Feyz Medical Sciences Journal
2025, Volume 29, Issue 4
Pages: 1-13
Doi: 10.48307/FMSJ.2025.29.4.303
Original Article

The effects of eight weeks of high-intensity interval training and gallic acid supplementation on mTORC1 and ULK1 gene expression in the kidney tissue of cadmium-exposed rats

Maryam Zarei [1], Ahmad Hematfar [1*], Seyedd Ali Hosseini [2], Arash Sameni [3]

[1] Department of Physical Education and Exercise Science, Bo. C., Islamic Azad University, Borujerd, Iran
[2] Department of Exercise Physiology, Marv.C, Islamic Azad University, Marvdasht, Iran
[3] Department of Physical Education and Exercise Science, Za.C., Islamic Azad University, Zanjan, Iran

[*]**Corresponding author: Ahmad Hematfar,** Department of Physical Education and Exercise Science, Bo. C., Islamic Azad University, Borujerd, Iran
Email: ahematfar@iau.ac.ir

Received: 9 December 2024 **Revised:** 30 July 2025 **Accepted:** 30 July 2025

Abstract

Background and Aim: Cadmium (Cd), a toxic heavy metal, accumulates in the kidney and induces nephrotoxicity by disrupting cellular signaling pathways. The mTORC1 and ULK1 pathways play key roles in balancing protein synthesis and autophagy. This study aimed to evaluate the combined effects of eight weeks of high-intensity interval training (HIIT) and gallic acid (GA) supplementation on the expression of mTORC1 and ULK1 genes in the kidney tissue of rats exposed to cadmium toxicity.

Methods: In this experimental study, 42 male Sprague-Dawley rats were randomly assigned to seven groups (n = 6 per group): healthy control (HC), Cd-exposed (5 mg/kg/day), sham, Cd + GA, Cd + HIIT, Cd + HIIT + GA. GA supplementation groups received 20 mg/kg/day orally for eight weeks. HIIT groups underwent an eight-week training protocol, three sessions per week, at 80–110% VO_2max. At the end of the intervention, mTORC1 and ULK1 gene expression in kidney tissue was measured using real-time PCR.

Results: In the Cd group, mTORC1 expression was significantly decreased (P = 0.001) and ULK1 expression was significantly increased (P = 0.001) compared to the HC group. All intervention groups (Cd + GA, Cd + HIIT, Cd + HIIT + GA) showed significant increases in mTORC1 expression and decreases in ULK1 expression compared to the Cd group (P = 0.001). Moreover, the Cd + HIIT + GA group showed significantly greater mTORC1 expression and lower ULK1 expression compared with both the Cd + GA and Cd + HIIT groups (P = 0.001). In addition, ULK1 expression was significantly lower in the Cd + GA group compared to the Cd + HIIT group (P = 0.004).

Conclusion: The findings indicate that although HIIT and gallic acid supplementation individually mitigate cadmium-induced disruptions in mTORC1 and ULK1 signaling, their combination exerts a stronger synergistic effect. This combination may represent a promising therapeutic strategy to reduce cadmium-induced renal toxicity.

Keywords: High-Intensity Interval Training (HIIT), Gallic acid, Cadmium, Renal toxicity, mTORC1, ULK1, Autophagy

Copyright© 2025. This open-access article is published under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License which permits Share (copy and redistribute the material in any medium or format) and Adapt (remix, transform, and build upon the material) under the Attribution-NonCommercial terms. Downloaded from: http://feyz.kaums.ac.ir/

Extended Abstract

Background and Objective

Cadmium (Cd) exposure is a significant contributor to the development of cardiovascular and renal diseases [1, 2]. Cd disrupts cellular homeostasis, leading to dysregulation of the autophagy system and the mammalian target of rapamycin (mTOR) and Unc-51-like autophagy activating kinase 1 (ULK1) pathways in kidney tissue [3, 4]. Conversely, regular physical activity has been shown to reduce inflammatory factors, decrease oxidative stress, improve glomerular filtration, enhance autophagy markers (such as Beclin-1 and ULK1), and improve the functional capacity and quality of life in patients with renal conditions [5, 6, 10]. Gallic acid (GA) possesses potent antioxidant properties, scavenges free radicals, reduces lipid peroxidation, exhibits antibacterial and anti-inflammatory effects, and initiates autophagy via the activation of the PI3K/Akt/Atg16L1 pathway in kidney tissue [11, 13]. Given the growing importance of preventing renal diseases induced by Cd toxicity, it appears crucial to propose appropriate strategies for mitigating kidney damage caused by this heavy metal. Therefore, the present study aimed to investigate the effect of eight weeks of high-intensity interval training (HIIT) combined with gallic acid supplementation on mTOR and ULK1 gene expression in the kidney tissue of cadmium-exposed rats.

Methods

In this study, a total of 42 male Sprague-Dawley rats, approximately 8-9 weeks old and weighing 250-270 grams, were randomly divided into the following groups: Healthy Control (HC), Cadmium-treated (Cd), Sham, Cadmium + Gallic Acid (Cd+GA), Cadmium + High-Intensity Interval Training (Cd+HIIT), and Cadmium + High-Intensity Interval Training + Gallic Acid (Cd+HIIT+GA). Rats in the Cd groups received 5 mg of Cd per kilogram of body weight daily in their drinking water (14). Rats in the GA groups consumed 20 mg of GA per kilogram of body weight daily, dissolved in dextrose and water [14]. The training groups performed HIIT sessions for eight weeks, three sessions per week, at an intensity of 80–110% VO_2max per session. Forty-eight hours after the last training session and supplementation, kidney tissues were carefully dissected by specialists. After washing, the tissues were stored in specialized microtubes at -70°C for preservation. For molecular analysis of mTOR and ULK1 gene expression, RNA extraction from kidney tissue was initially performed using a kit (Sinagen, Iran; Economic Code: PR891620). Subsequently, cDNA synthesis was carried out according to the Fermentas protocol (K1621), and the synthesized cDNA was then used for reverse transcription reactions. All primers were designed using Allele IDv7.8 software, and the TATA-binding protein (TBP) gene was utilized as an internal control. For data quantification, the $2^{-\Delta\Delta CT}$ formula was employed. The sequences of the primers used in this study are presented in Table 1. One-way analysis of variance (ANOVA) followed by Tukey's post-hoc test, and two-way analysis of variance (ANOVA) followed by Bonferroni's post-hoc test were used to examine differences between the groups.

Table- 1. Sequences of Primers Used in the Study

Genes	Primer Sequences	Sizes (bp)
TBP	*Forward: 5'- GCGGGGTCATGAAATCCAGT-3'*	*147*
	Reverse: 5'- AGTGATGTGGGGACAAAACGA -3'	
mTORC1	Forward: 5'- CATTGGCTGGTGTCCTTTCT-3'	*84*
	Reverse: 5'- GAAGCACAGACCAAGGTACAA-3'	
Ulk1(ATG1)	*Forward: 5'-CCCCAACCTTTCGGACTT-3'*	*269*
	Reverse: 5'-CCAACAGGGTCAGCAAACTC-3'	

Results

The results demonstrated that mTORC1 levels in the Cd group were significantly lower than the HC group (P<0.001). Furthermore, mTORC1 levels in the Cd+GA (P<0.001), Cd+HIIT (P<0.001), and Cd+HIIT+GA (P<0.001) groups were significantly higher than those of in the Cd group. The Cd+HIIT+GA group exhibited significantly higher mTORC1 levels than both the Cd+GA (P<0.001) and Cd+HIIT (P<0.001) groups. Additionally, a synergistic effect of exercise and supplementation was observed on increasing mTORC1 (P<0.001) (Figure 1).

Regarding ULK1 levels, the results indicated a significant increase in the Cd group compared to the HC group (P<0.001). Conversely, ULK1 levels in the Cd+GA (P<0.001), Cd+HIIT (P<0.001), and Cd+HIIT+GA (P<0.001) groups were significantly lower than in the Cd group. Moreover, ULK1 levels in the Cd+GA group were significantly lower than in the Cd+HIIT group (P=0.004). The Cd+HIIT+GA group showed significantly lower ULK1 levels compared to both the Cd+GA (P<0.001) and Cd+HIIT (P<0.001) groups. Furthermore, exercise and supplementation demonstrated a synergistic effect on reducing ULK1 expression (P<0.001) (Figure 1).

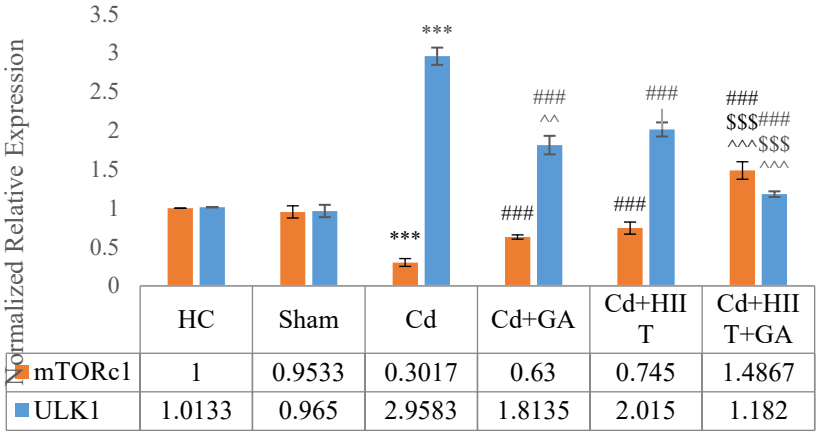


Figure -1. Gene Expression Levels of mTORC1 and ULK in Rat Kidney Tissues across Different Study Groups
*** Significant change in the Cd group compared to the HC and Sham groups (P<0.001); ### Significant change compared to the Cd group (P<0.001); $$$ Significant change compared to the Cd+GA group (P<0.001); ^^^ Significant change compared to the Cd+HIIT group (P<0.001).

Discussion

The results of the present study indicated that gene expression of mTORC1 was significantly higher, and ULK1 levels were significantly lower in the Cd+GA, Cd+HIIT, and Cd+HIIT+GA groups compared to the Cd group. Moreover, mTORC1 expression was significantly higher, and ULK1 levels were significantly lower in the Cd+HIIT+GA group compared to the Cd+GA and Cd+HIIT groups. ULK1 levels in the Cd+GA group were significantly lower than those of the Cd+HIIT group. Researchers have shown that cadmium, by increasing oxidative stress, impairs the function of autophagy-regulating proteins such as mTORC1, ultimately causing disruption of the autophagy mechanism and tumorigenesis [17]. It appears that HIIT plays a role in increasing MAPK and mTORC1 [20], as well as enhancing Atg6/Beclin1 and Atg7, while positively modulating Atg8/LC3 in the regulation of autophagy [19]. On the other hand, GA, through ROS neutralization, MDA reduction, increased SOD and GPx activity, apoptosis modulation [23], cell cycle regulation, regulation of the AKT/Small GTPase axis, and regulation of the PI3K/Akt/Atg16L1 axis, leads to optimal regulation of autophagy in kidney tissue [13]. No studies were found that investigated the simultaneous effect of exercise and GA on autophagy markers in kidney tissue.

However, previous studies have shown that exercise and GA concurrently modulate circulating levels of sex hormones [26], hepatic enzymes [27], and increase catalase and GPx [28]. Therefore, it seems that exercise and GA consumption can potentiate each other's effects on antioxidants. Another point is that in the Cd+GA group, the gene expression levels of ULK1 were significantly lower than in the Cd+HIIT group.

Conclusion

Overall, while both HIIT exercise and GA are effective in modulating the expression of the two studied genes in kidney tissue following cadmium-induced kidney injury, the combination of exercise and GA appears to have a more favorable effect on the two autophagy-regulating proteins (mTORC1 and ULK1) in kidney tissue, owing to their synergistic enhancing effects.

مجله علوم پزشکی فیض
دوره ۲۹، شماره ۴، مهر و آبان
صفحات: ۳۱۵-۳۰۳
Doi: 10.48307/FMSJ.2025.29.4.303
اصیل پژوهشی

تأثیر هشت هفته تمرین تناوبی شدید *(HIIT)* و مکمل‌یاری گالیک اسید بر بیان ژن‌های *mTORC1* و *ULK1* در بافت کلیه موش‌های صحرایی مسموم با کادمیوم

مریم زارعی[۱]، احمد همت فر[۱*]، سید علی حسینی[۲]، آرش سامنی[۳]

[۱] گروه تربیت بدنی، واحد بروجرد، دانشگاه آزاد اسلامی، بروجرد، ایران
[۲] گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد مرودشت، دانشگاه آزاد اسلامی، مرودشت، ایران
[۳] گروه تربیت بدنی، واحد زنجان، دانشگاه آزاد اسلامی، زنجان، ایران

دریافت مقاله: ۱۴۰۳/۹/۱۹ **اصلاح مقاله:** ۱۴۰۴/۵/۸ **پذیرش مقاله:** ۱۴۰۴/۵/۸

چکیده

زمینه و هدف: کادمیوم (Cd) به عنوان یک فلز سنگین سمی، با تجمع در کلیه باعث ایجاد نفروتوکسیسیتی و اختلال در مسیرهای سیگنالینگ سلولی می‌شود. مسیرهای mTORC1 و ULK1 نقش کلیدی در تعادل بین سنتز پروتئین و اتوفاژی دارند. این مطالعه به ارزیابی تأثیر ترکیبی هشت هفته تمرین تناوبی شدید (HIIT)و مکمل گالیک اسید (GA) بر بیان این ژن‌ها در بافت کلیه موش‌های صحرایی تحت تأثیر سمیت کادمیوم پرداخت.

روش‌ها: در این مطالعه تجربی، ۴۲ سر موش صحرایی نر نژاد Sprague-Dawley به طور تصادفی در ۷ گروه ۶ تایی تقسیم شدند: کنترل سالم، دریافت‌کننده کادمیوم(۵ mg/kg/day)، شم، کادمیوم + گالیک اسید، کادمیوم + تمرین، کادمیوم + تمرین + گالیک اسید. گروه‌های مکمل، گالیک اسید را با دوز روزانه ۲۰ mg/kg به مدت ۸ هفته دریافت کردند. گروه‌های ورزشی نیز به مدت ۸ هفته و ۳ جلسه در هفته، پروتکل HIIT را با شدت ۱۱۰-۸۰ درصد Vo2max اجرا نمودند. در پایان، بیان ژن‌های mTORC1 و ULK1 در بافت کلیه با استفاده از تکنیک Real-time PCR اندازه‌گیری شد

یافته‌ها: بیان ژن mTORC1 (P=۰/۰۰۱) در گروه Cd به طور معنی‌داری کمتر و ULK1 (P=۰/۰۰۱) به طور معنی داری بیشتر از گروه HC بود. بیان ژن *mTORC1* در گروه‌های Cd+GA (P=۰/۰۰۱)، Cd+HIIT (P=۰/۰۰۱) و Cd+HIIT+GA (P=۰/۰۰۱) به طور معنی‌داری بیشتر و مقادیر *ULK1* در این گروه‌ها کمتر از گروه Cd بود. بیان ژن *mTORC1* در گروه Cd+HIIT+GA به طور معنی‌داری بیشتر و مقادیر *ULK1* در این گروه کمتر از گروه‌های Cd+GA (P=۰/۰۰۱) و Cd+HIIT (P=۰/۰۰۱) بود. مقادیر *ULK1* در گروه Cd+GA به طور معنی‌داری کمتر از گروه Cd+HIIT بود (P=۰/۰۰۴).

نتیجه‌گیری: یافته‌ها نشان می‌دهد که اگرچه هر دو مداخله تمرین HIIT و مکمل‌یاری گالیک اسید به تنهایی می‌توانند اختلال ایجادشده توسط کادمیوم در مسیرهای mTORC1 و ULK1 را بهبود بخشند، اما ترکیب این دو روش دارای اثر سینرژیستیک (هم‌افزایی) قوی‌تری است. این نتیجه می‌تواند حاکی از یک راهبرد درمانی بالقوه مؤثر برای کاهش سمیت کلیوی ناشی از کادمیوم باشد

کلیدواژه‌ها: تمرین تناوبی شدید (HIIT)، گالیک اسید، کادمیوم، سمیت کلیوی، mTORC1، ULK1، اتوفاژی

*نویسنده مسئول: **احمد همت فر** پست الکترونیک:ahematfar@yahoo.com
آدرس: گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد بروجرد، دانشگاه آزاد اسلامی، بروجرد، ایران

مقدمه

بیماری های مزمن کلیوی به طور پیشرونده در حال افزایش است؛ به گونه ای که ۸ تا ۱۶ درصد از افراد جهان را با مسائل و مشکلات مربوط به خود روبرو کرده است. از سویی کادمیوم (Cadmium, Cd) به‌عنوان یک فلز سنگین بدون ارزش غذایی و فیزیولوژیک شناخته می شود که در عصر نوین در محیط زیست افزایش یافته است. افزایش این فلز سنگین موجب بروز بیماری های متابولیکی فراوان شده است. از جمله این بیماری ها می توان به بیماری‌های قلبی عروقی و کلیوی اشاره نمود [۱،۲]. از آنجا که Cd می تواند با افزایش رادیکال‌های آزاد منجر به اختلال در متابولیسم سلول شود؛ به نظر می‌رسد می‌تواند به راحتی به سیستم هموستازی سلول از جمله آپوپتوز، سیستم آنتی‌اکسیدانی و سیستم اتوفاژی آسیب می‌زند [۳]. از آنجا که سیگنالینگ اتوفاژی با فعال سازی پروتئین هدف راپامایسین (mTOR , mechanistic target of rapamycin) و Unc–۵۱ – شبه اتوفاژی فعال کننده کیناز–۱ (ULK1) Unc-51-like autophagy-activating kinase 1 می‌تواند آتروژین‌های ۵ (Atrogin 5, Atg5) ، Atg12، سیرتوئین ۱ و LC3-II Microtubule-associated proteins 1A/1B light chain 3B (hereafter referred to as LC3) را فعال می‌کنند [۳،۴].

از سویی با توجه به شرایط موجود و پیشرفت علوم پزشکی اطلاعات حاکی از آن است که فعالیت های بدنی منظم می‌تواند به عنوان راه‌کاری مناسب برای پیشگیری و درمان برخی از بیماری‌ها مورد توجه محققین قرار گرفته باشد. به گونه‌ای که فعالیت‌های ورزشی مکانیسم آپوپتوز را در شرایط سمیت کلیوی تنظیم می‌کند [۵]. اطلاعات نشان می‌دهند که فعالیت‌های منظم و طولانی مدت ورزشی می توانند منجر به کاهش عوامل التهابی، کاهش وزن، کاهش استرس اکسیداتیو، کاهش قند خون، بهبود فیلتراسیون گلومرولی و همچنین افزایش ظرفیت عملکردی و کیفیت زندگی بیماران کلیوی شود [۶]. مطالعه ای نتایج نشان داد که هشت هفته تمرین مداوم منجر به تعدیل و کاهش نشانگرهای آپوپتوزی در بافت عضله اسکلتی در یک مدل نارسایی کلیه در موش‌های صحرایی گردید [۷]؛ در مطالعه‌ای دیگر نیز نتایج نشان داد هشت هفته ورزش استقامتی منجر به افزایش پروتئین رونویسی تنفسی ۲ (Nuclear Factor Erythroid 2 - Related Factor, NRF2)، تنظیم افزایشی بیان آنتی‌اکسیدان‌ها و همچنین کاهش پروتئین P53 گردید و از این مسیر نیز آپوپتوز را کاهش داد [۸]. علی رغم انجام مطالعات در حیطه تاثیر تمرینات ورزشی بر نشانگرهای اتوفاژی در اندام‌های دیگر، بررسی این مکانیسم سلولی مولکولی در بافت کلیه هنوز به خوبی شناخته نشده است. اما اطلاعات نشان داد که هشت هفته تمرین تناوبی منجر به کاهش پروتئین‌های خانه سرچنگالی O ۳ Forkhead box protein O (FOXO3a) و Beclin-1 به عنوان پروتئین های پیش برنده اتوفاژی در بافت قلب موش‌های صحرایی مبتلا به دیابت نوع ۲ شد [۹]. همچنین نتایج مطالعه‌ای حاکی از افزایش Beclin-1 و عدم تغییر ULK1 متعاقب تمرین تداومی با شدت متوسط در بافت عضله اسکلتی موش‌های صحرایی سالمند بود [۱۰]. لذا با توجه مطالعات انجام شده به نظر می‌رسد فعالیت ورزشی می‌تواند به تنظیم و تعدیل اتوفاژی منجر شود.

علاوه بر فعالیت های ورزشی، استفاده از آنتی اکسیدان‌های طبیعی در کنار ورزش برای بهبود بیماری‌ها همواره مورد توجه محققین بوده است. در میان ترکیبات فنولی گالیک اسید (GA) Galic Acidیا ۴، ۵ تری هیدروکسی بنزوئیک اسید 4, 5 Hydroxybenzoic acid ماده معطر موجود در گیاهانی مانند گردو، سماق، برگ چای و پوست درخت بلوط است. این ترکیب فنولی دارای اثرات آنتی اکسیدانی، پاک کننده رادیکال های آزاد، کاهنده پراکسیداسیون لیپیدی، ضد باکتریایی، ضد التهاب و تنظیم کننده متابولیسم سلول است [۱۱]. مطالعاتی در زمینه اثرات GA و اثرات متابولیکی آن انجام شده است. به عنوان مثال در مطالعه‌ای GA موجب کاهش عامل رونویسی هسته ای کاپا–B (Nuclear factor kappa B, NF-κB)، کاسپاز۱– Caspase 1، پروتئین کربونیل، ۸–هیدروکسی ۲ دزوکسی گوانوزین (8-hydroxy-2’-deoxyguanosine, 8-OH-dG) در بافت کلیه موش‌های صحرایی در معرض نیکل گردید [۱۲]. در مطالعه‌ای دیگر نتایج نشان داد مصرف گالیک اسید منجر به راه اندازی اتوفاژی از مسیر فعال سازی PI3K/Akt/Atg16L1 در بافت کلیه موش‌های صحرایی حامل تومور در کارسینومای کلیه گردید [۱۳].

علی‌رغم بررسی‌ها، مطالعه‌ای مشاهده نشد که به بررسی اثر همزمان تمرین تناوبی به‌عنوان یک شیوه نوین تمرین و مصرف GA بر ژن‌های mTOR و ULK1 در بافت کلیه متعاقب قرار گرفتن در معرض Cd پرداخته باشد. با توجه به اهمیت پیشگیری از ابتلا به بیماری‌های کلیوی ناشی از سمیت Cd که روزبه روز در حال افزایش است. به نظر می‌رسد ارائه راهکارهای مناسب برای پیشگیری از بیماری‌های کلیوی ناشی از این فلز سنگین ضروری به نظر می‌رسد. بنابراین مطالعه حاضر با هدف بررسی اثر هشت هفته تمرین تناوبی شدید همراه با مصرف گالیک اسید بر mTOR و ULK1 در بافت کلیه موش‌های صحرایی در معرض کادمیوم انجام شد.

روش‌ها

در این مطالعه تجربی ابتدا تعداد ۴۲ سر موش صحرایی نر نژاد اسپراگو–داولی با سن تقریبی ۸–۹ ماه و وزن ۲۵۰ الی ۲۷۰ گرم از مرکز پرورش و تکثیر حیوانات آزمایشگاهی پاستور به صورت هدفمند انتخاب و خریداری شد. این نکته قابل ذکر است که برای

استاندارد بودن تعداد حجم نمونه در این تحقیق از مطالعات مشابه که تحقیق مشابه با تحقیق حاضر انجام داده بودند استفاده شد. در ادامه نمونه‌ها پس از انتقال به آزمایشگاه فیزیولوژی ورزشی مرکز تحقیقات بیماران به مدت یک هفته جهت سازگاری با محیط نگهداری شدند. همچنین در این تحقیق شرایط استاندارد نگهداری حیوانات شامل چرخه روشنایی – تاریکی (۱۲–۱۲ ساعت)، رطوبت نسبی ۵۵ درصد، دمای مناسب ۲۲ تا ۲۴ درجه سانتی گراد، در قفس های پلی کربنات با قابلیت شست و شو با دسترسی آزادانه به آب و غذای ویژه موش‌های صحرایی نگهداری شدند.

گروه‌بندی

در ادامه در روز هشتم تحقیق موش های صحرایی به طور تصادفی ساده به گروه های کنترل سالم (HC)، دریافت کادمیوم (Cd)، شم (Sham)، دریافت کادمیوم + گالیک اسید (Cd+GA)، دریافت کادمیوم + تمرین تناوبی شدید (Cd+HIIT) و دریافت کادمیوم + تمرین تناوبی شدید + گالیک اسید (Cd+HIIT+GA) تقسیم شدند.

تهیه کادمیوم

در تحقیق حاضر کادمیوم کلراید خالص از شرکت سیگما آلدریچ با کد ۷۷۹۰–۷۸–۵ تهیه شد. در ادامه با توجه به تعداد و وزن موش‌های صحرایی ابتدا ۳۵ میلی گرم کادمیوم با حجم آب مصرفی روزانه گروه های دریافت کادمیوم، حل شد و به این صورت موش‌های صحرایی کادمیوم مورد نظر را به‌صورت روزانه و در آب مصرفی دریافت نمودند. این نکته قابل ذکر است که دوز مصرفی معادل ۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم از وزن بدن موش‌های صحرایی بود [۱۴].

تهیه و مصرف گالیک اسید

گالیک اسید در تحقیق حاضر از شرکت سیگما آلدریچ کشور آمریکا با کد اقتصادی ۲۷۶۴۵ تهیه شد. سپس روزانه ۲۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم از وزن بدن موش های صحرایی گالیک اسید در طعم دهنده غذا و آب حل شد و به موش های صحرایی خورانده شد. این نکته قابل ذکر است که برای دریافت مکمل روزانه ۷۲/۸ میلی گرم گالیک اسید را در مقدار ۴/۲ میلی لیتر ترکیب دکستروز و آب حل کردیم و در ادامه مقدار ۳۰ واحد بین المللی از محلول به هر موش با استفاده از بطری ویژه کوچک (پستانک) به موش‌های صحرایی خورانده شد [۱۵].

پروتکل تمرین تناوبی

مدت زمان تحقیق به مدت هشت هفته بود. در این تحقیق، HIIT شامل سه جلسه دویدن هفتگی روی تردمیل با شدت و مدت زمان مشخص می گردد. برای اجرای پروتکل HIIT، در ابتدا حداکثر اکسیژن مصرفی موش‌های صحرایی اندازه گیری شد. برای تعیین حداکثر اکسیژن مصرفی، از آزمون افزایشی استاندارد Bedford و همکاران [۱۵] استفاده شد که توسط لیندرو و همکاران (رفرنس؟) استاندارد سازی شد. برای موش‌ها این آزمون شامل ۱۰ مرحله سه دقیقه ای بود. سرعت در مرحله اول ۰/۳ کیلومتر در ساعت و در مراحل بعدی ۰/۳کیلومتر در ساعت به سرعت نوارگردان اضافه شد در حالی که در تمام مراحل شیب صفر بود. در هر مرحله از آزمایش، زمانی که حیوان دیگر قادر به ادامه کار نبود، سرعت معادل سرعت حیوان در حداکثر اکسیژن مصرفی در نظر گرفته شد.

پس از اندازه‌گیری حداکثر اکسیژن مصرفی، پروتکل اصلی HIIT آغاز شد. پروتکل تمرین HIIT شامل سه مرحله: گرم کردن (۵ دقیقه)، تمرین اصلی، شامل تکرارهای فاصله زمانی ۲ دقیقه (۲ × ۲) (با ریکاوری فعال ۲ دقیقه بین هر بازه) و سرد کردن (۵ دقیقه) بود. موش ها ابتدا روی تردمیل با شدت ۵۰ تا ۶۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی (VO_2max)به مدت ۵ دقیقه گرم کردند. سپس تمرین HIIT شامل ترکیبی از تکرارهای با شدت بالا و با شدت کم بود. تکرارهای فواصل با شدت بالا شامل ۲ دقیقه با شدت ۸۰٪ VO_2max در هفته اول، ۹۰٪ VO_2max در هفته دوم، ۱۰۰٪ VO_2max در هفته سوم و ۱۱۰٪ VO_2max از شروع هفته چهارم تا پایان تمرین هفته هشتم بود. از سوی دیگر، تکرار با شدت کم (فاصله بازیابی) شامل ۲ دقیقه با شدت ۵۰٪ VO_2max خواهد بود. پس از آخرین تکرار بازه با شدت بالا، موش‌ها پروسه سرد کردن را با شدت ۵۰ تا ۶۰ درصد VO_2max به مدت پنج دقیقه انجام می دادند. این نکته قابل ذکر است که تعداد تکرارهای فواصل با شدت بالا بر اساس تمرین هفتگی موش‌ها تعیین می‌گردد. یعنی در هفته اول دو تکرار با شدت بالا انجام شد. هفته دوم شامل چهار تکرار با شدت بالا، هفته سوم شامل شش تکرار با شدت بالا و از ابتدای هفته چهارم به بعد، هشت تکرار با شدت بالا بود. بر این اساس، کل زمان تمرین شامل تمرینات تناوبی با شدت بالا و کم شدت همراه با گرم کردن و سرد کردن به طور میانگین در هفته اول ۱۶ دقیقه، در هفته دوم ۲۴ دقیقه، در هفته سوم ۳۲ دقیقه و در هفته سوم ۴۰ دقیقه بود. این نکته قابل ذکر است که از هفته چهارم به بعد برای رعایت اصل اضافه بار تنها شدت تمرین بر اساس VO_2max افزایش می یافت [۱۶].

تشریح و نمونه برداری

در ادامه دو روز پس از آخرین جلسه تمرین و مکمل دهی، موش‌های صحرایی در حالت ۱۲ ساعت ناشتایی با استفاده از ترکیب کتامین (۷۰ mg/kg) و زایلوزین (۲۰ mg/kg) تهیه شده از شرکت آلفاسان هلند بی هوش شدند. برای تشخیص بی هوشی آزمون‌های رفلکس به درد و لمس شکم حیوان استفاده شد. پس از اطمینان از بی هوشی حیوانات، ابتدا حفره شکمی توسط تیغ جراحی شکافته شد و پس از حذف بافت های دیگر و رویت کلیه ها، بافت کلیه به دقت جدا شد و پس از شست‌وشو به میکروتیوپ-های ویژه نگهداری بافت منتقل شدند. در ادامه بافت‌ها بلافاصله در تانک ازت غوطه‌ور شدند و از آن پس تا زمان اندازه‌گیری

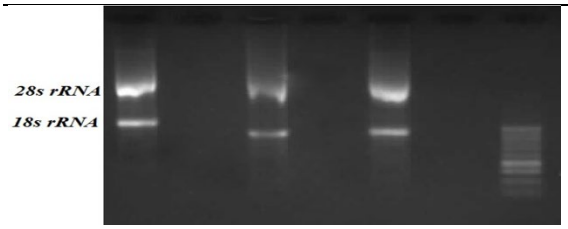
متغیرها در دمای ۷۰ – نگهداری شدند.

روش بررسی بیان ژن‌های mTOR و ULK1

جهت بررسی‌های مولکولی در سطح بیان ژن های mTOR و ULK1 ابتدا استخراج RNA از بافت قلب طبق پروتکل شرکت سازنده (سیناژن، ایران با کد اقتصادی: PR891620)، انجام گرفت، سپس با دستگاه نانو دراپ Nanodrop Lite Spectrophotometer UV/Vis Reader, Thermo Scientific غلظت و درجه خلوص نمونه RNA به صورت کمی بدست آمد. این نکته قابل ذکر است که درجه خلوص RNA در این تحقیق با تجزیه و تحلیل نسبت های جذب ۲۶۰ تا ۲۸۰ (۲/۰ ~) و ۲۲۰ تا ۲۶۰ (۲/۲– ۲/۰) ارزیابی شد. علاوه بر این در تصویر ۱ ژل الکتروفروز برای تعیین و اطمینان از غلظت RNA ارائه شده است. پس از استخراج RNA با خلوص و غلظت بسیار بالا از تمامی نمونه‌های مورد مطالعه مراحل سنتز cDNA طبق پروتکل فرمنتاز (K1621) انجام گرفت و سپس cDNA سنتز شده جهت انجام واکنش رونویسی معکوس مورد استفاده قرار گرفت. جهت بررسی بیان ژن‌ها با استفاده از دستگاه Real-time PCR(Applied Biosystems® StepOne™ ساخت کشور ایتالیا استفاده شد. همچنین تمام پرایمرها توسط نرم افزار Allele IDv7.8 طراحی شد و از ژن TATA-binding protein (TBP) به‌عنوان کنترل داخلی استفاده گردید؛ همچنین برای کمی سازی داده ها از فرمول $2^{-\Delta\Delta CT}$ استفاده شد. توالی پرایمرهای مورد استفاده در مطالعه در جدول ۱ ارائه شده است.

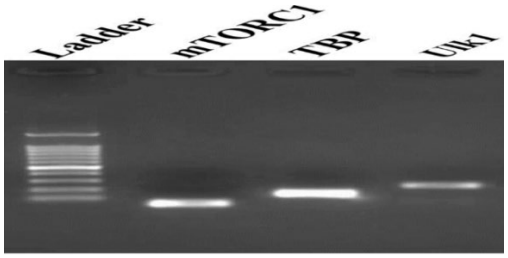
جدول –۱. توالی پرایمر های مورد استفاده در تحقیق

Genes	Primer Sequences	Sizes (bp)
TBP	Forward: 5'-GCGGGGTCATGAAATCCAGT-3'	147
	Reverse: 5'-AGTGATGTGGGGACAAAACGA -3'	
mTORC1	Forward: 5'-CATTGGCTGGTGTCCTTTCT-3'	84
	Reverse: 5'-GAAGCACAGACCAAGGTACAA-3'	
Ulk1(ATG1)	Forward: 5'-CCCCAACCTTTCGGACTT-3'	269
	Reverse: 5'-CCAACAGGGTCAGCAAACTC-3'	



شکل– ۱. بررسی خلوص و غلظت RNA بر روی ژل الکتروفروز

در تصویر ۲، ژل الکتروفروز از باند real-time PCR برای هر ژن مورد مطالعه ارائه شده است. این نکته قابل ذکر است که نتایج باند دهی هر ژن بر روی ژل آگاروز ۱/۵ درصد برای اختصاصی بودن آنها برای کار با دستگاه real-time PCR به طور جداگانه قابل مشاهده هستند (تعداد bp محصول real-time PCR برای هر ژن نشان داده شده در تصویر ۲ آورده شود).



شکل– ۲. تصویر باند دهی ژل الکتروفروز در real-time PCR برای هر ژن مورد مطالعه

محاسبات آماری: در این تحقیق ابتدا نرمال بودن داده‌ها توسط آزمون شاپیرو–ویلک مورد بررسی قرار گرفت. در ادامه برای بررسی تفاوت بین گروه ها از آزمون آنالیز واریانس یک راهه استفاده شد و در صورت معنی‌دار بودن برای تعیین محل تفاوت بین گروهی از آزمون مقایسه زوجی توکی استفاده شد. علاوه ر این برای بررسی اثر عامل تمرین، مکمل، تعامل و اندازه اثر آنها از آزمون آنالیز واریانس دو راهه نیز استفاده گردید. داده‌ها در نرم افزار SPSS نسخه ۲۰ و در سطح معنی‌داری ۰/۰۵ تجزیه و تحلیل شدند.

ملاحظات اخلاقی: در این تحقیق تمام اصول اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی بر اساس معاهده هلسینکی و تحت نظر کمیته اخلاق در پژوهش‌های زیست پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد بروجرد با کد مصوب IR.IAU.B.REC.1403.094 انجام شده است.

نتایج

یافته‌های این تحقیق بررسی مقادیر بیان ژنی *mTORC1* و *ULK1* که هر دو نقش مهمی در اتوفاژی دارند بررسی شده است. در ابتدا در جدول ۲ میانگین و انحراف استاندارد وزن پیش آزمون و پس آزمون و مقادیر بیان ژنی متغیر های تحقیق ارائه

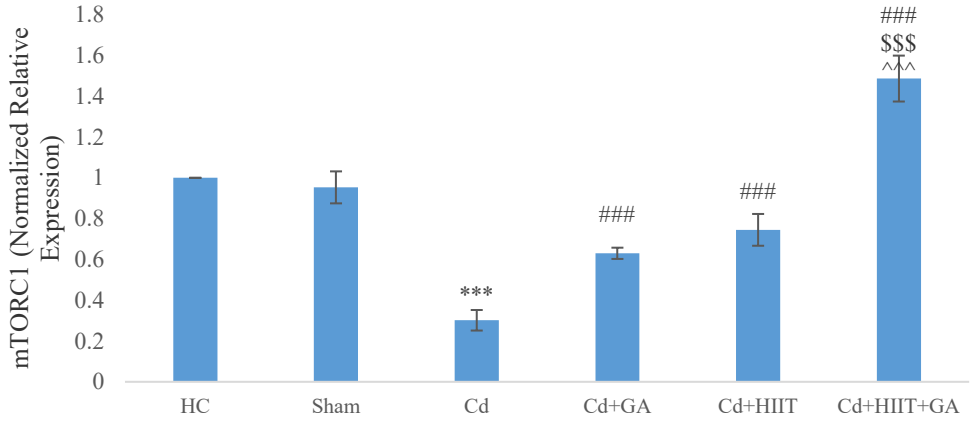
شده است. همچنین نتایج آزمون آنالیز واریانس یک راهه نشان داد تفاوت معنی‌داری در مقادیر بیان ژنی *mTORC1* (P=۰/۰۰۱ و F=۱۹۹/۲۲) و *ULK1* (P=۰/۰۰۱ و F=۴۷۶/۹۶) در گروه های تحقیق وجود دارد.

جدول-۲. میانگین و انحراف استاندارد وزن پیش آزمون و پس آزمون و متغیر های تحقیق در موش های صحرایی در گروه های شش گانه

متغیر ها / گروه ها	mTorc1 (بیان نسبی)	ULK1 (بیان نسبی)	وزن پیش آزمون (گرم)	وزن پس آزمون (گرم)
HC	۱/۰۰ ± ۰/۰۲	۱/۰۰۱ ± ۰/۰۴	۲۴۸/۲۴ ± ۱۱/۲۵	۲۶۸/۲۴ ± ۱۵/۱۱
Sham	۰/۹۵ ± ۰/۰۷	۰/۹۶ ± ۰/۰۷	۲۶۴/۱۷ ± ۱۲/۱۲	۲۷۲/۱۲ ± ۱۸/۴۷
Cd	۰/۳۰ ± ۰/۰۵	۲/۹۵ ± ۰/۱۱	۲۵۴/۴۷ ± ۱۰/۱۴	۲۶۴/۳۹ ± ۱۵/۴۱
Cd+Ga	۰/۶۳ ± ۰/۰۲	۱/۸۱ ± ۰/۱۱	۲۶۰/۷۷ ± ۱۲/۱۰	۲۶۵/۹۴ ± ۱۴/۱۶
Cd+HIIT	۰/۷۴ ± ۰/۰۷	۲/۰۱ ± ۰/۰۹	۲۵۸/۱۱ ± ۱۰/۱۴	۲۵۸/۸۸ ± ۱۳/۲۵
Cd+HIIT+Ga	۱/۴۸ ± ۰/۱۱	۱/۱۸ ± ۰/۰۳	۲۶۷/۱۹ ± ۱۴/۲۴	۲۵۹/۵۴ ± ۱۷/۳۱

در این جدول HC به معنی گروه کنترل سالم؛ Sham: گروه شم؛ Cd: دریافت کادمیوم؛ Cd+Ga: دریافت گالیک اسید +کادمیوم؛ Cd+HIIT: تمرین تناوبی خیلی شدید + دریافت کادمیوم و Cd+HIIT+Ga: دریافت کادمیوم+ تمرین تناوبی خیلی شدید + گالیک اسید است.

در ادامه نتایج آزمون تعقیبی توکی در نمودار ۱ نشان داد تفاوت معنی‌داری در مقادیر *mTORC1* در گروه‌های HC و Sham وجود ندارد (P=۰/۸۴، MD=۰/۰۴۶) با این حال در گروه Cd به‌طور معنی‌داری کمتر از گروه HC بود (P=۰/۰۰۱، MD=۰/۶۹). همچنین در گروه‌های Cd+GA (P=۰/۰۰۱، MD=-۰/۳۲)، Cd+HIIT (P=۰/۰۰۱، MD=-۰/۴۴) و Cd+HIIT+GA (P=۰/۰۰۱، MD=-۱/۱۸) به‌طور معنی‌داری بیشتر از گروه Cd بود. اگرچه تفاوت معنی‌داری در گروه Cd+GA و Cd+HIIT مشاهده نشد (P=۰/۰۷۸، MD=-۰/۱۱)؛ با این حال در گروه Cd+HIIT+GA به‌طور معنی‌داری بیشتر از گروه‌های Cd+GA (P=۰/۰۰۱، MD=-۰/۸۵) و Cd+HIIT (P=۰/۰۰۱، MD=-۰/۷۴) بود. علاوه بر این نتایج آزمون آنالیز واریانس دو راهه نشان داد تمرین (P=۰/۰۰۱، F=۴۶۰/۲۱ و اندازه اثر ۰/۹۵) و گالیک اسید (P=۰/۰۰۱، F=۳۱۱/۷۷ و اندازه اثر ۰/۹۴) اثر معنی‌داری بر افزایش بیان *mTORC1* در بافت کلیه موش‌های صحرایی در معرض کادمیوم دارند. علاوه بر این تمرین و مکمل دارای اثر سینرژیستی بر افزایش *mTORC1* می‌باشند (P=۰/۰۰۱، F=۴۶/۵۲ و اندازه اثر ۰/۶۹) (نمودار ۱).

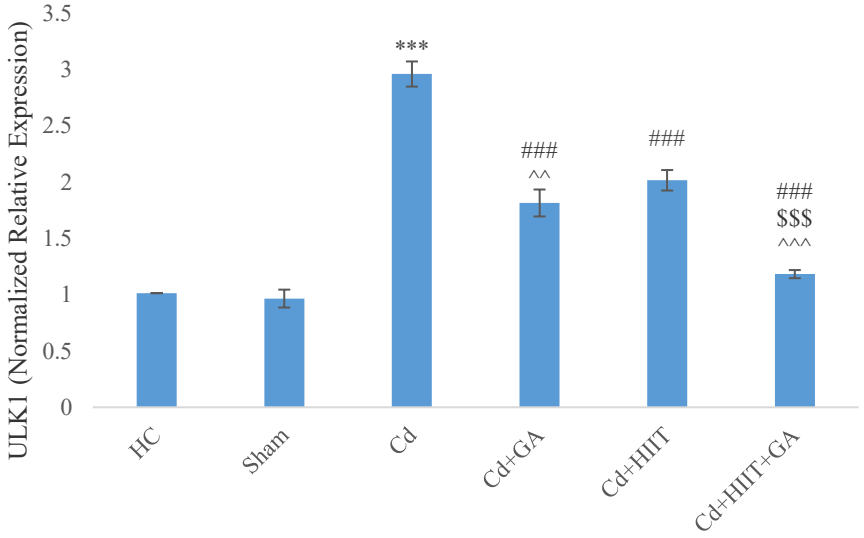


نمودار- ۱. مقادیر بیان ژنی *mTORC1* در بافت کلیه موش های صحرایی در گروه های تحقیق

*** (P=۰/۰۰۱) کاهش معنی‌دار در گروه Cd نسبت به گروه HC و Sham؛ ### (P=۰/۰۰۱) افزایش معنی‌دار نسبت به گروه Cd؛ $$$ (P=۰/۰۰۱) افزایش معنی‌دار نسبت به گروه Cd+GA و ^^^ (P=۰/۰۰۱) افزایش معنی‌دار نسبت به گروه Cd+HIIT

نتایج نشان داد تفاوت معنی‌داری در مقادیر *ULK1* در گروه HC و Sham وجود ندارد (P=۰/۹۲، MD=۰/۰۴)؛ اما در گروه Cd به‌طور معنی‌داری بیشتر از گروه HC بود (P=۰/۰۰۱، MD=-۱/۹۴). همچنین در گروه‌های Cd+GA (P=۰/۰۰۱، MD=۱/۱۴)، Cd+HIIT (P=۰/۰۰۱، MD=۰/۹۴) و Cd+HIIT+GA (P=۰/۰۰۱، MD=۱/۷۷) به‌طور معنی‌داری کمتر از گروه Cd بود. علاوه بر این در گروه Cd+GA به‌طور معنی‌داری کمتر از گروه Cd+HIIT بود (P=۰/۰۰۴، MD=-۰/۲۰). همچنین در گروه Cd+HIIT+GA به‌طور معنی‌داری کمتر از گروه‌های Cd+GA (P=۰/۰۰۱، MD=۰/۶۳) و Cd+HIIT (P=۰/۰۰۱، MD=۰/۸۳) بود. علاوه بر این نتایج آزمون آنالیز واریانس دو راهه نشان داد تمرین (P=۰/۰۰۱،

F=۴۰۹/۹۳ و اندازه اثر ۰/۹۵) و گالیک اسید (P=۰/۰۰۱، F=۶۴۶/۵۸ و اندازه اثر ۰/۹۷) اثر معنی‌داری بر کاهش بیان *ULK1* در بافت کلیه موش‌های صحرایی در معرض کادمیوم دارند. علاوه بر این تمرین و مکمل دارای اثر سینرژیستی بر کاهش *ULK1* می‌باشند (P=۰/۰۰۱، F=۱۶/۰۴ و اندازه اثر ۰/۴۴) (نمودار ۲).



نمودار- ۲. مقادیر بیان ژنی *ULK1* در بافت کلیه موش های صحرایی در گروه های تحقیق

*** (P=۰/۰۰۱) افزایش معنی دار در گروه Cd نسبت به گروه HC و Sham؛ ### (P=۰/۰۰۱) کاهش معنی دار نسبت به گروه Cd؛ $$$ (P=۰/۰۰۱) کاهش معنی دار نسبت به گروه Cd+GA و ^^^ (P=۰/۰۰۱) کاهش معنی دار نسبت به گروه Cd+HIIT

بحث

هدف مطالعه حاضر بررسی اثر تمرین تناوبی شدید همراه با مصرف گالیک اسید بر مقادیر بیان ژنی دو نشانگر *mTORC1* و *ULK1* در بافت کلیه موش‌های صحرایی در معرض کادمیوم بود. نتایج مطالعه حاضر نشان داد در گروه Cd مقادیر بیان ژنی *mTORC1* کمتر و *ULK1* در بافت کلیه بیشتر از گروه HC بود. با این حال در گروه Cd+HIIT مقادیر بیان ژنی *mTORC1* بیشتر و *ULK1* در بافت کلیه کمتر از گروه Cd بود. محققین نشان داده‌اند که کادمیوم با افزایش استرس اکسیداتیو منجر به نقص عملکرد پروتئین تنظیم گر اتوفاژی مانند mTORC1 و در نهایت اختلال در مکانیسم اتوفاژی و تومور زایی منجر شود [۱۷]. با توجه به اینکه در حالت طبیعی اتوفاژی با mTORC1 تنظیم می شود در صورت نیاز به اتوفاژی منجر به فسفریلاسیون آتروژین‌ها می‌شود و روند حذف سلول‌های ناکارآمد شروع می‌شود. اما در شرایط عدم نیاز به اتوفاژی mTORC1 با فسفریلاسیون ULK1 منجر به فعال‌سازی فسفاتیدیل اینوزیتول – ۳ کیناز-Phosphoinositide 3 kinase با زیر واحد C3 (PI3KC3) شده و در ادامه منجر به فعال‌سازی پروتئین کیناز فعال شده با AMP (AMPK) AMP- activated protein kinase می‌گردد. در این مسیر سیگنالی اتوفاژی مهار شده است [۱۸]. حال آنکه از دیدگاه برخی محققین توقف اتوفاژی پایه و اساس افزایش بیش از اندازه تعداد سلول و تومور زایی می‌باشد. از سویی مطالعات نشان داده اند که تنظیم عملکرد اتوفاژی یک اتفاق مهم پس از ورزش می‌باشد. به گونه‌ای که فعالیت‌های ورزشی می‌توانند با مکانیسم افزایش پروتئین‌های ویژه اتوفاژی مانند Atg6/Beclin1، Atg7 و Atg8/LC3 در تنظیم مثبت اتوفاژی نقش داشته باشند [۱۹]. همچنین ورزش منظم می تواند به افزایش محتوای پروتئین کیناز فعال شده توسط میتوژن (MAPK) Mitogen-activated protein kinase با زیر واحد آلفا منجر شود و این پروتئین عامل اصلی تنظیم گر mTORC1 می‌باشد [۲۰]. در این راستا مطالعه‌ای نشان داد ورزش منظم به مدت چهار هفته می‌تواند منجر به افزایش بیان Atg6/Beclin، Atg7 و Atg8/LC3 تعدیل نسبت LC3-II/LC3-I شود و از این مسیر اتوفاژی ناشی از ضعف عضلانی را بهبود بخشد [۱۹]. از سویی مطالعه ای نشان داد تمرین استقامتی بلند مدت منجر به افزایش AMPK و افزایش بیان ULK1 گردید و از این طریق اختلال میتوفاژی ناشی از دیابت را تعدیل نمود [۲۱]. در وهله اول به نظر می رسد باید ورزش را به عنوان یک تعدیل کننده اتوفاژی عنوان نمود، اما نکته مهم اینکه نوع تمرینات ورزشی از مکانیسم‌های متفاوتی در تعدیل و تنظیم اتوفاژی نقش دارند. به گونه‌ای که تمرینات مقاومتی به‌طور مستقیم از مسیر پروتئین‌های آنابولیک بر تنظیم mTORC1 نقش دارند در حالی که در تمرینات استقامتی گونه‌های مختلف MAPK این مسیر را راه اندازی می‌کنند [۲۰]. این در حالی است که در مطالعه حسین پور و همکاران نتایج نشان داد هم تمرین تداومی و هم تمرین تناوبی در افزایش نشانگرهای اتوفاژی مانند LC3II، Bclin1 و MyoD اثر معنی‌داری دارند؛ در حالی که تاثیر تمرین HIIT بر میوبلاست ۱ (MyoD) به

مراتب مطلوب تر از اثر تمرین تداومی در بافت عضله اسکلتی رت‌های سالمند بود [۲۲]. به نظر می‌رسد میزان تاثیر گذاری تمرین به متابولیسم گلیکوژن، میزان فعال‌سازی AMPK، MAPK، Prkaa1 و mTORC1 و Ulk1 بستگی دارد [۲۰]. از آنجا که تمرین تناوبی شدید تاثیر بیشتری بر متابولیسم گلیکوژن دارد بنابراین به نظر می‌رسد اثر بیشتر آن نسبت به تمرین تداومی از این نظر قابل توجیه باشد. با این حال مطالعات محدودی در ارتباط با تاثیر تمرین بر اتوفاژی در بافت کلیه انجام شده است و مطالعات بیشتری در این زمینه نیاز است.

نتایج این مطالعه نشان داد در گروه Cd+GA مقادیر بیان ژنی *mTORC1* بیشتر و *ULK1* در بافت کلیه کمتر از گروه Cd بود. بر اساس مطالعات انجام شده به نظر می رسد GA که دارای ترکیبات پلی هیدروکسی فنولیک است می تواند به عنوان یک آنتی اکسیدان قوی به خنثی سازی رادیکال‌های آزاد، کاهش مالون دی‌آلدئید (malondialdehyde(MDA، افزایش سوپراکسید دیسموتاز (Superoxide dismutase (SOD و گلوتاتیون پراکسیداز (Glutathione peroxidase (GPX در بافت کلیه منجر شود؛ در نهایت از این مسیر منجر به تعدیل آپوپتوز وابسته به استرس اکسیداتیو و بهبود فیلتراسیون گلومرولی شود [۲۳]؛ به‌طور اختصاصی‌تر به نظر می‌رسد GA با تنظیم چرخه سلولی در فازهای G0/G1، تنظیم سایکلین CDK4/D1 و سایلکین CDK2/E می‌تواند روند اتوفاژی را تنظیم کند. به‌طوری‌که در این GA با تنظیم سیگنالینگ AKT/Small GTPase، افزایش کمپلکس PI3K، فعال سازی mTORC1، فعال‌سازی Atg3, Atg4 and Atg8/LC3 از محور PI3K/Akt/Atg16L1 اتوفاژی را در بافت کلیه تنظیم می‌نماید [۱۳]. در این زمینه مطالعه ای نشان داد مصرف ۱۰۰ mg/kg به مدت ۱۵ روز GA توانست منجر به افزایش GSH، GPX و MDA در انسداد یک طرفه حالب در موش‌های صحرایی گردد [۲۳]. همچنین در مطالعه‌ای نتایج نشان داد ۵۰ mg/kg و ۱۰۰ GA منجر به کاهش MDA، IL-1β در بافت کلیه می‌گردد [۲۴]. در مطالعه ای دیگر نتایج نشان داد مصرف GA منجر به تعدیل کلسیم اگزالات و تنظیم مثبت مسیر رونویسی از آنتی‌اکسیدان‌ها از مسیر NRF2/HO1 در یک مدل آسیب کلیه القا شده با کریستال گردید [۲۵]. این مطالعات همسو با مطالعه حاضر بودند و در تایید اثر مثبت GA بر عملکرد کلیوی تاکید دارند. با این حال مطالعه حاضر از حیث دو نشانگر اتوفاژی و بررسی تاثیر GA بر آنها دارای نو آوری بود.

همچنین نتایج نشان داد در گروه Cd+HIIT+GA مقادیر بیان ژنی *mTORC1* بیشتر و *ULK1* در بافت کلیه کمتر از گروه Cd بود. بر اساس اطلاعات موجود به نظر می‌رسد HIIT با مکانیسم افزایش MAPK، افزایش mTORC1 [۲۰] افزایش Atg6/Beclin1, Atg7 و در تعدیل و تنظیم مثبت Atg8/LC3 نقش دارد [۱۹]، در حالی که GA با مکانیسم خنثی سازی ROS ها، کاهش MDA، افزایش SOD و GPx، تعدیل آپوپتوز [۲۳]، تنظیم چرخه سلولی، تنظیم محور AKT/Small GTPase، تنظیم محور PI3K/Akt/Atg16L1 منجر به تنظیم مطلوب اتوفاژی در بافت کلیه می‌شود [۱۳]. علی‌رغم بررسی‌های فراوان مطالعه‌ای یافت نشد که به بررسی اثر همزمان تمرین و GA بر نشانگرهای اتوفاژی در بافت کلیه پرداخته باشد. اما در مطالعات قبلی نتایج نشان داده است که تمرین و GA به طور همزمان منجر به تعدیل سطوح در گردش هورمون‌های جنسی در یک مدل سندروم پلی‌کیستیک گردید [۲۶]. در مطالعه‌ای دیگر نتایج نشان داد که تمرین مقاومتی و GA منجر به تعدیل آنزیم‌های کبدی در موش‌های صحرایی در معرض استروئیدهای آنابولیک گردید [۲۷]. در مطالعه ای نیز نتایج حاکی از افزایش کاتالاز و GPx در بافت قلب موش‌های صحرایی در معرض بولدنون، متعاقب تمرین هوازی و مصرف GA بود؛ علاوه بر این نتایج این مطالعه نشان داد که در گروه ترکیبی افزایش این دو آنتی‌اکسیدان مطلوب تر از اثر هر کدام به تنهایی بود [۲۸]. بنابراین به نظر می‌رسد تمرین و مصرف GA می‌توانند اثر یکدیگر را بر آنتی‌اکسیدان‌ها تقویت کنند. نکته دیگر اینکه در گروه Cd+GA مقادیر بیان ژنی *ULK1* به‌طور معنی‌داری کمتر از گروه Cd+HIIT بود. در توجیه این نتیجه نیز می‌توان اینگونه بیان نمود که تمرینات تناوبی شدید یه دلیل اثر گذاری بیشتر بر متابولیسم گلیکوژن PI3K/mTORC1 و همزمان اثر گذاری بر AMPK می تواند میانه رو تر و محتاطانه تر منجر به مهار اتوفاژی شود. زیرا در روند ورزش افزایش اتوفاژی امری ضروری برای حذف سلول‌های آسیب دیده ناشی از ورزش است [۲۰]. در حالی که GA به‌طور قابل توجهی در افزایش کمپلکس PI3K و فعال‌سازی mTORC1 از محور PI3K/Akt/Atg16L1 منجر به تنظیم مطلوب اتوفاژی در بافت کلیه می‌شود [۱۳]. بر اساس نتایج به نظر می‌رسد عدم ارزیابی مکانیسم‌های بالا دست مانند MAPK، AMPK، Atg ها از محدودیت‌های مطالعه حاضر می‌باشد. از این رو پیشنهاد می‌گردد در مطالعات آتی مسیرهای پایین دست و بالا دست ارزیابی شود. همچنین با توجه به اهمیت تغییرات عملکردی بافت کلیه، عدم ارزیابی نشانگرهای عملکردی مانند فیلتراسیون گلومرولی و مقادیر اوره–نیتروژن خون از دیگر محدودیت‌های مطالعه حاضر است. بنابراین پیشنهاد می‌گردد در مطالعات آتی این نشانگرهای عملکردی نیز ارزیابی شوند.

نتیجه‌گیری

به نظر می‌رسد اگرچه تمرین HIIT و GA هر دو در بیان دو ژن مورد مطالعه در بافت کلیه متعاقب آسیب کلیوی ناشی از کادمیوم اثر گذار هستند. اما با توجه به ماهیت تقویت کنندگی اثر یکدیگر، ترکیب تمرین و GA اثر مطلوب تری بر دو پروتئین

تنظیم گر اتوفاژی (mTORC1 و ULK1) در بافت کلیه دارند.

تشکر و قدردانی: نویسندگان لازم می‌دانند از تمامی کسانی که ما را یاری نموده اند تشکر و قدردانی کنند.

تضاد منافع: نویسندگان تصریح می‌کنند که هیچ گونه تضاد منافعی در مطالعه حاضر وجود ندارد

نقش نویسندگان: همه نویسندگان در نگارش اولیه مقاله یا بازنگری آن سهیم بودند و همه با تایید نهایی مقاله حاضر، مسئولیت دقت و صحت مطالب مندرج در آن را می‌پذیرند.

منابع

1. Satarug S. Is Chronic Kidney Disease Due to Cadmium Exposure Inevitable and Can It Be Reversed? Biomedicines. 2024; 12(4):718. doi.10.3390/biomedicines12040718 PMid:38672074 PMCid:PMC11048639
2. Abbaszadeh M, Pakdel H, Barakeh S, Pakdel A, et al. Association between cadmium exposure and risk of chronic kidney disease; a systematic review and meta-analysis. J Ren Inj Prev. 2024. doi.10.34172/jrip.2024.32254
3. Liu Y, Lin X, Hao Z, Yu M, Tang Y, Teng X, et al. Cadmium exposure caused cardiotoxicity in common carps (Cyprinus carpio L.): miR-9-5p, oxidative stress, energetic impairment, mitochondrial division/fusion imbalance, inflammation, and autophagy. Fish Shellfish Immunol. 2023;138:108853. doi.10.1016/j.fsi.2023.108853 PMid:37245677
4. Shao Y, Zheng L, Jiang Y. Cadmium toxicity and autophagy: a review. Biometals. 2024; 1-21. doi.10.1007/s10534-023-00581-y PMid:38277035
5. Maskanati F, Ghasemian SO, Khanmohammadi R, Salehi O, et al. Interactive effects of aerobic training and Crocin supplementation on some apoptosis markers in kidney tissue of rats exposed to doxorubicin. Feyz Med Sci J. 2022;26(6):683-90.
6. Kanbay M, Copur S, Yildiz AB, Tanriover C, Mallamaci F, Zoccali C. Physical exercise in kidney disease: A commonly undervalued treatment modality. Eur J Clin Invest. 2024;54(2):e14105. doi.10.1111/eci.14105 PMid:37814427
7. Jafari M, Motamedi P, Khaledi N. The Effect of Chronic Kidney Disease Induction Upon Affective Factors on Muscle Apoptosis in Rats and the Role of Aerobic Training in Its Modulation. Jundishapur Sci Med J. 2021; 20(4): 382-9. doi.10.32598/JSMJ.20.4.2475
8. Azadbakht A, Saremi A. Evaluation of P53 and Nrf2 protein levels in kidney tissue after 8 weeks of endurance training in diabetic rats with morphine withdrawal syndrome. Koomesh. 25(6):647-53.
9. Jokar M, Moghadam MS, Daryanoosh F. The effect of a period of high-intensity interval training on the content of AMPK and PGC-1α proteins in the heart muscle tissue of rats with type 2 diabetes. Daneshvar Med. 2021; 29(1):23-34.
10. Delshad S, Yaghoubi A, Rezaeian N. The Effect of Moderate Intensity Continuous Training on Skeletal Muscle Autophagy Biomarkers in Elderly Male Rats. J North Khorasan Univ Med Sci. 2021;12(4):94-9. doi.10.52547/nkums.12.4.94
11. Roshanfekr H, Edalatmanesh MA, Aghababa H. The effect of gallic acid on oxidative stress parameters and hippocampal cell density in ischemia-renal reperfusion model. Med Sci J Islam Azad Univ Tehran Med Branch. 2022; 32(4):379-88. doi.10.52547/iau.32.4.379
12. Alhazmi AI, El-Refaei MF, Abdallah EAA. Protective effects of gallic acid against nickel-induced kidney injury: impact of antioxidants and transcription factor on the incidence of nephrotoxicity. Ren Fail. 2024; 46(1):2344656. doi.10.1080/0886022X.2024.2344656 PMid:38685608 PMCid:PMC11062283
13. Zhang T, Zhang X, Fei Y, Lu J, Zhou D, Zhang L, et al. Gallic acid suppresses the progression of clear cell renal cell carcinoma through inducing autophagy via the PI3K/Akt/Atg16L1 signaling pathway. Int J Oncol. 2024; 65(1):1-14. doi.10.3892/ijo.2024.5658 PMid:38818827 PMCid:PMC11173374
14. Ojo OA, Rotimi DE, Ojo AB, Ogunlakin AD, Ajiboye BO, et al. Gallic acid abates cadmium chloride toxicity via alteration of neurotransmitters and modulation of inflammatory markers in Wistar rats. Sci Rep. 2023; 13(1):1577. doi.10.1038/s41598-023-28893-6 PMid:36709339 PMCid:PMC9884205
15. Bedford TG, Tipton CM, Wilson NC, Oppliger RA, Gisolfi CV, et al. Maximum oxygen consumption of rats and its changes with various experimental procedures. J Appl Physiol. 1979; 47(6): 1278-83. doi.10.1152/jappl.1979.47.6.1278 PMid:536299
16. Momeni L, Moghadam HF, Hosseini SA, Nikbakht M. Interactive Effects of Endurance Training and Selenium Consumption on the Intrinsic Apoptosis Pathway in the Liver Tissue of Cadmium-Exposed Rats. J Nutr Sci Diet. 2020; 5(3-4):1-9.
17. Ma Y, Su Q, Yue C, Zou H, Zhu J, Zhao H, et al. The effect of oxidative stress-induced autophagy by cadmium exposure in kidney, liver, and bone damage, and neurotoxicity. Int J Mol Sci. 2022; 23(21):13491. doi.10.3390/ijms232113491 PMid:36362277 PMCid:PMC9659299
18. Jung CH, Seo M, Otto NM, Kim DH. ULK1 inhibits the kinase activity of mTORC1 and cell proliferation. Autophagy. 2011; 7(10):1212-21. doi.10.4161/auto.7.10.16660 PMid:21795849 PMCid:PMC3210307
19. Lira VA, Okutsu M, Zhang M, Greene NP, Laker RC, Breen DS, et al. Autophagy is required for exercise training-induced skeletal muscle adaptation and improvement of physical performance. FASEB J. 2013; 27(10):4184. doi.10.1096/fj.13-228486 PMid:23825228 PMCid:PMC4046188
20. Pinto AP, da Rocha AL, Marafon BB, Rovina RL, Muñoz VR, da Silva LECM, et al. Impact of

different physical exercises on the expression of autophagy markers in mice. Int J Mol Sci. 2021;22(5):2635. doi.10.3390/ijms22052635 PMid:33807902 PMCid:PMC7962017

21. Guan Y, Zhang M, Lacy C, Shah S, Epstein FH, Yan Z. Endurance Exercise Training Mitigates Diastolic Dysfunction in Diabetic Mice Independent of Phosphorylation of Ulk1 at S555. Int J Mol Sci. 2024;25(1):633. doi.10.3390/ijms25010633 PMid:38203804 PMCid:PMC10779281

22. Hosseinpour Delavar S, Safikhani H, Azizi M. The Effect of Eight Weeks of Continuous and Interval Training with Citrus Aurantium Consumption on Autophagy Markers and MyoD Activation in the Muscle Tissue of Elderly Rats. Elder Health J. 2021; 7(2):71-8.

23. Ahmadvand H, Yalameha B, Adibhesami G, Nasri M, Naderi N, Babaeenezhad E, et al. The protective role of gallic acid pretreatment on renal ischemia-reperfusion injury in rats. Rep Biochem Mol Biol. 2019;8(1):42.

24. Moradi A, Abolfathi M, Javadian M, Heidarian E, Roshanmehr H, Khaledi M, et al. Gallic acid exerts nephroprotective, anti-oxidative stress, and anti-inflammatory effects against diclofenac-induced renal injury in male rats. Arch Med Res. 2021; 52(4): 380-8. doi.10.1016/j.arcmed.2020.12.005 PMid:33358172

25. Zhou D, Wu Y, Yan H, Shen T, Li S, Gong J, et al. Gallic acid ameliorates calcium oxalate crystal-induced renal injury via upregulation of Nrf2/HO-1 in the mouse model of stone formation. Phytomedicine. 2022;106:154429. doi.10.1016/j.phymed.2022.154429 PMid:36099652

26. Rafiei S, Edalatmanesh MA. The effect of swimming training, Gallic acid and high-fat diet on the serum levels of sex hormones in rats with polycystic ovary syndrome. Feyz Med Sci J. 2018;22(6):564-72.

27. Ranjbar K, Homaie HM, Azarbayjani MA, Piri M. The Effect of Gallic Acid Supplement and Resistance Exercise on the Bio-markers of Liver in Intoxicated Male Rats of Anabolic Steroid. Med Lab J. 2020;14(1):44-9. doi.10.29252/mlj.14.1.44

28. Katoli M, Daloii AA. The effect of boldenone and aerobic training with jujube extract and gallic acid on glutathione peroxidase and catalase in heart tissue of male wistar rats. Tradit Integr Med. 2017; 15-23.

How to Cite this Article:
Zarei M, Hemat far A, hosseini S A, Sameni A. The effects of eight weeks of high-intensity interval training and gallic acid supplementation on mTORC1 and ULK1 gene expression in the kidney tissue of cadmium-exposed rats. Feyz Med Sci J 2025; 29 (4) :303-315. doi: 10.48307/FMSJ.2025.29.4.303