفی

مسیرهای سیگنالی مختلفی در ایجاد هیپرتروفی در اندام‌های مختلف بدن درگیر می‌باشند، یکی از این

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

عضلانی و عملکرد کلیه ایفا می‌کند. mTOR یک تنظیم‌کننده مرکزی رشد، متابولیسم و بقای سلولی است که نقش مهمی در ترویج فرآیندهای آنابولیک مانند سنتز پروتئین، بیوسنتز لیپیدها و سنتز نوکلئوتید ایفا می‌کند [۱]، در حالی که فرآیندهای کاتابولیک مانند اتوفازی را مهار می‌کند. این مجموعه به ویژه در زمینه رشد سلولی و هیپرتروفی مهم است، زیرا ترجمه mRNAهای دخیل در سنتز پروتئین را با فسفریله کردن عوامل کلیدی مانند P70-S6 کیناز ۱ (P70-S6) <sup>۱</sup> و پروتئین اتصال (eIF4E) <sup>۲</sup> افزایش می‌دهد [۱،۲]. براساس نتایج مطالعات، تمرینات مقاومتی مسیر mTOR به ویژه mTORC1 را فعال می‌کنند که برای هیپرتروفی عضلانی بسیار مهم است [۳]. این فعال‌سازی منجر به افزایش سنتز پروتئین و رشد عضلانی از طریق فسفوریلاسیون اهداف پایین دستی مانند S6K1 <sup>۳</sup> و 4E-BP1 <sup>۴</sup> می‌شود و شروع ترجمه و بیوژنز ریبوزوم را تسهیل می‌کند [۴]. در زمینه عملکرد کلیه، تمرینات مقاومتی برای بهبود نتایج در مدل‌های بیماری مزمن کلیوی (CKD) با تعدیل مسیر Akt/mTOR پیشنهاد شده است [۵]. با این حال، اثرات خاص تمرین مقاومتی بر هیپرتروفی کلیه، به ویژه از طریق سیگنال‌دهی mTOR، هنوز ناشناخته باقی مانده است [۶]. علاوه بر این، امروزه اسپیرولینا، که یک ریز جلبک سبز آبی است به دلیل مشخصات غنی از مواد مغذی و فواید بالقوه برای سلامتی، به عنوان یک مکمل غذایی محبوبیت پیدا کرده است [۷]. این به دلیل خواص آنتی‌اکسیدانی آن است که در درجه اول به فیکوسیانین (یک مجموعه رنگدانه پروتئینی که به از بین بردن رادیکال‌های آزاد و کاهش استرس اکسیداتیو کمک می‌کند) نسبت داده می‌شود [۸، ۹]. اسپیرولینا همچنین با مهار آزاد شدن هیستامین از ماست‌سل‌ها و تعدیل تولید

سیتوکین‌هایی مانند IL-6 <sup>۵</sup> و TNF- $\alpha$  <sup>۶</sup>، اثرات ضد التهابی از خود نشان می‌دهد [۷، ۸]. این خواص فواید بالقوه‌ای را برای سلامت اندام‌ها از جمله کلیه‌ها نشان می‌دهد. در حالی که نشان داده شده است که اسپیرولینا مسیر سیگنال‌دهی mTORC1 را فعال می‌کند، که برای رشد سلولی و هیپرتروفی حیاتی است، نقش ویژه آن در عملکرد کلیه، به ویژه در زمینه تمرین مقاومتی، ناشناخته باقی مانده است [۱۰]. پتانسیل اسپیرولینا برای تأثیرگذاری بر هیپرتروفی کلیه از طریق تعدیل مسیر mTOR یک حوزه تحقیقاتی جالب توجه را ارائه می‌دهد. همچنین هیپرتروفی کلیه، می‌تواند به عنوان یک پاسخ جبرانی به افزایش حجم کار یا آسیب رخ دهد [۸] که اغلب در پاتولوژی‌های مختلف کلیه، از جمله نفروپاتی دیابتی و بیماری مزمن کلیوی (CKD) <sup>۷</sup> مشاهده می‌شود [۸، ۱۱]. درک مکانیسم‌ها و اثرات هیپرتروفی کلیه برای توسعه استراتژی‌های درمانی برای مدیریت یا پیشگیری از بیماری‌های کلیوی بسیار مهم است. مسیر mTOR نقش مهمی در هیپرتروفی کلیه، به ویژه در شرایط پاتولوژیک مانند نفروپاتی دیابتی و بیماری کلیه پلی کیستیک دارد؛ در این شرایط، سیگنال دهی mTOR به رشد و تکثیر سلولی کمک می‌کند و منجر به هیپرتروفی می‌شود [۵]. نشان داده شده است که مهار mTOR، به ویژه mTORC1، هیپرتروفی کلیه را کاهش می‌دهد و باعث بهبود بیماری‌های مختلف کلیوی می‌شود [۱۲]. علیرغم فواید شناخته شده تمرینات ورزشی و مکمل‌ها بر عملکرد کلیه‌ها، شکاف‌های قابل توجهی در درک اثرات ترکیبی تمرینات مقاومتی و مکمل‌های خاص مانند اسپیرولینا بر هیپرتروفی کلیه وجود دارد. تعامل بین مسیرهای مولکولی ناشی از ورزش و مکمل‌های غذایی می‌تواند استراتژی‌های جدیدی را برای بهبود

<sup>۵</sup> Interleukin-6<sup>۶</sup> Tumor Necrosis Factor-alpha<sup>۷</sup> Chronic Kidney Disease<sup>۱</sup> P70-S6 Kinase 1<sup>۲</sup> eIF4E Binding Protein<sup>۳</sup> P70-S6 Kinase 1<sup>۴</sup> Eukaryotic Initiation Factor 4E-binding Protein 1

عملکرد کلیه و جلوگیری از عوارض مرتبط با هیپرتروفی نشان دهد. علاوه بر این، موش‌های صحرایی اسپراگ داوولی به دلیل پاسخ‌های فیزیولوژیکی و سازگاری با شرایط مختلف آزمایشی به طور گسترده در مطالعات ورزش و تغذیه استفاده می‌شوند [۱۳].

به هر حال علیرغم بررسی‌های انجام شده، به تاثیر مکمل اسپرولینا بر مسیرهای سیگنالی موثر بر بافت کلیه کمتر پرداخته شده است. بر همین اساس هدف مطالعه حاضر بررسی اثر تمرین مقاومتی و مکمل اسپرولینا بر بیان ژن‌های IGF-1<sup>۱</sup>، AKT<sup>۲</sup>، TSC2<sup>۳</sup> و Rheb<sup>۴</sup> در بافت کلیه موش‌های صحرایی نر می‌باشد.

## روش کار

پژوهش حاضر از نوع مطالعات بنیادی و نوع تجربی می‌باشد که در فاصله زمانی ۱۴۰۱-۱۴۰۰ انجام شده و برگرفته از پایان نامه کارشناسی ارشد می‌باشد. کلیه مراحل انجام مطالعه با صدور شناسه اخلاق از کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی جهرم به شماره IR.JUMS.REC.1398.011 مورد تایید می‌باشد.

## حیوانات

این پژوهش بر روی ۳۲ سر موش‌های صحرایی از نژاد اسپراگ داوولی خریداری شده از آزمایشگاه حیوانات دانشگاه آزاد مرودشت، انجام شد. معیار ورود به مطالعه داشتن سن ۳ ماه و میانگین وزن  $150 \pm 20$  گرم و جنسیت نر می‌باشد. در طول مدت تحقیق، موش‌های صحرایی در قفس‌های مجزای پلی کربنات شفاف نگهداری شدند که در محیطی با دمای  $22 \pm 2$  درجه سانتی‌گراد و رطوبت  $55 \pm 5$  درصد و چرخه روشنایی ۱۲:۱۲ ساعت قرار داشتند. غذای مورد استفاده از نوع استاندارد پلت مخصوص موش‌های صحرایی (تهیه شده توسط شرکت خوراک

دام پارس) بود و آب آشامیدنی سالم به صورت آزادانه در اختیار موش‌های صحرایی قرار گرفت. تمامی مراحل نگهداری و مراقبت از موش‌های صحرایی طبق دستورالعمل‌های اخلاقی مربوطه انجام شد.

## گروه‌بندی حیوانات

موش‌های صحرایی به صورت تصادفی به چهار گروه تقسیم شدند؛ گروه ۱: کنترل، گروه ۲: تمرین مقاومتی (بدون دریافت مکمل اسپرولینا)، گروه ۳: مکمل اسپرولینا (بدون تمرین مقاومتی و دریافت‌کننده مکمل اسپرولینا)، گروه ۴: تمرین مقاومتی + مکمل اسپرولینا (دریافت‌کننده مکمل اسپرولینا).

برای سازگاری با محل نگهداری، موش‌های صحرایی به مدت یک هفته در محل جدید نگهداری شدند. ارتفاع نردبان جوندگان یک متر، شیب آن نسبت به زمین قائم و فاصله بین هر دو پله آن ۴ سانتی‌متر بود. آموزش نحوه بالا رفتن از نردبان با قرار دادن اندام عقبی هر یک از موش‌های صحرایی بر روی اولین پله (بدون اتصال وزنه) انجام شد. در صورتی که موش‌های صحرایی بر روی پله‌های نردبان ایستاده بودند، با لمس دم آن‌ها به حرکت شرطی تحریک می‌شدند. به منظور آشنایی بیشتر با نحوه بالا رفتن از نردبان، موش‌های صحرایی به مدت یک هفته، یک روز در میان و هر جلسه سه الی چهار تکرار بدون اتصال وزنه را انجام دادند.

## پروتکل تمرین

پروتکل تمرین شامل ۸ هفته تمرین مقاومتی با استفاده از نردبان مخصوص جوندگان بود که ارتفاع آن یک متر و شیب قائم نسبت به زمین با فاصله ۴ سانتی‌متر بین دو پله طراحی شده بود. قبل از شروع برنامه تمرینی و به منظور آمادگی بدن، موش‌های صحرایی سه تکرار بدون وزنه و بدون استراحت بین تکرارها را انجام دادند. وزنه انتخابی برای شروع برنامه برابر با ۳۰ درصد وزن بدن موش‌های صحرایی بود که در هفته‌های آخر تا ۱۰۰ درصد وزن

<sup>1</sup> Insulin-like Growth Factor-1

<sup>2</sup> Protein Kinase B

<sup>3</sup> Tuberous Sclerosis Complex 2

<sup>4</sup> Ras Homolog Enriched in Brain

آن‌ها افزایش یافت. در ابتدای هر هفته، میانگین وزن موش‌های صحرایی در هر گروه اندازه‌گیری شد و بر اساس وزن آن‌ها، وزنه مناسب برای آن هفته انتخاب گردید. وزنه‌ها با استفاده از چسب لوکوپلاست به دم موش‌های صحرایی متصل شدند و قبل از تمرین، تست حساسیت این نوع چسب بر روی دم موش‌های صحرایی بررسی شد. بار تمرین شامل ۸۰، ۹۰، ۱۰۰،

۷۰، ۶۰، ۵۰، ۴۰ و ۳۰ درصد وزنه منتخب برای آن هفته بود. تمرین مقاومتی شامل ۳ ست ۵ تکراری با یک دقیقه استراحت بین هر تکرار و دو دقیقه استراحت بین ست‌ها در نظر گرفته شد (جدول ۱)؛ طراحی پروتکل تمرینی بر اساس شیوه‌های به کار رفته در تحقیقات پیشین انجام شد [۱۷-۱۴].

جدول ۱. پروتکل تمرینی

| هفته  | تعداد جلسات | دوره | استراحت بین دوره‌ها (دقیقه) | تکرار | استراحت بین تکرارها (دقیقه) | درصد وزنه به وزن بدن |
|-------|-------------|------|-----------------------------|-------|-----------------------------|----------------------|
| اول   | ۵           | ۳    | ۲                           | ۵     | ۱                           | ۳۰                   |
| دوم   | ۵           | ۳    | ۲                           | ۵     | ۱                           | ۴۰                   |
| سوم   | ۵           | ۳    | ۲                           | ۵     | ۱                           | ۵۰                   |
| چهارم | ۵           | ۳    | ۲                           | ۵     | ۱                           | ۶۰                   |
| پنجم  | ۵           | ۳    | ۲                           | ۵     | ۱                           | ۷۰                   |
| ششم   | ۵           | ۳    | ۲                           | ۵     | ۱                           | ۸۰                   |
| هفتم  | ۵           | ۳    | ۲                           | ۵     | ۱                           | ۹۰                   |
| هشتم  | ۵           | ۳    | ۲                           | ۵     | ۱                           | ۱۰۰                  |

بار تمرین شامل: ۵۰، ۷۵، ۹۰ و ۱۰۰ درصد وزنه منتخب برای آن هفته بود.

### مصرف مکمل اسپیرولینا

در این مطالعه، ۲۴ ساعت قبل از شروع تمرین، مقدار ۲۰۰ mg/kg/Day اسپیرولینا به آب آشامیدنی موش‌های صحرایی که در گروه‌های مصرف اسپیرولینا (گروه مکمل اسپیرولینا و گروه تمرین مقاومتی + مکمل اسپیرولینا) قرار داشتند، اضافه شد. مصرف روزانه مکمل اسپیرولینا تا پایان هفته هشتم ادامه یافت [۱۸].

### بیپوشی و جمع‌آوری نمونه‌ها

در پایان هفته هشتم و ۲۴ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین، برای اندازه‌گیری پارامترهای مورد مطالعه به وسیله تزریق کتامین ۱۰ درصد (با دوز ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن) و زایلازین ۲ درصد (با دوز ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن) موش‌های صحرایی بیپوش شدند. در حالت بیپوشی، وزن بدن به گرم اندازه‌گیری شد و سپس کلیه حیوان استخراج گردید. بافت‌ها پس از قراردادن در کرایوتیوپ، در نیتروژن

مایع قرار گرفتند و برای بررسی‌های بعدی در دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. میزان بیان متغیرهای وابسته با استفاده از روش Real-time PCR بررسی شد.

### استخراج RNA

بافت‌های حاصل از نیتروژن مایع برای استخراج RNA منجمد شدند و سپس با استفاده از روش‌های مکانیکی خرد و هموژنایز شدند. برای حذف دیواره‌های سلولی از یک بافر لیزکننده (RB Buffer) استفاده شد. ۳۵۰ میکرولیتر از RB Buffer به نمونه (رسوب سلولی حاصل از سانتریفیوژ) اضافه گردید و به مدت ۵ دقیقه در دمای اتاق قرار داده شد. سپس مخلوط نمونه به Filter Column منتقل شد و با دور ۱۴۰۰۰ rpm به مدت ۲ دقیقه سانتریفیوژ گردید. پس از سانتریفیوژ، محلول روشن از Collection Tube به یک تیوپ میکروسانتریفیوژ جدید منتقل شد. سپس ۳۵۰ میکرولیتر اتانول ۷۰ درصد به آن اضافه گردید

دستگاه پیکو درای شرکت سیگما خوانده شد. RNA حاصله در فریزر  $80^{\circ}\text{C}$  - نگهداری گردید. سنتز cDNA طبق دستورالعمل کیت فرمنتاز (K1622) انجام شد. برای تهیه cDNA، حجمی شامل ۱۰۰۰ نانوگرم RNA برداشته و سپس ۵/۰ میکرولیتر Random Hexamers و ۵/۰ میکرولیتر پرایمر oligodT به آن اضافه گردید. پس از انتقال به دمای  $65^{\circ}\text{C}$  درجه سانتی گراد برای ۵ دقیقه، واکنش رونویسی معکوس با استفاده از آنزیم RevertAid™ M- MuLV Reverse Transcriptase انجام شد. توالی پرایمری ژن‌های IGF-1، AKT، Rheb، TSC2 در جدول ۲ شان داده است.

و مخلوط به خوبی ورتکس گردید. نمونه به RB Mini Column منتقل و با سرعت ۱۴۰۰۰ rpm به مدت ۱ دقیقه سانتریفوژ شد. این مراحل شامل شستشوی با Wash Buffer1 و Wash Buffer2 نیز بود که هر کدام دو بار تکرار شد. در نهایت، RB Mini Column درون Elution Tube قرار گرفت و ۵۰ میکرولیتر RNase-free ddH<sub>2</sub>O به آن اضافه شد. پس از یک دقیقه انتظار، نمونه به مدت ۲ دقیقه با سرعت ۱۴۰۰۰ rpm سانتریفوژ گردید. RNA استخراج شده در دمای  $70^{\circ}\text{C}$  - درجه سانتی گراد نگهداری شد. برای اطمینان از کیفیت RNA استخراج شده، ۵ میکرولیتر از RNA روی ژل الکتروفورز قرار گرفت و همچنین جذب آن در طول موج نانومتر با

جدول ۲. توالی پرایمری ژن‌های IGF-1، AKT، Rheb، TSC2

| Genes | Primer Sequences                        | Sizes (bp) |
|-------|-----------------------------------------|------------|
| Akt   | Forward: 5'- TCGTGTGGCAAGATGTGTAT-3'    | 102        |
|       | Reverse: 5'- GAGCTGTGAACCTCCTCATCAA-3'  |            |
| IGF1  | Forward: 5'- GACCCGGGACGTACCAAAAT-3'    | 206        |
|       | Reverse: 5'- TAGCCTGTGGGCTTGTGAA-3'     |            |
| Rheb  | Forward: 5'- CTGACCAGGCTACCAAGATG -3'   | 83         |
|       | Reverse: 5'- CAATGAGGACTTTCCACAGA -3'   |            |
| TSC2  | Forward: 5'- CTGAAGAGAGGCTTGACTGTTG -3' | 96         |
|       | Reverse: 5'- AGGTCCTGGTCTCACCATT -3'    |            |

است. همچنین، میزان بیان ژن IGF-1 در گروه تمرین مقاومتی + مکمل اسپیرولینا نسبت به گروه تمرین مقاومتی ( $p > 0.05$ ) و گروه مکمل اسپیرولینا ( $p < 0.01$ ) و در گروه تمرین مقاومتی نسبت به گروه مکمل اسپیرولینا افزایش ( $p < 0.05$ ) را نشان داد (نمودار ۱).

همچنین در بررسی میزان بیان ژن AKT نتایج نشان داد که تمرین مقاومتی ( $p < 0.01$ )، مکمل اسپیرولینا ( $p > 0.05$ ) و تمرین مقاومتی + مکمل اسپیرولینا ( $p < 0.001$ ) باعث افزایش میزان بیان ژن AKT شده است. همچنین، میزان بیان ژن AKT در گروه تمرین مقاومتی + مکمل اسپیرولینا نسبت به گروه تمرین مقاومتی ( $p < 0.01$ ) و گروه مکمل اسپیرولینا ( $p < 0.001$ ) و در گروه تمرین مقاومتی نسبت به

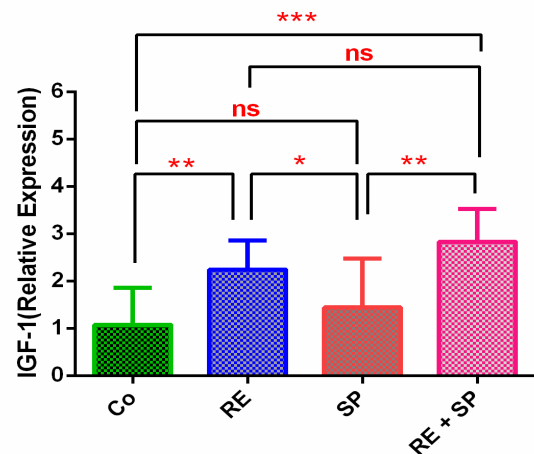
## تجزیه و تحلیل آماری

جهت بررسی طبیعی بودن توزیع داده‌ها از آزمون شاپیروویلک استفاده شد. توصیف آماری داده‌ها با میانگین و انحراف معیار بیان گردید. آزمون‌های تحلیل واریانس یک طرفه برای تجزیه و تحلیل استنباطی داده‌ها مورد استفاده قرار گرفت. کلیه عملیات آماری توسط نرم‌افزار SPSS انجام گرفت و سطح معنی‌داری آزمون  $p \leq 0.05$  در نظر گرفته شد.

## یافته‌ها

نتایج نشان داد میزان بیان ژن IGF-1 در گروه تمرین مقاومتی ( $p < 0.01$ )، گروه مکمل اسپیرولینا ( $p > 0.05$ ) و گروه تمرین مقاومتی + مکمل اسپیرولینا ( $p < 0.001$ ) در مقایسه با گروه کنترل افزایش یافته

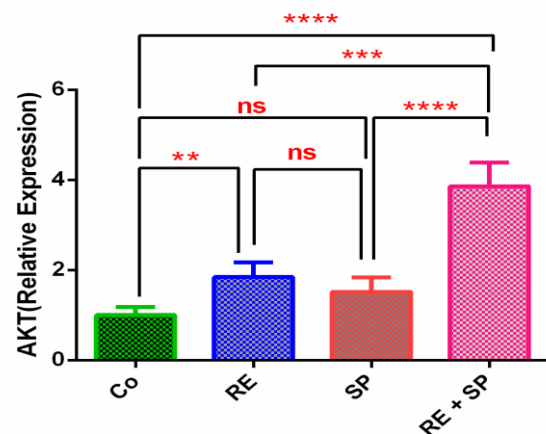
گروه مکمل اسپیرولینا ( $p < 0.05$ ) افزایش را نشان داد (نمودار ۲).



نمودار ۱. نتایج آزمون تحلیل واریانس یک طرفه برای مقایسه مقادیر

بیان ژن IGF-1 در گروه‌های مختلف

\*: اختلاف معنادار در سطح  $p < 0.05$ ; \*\*: اختلاف معنادار در سطح  $p < 0.01$ ; \*\*\*: اختلاف معنادار در سطح  $p < 0.001$ ; ns: اختلاف غیر معنی دار; Co: گروه کنترل; RE: گروه تمرین مقاومتی; SP: گروه مکمل اسپیرولینا; RE+SP: گروه تمرین مقاومتی + مکمل اسپیرولینا

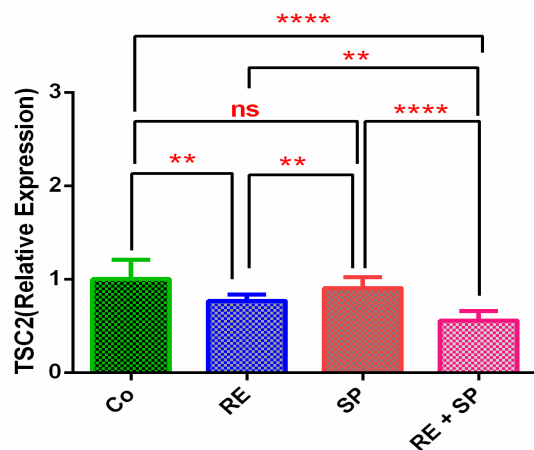


نمودار ۲. نتایج آزمون تحلیل واریانس یک طرفه برای مقایسه مقادیر

بیان ژن AKT در گروه‌های مختلف

\*: اختلاف معنادار در سطح  $p < 0.01$ ; \*\*\*: اختلاف معنادار در سطح  $p < 0.001$ ; ns: اختلاف غیر معنی دار; Co: گروه کنترل; RE: گروه تمرین مقاومتی; SP: گروه مکمل اسپیرولینا; RE+SP: گروه تمرین مقاومتی + مکمل اسپیرولینا

در مطالعه حاضر، یافته‌های ما از ارزیابی میزان بیان ژن TSC2 حاکی از این بود که تمرین مقاومتی ( $p < 0.01$ )، مکمل اسپیرولینا ( $p > 0.05$ ) و تمرین مقاومتی + مکمل اسپیرولینا ( $p < 0.001$ ) باعث کاهش میزان بیان ژن TSC2 شده است. همچنین، میزان بیان ژن TSC2 در گروه تمرین مقاومتی + مکمل اسپیرولینا نسبت به گروه تمرین مقاومتی ( $p < 0.01$ ) و گروه مکمل اسپیرولینا ( $p < 0.001$ ) و در گروه تمرین مقاومتی نسبت به گروه مکمل اسپیرولینا ( $p < 0.01$ ) کاهش را نشان داد (نمودار ۳).



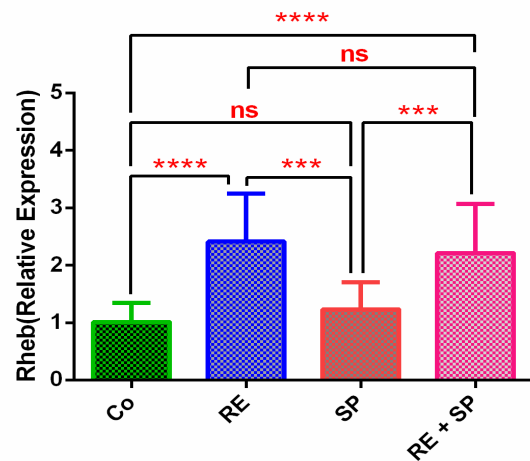
نمودار ۳. نتایج آزمون تحلیل واریانس یک طرفه برای مقایسه مقادیر

بیان ژن TSC2 در گروه‌های مختلف

\*: اختلاف معنادار در سطح  $p < 0.01$ ; \*\*\*\*: اختلاف معنادار در سطح  $p < 0.0001$ ; ns: اختلاف غیر معنی دار; Co: گروه کنترل; RE: گروه تمرین مقاومتی; SP: گروه مکمل اسپیرولینا; RE+SP: گروه تمرین مقاومتی + مکمل اسپیرولینا

در بررسی تغییرات Rheb نشان از این بود که تمرین مقاومتی ( $p < 0.001$ )، مکمل اسپیرولینا ( $p > 0.05$ ) و تمرین مقاومتی + مکمل اسپیرولینا ( $p < 0.001$ ) باعث افزایش میزان بیان ژن Rheb شده است. همچنین، میزان بیان ژن Rheb در گروه تمرین مقاومتی + مکمل اسپیرولینا نسبت به گروه تمرین مقاومتی کاهش ( $p > 0.05$ ) و نسبت به گروه مکمل اسپیرولینا افزایش ( $p < 0.001$ ) و در گروه تمرین

مقاومتی نسبت به گروه مکمل اسپیرولینا افزایش  
( $p < 0.001$ ) را نشان داد (نمودار ۴).



نمودار ۴. نتایج آزمون تحلیل واریانس یک طرفه برای مقایسه مقادیر بیان ژن Rheb در گروه‌های مختلف

\*\*\*\*: اختلاف معنادار در سطح  $p < 0.001$ ; \*\*\*\*: اختلاف معنادار در سطح  $p < 0.0001$ ; ns: اختلاف غیر معنی دار; Co: گروه کنترل; RE: گروه تمرین مقاومتی; SP: گروه مکمل اسپیرولینا; RE+SP: گروه تمرین مقاومتی + مکمل اسپیرولینا

## بحث

یافته‌های این مطالعه نشان داد که بیان ژن IGF-1 در کلیه موش‌های صحرایی نر تحت تمرین مقاومتی و مکمل دهی با اسپیرولینا به‌طور معناداری افزایش یافته است. این نتایج می‌توانند به مکانیزم‌های سلولی و مولکولی مرتبط با تأثیرات تمرین مقاومتی و مکمل دهی اسپیرولینا بر بیان ژن IGF-1 اشاره داشته باشد [۱۹]. فاکتور رشد شبیه انسولین نوع ۱ (IGF-1) نقش کلیدی در رشد و توسعه سلول‌ها ایفا می‌کند و می‌تواند از طریق فعال سازی مسیرهای سیگنالینگ مانند مسیر PI3K/AKT، تأثیرات مثبتی بر متابولیسم و رشد عضلات داشته باشد [۲۰]. تمرین مقاومتی به‌ویژه می‌تواند منجر به افزایش بیان IGF-1 شود که به نوبه خود باعث تحریک سنتز پروتئین و افزایش حجم عضلانی می‌گردد [۲۱]. همچنین، اسپیرولینا به عنوان یک مکمل غذایی غنی از پروتئین و آنتی اکسیدان‌ها، ممکن است به تقویت اثرات تمرین

مقاومتی کمک کند و از طریق کاهش استرس اکسیداتیو، بهبود عملکرد سلولی را تسهیل نماید [۲۲]. مطالعات پیشین نشان داده اند که تمرین مقاومتی می‌تواند منجر به افزایش بیان IGF-1 در بافت‌های مختلف شود [۲۱، ۲۰]. برای مثال، مطالعه‌ای که توسط گومز و همکاران (۲۰۰۹) انجام شده، نشان دهنده افزایش قابل توجه IGF-1 در گروه‌های تمرین ورزشی نسبت به گروه کنترل بوده است [۲۳]. همچنین، پژوهش‌های دیگری نیز تأثیر مثبت مکمل دهی اسپیرولینا بر عملکرد ورزشی و متابولیسم پروتئینی را تأیید کرده‌اند [۲۴، ۲۵]. با این حال، برخی از مطالعات نتایج متفاوتی را گزارش کرده‌اند. به عنوان مثال، باقری و همکاران (۲۰۲۲) نشان دادند که مکمل دهی اسپیرولینا تأثیر قابل توجهی بر بیان IGF-1 ندارد و این ممکن است ناشی از تفاوت در دوز مصرفی یا مدت زمان مصرف مکمل اسپیرولینا باشد [۲۶]. همچنین، برخی تحقیقات نشان داده‌اند که در شرایط خاص، مانند رژیم غذایی نامناسب یا عدم تناسب در برنامه تمرینی، تغییرات مورد نظر اتفاق نمی‌افتد [۲۷]. به طور کلی، یافته‌های این مطالعه نشان‌دهنده تأثیر مثبت تمرین مقاومتی و مکمل دهی اسپیرولینا بر بیان ژن IGF-1 در کلیه موش‌های صحرایی نر هستند. با این حال، عدم وجود تفاوت معنادار بین گروه تمرین مقاومتی + مکمل اسپیرولینا با گروه تمرین مقاومتی می‌تواند نشان‌دهنده پیچیدگی‌های بیولوژیکی و نیاز به تحقیقات بیشتر برای درک بهتر مکانیزم‌های زیر ساختی باشد.

همچنین نتایج مطالعه حاضر نشان دهنده وجود تفاوت معنادار در مقادیر بیان ژن AKT در بین گروه‌های مختلف می‌باشد. به‌طور خاص، گروهی که تمرین مقاومتی به همراه مکمل دهی اسپیرولینا را دریافت کرده‌اند، بالاترین مقادیر بیان ژن AKT را نسبت به سایر گروه‌ها نشان دادند. این نتایج می‌تواند به تأثیر مثبت ترکیب تمرینات مقاومتی و مکمل‌های غذایی بر بیان ژن‌های مرتبط با رشد و متابولیسم سلولی اشاره

کند. بر اساس نتایج مطالعات، مکانیسم‌های اثر اسپیرولینا و تمرین مقاومتی بر بیان ژن AKT می‌توانند از طریق فعال‌سازی مسیر PI3K/Akt باشد [۸]. این مسیر سیگنالینگ در پاسخ به تحریکات جسمانی و تغذیه ای فعال می‌شود و به تنظیم متابولیسم و رشد سلولی کمک می‌کند [۸، ۱۰]. شواهد نشان می‌دهند که تمرینات مقاومتی می‌توانند منجر به فعال‌سازی این مسیر شوند که در نهایت به افزایش بیان پروتئین‌های کلیدی مانند AKT منجر می‌شود [۱۰]؛ علاوه بر این، اسپیرولینا حاوی مقادیر بالایی از آمینواسیدهاست که می‌توانند به عنوان محرک‌های طبیعی برای سنتز پروتئین‌ها عمل کنند. این آمینواسیدها ممکن است با فعال‌سازی mTOR (مکانیزم هدف دارویی راپامایسین) RAGs<sup>۱</sup>، بیان ژن AKT را افزایش دهند [۲۸]. بنابراین، ترکیب تمرین مقاومتی با مکمل اسپیرولینا ممکن است تأثیرات سینرژیک بر روی بیان ژن‌ها داشته باشد. علاوه بر این، نتایج مطالعه حاضر نشان داد بیان ژن TSC2 در همه گروه‌ها، از جمله گروه‌هایی که تحت تمرین مقاومتی و مکمل اسپیرولینا قرار گرفتند، کاهش یافته بود؛ این تغییر قابل توجه نشان می‌دهد که مداخله به تنهایی و در ترکیب اثر مستقیمی بر بیان ژن TSC2 در بافت کلیه سالم موش صحرایی دارد. این با مطالعات قبلی مطابقت دارد که نشان می‌دهد TSC2 ممکن است به اندازه سایر ژن‌های دخیل در مسیر mTOR به تغییرات حاد در فعالیت بدنی یا مکمل‌های غذایی پاسخگو باشد [۲۹، ۳۰]. جالب توجه است، در حالی که مکمل اسپیرولینا در مقایسه با گروه کنترل بالا بود اما از لحاظ آماری تأثیر معنی‌داری بر بیان TSC2 نداشت، این نشان می‌دهد که مشخصات اسیدآمینو غنی اسپیرولینا، به ویژه لوسین، ممکن است mTOR را از طریق RAGها مستقل از مدولاسیون TSC2 فعال کند [۳۰]. بنابراین ترکیبی از تمرین مقاومتی و

<sup>1</sup> Recombination Activating Genes

مکمل اسپیرولینا منجر به کاهش قابل توجهی در بیان ژن TSC2 شد که این تأثیر هم‌افزایی را بر روی مسیرهای خاص برجسته می‌کند.

این مطالعه همچنین نشان داد که تمرینات مقاومتی و مکمل‌دهی با اسپیرولینا تأثیرات قابل توجهی بر افزایش بیان ژن Rheb و عملکردهای فیزیولوژیکی دارند. تمرینات مقاومتی به عنوان یکی از روش‌های مؤثر برای افزایش قدرت و توده عضلانی شناخته می‌شوند [۱۰، ۲۹]. یافته‌ها نشان می‌دهند که تمرینات مقاومتی موجب افزایش بیان ژن Rheb در کلیه موش‌های صحرایی می‌شود. در نهایت، نتایج مطالعه حاضر نشان داد که اگرچه تفاوت معناداری بین گروه تمرین مقاومتی به تنهایی و گروه تمرین مقاومتی با مکمل اسپیرولینا وجود نداشت، اما مصرف اسپیرولینا در کنار تمرینات مقاومتی می‌تواند مزایای قابل توجهی در افزایش بیان ژن AKT داشته باشد. این یافته‌ها نیازمند تحقیقات بیشتر برای بررسی دقیق‌تر مکانیسم‌های بیوشیمیایی و تأثیرات طولانی‌مدت این ترکیب هستند.

عواملی از قبیل عدم امکان کنترل دقیق فعالیت‌های روزانه هر یک از موش‌های صحرایی و عدم کنترل استرس‌های احتمالی که در طول تمرین یا شبانه روز بر موش‌های صحرایی وارد می‌شود از محدودیت‌های مطالعه حاضر می‌باشد.

### نتیجه‌گیری

یافته‌های این مطالعه به وضوح نشان می‌دهند که تمرین مقاومتی و مکمل‌دهی با اسپیرولینا تأثیرات مثبتی بر بیان ژن‌های کلیدی مرتبط با رشد و متابولیسم در کلیه موش‌های صحرایی نر دارند. افزایش معنادار بیان ژن IGF-1، AKT و Rheb کاهش معنادار بیان ژن TSC2 در گروه‌های تحت تمرین مقاومتی و گروه مکمل اسپیرولینا، حاکی از تأثیرات سینرژیک این دو عامل بر فرآیندهای بیولوژیکی است که به بهبود عملکرد اندام‌ها و

### تشکر و قدردانی

مقاله حاضر برگرفته از پایان نامه کارشناسی ارشد فیزیولوژی و تغذیه ورزش دانشگاه خلیج فارس می باشد (دانشجو: ز.ک؛ راهنما: ع.زر؛ مشاور: س.ز؛ مشاور: ر.ر). لذا نویسندگان از معاونت پژوهشی دانشگاه خلیج فارس و همچنین از تمامی کسانی که در اجرای این تحقیق یاری رساندند، کمال تقدیر و تشکر را دارند.

### تعارض منافع

نویسندگان هیچ گونه تعارض منافی ندارند.

متابولیسم کمک می کند. این مطالعه نیاز به تحقیقات بیشتر برای بررسی دقیق تر مکانیزم های بیوشیمیایی و تأثیرات طولانی مدت ترکیب تمرین مقاومتی و مکمل دهی اسپیرولینا را تأکید می کند. این یافته ها می توانند راهگشای طراحی برنامه های تمرینی و تغذیه ای بهینه برای ارتقاء سلامت و عملکرد سیستم های بدن باشند. از طرف دیگر جهت بررسی دقیق تر تأثیرات مثبت تمرین مقاومتی و اسپیرولینا بر کلیه لازم است فاکتورهای بیوشیمیایی شاخص عملکرد کلیه و ارزیابی هیستولوژی آن صورت گیرد.

### References

- 1- Saxton RA, Sabatini DM. mTOR signaling in growth, metabolism, and disease. *Cell*. 2017;168(6):960-76.
- 2- Panwar V, Singh A, Bhatt M, Tonk RK, Azizov S, Raza AS, et al. Multifaceted role of mTOR (mammalian target of rapamycin) signaling pathway in human health and disease. *Signal Transduct Target Ther*. 2023;8(1):375.
- 3- Chrienova Z, Nepovimova E, Kuca K. The role of mTOR in age-related diseases. *J Enzyme Inhib Med Chem*. 2021;36(1):1678-92.
- 4- Levitt DE, Luk H-Y, Vingren JL. Alcohol, resistance exercise, and mTOR pathway signaling: an evidence-based narrative review. *Biomolecules*. 2022;13(1):2.
- 5- Ogasawara R, Jensen TE, Goodman CA, Hornberger TA. Resistance exercise-induced hypertrophy: a potential role for rapamycin-insensitive mTOR. *Exerc Sport Sci Rev*. 2019;47(3):188-94.
- 6- Lim C, Nunes EA, Currier BS, Mcleod JC, Thomas AC, Phillips SM. An evidence-based narrative review of mechanisms of resistance exercise-induced human skeletal muscle hypertrophy. *Med Sci Sports Exerc*. 2022;54(9):1546.
- 7- Hassaan MS, Mohammady EY, Soaudy MR, Sabae SA, Mahmoud AM, El-Haroun ER. Comparative study on the effect of dietary  $\beta$ -carotene and phycocyanin extracted from *Spirulina platensis* on immune-oxidative stress biomarkers, genes expression and intestinal enzymes, serum biochemical in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Fish Shellfish Immunol*. 2021; 108:63-72.
- 8- 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. *Sci Sports*. 2020;35(2):91-8.
- 9- Karkos P, Leong S, Karkos C, Sivaji N, Assimakopoulos D. *Spirulina* in clinical practice: evidence-based human applications. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2011;2011(1):531053.
- 10- 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 Biomed J*. 2024;12(1):23-7.
- 11- Watanabe H, Martini AG, Brown EA, Liang X, Medrano S, Goto S, et al. Inhibition of the renin-angiotensin system causes concentric hypertrophy of renal arterioles in mice and humans. *JCI Insight*. 2021;6(24).
- 12- Formigari GP, Dátalo MN, Vareda B, Bonfante ILP, Cavaglieri CR, Lopes de Faria JM, et al. Renal protection induced by physical exercise may be mediated by the irisin/AMPK axis in diabetic nephropathy. *Sci Rep*. 2022;12(1):9062.

- 13- Semeraro MD, Almer G, Kaiser M, Zelzer S, Meinitzer A, Scharnagl H, et al. The effects of long-term moderate exercise and Western-type diet on oxidative/nitrosative stress, serum lipids and cytokines in female Sprague Dawley rats. *Eur J Nutr*. 2022;1-14.
- 14- Ghodsbini S, Farsi S, Hosseini SA. Correlation between CRP and IL-6 serum levels after induction of diabetes and eight weeks resistance training in rats. *Rep Health Care*. 2017;3(4):1-9.
- 15- Hosseini S, Azarbayjani M. The effect of aqua extract of saffron with resistance training on glycemic indexes of streptozotocin induced diabetic rats. *Armaghan J*. 2013;18(4):284-94.[Full text in Persian]
- 16- Lee S, Farrar RP. Resistance training induces muscle-specific changes in muscle mass and function in rat. *J Exerc Physiol Online*. 2003;6(2).
- 17- 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. *Sci Rep*. 2016; 6:25139.
- 18- Liping L, Li-an Q, Yiquan W, Guorong Y. Spirulina platensis extract supplementation attenuates oxidative stress in acute exhaustive exercise: a pilot study. *Int J Phys Sci*. 2011;6(12):2901-6.
- 19- Khalaj Samadi F, Shahidi F, Salehpour M. Effects of prolonged whey protein supplementation and resistance training on the gene expression of IGF-1 and gastrocnemius muscle weight in young male Wistar rats. *J Exerc Organ Cross Talk*. 2023;3(3):124-31.
- 20- Yin L, Lu L, Lin X, Wang X. Crucial role of androgen receptor in resistance and endurance trainings-induced muscle hypertrophy through IGF-1/IGF-1R-PI3K/Akt-mTOR pathway. *Nutr Metab*. 2020; 17:1-10.
- 21- Feng L, Li B, Xi Y, Cai M, Tian Z. Aerobic exercise and resistance exercise alleviate skeletal muscle atrophy through IGF-1/IGF-1R-PI3K/Akt pathway in mice with myocardial infarction. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2022;322(2):C164-C76.
- 22- Cho JA, Baek SY, Cheong SH, Kim MR. Spirulina enhances bone modeling in growing male rats by regulating growth-related hormones. *Nutrients*. 2020;12(4):1187.
- 23- Gomes RJ, de Oliveira CAM, Ribeiro C, Mota CSdA, Moura LP, Tognoli LMMC, et al. Effects of exercise training on hippocampus concentrations of insulin and IGF-1 in diabetic rats. *Hippocampus*. 2009;19(10):981-7.
- 24- Kalafati M, Jamurtas AZ, Nikolaidis MG, Paschalis V, Theodorou AA, Sakellariou GK, et al. Ergogenic and antioxidant effects of spirulina supplementation in humans. *Med Sci Sports Exerc*. 2010;42(1):142-51.
- 25- Lu H-K, Hsieh C-C, Hsu J-J, Yang Y-K, Chou H-N. Preventive effects of Spirulina platensis on skeletal muscle damage under exercise-induced oxidative stress. *Eur J Appl Physiol*. 2006; 98:220-6.
- 26- Bagheri R, Negaresh R, Motevalli MS, Wong A, Ashtary-Larky D, Kargarfard M, et al. Spirulina supplementation during gradual weight loss in competitive wrestlers. *Br J Nutr*. 2022;127(2):248-56.
- 27- Abozaid H, Elnady A, Aboelhassan DM, Mansour H, Abedo A, Ghaly IS, et al. Impact of Spirulina platensis as a dietary supplement on growth performance, blood biochemical parameters, and expression of growth-related genes in Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Egypt J Vet Sci*. 2023;54(6):1265-77.
- 28- Zar A, Ahmadi F, Karimi F, Ahmadi M, Ramsbottom R. Effect of resistance training and Spirulina platensis on expression of IL-6, Gp130 cytokines, JAK-STAT signaling in male rats skeletal muscle. *Mol Cell Biomech*. 2022;19(2).
- 29- Hamidi F, Sadeghipour HR, Zar S, Ranjbar R. Variation in the TSC2 (RAGs)/mTOR/4E-BPs gene pathway in the kidney tissue of male rats following a resistance training exercise and Spirulina plantensis supplementation. *Sport Physiol*. 2024;16(61):31-46.
- 30- Sadeghipour HR, Raeisi F, Zar A. 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. *J Appl Health Stud Sport Physiol*. 2024;11(1):223-36.