

The effect of eight weeks of high-intensity interval training and gallic acid consumption on Sirtuin-1 and miR-9-5P expression in kidney tissue of rats exposed to cadmium

Maryam Zarei,¹ Ahmad Hematfar^{2*}, Seyed Ali Hosseini³, Arash Sameni⁴

1. Ph.D in Exercise Physiology, Department of Physical Education, Bo.C., Islamic Azad University, Borujerd, Iran
2. Assistant Professor at Department of Physical Education, Bo.C., Islamic Azad University, Borujerd, Iran.
3. Professor at Department of Sport Physiology, Marv.C., Islamic Azad University, Marvdasht, Iran.
4. Assistant Professor at Department of Physical Education, Za.C., Islamic Azad University, Zanjan, Iran.

Corresponding author Address: Department of Physical Education, Bo.C., Islamic Azad University, Borujerd, Iran.

Email: ahematfar@iau.ac.ir

Extended Abstract

Background and Aim: Damage to kidney tissue following cadmium (Cd) toxicity is a major problem in human societies. On the other hand, data indicate the favorable effect of exercise on kidney health, such that regular exercise can lead to improved protein absorption and reabsorption, as well as improved iron and urea homeostasis in kidney tissue. In addition to exercise, data indicate that the use of natural antioxidants found in foods can have favorable effects on the function of body organs. Among these antioxidants, gallic acid (GA), also known as 3, 4, 5-trihydroxybenzoic acid, is found in many fruits and vegetables, including walnuts, sumac, hazelnuts, tea leaves, and oak. Although the role of exercise and antioxidants in kidney tissue has been investigated, the simultaneous effect of eight weeks of high-intensity interval training (HIIT) and GA consumption on SIRT1 and miR-9-5P in kidney tissue of rats exposed to cadmium was the aim of this study.

Materials and Methods: In this experimental study with a post-test design with a control group, initially 42 male Sprague-Dawley rats, approximately eight to nine months old and weighing 250- 270 grams, were purchased from the Pasteur Laboratory Animal Breeding and Reproduction Center. It is worth noting that, given the existence of six groups based on previous studies that had placed 7 rats in each group in similar studies to this study, the sample size was 42 rats. Subsequently, the samples were transferred to the Exercise Physiology Laboratory of Bitaran Research Center and kept for one week to adaptation to the new environment. Then, the rats were randomly divided into healthy control (HC), Cd, Sham, Cd+GA, Cd+HIIT, and Cd+HIIT+GA groups. In the present study, pure Cd was obtained from Sigma-Aldrich, USA. Then, according to the number and weight of rats, 35 mg of Cd was first dissolved in the daily water consumption of the Cd-receiving groups. In this way, the rats received the desired Cd daily in their drinking water. It is worth noting that the dose was equivalent to 5 mg/kg. GA was obtained from Sigma-Aldrich, USA, with economic code 27645. Then, 20 mg/kg GA was dissolved in food and water flavoring daily and fed to the rats. For HIIT, first, rats ran on a treadmill for five sessions at a speed

of 8 m/min for 5 minutes for one week to familiarize them with the treadmill. Then, in this study, HIIT consisted of three weekly sessions of running on a treadmill with a specified intensity and duration. To implement the HIIT protocol, the rats' maximum running speed was initially measured. To determine maximum running speed, the standard incremental test of Bedford et al. (1979) was used, which was standardized by Lindro *et al*, The exercise groups performed HIIT at an intensity of 80-110% of Vo_{2max} for eight weeks and three sessions per week. One-way ANOVA with Tukey's *post- hoc* test was used to analyze the data.

Results:

The results of the Shapiro-Wilk test showed that the distribution of the research variables was normal. The results of the one-way analysis of variance test showed that there was a significant difference in the expression of miR-9-5P ($p=0.001$ and $F=261.31$) and SIRT1 ($p=0.001$ and $F=272.97$) genes between the groups. The results of the Tukey *post- hoc* test also showed that there was no significant difference in miR-9-5p gene expression in HC and Sham groups ($p=0.47$ and $MD=-0.05$). Also, in Cd group it was significantly lower than HC control group ($p=0.001$ and $MD=0.61$). However, in Cd+GA ($p=0.001$ and $MD=-0.54$), Cd+HIIT ($p=0.001$ and $MD=-0.48$) and Cd+HIIT+GA ($p=0.001$ and $MD=-1.15$) groups it was significantly higher than Cd group. No significant difference was observed between Cd+GA and Cd+HIIT groups ($p=0.51$ and $MD=-0.05$); However, in the Cd+HIIT+GA group, it was significantly higher than the Cd+GA ($p=0.001$ and $MD=-0.60$) and Cd+HIIT ($p=0.001$ and $MD=-0.66$) groups (Figure 1).

There was no significant difference in SIRT1 gene expression in the HC control group and the Sham group ($p=0.42$ and $MD=-0.05$). Also, in the Cd group, it was significantly higher than HC group ($p=0.001$ and $MD=-0.91$). However, in the Cd+GA ($p=0.001$ and $MD=-0.69$), Cd+HIIT ($p=0.001$ and $MD=-0.63$) and Cd+HIIT+GA ($p=0.001$ and $MD=-0.72$) groups it was significantly lower than the Cd group. No significant difference was observed between Cd+GA ($p=0.31$, $MD=-0.05$) and Cd+HIIT ($p=0.83$, $MD=0.03$) compared to the Cd+HIIT+GA group; however, it was significantly lower in the Cd+HIIT+GA group than Cd+HIIT group ($p=0.02$, $MD=0.09$) (Figure 1).

Conclusion: It seems that exercise by increasing the expression of NRF2 can lead to the expression of endogenous antioxidant enzymes such as SOD, GPx, and GSH, as well as exercise by modulating macrophages can lead to the inhibition of TLR2, NF-KB, and reduce inflammatory factors. Also GA can also inhibit NF-Kb, myeloperoxidase, NADPH oxidase, reduce thiobarbituric acids, nitric oxide, IL-6, increase deacetylation, and increase the expression of SIRT1 and 3 in mitochondrial biogenesis under conditions of exposure to Cd. Therefore, these two interventions have protective effects through similar pathways. However, according to the results of this study, it seems that the interaction of HIIT and GA consumption in modulating SIRT1 and miR-9-5p gene expression is much more effective than the effect of each alone.

Keywords: Exercise, Gallic Acid, SIRT1, miR-9-5p, Kidney, Cadmium.

Ethical Considerations: This study was approved by the Research Ethics Committees of Marvdasht University.

Compliance with Ethical Guidelines: The research followed the ethical standards of the Declaration of Helsinki and institutional guidelines.

Funding: No funding.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflicts of interest regarding the publication of this study.

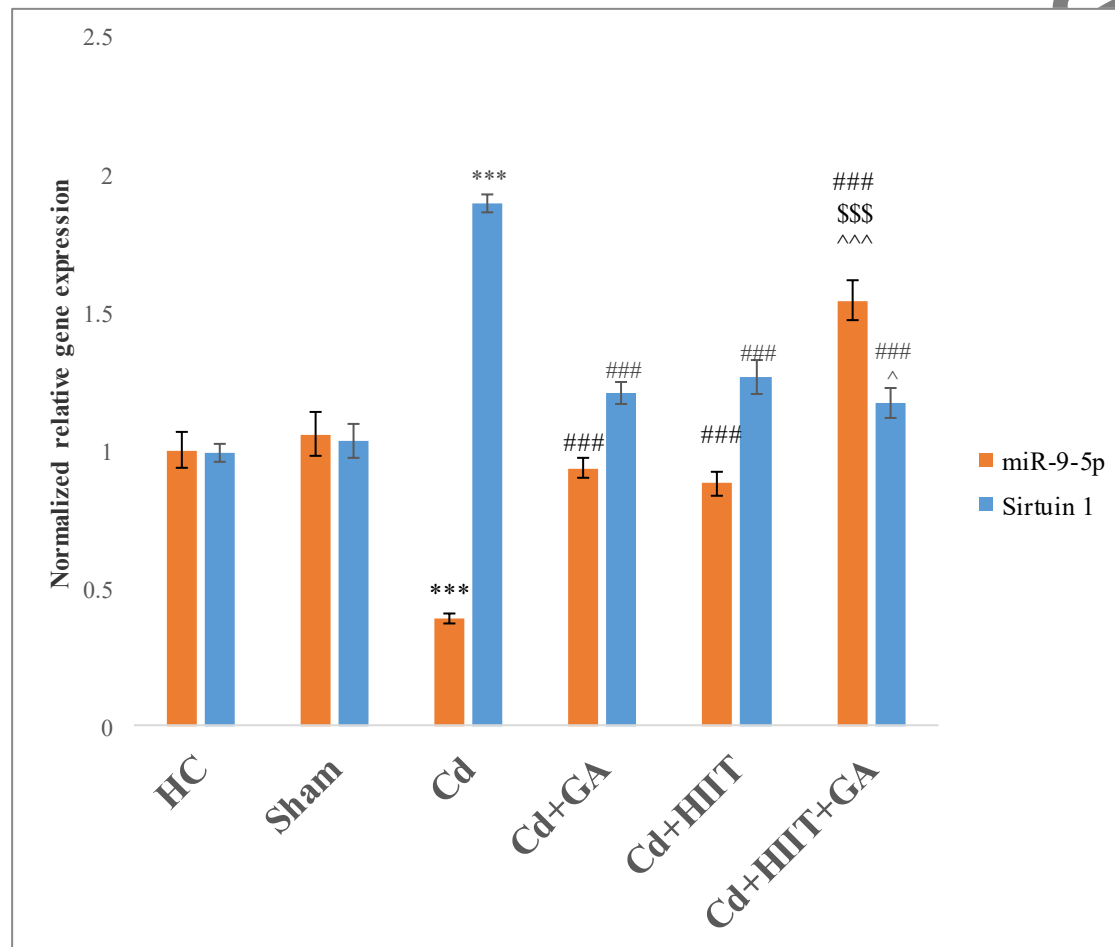


Figure 1: Gene expression levels of Sirtuin 1 and miR-9-5p in kidney tissue in rats in the studied groups. HC: Healthy control group; Cd: Cadmium-exposed control group; Cd+GA: Cadmium + Gallic acid group; Cd+HIIT: Cadmium + HIIT group, Cd+HIIT+GA: Cadmium + HIIT + Gallic acid group. *** ($p=0.001$) significant change compared to the HC group; ### ($p=0.001$) significant change compared to the Cd group; \$\$\$ ($p=0.001$) significant change compared to the Cd+GA group; ^^ ($p=0.001$) and ^ ($p=0.05$) significant change compared to the Cd+HIIT group.



اثر هشت هفته تمرین تناوبی با شدت بالا و مصرف گالیک اسید بر SIRT1 و miR-9-5P در بافت کلیه موش‌های صحرایی در معرض کادمیوم

مریم زارعی^۱، احمد همت فر^{۲*}، سید علی حسینی^۳، آرش سامنی^۴

۱- دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزش، گروه تربیت بدنی، واحد بروجرد، دانشگاه آزاد اسلامی، بروجرد، ایران.

۲- استادیار، گروه تربیت بدنی، واحد بروجرد، دانشگاه آزاد اسلامی، بروجرد، ایران.

۳- استادیار، گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد مرودشت، دانشگاه آزاد اسلامی، مرودشت، ایران.

۴- استادیار، گروه تربیت بدنی، واحد زنجان، دانشگاه آزاد اسلامی، زنجان، ایران.

چکیده

زمینه و هدف: آسیب به بافت کلیه متعاقب سمیت ناشی از کادمیوم از مشکلات اساسی جوامع بشری است. اگرچه نقش تمرین ورزشی و آنتی‌اکسیدان‌ها در بافت کلیه بررسی شده است، اما اثر همزمان هشت هفته تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT) و مصرف گالیک اسید (GA) بر سیرتوئین ۱ (SIRT1) و miR-9-5P در بافت کلیه موش‌های صحرایی در معرض کادمیوم (Cd) هدف این تحقیق بود. **روش تحقیق:** تعداد ۴۲ سر موش صحرایی نر نژاد اسپراگو-داولی با سن هشت تا نه ماه و وزن ۲۵۰ تا ۲۷۰ گرم به طور تصادفی به گروه‌های کنترل سالم (HC)، کنترل، دریافت Od، شام (Sham)، Cd+GA، Cd+HIIT، Cd+HIIT+GA و Cd+HIIT+GA تقسیم شدند. گروه‌های مصرف Cd روزانه پنج میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن Cd را در آب آشامیدنی دریافت نمودند. گروه‌های مصرف مکمل روزانه GA ۲۰ mg/kg حل شده در طعم دهنده غذا و آب مصرف نمودند. گروه‌های تمرین نیز به مدت هشت هفته، سه جلسه در هفته و هر جلسه تمرینات HIIT را با شدت ۸۰ تا ۱۱۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی انجام دادند. سطوح بیان ژن miR-9-5p و SIRT1 به روش ریل تایم پی سی آر اندازه گیری شد. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از آزمون تحلیل واریانس یک‌راهه همراه با آزمون تعقیبی توکی در سطح معنی داری ۰/۰۵ استفاده شد. **یافته‌ها:** بیان ژن miR-9-5p و SIRT1 در گروه Cd+GA ($p=0/001$)، Cd+HIIT ($p=0/001$) و Cd+HIIT+GA ($p=0/001$) به طور معنی‌داری بیشتر از گروه Cd بود؛ ضمن آن که این دو متغیر در گروه Cd+HIIT+GA به طور معنی‌داری بیشتر از گروه‌های Cd+GA ($p=0/001$) و Cd+HIIT ($p=0/001$) بودند. از طرف دیگر، بیان ژن SIRT1 در گروه Cd+HIIT+GA به طور معنی‌داری کمتر از گروه Cd+HIIT ($p=0/002$) بود. **نتیجه‌گیری:** به نظر می‌رسد HIIT و مصرف GA هم به تنهایی و هم به طور همزمان، می‌توانند در تعدیل بیان ژن‌های SIRT1 و miR-9-5p شوند که در بیوژنیز میتوکندریایی و کاهش آپوپتوزیس نقش دارند؛ ضمن آن که ترکیب تمرین تناوبی شدید و مصرف گالیک اسید در تعدیل بیان این ژن‌ها به مراتب موثرتر از اثر هر کدام به تنهایی می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: تمرین ورزشی، گالیک اسید، سیرتوئین ۱، miR-9-5p، کادمیوم

^۱ * آدرس نویسنده مسئول: گروه تربیت بدنی، واحد بروجرد، دانشگاه آزاد اسلامی، بروجرد، ایران؛ ایمیل: ahematfar@iau.ac.ir

The effect of eight weeks of high-intensity interval training and gallic acid consumption on Sirtuin-1 and miR-9-5P expression in kidney tissue of rats exposed to cadmium

Maryam Zarei,¹ Ahmad Hematfar^{2*}, Seyed Ali Hosseini³, Arash Sameni⁴

1. Ph.D in Exercise Physiology, Department of Physical Education, Bo.C., Islamic Azad University, Borujerd, Iran
2. Assistant Professor at Department of Physical Education, Bo.C., Islamic Azad University, Borujerd, Iran.
3. Professor at Department of Sport Physiology, Marv.C., Islamic Azad University, Marvdasht, Iran.
4. Assistant Professor at Department of Physical Education, Za.C., Islamic Azad University, Zanjan, Iran.

Corresponding author: Ahmad Hematfar

Address: Department of Physical Education, Bo.C., Islamic Azad University, Borujerd, Iran. **Email:** ahematfar@iau.ac.ir

Abstract

Background and Aim: Damage to kidney tissue following cadmium (Cd) toxicity is a major problem in human societies. Although the role of exercise and antioxidants in kidney tissue has been investigated, the simultaneous effect of eight weeks of high-intensity interval training (HIIT) and gallic acid (GA) consumption on SIRT1 and miR-9-5P in kidney tissue of rats exposed to cadmium was the aim of this study. **Materials and Methods:** Forty-two male Sprague-Dawley rats, 8-9 months old and weighing 250-270 g were randomly divided into healthy control (HC), Cd, Sham, Cd+GA, Cd+HIIT, and Cd+HIIT+GA groups. The Cd groups received 5 mg/kg/day of Cd in drinking water daily. The GA groups received 20 mg/kg of GA dissolved in food and water flavoring daily. The exercise groups also performed HIIT at an intensity of 80-110% of Vo_{2max} for eight weeks and three sessions per week. One-way ANOVA with Tukey's *post-hoc* test was used to analyze the data. **Results:** The gene expression of miR-9-5p and SIRT1 in the Cd+GA ($P=0.001$), Cd+HIIT ($P=0.001$) and Cd+HIIT+GA ($P=0.001$) groups were significantly higher than Cd group also these variables in the Cd+HIIT+GA group were significantly higher than Cd+GA ($P=0.001$) and Cd+HIIT ($P=0.001$) groups. On the other hand the gene expression of SIRT1 in the Cd+HIIT+GA group were significantly lower than Cd+HIIT group ($P=0.02$). **Conclusion:** It seems that both HIIT and GA consumption can play a role in modulating genes related to mitochondrial biogenesis and reducing apoptosis. However, according to the results of this study, it seems that the interaction of HIIT and GA consumption in modulating SIRT1 and miR-9-5p gene expression is much more effective than the effect of each alone.

Keywords: Exercise, Gallic Acid, SIRT1, miR-9-5p, Kidney, Cadmium

Ethical Considerations: This study was approved by the Research Ethics Committees of Marvdasht University.



کادمیوم^۱ (Cd) یک آلاینده طبیعی و یک فلز سنگین است که به عنوان تهدیدی جدی علیه سلامت مواد غذایی، سیستم ایمنی و سلامت کلی موجودات زنده معرفی شده است (۱). اطلاعات نشان می‌دهند که Cd می‌تواند از طرق مختلف مانند تنفس، مواد غذایی، آب آشامیدنی، کشیدن سیگار و دیگر راه‌ها به بدن وارد شود و به محض ورود به بدن و افزایش بیش از حد آن موجب اختلال در عملکرد ارگان‌های بدن مانند ریه‌ها، قلب، کبد و همچنین کلیه‌ها شود (۱، ۲). اعتقاد بر این است که با ورود بیش از حد مجاز Cd به نرون‌ها و توبول‌های کلیوی عملکرد کلیه دچار اختلال شده و استرس اکسیداتیو در این بافت افزایش می‌یابد. از آنجا که هموستاز آهن به طور اساسی وابسته به عملکرد صحیح کلیه‌ها است؛ بنابراین Cd به عنوان پذیرنده الکترون، هنگام ورود به جریان خون هموستاز آهن به عنوان عامل مهم برای تشکیل هموگلوبین، را مختل می‌کند. با توجه به نقش کلیه‌ها در بازسازی هموگلوبین، عنصر Cd موجب اختلالات وسیعی در مسیرهایی مانند پاسخ‌های اکسیداتیو، التهابی، اختلال اتوفازی، آپوپتوز و اختلالات اپی ژنتیک در سلول‌های کلیوی می‌شوند (۱، ۲). همچنین Cd در بافت کلیه منجر به القا اختلال در ژن‌هایی مانند کاسپاز ۱^۲، گیرنده خانواده ۳ - سیگمنت اولیگومراز متصل به نوکلئوتید^۳ (NLRP3)، فعال شدن آپوپتوز وابسته به پروتئین شبه اسپک^۴ (ASC) شده و در نتیجه عامل رونویسی هسته‌ای کاپا B^۵ (NF-KB)، عامل نکروز دهنده تومور آلفا^۶ (TNF α)، اینترلوکین ۱ بتا^۷ (IL-1 β) و IL-8 را آزاد کند. به طور خلاصه به این سازوکار که وابسته اختلال میتوکندری و کاهش سیرتئین‌ها (SIRT) به ویژه سیرتئین^۸ (SIRT1) و SIRT3 می‌باشد را پیروپتوز^۹ می‌نامند (۳). علاوه بر این میکرو RNA ای با نام miR-9-5P (یک RNA غیر کد شونده) به عنوان یک کاتالیزور مرتبط با SIRT1 شناخته می‌شود که می‌تواند مسیر اتوفازی را فعال کند؛ در عین حال اطلاعات نشان می‌دهند که مواجهه با Cd می‌تواند این محور را مختل نماید و در نهایت آسیب‌های جبران ناپذیری بر بافت کلیه بر جای بگذارد (۴).

از سویی اطلاعات حاکی از تاثیر مطلوب تمرینات ورزشی بر سلامت کلیه‌ها است، به گونه‌ای که تمرین ورزشی منظم می‌تواند منجر به بهبود جذب و بازجذب پروتئین، بهبود هموستاز آهن و اوره در بافت کلیه‌ها شوند. علاوه بر این اطلاعات نشان می‌دهند که تمرینات ورزشی می‌تواند با سازوکار مهار عامل گیرنده شبه تول‌ها به ویژه گیرنده شبه تول^{۱۰} (TLR2) منجر به مهار NF-KB، کاسپاز^{۱۱}، هموکسیژناز^{۱۲} (HO-1)، فعال‌سازی عامل رونویسی هسته‌ای متصل به اریپتروئید^{۱۳} (NRF2) شده و در نتیجه با افزایش رونویسی از آنتی‌اکسیدان‌ها افزایش پروتئین‌های ضد آپوپتوزی و بهبود اتوفازی در معکوس کردن مسیر آپوپتوزی ناشی از

¹ Cadmium

² Caspase 1

³ Nucleotide-binding oligomerization segment-like receptor family 3

⁴ Apoptosis-associated speck-like protein

⁵ nuclear factor KB

⁶ Tumor necrosis factor α

⁷ Interleukin 1 beta

⁸ Sirtuin 1

⁹ Pyroptosis

¹⁰ Toll-like receptor 2

¹¹ caspase-3

¹² Hem oxygenase 1

¹³ Nuclear factor erythroid 2-related factor 2



Cd عمل کند (۵). در این زمینه محققین نشان دادند که تمرین ورزشی طولانی مدت هم قبل و هم در دوره مواجهه با Cd توانست منجر به کاهش عوامل التهابی، مهار TLR2، NF-KB، بهبود آنزیم‌های کبدی، مهار آپوپتوز در دئودنوم، عملکرد گوارشی را بهبود دهد (۵). علاوه بر این محققین نشان داده‌اند که تمرینات ورزشی می‌تواند با بهبود عملکرد بیوژنز میتوکندریایی منجر به بهبود بیان miRهای دخیل در آپوپتوز و استرس اکسیداتیو مانند miR-21 و miR-132 در بافت کلیه موش‌های صحرایی در معرض Cd شوند (۶). در تحقیق دیگری عنوان شد که تمرین ورزشی می‌تواند از طریق بهبود کارکرد کبد و کلیه منجر به سم زدایی و کاهش سطح Cd خون گردد و در نتیجه با مهار آپوپتوز و استرس اکسیداتیو در کاهش خطر ابتلا به سکته قلبی و مغزی موثر است (۷). نتایج در ارتباط با تمرین ورزشی و تاثیر آن بر استرس اکسیداتیو و التهاب هنوز به خوبی شناخته نشده است احتمالاً اثر گذاری تمرین ورزشی بر این مسیر به شدت و طول دوره تمرین وابسته است. به طوری که در تحقیقی نیز نتایج نشان داد تمرینات تناوبی با شدت بالا^۱ (HIIT) می‌تواند منجر به افزایش آلبومین و کراتینین در سرم موش‌های صحرایی در معرض اتانول گردید (۸). همچنین دو نوع تمرین استقامتی با شدت کم و تمرین با شدت بالا مقایسه شد، نتایج حاکی از بیشتر بودن مقادیر گیرنده TNF α با زیر واحد B^۲1 (*Tnfrsf1b*) در گروه تمرین با شدت بالا نسبت به تمرین با شدت پایین بود (۹).

علاوه بر تمرینات ورزشی، اطلاعات نشان می‌دهند که استفاده از آنتی اکسیدان‌های طبیعی موجود در مواد غذایی می‌تواند اثرات مطلوبی بر عملکرد ارگان‌های بدن داشته باشند. از بین این آنتی اکسیدان‌ها گالیک اسید^۳ (GA) که با نام ۳، ۴، ۵-تری هیدروکسی-بنزوئیک اسید^۴ نیز شناخته می‌شود در بسیاری از میوه‌ها و سبزیجات از جمله گردو، سماق، فندق، برگ چای و بلوط یافت می‌شود (۱۰). اطلاعات حاکی از این است که مصرف GA با دوزهای ۲۰ و ۴۰ mg/kg در شرایط مواجهه با اکریل آمید منجر به کاهش استرس اکسیداتیو، بهبود آنزیم‌های کبدی، بهبود کراتینین، اوره، کاهش عوامل التهابی در بافت کبد و کلیه موش‌های صحرایی می‌گردد (۱۰). علاوه بر این در تحقیق دیگری نتایج نشان داد که GA توانست با بهبود عملکرد کانال‌های یونی، کاهش استرس اکسیداتیو و آپوپتوز منجر به کاهش آسیب عصبی ناشی از Cd در موش‌های صحرایی ویستار شود (۱۱). در تحقیقی دیگر نتایج نشان داد GA می‌تواند با سازوکار مهار مولکول - ۱ چسبان پلتلت اپیتلیال عروق^۵ (PECAM-1/CD31) منجر به مهار استرس اکسیداتیو و آپوپتوز شود و از این مسیر اثر محافظتی خود بر سلامت قلب را در شرایط مواجهه با Cd القا کند (۱۲).

علی‌رغم بررسی‌ها، اطلاعات محدودی در ارتباط با سازوکار تمرین ورزشی در شرایط مواجهه با Cd بر دو متغیر تحقیق حاضر وجود داشت. لذا، بررسی تاثیر تمرینات ورزشی و آنتی اکسیدان GA می‌تواند به افزایش درک علمی ما از این مسیر بیانجامد؛ همچنین بررسی اثر همزمان GA و تمرینات ورزشی بر مسیرهای سلولی مولکولی مرتبط با آسیب کلیه می‌تواند پایه گذاری تحقیقات کاربردی، در شرایط آسیب‌های کلیوی ناشی از سموم زیست محیطی به ویژه Cd باشد. از این رو تحقیق حاضر با هدف بررسی اثر هشت هفته تمرین HIIT و مصرف GA بر SIRT1 و miR-9-5P در بافت کلیه موش‌های صحرایی در معرض Cd انجام شد.

روش تحقیق

¹ High intensity interval training

² Tumour necrosis factor receptor super family 1b

³ Galic acid

⁴ 3,4,5-trihydroxy benzoic acid

⁵ Platelet endothelial cell adhesion molecule-1



تهیه و نگهداری حیوانات: در این تحقیق تجربی و با طرح پس آزمون همراه با گروه کنترل ابتدا تعداد ۴۲ سر موش صحرایی نژاد اسپراگو-داولی با سن تقریبی هشت تا نه ماه و وزن ۲۵۰ الی ۲۷۰ گرم از مرکز پرورش و تکثیر حیوانات آزمایشگاهی پاستور تهیه شد. این نکته قابل ذکر است که با توجه به وجود شش گروه بر اساس مطالعات گذشته که در پژوهش های مشابه با این پژوهش، ۷ سر موش صحرایی در هر گروه قرار داده بودند (۱۳) تعداد نمونه ۴۲ سر موش صحرایی انتخاب شد. در ادامه نمونه ها پس از انتقال به آزمایشگاه فیزیولوژی ورزشی مرکز تحقیقات بیطاران به مدت یک هفته جهت سازگاری با محیط نگهداری شدند. این نکته قابل ذکر است که در این تحقیق تمام اصول اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی بر اساس معاهده هلسینکی و تحت نظر کمیته اخلاق در پژوهش های زیست پزشکی با کد مصوب IR.IAU.B.REC.1403.094 انجام شد. 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 موش های صحرایی نگهداری شدند.

گروه بندی نمونه ها: در ادامه در روز هشتم تحقیق موش های صحرایی به طور تصادفی به گروه های کنترل سالم (HC) (n=7)، دریافت کادمیوم (Cd) (n=7)، کادمیوم + حلال گالیک اسید (طعم دهنده غذا) یا گروه شم (Sham) (n=7)، دریافت کادمیوم + گالیک اسید (Cd+GA) (n=7)، دریافت کادمیوم + تمرین تناوبی شدید (Cd+HIIT) (n=7) و دریافت کادمیوم + تمرین تناوبی شدید + گالیک اسید (Cd+HIIT+GA) (n=7) تقسیم شدند.

طرز تهیه کادمیوم: در تحقیق حاضر کادمیوم کلراید خالص از شرکت سیگما آلد ریچ آمریکا تهیه شد. در ادامه با توجه به تعداد و وزن موش های صحرایی ابتدا ۳۵ میلی گرم کادمیوم با حجم آب مصروفی روزانه گروه های دریافت کادمیوم، حل شد. به این صورت موش های صحرایی کادمیوم مورد نظر را به صورت روزانه و در آب مصروفی دریافت نمودند. این نکته قابل ذکر است که دوز مصروفی معادل ۵ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم از وزن بدن موش های صحرایی بود (۱۱).

طرز تهیه و مصرف گالیک اسید: گالیک اسید از شرکت سیگما آلد ریچ کشور آمریکا با کد اقتصادی ۲۷۶۴۵ تهیه شد. سپس روزانه ۲۰ میلی گرم 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 (۱۱).

پروتکل تمرین تناوبی شدید: مدت زمان تحقیق به مدت هشت هفته بود. ابتدا موش های صحرایی به مدت یک هفته، پنج جلسه با سرعت ۸ متر بر دقیقه و مدت زمان ۵ دقیقه بر روی نوارگردان برای آشنا سازی با نوارگردان دویدند. سپس در این تحقیق، HIIT شامل سه جلسه دویدن هفتگی روی نوارگردان با شدت و مدت زمان مشخص گردید. برای اجرای پروتکل HIIT، در ابتدا حداکثر سرعت دویدن موش های صحرایی اندازه گیری شد. برای تعیین حداکثر سرعت دویدن، از آزمون افزایشی استاندارد بدفورد و همکاران (۱۹۷۹) استفاده شد که توسط لیندرو و همکاران استاندارد سازی شد. برای موش ها این آزمون شامل ۱۰ مرحله سه دقیقه ای بود. سرعت در مرحله اول ۵ متر بر دقیقه و در مراحل بعدی ۵ متر بر دقیقه به سرعت اولیه 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، این سرعت معادل حداکثر اکسیژن مصرفی بود (۱۴).



پس از اندازه‌گیری حداکثر سرعت دویدن، پروتکل اصلی HIIT آغاز شد. پروتکل تمرین HIIT شامل سه مرحله: گرم کردن (۵ دقیقه)، تمرین اصلی، شامل تکرارهای فاصله زمانی ۲ دقیقه (با ریکاوری فعال ۲ دقیقه بین هر بازه) و سرد کردن (۵ دقیقه) بود. موش‌ها ابتدا روی نوارگردان با شدت ۵۰ تا ۶۰ درصد حداکثر سرعت دویدن 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٪ حداکثر سرعت دویدن در هفته اول، ۹۰٪ حداکثر سرعت دویدن در هفته دوم، ۱۰۰٪ حداکثر سرعت دویدن در هفته سوم و ۱۱۰٪ حداکثر سرعت دویدن 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 درصد حداکثر سرعت دویدن بود. پس از آخرین تکرار بازه با شدت بالا، موش‌ها پروسه سرد کردن را با شدت ۵۰ تا ۶۰ درصد حداکثر سرعت دویدن به مدت پنج دقیقه انجام می‌دادند. این نکته قابل ذکر است که تعداد تکرارهای فواصل با شدت بالا بر اساس تمرین هفتگی موش‌ها تعیین گردید. 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 چهارم ۴۰ دقیقه بود. این نکته قابل ذکر است که از هفته چهارم به بعد برای رعایت اصل اضافه بار تنها شدت تمرین بر اساس حداکثر سرعت دویدن افزایش می‌یافت. جهت درک بهتر مطلب پروتکل تمرین در جدول ۱ ارائه شده است (۱۵).

جدول ۱. چرنیات پروتکل تمرین تناوبی شدید به اجرا درآمده

شدت (درصد سرعت بیشینه)	تعداد تناوب با شدت بالا	سرعت دویدن (متر بر دقیقه)	مدت زمان (دقیقه)	سرد کردن و گرم کردن
۸۰	۲	۲۳	۱۶	سرد کردن و گرم کردن به مدت ۵ دقیقه با شدت ۵۰ الی ۶۰ درصد سرعت بیشینه؛
۹۰	۴	۲۶	۲۴	
۱۰۰	۶	۲۹	۳۲	
۱۱۰	۸	۳۱	۴۰	
۱۱۰	۸	۳۱	۴۰	
۱۱۰	۸	۳۱	۴۰	
۱۱۰	۸	۳۳	۴۰	
۱۱۰	۸	۳۳	۴۰	
هفته اول				
هفته دوم				
هفته سوم				
هفته چهارم				
هفته پنجم				
هفته ششم				
هفته هفتم				
هفته هشتم				



روش های تشریح و نمونه برداری: در ادامه دو روز پس از آخرین جلسه تمرین و مکمل دهی، موش های صحرایی در حالت ۱۲ ساعت ناشتایی با استفاده از ترکیب کتامین (۷۰ mg/kg) و زایلازین (۲۰ mg/kg) تهیه شده از شرکت آلفاسان هلند بی هوش شدند. برای تشخیص بی هوشی آزمون های 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 سمت راست، بافت کلیه به دقت توسط متخصصین آزمایشگاه جدا شد و پس از شست و شو به میکروتیوب های ویژه نگهداری بافت منتقل شدند. در ادامه بافت ها بلافاصله در تانک ازت غوطه ور شدند و از آن پس تا زمان اندازه گیری متغیر ها در دمای ۷۰- نگهداری شدند.

روش اندازه گیری بیان ژن: جهت بررسی های مولکولی در سطح بیان ژن های SIRT1 و miR-9-5P ابتدا استخراج RNA از بافت کلیه طبق پروتکل شرکت سازنده (سیناژن، ایران)، انجام گرفت، سپس با استفاده از خاصیت جذب نور در طول موج ۲۶۰ نانومتر و با کمک رابطه زیر غلظت و درجه خلوص نمونه RNA به صورت کمی بدست آمد. پس از استخراج RNA با خلوص و غلظت بسیار بالا از تمامی نمونه های تحقیق مراحل سنتز cDNA طبق پروتکل شرکت سازنده انجام گرفت و سپس cDNA سنتز شده جهت انجام واکنش رونویسی معکوس مورد استفاده قرار گرفت. ابتدا پرایمرهای طراحی شده، مربوط به ژن ها مورد بررسی قرار گرفت و سپس بررسی بیان ژن ها با استفاده از روش کمی ریل تایم پی سی آر (q-RT PCR) انجام پذیرفت. همچنین برای کمی سازی داده ها از فرمول $2^{-\Delta\Delta CT}$ استفاده شد. توالی پرایمرهای مورد استفاده در تحقیق در جدول ۲ ارائه شده است.

جدول ۲. توالی پرایمر های مورد استفاده در تحقیق

Genes	Primer Sequences	Sizes (bp)
TBP	Forward: 5'- GCGGGGTCATGAAATCCAGT-3'	147
	Reverse: 5'- AGTGATGTGGGACAAAACGA -3'	
SIRT1	Forward: 5'- TCCTGTGGGATACCTGACTT-3'	300
	Reverse: 5'- AAAGGAACCATGACACTGAATGA -3'	
miR-9-5p	Forward: GTGCAGGGTCCGAGGT	
	Reverse: GCGCTCTTTGGTTATCTAGC	
U6	Forward: CTCGCTTCGGCAGCACA	
	Reverse: AACGCTTCACGAATTTGCGT	

روش های آماری: در این تحقیق ابتدا نرمال بودن داده ها توسط آزمون شاپیرو-ویلک و همگنی واریانس ها توسط آزمون لون مورد بررسی قرار گرفت. در ادامه برای بررسی تفاوت بین گروه ها از آزمون تحلیل واریانس یک راهه استفاده شد و در صورت معنی-



دار بودن برای تعیین محل تفاوت بین گروهی از آزمون مقایسه زوجی توکی استفاده شد. داده ها با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۲۰ و در سطح معنی داری $p \leq 0.05$ تجزیه و تحلیل شدند.

یافته ها

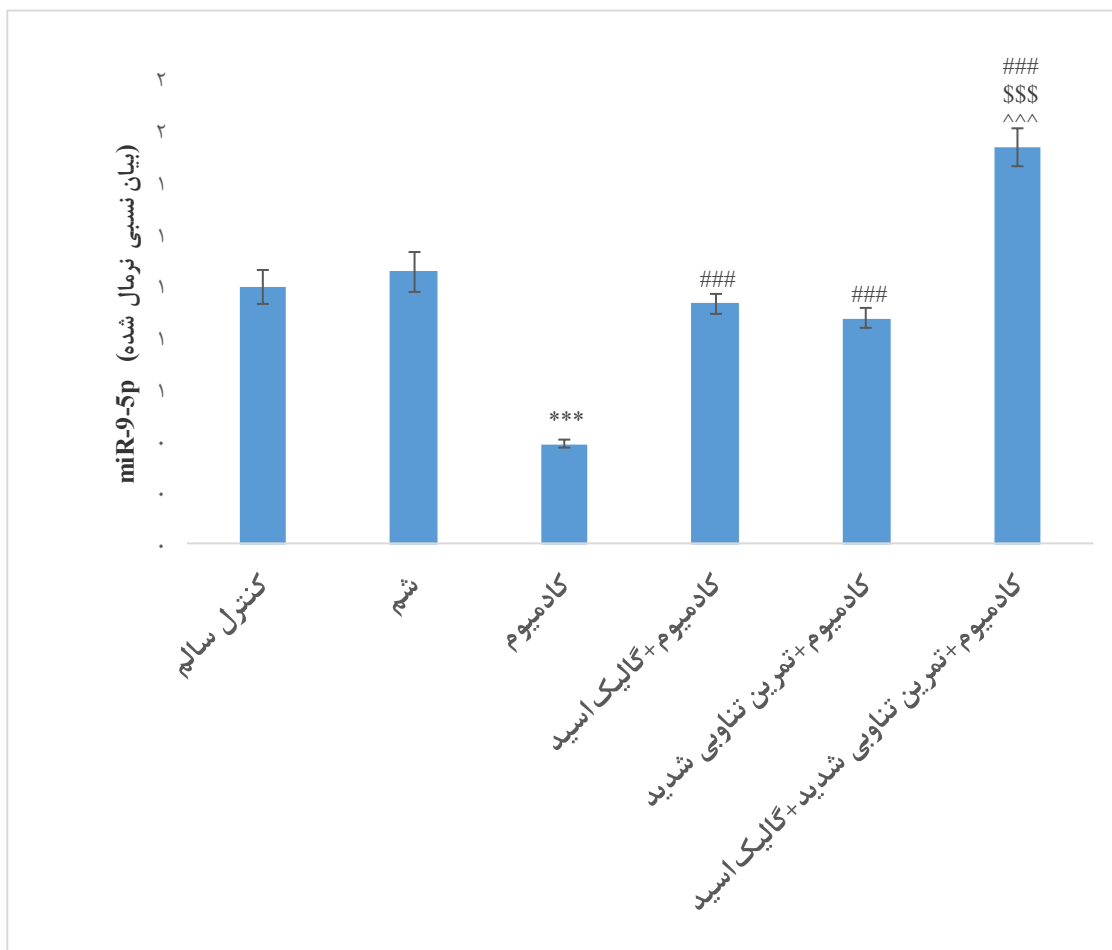
نتایج آزمون شاپیرو-ویلک نشان داد توزیع متغیرهای تحقیق طبیعی می باشد. در جدول شماره ۳ نتایج آزمون تحلیل واریانس یکراهه برای تعیین تفاوت بین گروهی ارائه شده است. نتایج آزمون تحلیل واریانس یکراهه نشان داد تفاوت معنی داری در بیان ژن miR-9-5P ($p=0.001$ و $F=261/31$) و SIRT1 ($p=0.001$ و $F=272/97$) بین گروهها وجود دارد.

همچنین نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان که تفاوت معنی داری در بیان ژن miR-9-5p در گروه HC و گروه Sham وجود ندارد ($p=0.47$ و $MD=-0.05$). همچنین در گروه Cd به طور معنی داری کمتر از گروه کنترل HC بود ($p=0.001$ و $MD=0.61$). اما در گروه Cd+GA ($p=0.001$ و $MD=-0.54$)، Cd+HIIT ($p=0.001$ و $MD=-0.48$) و Cd+HIIT+GA ($p=0.001$ و $MD=-1.15$) به طور معنی داری بیشتر از گروه Cd بود. تفاوت معنی داری بین گروههای Cd+GA و Cd+HIIT مشاهده نشد ($p=0.51$ و $MD=-0.05$)؛ با این حال در گروه Cd+HIIT+GA به طور معنی داری بیشتر از گروههای Cd+GA ($p=0.001$ و $MD=-0.60$) و Cd+HIIT ($p=0.001$ و $MD=-0.66$) بود (شکل ۱).

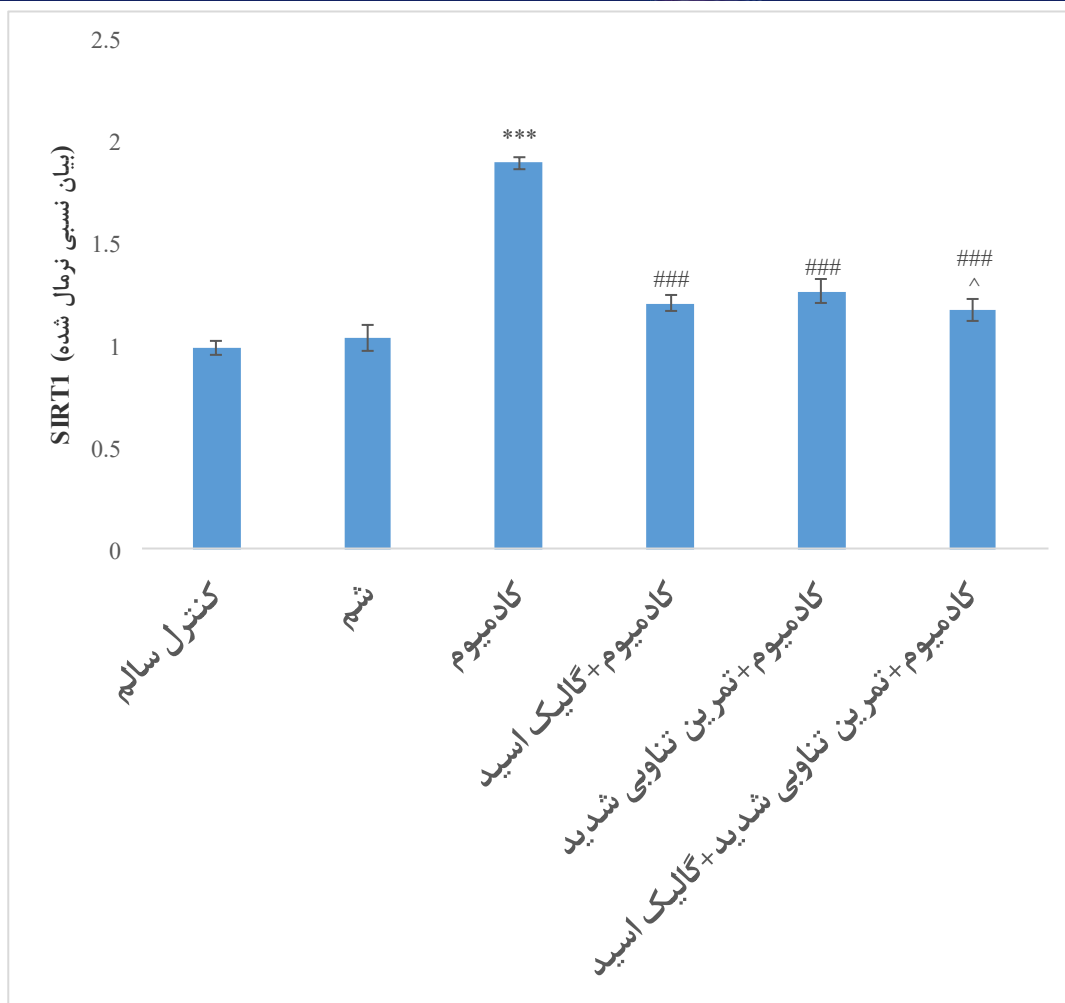
نتایج این آزمون نشان داد تفاوت معنی داری در بیان ژن SIRT1 در گروه کنترل HC و گروه Sham وجود ندارد ($P=0.42$ و -0.05). همچنین در گروه Cd به طور معنی داری بیشتر از گروه HC بود ($p=0.001$ و $MD=-0.91$). اما در گروه Cd+GA ($p=0.001$ و $MD=0.69$)، Cd+HIIT ($p=0.001$ و $MD=0.63$) و Cd+HIIT+GA ($p=0.001$ و $MD=0.72$) به طور معنی داری کمتر از گروه Cd بود. تفاوت معنی داری بین Cd+GA ($p=0.31$ و $MD=-0.05$) و Cd+HIIT ($p=0.83$ و $MD=0.03$) در مقایسه با گروه Cd+HIIT+GA مشاهده نشد؛ اما در گروه Cd+HIIT+GA به طور معنی داری کمتر از گروه Cd+HIIT بود ($p=0.02$ و $MD=0.09$) (شکل ۲).

جدول ۳. نتایج آزمون تحلیل واریانس یکراهه برای بررسی مقادیر بیان ژن miR-9-5P و SIRT1 در بافت کلیه موشهای صحرایی در گروههای تحقیق

متغیرها	عامل	مجموع مربعات	درجه آزادی	میانگین مربعات	F	سطح معنی داری
miR-9-5p	بین گروه ها	4/101	5	0/820	261/31	0/001
	درون گروهی	0/095	40	0/003		
	کل	4/19	41			
SIRT1	بین گروه ها	3/26	5	0/653	272/97	0/001
	درون گروهی	0/072	40	0/002		
	کل	3/33	41			



شکل ۱. مقایسه بیان ژن miR-9-5p بافت کلیه موش‌های صحرایی در گروه‌های مختلف تحقیق. *** نشانه کاهش معنی‌دار نسبت به گروه کنترل سالم در سطح ۰/۰۰۱؛ ### نشانه افزایش معنی‌دار نسبت به گروه کادمیوم در سطح ۰/۰۰۱؛ \$\$\$ نشانه افزایش معنی‌دار نسبت به گروه کادمیوم + گالیک اسید در سطح ۰/۰۰۱؛ ^^^ نشانه افزایش معنی‌دار نسبت به گروه کادمیوم + تمرین تناوبی شدید در سطح ۰/۰۰۱.



شکل ۲. مقادیر بیان ژنی SIRT1 در بافت کلیه موش‌های صحرایی در گروه‌های تحقیق. *** نشانه کاهش معنی‌دار نسبت به گروه کنترل سالم در سطح ۰/۰۰۱؛ ### نشانه افزایش معنی‌دار نسبت به گروه کادمیوم در سطح ۰/۰۰۱؛ ^ (p=۰/۰۵) افزایش معنی‌دار نسبت به گروه کادمیوم + تمرین تناوبی شدید در سطح ۰/۰۰۱

بحث

با توجه به یافته‌ها مقادیر miR-9-5p در گروه کادمیوم به طور معنی‌داری کمتر و مقادیر SIRT1 به طور معنی‌داری بیشتر از گروه کنترل سالم بود. اما در گروه تمرین مقادیر miR-9-5p به طور معنی‌داری بیشتر و مقادیر SIRT1 به طور معنی‌داری کمتر از گروه کادمیوم بود. بر اساس اطلاعات Cd با افزایش گونه‌های فعال اکسیژن^۱ (ROS) منجر به تجزیه لیپیدهای غشایی، پروتئین‌های ساختاری، محتوای DNA و آسیب میتوکندری می‌شود (۱۶، ۱۷). در این زمینه، نتایج تحقیقی حاکی از کاهش بیان SIRT1

¹ Reactive oxygen species



متعاقب قرار گرفتن سلول‌های رده PC12 در شرایط دوز فرا فیزیولوژیک کادمیوم بود (۱۷). در تحقیقی دیگر نتایج حاکی از افزایش HO-1، کاهش عامل هسته‌ای رونویسی متصل به اریترئوئید ۱ (NRF1)، پروتئین متصل به آن یعنی Keap1، افزایش نشانگرهای آپوپتوزی، اکسایشی و کاهش نشانگرهای ضد آپوپتوزی در بافت ریه موش‌های صحرایی گردید (۱۶). اما در یک تحقیق دیگر محققین نتایج نشان داد که سمیت حاد با Cd در دوزهای بالا به سرعت منجر به فعال‌سازی آپوپتوز می‌شود؛ در حالی که سمیت با Cd در دوزهای پایین و زمان‌های طولانی وابسته به دوز تجمعی این عامل سمی است. زیرا سیستم‌های فیزیولوژیک بدن می‌توانند با افزایش آنتی‌اکسیدان‌ها با سمیت دوزهای پایین مقابله نمایند (۱۸). همچنین نتایج یک تحقیق نشان داد که که بیشترین میزان التهاب و استرس اکسیداتیو در دوز ۲۵ میکرومول Cd و بالاتر از آن مشاهده گردید. اما در دوزهای پایین‌تر از ۱۰ میکرومول به طور چشمگیری میزان التهاب و آپوپتوز نسبت به دوزهای بالاتر کمتر بود (۱۹). Cd از مسیر کاهش بیان miR-9-5p می‌تواند منجر به اختلال در مسیر گلیکوژن سنتتاز کیناز ۳ بتا^۲ (GSK-3 β)، اختلال در NRF2، Keap1، SOD و افزایش استرس اکسیداتیو و در نهایت القا آپوپتوز در سلول شود (۲۰). از شواهد فوق به نظر می‌رسد مسیر القا آپوپتوز و اختلال در عملکرد میتوکندریایی سازوکاری پیچیده‌تر از یک ژن مانند SIRT1 دارد که عدم ارزیابی این مسیرها از محدودیت‌های تحقیق حاضر است.

از سویی تمرینات ورزشی با سازوکار افزایش HO-1، NQO-1 و افزایش بیان NRF2 می‌تواند مسیرهای آنتی‌اکسیدانی را در سلول فعال کند و از این مسیر منجر به مهار گیرنده‌های شبه تول ۲ (TLR2) و NF- κ B، کاهش MDA و بیان عوامل التهابی مانند IL-1 β ، IL-6 و TNF- α شود. در نهایت این مسیر با مهار بیان ژن‌های caspase-3 و Bax منجر به توقف آپوپتوز ناشی از سمیت کادمیوم می‌گردد (۲۰). در تحقیقی بیان شده است که در شرایط مواجهه با کادمیوم، انجام تمرینات منظم ورزشی می‌تواند اثرات سوء کادمیوم را تعدیل کند و با بهبود آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی این سمیت را خنثی کند (۲۱). در این زمینه یک تحقیق نشان داد که تمرینات منظم ورزشی منجر به افزایش بیان miR-21 در بافت کلیه موش‌های در معرض کادمیوم گردید؛ اما اثر معنی‌داری بر مقادیر بیان ژنی miR-132 نداشت (۶). همچنین نتایج یک پژوهش نشان داد تمرین تناوبی شدید منجر به افزایش مقادیر کاتالاز و گلوکاتایون پراکسیداز در بافت قلب موش‌های صحرایی در معرض کادمیوم گردید (۲۲). نتایج تحقیق دیگری حاکی از افزایش بیان ژن Bcl-2 و کاهش Bax در بافت قلب موش‌های صحرایی در معرض کادمیوم بود (۲۳). در تحقیقی نیز نتایج نشان داد تمرین تداومی هشت هفته‌ای توانست منجر به کاهش بیان ژن Caspase-3، cytochrome c و cyclin D در بافت کبد موش‌های صحرایی در معرض کادمیوم شد (۲۴).

نتایج نشان داد در گروه گالیک اسید مقادیر miR-9-5p به طور معنی‌داری بیشتر و مقادیر SIRT1 به طور معنی‌داری کمتر از گروه کادمیوم بود. اطلاعات نشان می‌دهند که گالیک اسید به دلیل دارا بودن خواص آنتی‌اکسیدانی و ضد التهابی می‌تواند منجر به مهار التهاب، مهار NF- κ B، میلوپراکسیداز، نیکوتین آمید دی‌نوکلئوتید^۳ (NADPH) اکسیداز، کاهش تیوباریوتیک اسیدها، نیتریک اکساید، IL-6 و بهبود عملکرد میتوکندری در سلول در شرایط مواجهه با کادمیوم شود (۱۱). در تحقیقی دیگر نتایج نشان داد که گالیک اسید از مسیرهای افزایش داستیلایسون‌ها منجر به افزایش بیان سیرتوئین‌ها شده و در نتیجه بیوتز میتوکندریایی را بهبود می‌بخشد. بنابراین این آنتی‌اکسیدان به طور بالقوه در فعال‌سازی مسیرهای رونویسی از آنتی‌اکسیدان‌ها نیز فعال است (۲۵). علاوه

¹ Nuclear respiratory factor 1

² Glycogen synthase kinase-3 β

³ Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate



بر این در تحقیقی دیگر نتایج حاکی از افزایش آنتی‌اکسیدان‌ها مانند SOD، GPx، کاتالاز، افزایش مسیر رونویسی از آنتی‌اکسیدان‌ها از محور HO-1/NRF2، کاهش بیان عامل رشد پس ترجمه‌ای بتا ($TGF-\beta$) در هایپرتروفی القا شده در بافت قلب توسط کادمیوم گردید (۱۲). در ارتباط با تاثیر گالیک اسید بر عملکرد کلیوی یک تحقیق نشان داد ۲۰ و ۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم از این آنتی-اکسیدان منجر به افزایش Bcl-2، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام، کاهش MDA، $IL-1\beta$ ، $TNF-\alpha$ ، Bax در بافت کلیه، کاهش اوره نیتروژن خون و کراتینین در موش‌های صحرایی در معرض سیس-پلاتین گردید (۲۶). در یک تحقیق نیز نتایج نشان داد که مصرف گالیک اسید منجر به کاهش اوره، کراتینین، MDA، افزایش GSH و GPx در بافت کلیه موش‌های صحرایی پس از انسداد و خونرسانی مجدد گردید (۲۷). بنابراین نقش محافظتی گالیک اسید در بافت کلیه همانند این تحقیق در مطالعات پیشین نیز نشان داده شده است. اما محدودیت تحقیق حاضر این بود که تاکنون پژوهشی مسیر آبشاری مرتبط با SIRT1 و miR-9-5p را بررسی ننموده بود.

علاوه بر این در گروه تمرین + گالیک اسید مقادیر miR-9-5p به طور معنی‌داری بیشتر و مقادیر SIRT1 به طور معنی‌داری کمتر از گروه کادمیوم بود. در گروه تمرین + اسید گالیک مقادیر miR-9-5p به طور معنی‌داری بیشتر از گروه‌های گالیک اسید و تمرین بود. نتایج حاکی از این است که SIRT1 در گروه تمرین + گالیک اسید به طور معنی‌داری کمتر از گروه تمرین بود. به طور کلی به نظر می‌رسد تمرین ورزشی با افزایش بیان NRF2 می‌تواند منجر به بیان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی درون زاد مانند SOD، GPx، GSH گردد، همچنین تمرین ورزشی با تعدیل ماکروفاژها منجر مهار $TLR2$ ، $NF-\kappa B$ ، شود و عوامل التهابی را کاهش دهد (۲۰). همچنین گالیک اسید با مهار $NF-\kappa B$ ، میلوپراکسیداز، NADPH اکسیداز، کاهش تیوباریوتیک اسیدها، نیتریک اکساید، $IL-6$ ، افزایش داستیلاسیون‌ها، افزایش بیان سیرتوئین‌های ۱ و ۳ می‌تواند در بیوژنز میتوکندریایی در شرایط مواجهه با کادمیوم شود (۱۱). از این‌رو این دو مداخله از مسیرهای مشابهی اثرات محافظتی دارند؛ اما، از دلایلی که در این تحقیق SIRT1 پس از دریافت کادمیوم افزایش یافته است را دوز کادمیوم دانست. زیرا کادمیوم با دوزهای متفاوت اثرات متفاوتی دارند و در ابتدای بحث این مقوله عنوان شد. در زمینه اثر همزمان تمرین و گالیک اسید یک تحقیق نشان داد گالیک اسید همراه با تمرین مقاومتی منجر به بهبود آنزیم‌های کبدی در موش‌های صحرایی در معرض استروئیدهای آنابولیک گردید (۲۸). در تحقیقی دیگر نتایج حاکی از کاهش نشانگر-های آپوپتوزی بافت قلب متعاقب تمرین و مصرف همزمان گالیک اسید در موش‌های صحرایی در معرض بولدنون بود (۲۹). در تحقیق دیگری نیز نتایج نشان داد که مصرف گالیک اسید اثر تمرین حاد ورزشی بر افزایش استرس اکسیداتیو ناشی از تمرین شدید را کاهش داد و در نهایت منجر به کاهش آسیب به سلول‌های عضلانی گردید (۳۰). لذا به نظر می‌رسد این دو مداخله هر دو دارای اثرات محافظتی بر کلیه هستند و می‌توانند از مسیرهای مشابه منجر به تعدیل بیوژنز میتوکندری و توقف استرس اکسیداتیو شوند. از سویی با توجه به محدودیت اطلاعات در ارتباط تاثیر تمرین و گالیک اسید بر SIRT1 و miR-9-5p به نظر می‌رسد در شرایط مواجهه با کادمیوم و آلاینده‌های دیگر مطالعات بیشتر ضروری باشد. همچنین با توجه به اینکه به نظر می‌رسد دوزهای مختلف کادمیوم و زمان در معرض قرار گرفتن می‌باشد. عدم ارزیابی دوزهای مختلف کادمیوم و زمان‌های مختلف در معرض قرار گرفتن از دیگر محدودیت‌های تحقیق حاضر است. بنابراین پیشنهاد می‌گردد در تحقیق‌های آتی شرایط دوزهای مختلف و زمان-بندی در کنار مداخله‌های درمانی مورد ارزیابی قرار گیرد. با توجه به نقش مسیر NRF2 در فعال‌سازی سیرتوئین‌ها و miR-9-5p به نظر می‌رسد عدم ارزیابی مسیر بالا دست این دو پروتئین از دیگر محدودیت‌های تحقیق حاضر است. بنابراین پیشنهاد می‌گردد در تحقیق‌های آتی مسیر آبشاری کامل‌تر این دو پروتئین ارزیابی شود. با توجه به اهمیت نشانگرهای بالینی برای تشخیص عملکرد



کلیوی، عدم ارزیابی کراتینین، اوره -نیتروژن، هموگلوبین و بیلی روبین از دیگر محدودیت های تحقیق حاضر است. بنابراین پیشنهاد می گردد در تحقیق های آتی برای اطمینان از نتایج تحقیق نشانگر های عملکردی نیز ارزیابی شوند.

نتیجه گیری

به نظر می رسد تمرین ورزشی و مصرف گالیک اسید هر دو می توانند در تعدیل بیان ژن SIRT1 و miR-9-5p که با بیوژنز میتوکندریایی و کاهش آپوپتوز مرتبط هستند، نقش داشته باشند. اما با توجه به نتایج این تحقیق تعامل تمرین HIIT و مصرف گالیک اسید در کاهش بیان ژن SIRT1 و افزایش miR-9-5p به مراتب موثرتر از اثر هر کدام به تنهایی است.

تعارض منافع

نویسندگان تعارض منافی ندارند.

قدردانی و تشکر

با توجه به این که این مقاله مستخرج از رساله دکتری فیزیولوژی ورزشی دانشگاه آزاد بروجرد می باشد، بدینوسیله از حمایت های معنوی معاونت پژوهش این واحد دانشگاهی تشکر و قدردانی می گردد.

منابع

1. Zhang K, Long M, Dong W, Li J, Wang X, Liu W, Huang Q, Ping Y, Zou H, Song R, Liu G, Ran D, Liu Z. Cadmium induces kidney iron deficiency and chronic kidney injury by interfering with the iron metabolism in rats. *International journal of molecular sciences*. 2024 Jan 7;25(2):763. doi: 10.3390/ijms25020763. PMID: 38255838; PMCID: PMC10815742.
2. Abbaszadeh M, Pakdel H, Barakeh S, Pakdel A. Association between cadmium exposure and risk of chronic kidney disease; a systematic review and meta-analysis. *Journal of Renal Injury Prevention*. 2024; x(x): e32254. doi: 10.34172/jrip.2024.32254.
3. Dong W, Zhang K, Wang X, Li J, Zou H, Yuan Y, Gu J, Zhu J, Liu G, Liu Z, Song R. SIRT1 alleviates Cd nephrotoxicity through NF-KB/p65 deacetylation-mediated pyroptosis in rat renal tubular epithelial cells. *The Science of the total environment*. 2024 Jun 15;929:172392. doi: 10.1016/j.scitotenv.2024.172392. Epub 2024 Apr 10. PMID: 38608885.
4. Liu Y, Lin X, Hao Z, Yu M, Tang Y, Teng X, Sun W, Kang L. 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 Jul;138:108853. doi: 10.1016/j.fsi.2023.108853. Epub 2023 May 27. PMID: 37245677.



5. Zhang D, Liu J, Liu J, Fatima M, Yang L, Qin Y, Li W, Sun Z, Yang B. Exercise antagonizes cadmium-caused liver and intestinal injury in mice via Nrf2 and TLR2/NF-KB signalling pathway. *Ecotoxicology and environmental safety*. 2025 Apr 1;294:118100. doi: 10.1016/j.ecoenv.2025.118100. Epub 2025 Mar 30. PMID: 40164036.
6. Delshad A, Salimi F, Valipour S. The effect of physical activity along with the consumption of hydroalcoholic extract of date pollen on the expression of some microRNAs in cadmium-induced toxicity in rat kidney tissue. *Medical Journal of Tabriz University of Medical Sciences*. 2024;46(2):165-174. doi: 10.34172/mj.2024.023. Persian.
7. Deng X, Liu D, Li M, He J, Fu Y. Physical activity can reduce the risk of blood cadmium and blood lead on stroke: Evidence from NHANES. *Toxicology and applied pharmacology*. 2024 Feb;483:116831. doi: 10.1016/j.taap.2024.116831. Epub 2024 Jan 22. PMID: 38266873.
8. Sadat Hosseini N, Shirazpour S, Sepehri G, Dabiri S, Meymandi MS. High-intensity interval training alleviates ethanol-induced renal damage: A study on inflammation, oxidative stress, and histopathological changes in rats. *Drug and Alcohol Dependence Reports*. 2025 Feb 6;14:100320. doi: 10.1016/j.dadr.2025.100320. PMID: 40027155; PMCID: PMC11872131.
9. Tucker PS, Briskey DR, Scanlan AT, Coombes JS, Dalbo VJ. High intensity interval training favourably affects antioxidant and inflammation mRNA expression in early-stage chronic kidney disease. *Free radical biology & medicine*. 2015 Dec;89:466-72. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2015.07.162. Epub 2015 Oct 8. PMID: 26453919.
10. Alejolowo O O, Elias A O, Eseagwu O S, Nwonuma C O, Osemwegie O O. Gallic acid modulates oxido-inflammatory response in acrylamide-induced hepato-renal toxicity. *Scientific African*, 2024; 23, e02024.
11. Ojo OA, Rotimi DE, Ojo AB. Gallic acid abates cadmium chloride toxicity via alteration of neurotransmitters and modulation of inflammatory markers in Wistar rats. *Scientific Report*. 2023; 13, 1577.
12. Sundaresan S, John S, Paneerselvam G, Andiappan R, Christopher G, Selvam GS. Gallic acid attenuates cadmium mediated cardiac hypertrophic remodelling through upregulation of Nrf2 and PECAM-1 signalling in rats. *Environmental toxicology and pharmacology*. 2021 Oct;87:103701. doi: 10.1016/j.etap.2021.103701. Epub 2021 Jul 6. PMID: 34237468.
13. Hiratsuka H, Satoh Si, Satoh M, Nishijima M, Katsuki Y, Suzuki J, Nakagawa Ji, Sumiyoshi M, Shibutani M, Mitsumori K, Tanaka-Kagawa T, Ando M. Tissue distribution of cadmium in rats given minimum amounts of cadmium-polluted rice or cadmium chloride for 8 months. *Toxicology and applied pharmacology*. 1999 Oct 15;160(2):183-91. doi: 10.1006/taap.1999.8768. PMID: 10527917.
14. Bedford TG, Tipton CM, Wilson NC, Oppliger RA, Gisolfi CV. Maximum oxygen consumption of rats and its changes with various experimental procedures. *Journal of applied physiology: respiratory, environmental and exercise physiology*. 1979 Dec;47(6):1278-83. doi: 10.1152/jappl.1979.47.6.1278. PMID: 536299.
15. Momeni L, Fathi Moghadam H, Hosseini S, Nikbakht M. Interactive effects of endurance training and selenium consumption on the intrinsic apoptosis pathway in the liver tissue of cadmium-exposed rats. *Journal of Nutritional Sciences and Dietetics*. 2020;5(3-4).
16. Alruhaimi RS, Hassanein EHM, Bin-Jumah MN, Mahmoud AM. Cadmium-induced lung injury is associated with oxidative stress, apoptosis, and altered SIRT1 and Nrf2/HO-1 signaling; protective role of the melatonin agonist agomelatine. *Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology*. 2024 Apr;397(4):2335-2345. doi: 10.1007/s00210-023-02754-5.
17. Wen S, Xu M, Zhang W, Song R, Zou H, Gu J, Liu X, Bian J, Liu Z, Yuan Y. Cadmium induces mitochondrial dysfunction via SIRT1 suppression-mediated oxidative stress in neuronal cells. *Environmental toxicology*. 2023 Mar;38(4):743-753. doi: 10.1002/tox.23724.



18. Liu J, Qu W, Kadiiska MB. Role of oxidative stress in cadmium toxicity and carcinogenesis. *Toxicology and applied pharmacology*. 2009 Aug 1;238(3):209-14. doi: 10.1016/j.taap.2009.01.029. Epub 2009 Feb 21. PMID: 19236887; PMCID: PMC4287357.
19. Tsangaris GT, Tzortzatou-Stathopoulou F. Cadmium induces apoptosis differentially on immune system cell lines. *Toxicology*. 1998 Jul 3;128(2):143-50. doi: 10.1016/s0300-483x(98)00032-8. PMID: 9710155.
20. Liu J, Zuo X, Han J, Dai Q, Xu H, Liu Y, Cui S. MiR-9-5p inhibits mitochondrial damage and oxidative stress in AD cell models by targeting GSK-3 β . *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*. 2020 Nov;84(11):2273-2280. doi: 10.1080/09168451.2020.1797469. Epub 2020 Jul 25. PMID: 32713252.
21. Minigalieva, I. A., Shabardina, L. V., Ryabova, Y. V., Panov, V. G., Kungurtseva, A. K., & Sakhaudinova, R. R. (2024). Experimental study of toxic effects of cadmium against background of physical exercise. *Hygiene and Sanitation*, 103(8), 895-905. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2024-103-8-895-905>
22. Azhdari A, Hosseini S A, Farsi S. Antioxidant effect of high intensity interval training on cadmium-induced cardiotoxicity in rats. *Gene Cell Tissue*.2019;6(3):e94671.<https://doi.org/10.5812/gct.94671>.
23. Ghajari H, Hosseini S A, Farsi S. The effect of endurance training along with cadmium consumption on Bcl-2 and Bax gene expressions in heart tissue of rats. *Annals of Military and Health Sciences Research*.2019;17(1):e86795.<https://doi.org/10.5812/amh.86795>.
24. Humayun Fard H, Hosseini S A, Azarbayjani M A, Nikbakht M. Antiapoptotic effects of continuous training and selenium consumption on the liver tissue of cadmium- exposed rats. *Middle East Journal of Rehabilitation and Health Studies*.2019;6(3):e91278.<https://doi.org/10.5812/mejrh.91278>.
25. Adebayo, A. A., Ademosun, A. O., & Oboh, G. (2023). Gallic acid abrogates cadmium-induced neurochemical changes and cognitive deficits in Wistar rat. *Nutrire*, 48(1), 30. DOI:10.1186/s41110-023-00216-9
26. Amini N, Badavi M, Mard SA, Dianat M, Moghadam MT. The renoprotective effects of gallic acid on cisplatin-induced nephrotoxicity through anti-apoptosis, anti-inflammatory effects, and downregulation of lncRNA TUG1. *Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology*. 2022 Jun;395(6):691-701. doi: 10.1007/s00210-022-02227-1. Epub 2022 Mar 18. PMID: 35303125.
27. Ahmadvand H, Yalameha B, Adibhesami G, Nasri M, Naderi N, Babaeenezhad E, Nouryazdan N. The protective role of gallic acid pretreatment n renal ischemia-reperfusion injury in rats. *Reports of biochemistry & molecular biology*. 2019 Apr;8(1):42-48. PMID: 31334287; PMCID: PMC6590945.
28. Ranjbar, K., Matin Homaie, H., Azarbayjani, M. A., & Piri, M. (2020). The effect of gallic acid supplement and resistance exercise on the bio-markers of liver in intoxicated male rats of anabolic steroid. *Medical Laboratory Journal*, 14(1), 44-49. doi: 10.29252/mlj.14.1.44
29. Akbari, M., Moradi, L., Alizadeh, R., & Abbasi Daloui, A. (2018). Investigating the effects of endurance training and gallic acid on Annexin-5 and caspase-3 of cardiac tissue in male wistar rats undergoing boldenone. *Complementary Medicine Journal*. 8(2), 2279-92.
30. Yu L, Tian D, Su Z. Gallic acid alleviates exercise-induced muscle damage by inhibiting mitochondrial oxidative stress and ferroptosis. *Journal of Translational Medicine*, 2025; 23, 30. <https://doi.org/10.1186/s12967-024-06042-5>



مطالعات کاربردی

علوم زیستی در ورزش



نسخه پیش از انتشار ویرایش نشده