

Research Paper

Effect of Eight Weeks of Endurance Training with Pistacia Atlantica Extract on the Expression of Ghrelin Gene in the Intestinal Tissue of Rats

Saleh Rahmati-Ahmadabad

Department of Physical Education, Pardis Branch, Islamic Azad University, Pardis, Iran

Received: 1 October 2020

Revised: 18 November 2020

Accepted: 26 December 2020

Use your device to scan and
read the article online



Keywords:

Ghrelin, Intestine,
Pistacia Atlantica (Baneh),
Aerobic Training

Abstract

Introduction: Impaired energy balance causes various diseases such as obesity, diabetes, etc. Many peptides are involved in regulating energy balance in the body, of which ghrelin is one of the most important. This study investigates the effect of endurance training and Pistacia Atlantica extract (Baneh) (as a plant rich in fatty acids) on ghrelin gene expression in the intestinal tissue of female rats.

Materials and methods: In this experimental study, 20 adult female Wistar rats were selected and randomly divided into four groups: 1) saline control, 2) saline training, 3) Baneh control, and 4) Baneh + training. Groups 2 and 4 trained on a rodent treadmill for eight weeks (five days a week, each session for 60 minutes at a speed of 25 m / min with a zero slope) while groups 1 and 3 did not. Groups 3 and 4 received Pistacia Atlantica extract and groups 1 and 3 received saline solution before exercise as a gavage (1 mg per gram of body weight). Rats were anesthetized and biopsied 72 hours after the last training session in the fasting state. Data were analyzed using a two-way analysis of variance and $P < 0.05$ was considered significant.

Findings: Eight weeks of aerobic training decreased ghrelin gene expression in rats intestinal tissue ($P < 0.001$) but its expression increased in response to Pistacia Atlantica use ($P < 0.001$).

Conclusion: The use of a high-fat diet (Baneh extract) increased the expression of the ghrelin gene in intestinal tissue. Eight weeks of aerobic training moderated this increase.

Citation: Rahmati-Ahmadabad s. Effect of eight weeks of endurance training with Pistacia Atlantica extract on the expression of ghrelin gene in the intestinal tissue of rats. Res Sport Sci Med Plants. 2021; 1 (2): 26- 36.

***Corresponding author:** Saleh Rahmati-Ahmadabad

Address: Department of Physical Education, Pardis Branch, Islamic Azad University, Pardis, Iran

Tell: 00989190121871

Email: salehrahmati@pardisiau.ac.ir

Extended Abstract

Introduction

Impaired energy balance causes various diseases such as obesity, diabetes, cardiovascular diseases, and so on. Many peptides are involved in regulating energy balance in the body, of which ghrelin is one of the most important (1). Ghrelin is a 28-amino acid peptide that is expressed in the central and peripheral tissues including the hypothalamus, pituitary, liver, visceral fat, kidney, heart, immune cells, etc. (2). Ghrelin plays a vital role in energy balance homeostasis. Ghrelin increases food intake and obesity by transmitting a hunger signal from the peripheral environment to the central nervous system (5). It is also responsible for maintaining growth hormone secretion and energy homeostasis in vertebrates (5). Ghrelin has a variety of roles and functions such as its effect on eating disorders, gastrointestinal diseases, cardiovascular diseases, osteoporosis (8), and aging (9). Ghrelin expression and plasma levels can be affected by various factors such as fasting and re-nutrition, diets and nutritional conditions, and physical stress (13). In general, studies show that physical activity and the use of natural supplements are two important factors in altering the expression of genes and proteins (15). Research has shown that high levels of multiple polyunsaturated fatty acids in plant brains can lead to the loss of appetite and play a significant role in weight loss and plasma fats. Pistacia Atlantica (Baneh), an oilseed rich in antioxidants and unsaturated fatty acids, is a plant of the Anacardiaceae family (24). It has been shown that the leaf extract of this plant contain phenolic compounds that have high antioxidant properties and reduce the number of free radicals. These antioxidant compounds can also alter the expression of tissue genes and reduce free radicals in living human and animal tissues (25). It has been shown that pistachios are rich in fatty acids (31). Also, Baneh's analysis has shown that this plant has a lot of unsaturated fatty acids (24). Its useful

fatty acid content is 22% higher than other pistachio species and its fatty acids can affect gene expression. Experimental studies have shown that a high-fat diet suppresses plasma ghrelin levels and their expression in the fundus and decreases ghrelin expression in the stomach in high-fat mice (12). It has also been shown that consumption of Baneh extract in rats increased the expression of the ghrelin gene in liver tissue and visceral fat. Previous studies have been performed on the effect of exercise on ghrelin gene expression. A decrease in ghrelin gene expression in mononuclear cells has been reported after 33 weeks of aerobic exercise (34). Fathi *et al.* showed an increase in ghrelin gene expression in the horseshoe muscle after 12 weeks of intense endurance training. Ghanbari-Niaki *et al.* showed a decrease in ghrelin gene expression in gastric tissues in response to eight weeks of endurance training (36). Considering that there are no reports on the effects of Baneh (as a plant with high fatty acids) along with exercise on ghrelin gene expression in intestinal tissue, the aim of this study was to investigate the effect of eight weeks of endurance training and Baneh extract on ghrelin gene expression in the intestinal tissue of rats.

Materials and Methods

Twenty rats were randomly divided into control (n=10) and training (n=10) groups. Then each group was divided into two groups of saline and supplement. Therefore, the groups in the present study included 1) saline control, 2) saline training, 3) Baneh control and 4) Baneh training. Groups 2 and 4 trained on a rodent treadmill for eight weeks, while groups 1 and 3 did not participate in any training and only ran on the treadmill for 15 minutes at 5 m/min to equalize the shock stress of the treadmill. Groups 3 and 4 received Pistacia Atlantica extract and groups 1 and 3 received saline solution before exercise by gavage (1 mg per gram of body weight). 72 hours after

the last training session and in the fasting state, the rats were anesthetized and their intestines were removed and immediately after washing with saline solution, they were placed in special tubes, frozen in liquid nitrogen, and transferred to the laboratory (24). Data were expressed using descriptive statistics as the mean and standard deviation. The differences between the groups were tested using a two-way analysis of variance and $P < 0.05$ was considered significant.

Findings

Analysis of intestinal ghrelin gene expression data showed that eight weeks of aerobic training significantly reduced ghrelin gene expression ($P=0.001$) while the use of *Pistacia Atlantica* extracts significantly increased it.

Discussion

In general, the present study showed that a period of endurance physical activity reduced ghrelin gene expression in the intestinal tissue of rats and *Pistacia Atlantica* extract had the opposite effect. In the present study, endurance training significantly reduced ghrelin gene expression; also a trend of increased relative expression of ghrelin was observed in animals treated with *Pistacia Atlantica*. No study has investigated the effect of endurance training and *Pistacia Atlantica* extract on ghrelin gene expression in intestinal tissue. It was shown that pistachio is rich in fatty acids (31). Also, Baneh analysis using the GC-MS method showed that this plant has a lot of unsaturated fatty acids. It was also shown that over 33 weeks, resistance training with 60-70% of a maximum repetition reduces the expression of ghrelin gene in peripheral blood mononuclear cells (34). Sahin *et al.* (2008) showed that consumption of linoleic acid (CLA) (gelatin capsules containing 600 mg of CLA per capsule) through receiving 1.8 g of CLA per day for 8 weeks slightly increased plasma ghrelin concentrations in obese women. (44). Prolonged high-fat diets have been shown to reduce plasma ghrelin levels (45). It has been shown that

ghrelin mRNAs in the stomach are reduced in high-fat-fed mice due to decreased plasma levels in ghrelin (12). Another researcher found that rat gastric ghrelin mRNA expression increased during fasting with a high-fat diet (a high-fat diet containing 45% of total energy as fat) (46). As previous studies have shown, the type, amount, and duration of high-fat diet used can have different effects on ghrelin. Also, the type of tissue may cause differences in the results of the studies. It seems that the type of fatty acid and a high dose of *Pistacia Atlantica* extract used in the present study increased the expression of this gene in intestinal tissue. Regular physical activity, on the other hand, has a moderating effect on fatty acids and this effect may have modulated the increased expression of the ghrelin gene in intestinal tissue in the present study.

Conclusion

The findings of the present study showed that the use of Baneh extract (high-fat diet) increased the expression of the ghrelin gene in intestinal tissue and eight weeks of aerobic exercise moderated this increase.

Ethical Considerations

Compliance with ethical guidelines

All ethical considerations were taken into account when working with laboratory animals, according to the principles published by the National Association of Health (NIH).

Funding

The present study was funded by the author of the article.

Authors' contributions

The present article has just one author.

Conflicts of interest

The author declared no conflict of interest.

مقاله پژوهشی

اثر هشت هفته تمرین استقامتی همراه با مصرف عصاره پسته وحشی (بنه) بر بیان ژن گرلین بافت روده موش های صحرایی

صالح رحمتی احمدآباد

گروه تربیت بدنی، واحد پردیس، دانشگاه آزاد اسلامی، پردیس، ایران

چکیده

مقدمه و هدف: بر هم خوردن تعادل انرژی موجب بروز بیماری های مختلفی مانند چاقی، دیابت و غیره می شود. پپتیدهای زیادی در تنظیم تعادل انرژی در بدن نقش دارند که گرلین یکی از مهم ترین آنها است. این مطالعه اثر یک دوره تمرین استقامتی و عصاره پسته وحشی (بنه) (به عنوان گیاهی غنی از اسیدهای چرب)، بر بیان ژن گرلین بافت روده موش های صحرایی ماده را بررسی می نماید.

مواد و روش ها: در این مطالعه تجربی ۲۰ سر موش صحرایی ماده بالغ نژاد ویستار انتخاب و به طور تصادفی به چهار گروه (۱) کنترل سالی، (۲) تمرین سالی، (۳) کنترل بنه و (۴) تمرین + بنه تقسیم شدند. گروه های ۲ و ۴ به مدت هشت هفته (پنج روز در هفته، هر جلسه به مدت ۶۰ دقیقه و سرعت ۲۵ متر بر دقیقه با شیب صفر) روی نوارگردان مخصوص جوندگان به تمرین پرداختند در حالی که گروه های ۱ و ۳ تمرین نداشتند. گروه های ۳ و ۴ عصاره پسته وحشی و گروه های ۱ و ۲ محلول سالی را قبل از تمرین به صورت گاواژ دریافت می کردند (یک میلی گرم به ازای هر گرم وزن بدن). ۷۲ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی در وضعیت ناشتایی، موش های صحرایی بیهوش شده و بافت برداری انجام شد. داده ها با استفاده از آزمون آنالیز واریانس دوطرفه آنالیز شدند و $P < 0.05$ معنی دار در نظر گرفته شد.

یافته ها: هشت هفته تمرین هوازی منجر به کاهش بیان ژن گرلین در بافت روده موش های صحرایی شد ($P < 0.001$) اما بیان آن در پاسخ به استفاده از پسته وحشی افزایش یافت ($P < 0.001$).

بحث و نتیجه گیری: استفاده از رژیم غذایی پرچرب (عصاره بنه) باعث افزایش بیان ژن گرلین بافت روده شد. انجام هشت هفته تمرین هوازی این افزایش را تعدیل نمود.

تاریخ دریافت: ۱۰ مهر ۱۳۹۹

تاریخ داوری: ۲۸ آبان ۱۳۹۹

تاریخ پذیرش: ۶ دی ۱۳۹۹

از دستگاه خود برای اسکن و خواندن مقاله به صورت آنلاین استفاده کنید



واژه های کلیدی:

گرلین، پسته وحشی (بنه)، تمرین هوازی، روده

مقدمه

گرلین یک پپتید ۲۸ اسیدآمینته ای است که در بافت های مرکزی و محیطی از جمله هیپوتالاموس هیپوفیز، کبد، چربی احشایی، کلیه، قلب، سلول های ایمنی و غیره بیان می شود (۲-۴).

بر هم خوردن تعادل انرژی موجب بروز بیماری های مختلف از جمله چاقی، دیابت، بیماری های قلبی عروقی و غیره می شود. پپتیدهای زیادی در تنظیم تعادل انرژی در بدن نقش دارند که گرلین یکی از مهم ترین آنها است (۱).

* نویسنده مسئول: صالح رحمتی احمد آباد

نشانی: گروه تربیت بدنی، واحد پردیس، دانشگاه آزاد اسلامی، پردیس، ایران

تلفن: ۰۹۱۹۰۱۲۱۸۷۱

پست الکترونیکی: salehrahmati@pardisiau.ac.ir

گزارشات در مورد اثرات بنه (به عنوان گیاهی دارای اسیدچرب فراوان) همزمان با فعالیت های ورزشی بر بیان ژن گرلین بافت روده موجود نمی باشد؛ پژوهش حاضر با هدف بررسی اثر یک دوره هشت هفته ای تمرین استقامتی و عصاره بنه بر بیان ژن گرلین در بافت روده موش های صحرایی صورت گرفت.

مواد و روش ها

حیوانات: در این پژوهش تجربی ۲۰ سر موش صحرایی ماده نژاد ویستار (با دامنه وزنی ۱۲۵ تا ۱۳۵ گرم) از انستیتو پاستور آمل تهیه شدند. پس از انتقال موش های صحرایی به محیط آزمایشگاه، هر ۵ سر موش در یک قفس پلی کربنات شفاف در محیطی با دمای ۲۰ تا ۲۴ درجه سانتی گراد و رطوبت ۳۵ تا ۴۰ درصد و چرخه روشنایی- تاریکی ۱۲ ساعته نگهداری شدند. حیوانات با غذای مخصوص جوندگان تغذیه می شدند و آب مورد نیاز حیوانات نیز به صورت آزاد در دسترس آن ها قرار گرفت و تمام ملاحظات اخلاقی بر اساس نسخه انتشار یافته انجمن ملی سلامتی^۶ در مورد کار با حیوانات آزمایشگاهی مد نظر قرار گرفت.

نحوه گروه بندی و اعمال مداخلات: موش های صحرایی به طور تصادفی به دو گروه کنترل (۱۰ سر) و تمرین (۱۰ سر) تقسیم شدند. سپس هر گروه به دو گروه سالین و مکمل تقسیم شدند. بنابراین گروه های مطالعه حاضر شامل (۱) کنترل سالین، (۲) تمرین سالین، (۳) کنترل بنه و (۴) تمرین بنه بودند. گروه های ۲ و ۴ به مدت هشت هفته روی نوارگردان مخصوص جوندگان به تمرین پرداختند در حالی که گروه های ۱ و ۳ در هیچ گونه فعالیت ورزشی شرکت نداشت و فقط جهت همسان سازی استرس شوک نوارگردان به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۵ متر بر دقیقه روی نوارگردان راه می رفتند. گروه های ۳ و ۴ عصاره پسته وحشی و گروه های ۱ و ۲ محلول سالین را قبل از تمرین به صورت گاواژ دریافت می کردند (یک میلی گرم به ازای هر گرم وزن بدن). قبل از اجرای برنامه تمرینی موش های صحرایی گروه تمرینی، به مدت چند روز با نحوه انجام فعالیت روی نوارگردان آشنا شدند. برنامه آشنایی شامل چهار جلسه راه رفتن و دویدن با سرعت پنج تا هشت متر در دقیقه و شیب صفر درجه به مدت پنج تا ۱۰ دقیقه بود. برنامه تمرینی شامل دویدن روی نوارگردان بدون شیب ویژه جوندگان بود که در آن تمرین با رعایت اصل اضافه بار به صورت پیش رونده بین ۱۵ تا ۶۰ دقیقه و با سرعت ۲۰ تا ۲۵ متر در دقیقه اجرا شد. طول مدت برنامه هشت هفته و در هر هفته پنج جلسه فعالیت انجام شد (۲۴). همچنین برای گرم کردن، آزمودنی ها در ابتدای هر جلسه تمرینی به مدت شش دقیقه و با سرعت هفت متر در دقیقه دویدند و سرد کردن نیز به همین شکل انجام شد. گروه های مکمل، عصاره پسته وحشی و گروه های سالین محلول سالین را قبل از تمرین دریافت می کردند (۲۴).

گرلین نقشی حیاتی در هموستاز تعادل انرژی دارد. گرلین با انتقال یک سیگنال گرسنگی از محیط پیرامونی به سیستم عصبی مرکزی، باعث افزایش مصرف غذا و چاقی می شود (۵). همچنین مسئول حفظ ترشح هورمون رشد و هموستاز انرژی در مهره داران است (۵). گرلین نقش ها و عملکردهای مختلفی دارد که از جمله می توان به تأثیر آن بر اختلال در غذا خوردن، بیماری های دستگاه گوارش (۶)، بیماری های قلبی عروقی (۷)، پوکی استخوان (۸) و پیری (۹) اشاره کرد. بیان گرلین و سطح آن در پلاسما می تواند تحت تأثیر عوامل مختلفی مانند روزه داری و تغذیه مجدد (۱۰)، رژیم های غذایی و شرایط غذایی (۱۱ و ۱۲) و استرس جسمی (۱۳-۱۵) قرار گیرد. به طور کلی مطالعات نشان می دهند فعالیت بدنی و استفاده از مکمل های طبیعی دو عامل مهم در تغییر بیان ژن ها و پروتئین ها می باشند (۱۵-۲۳). تحقیقات نشان داده است که مقادیر بالای اسیدهای چرب اشباع نشده چندانکه موجود در مغز گیاهان می تواند منجر به از دست دادن اشتها شود و نقش آشکاری در کاهش وزن و چربی های پلاسما دارد. پسته وحشی (بنه) دانه ای روغنی سرشار از آنتی اکسیدان و اسیدهای چرب غیر اشباع، گیاهی از خانواده ای آناکاردیاسه^۱ است (۲۴). نشان داده شده است که عصاره ی برگ این گیاه حاوی ترکیبات فنولی است که خاصیت ضد اکسایشی بالایی دارد و باعث کاهش مقدار رادیکال های آزاد نظیر سوپراکسید، پیروکسیل، آلکوکسیل و هیدروکسیل در روش های آزمایشگاهی می شود. همچنین این ترکیبات ضد اکسایشی می توانند منجر به تغییر بیان ژن های بافتی، کاهش رادیکال های آزاد در بافت های زنده ی انسانی و حیوانی شوند (۲۵-۳۰). گورین و همکاران^۲ نشان دادند که پسته سرشار از اسید چرب است (۳۱). همچنین آنالیز بنه نشان داد که این گیاه دارای اسید چرب غیر اشباع فراوان است (۲۴). مقدار اسید چرب مفید آن ۲۲ درصد بیشتر از دیگر گونه های پسته است (۳۲) و اسیدهای چرب آن می تواند بر بیان ژن تأثیر بگذارد (۲۶-۳۰ و ۳۳). مطالعات تجربی نشان داده است که یک رژیم غذایی پرچرب سطح گرلین پلاسما و بیان آن را در فوندوس سرکوب می کند (۱۱) و بیان گرلین در معده در موش های پرچرب کاهش می یابد (۱۲). همچنین نشان داده شده است که مصرف عصاره بنه در موش های صحرایی باعث افزایش بیان ژن گرلین بافت کبد و چربی احشایی شده است (۱۵). در مورد اثر تمرین بر بیان ژن گرلین مطالعات قبلی انجام شده است. مگر و همکاران^۳ کاهش در بیان ژن گرلین را در سلول های تک هسته ای خون، متعاقب ۳۳ هفته تمرین هوازی نشان دادند (۳۴). فتحی و همکاران^۴ افزایش در بیان ژن گرلین عضله ی نعلی را، متعاقب ۱۲ هفته تمرین استقامتی شدید، نشان دادند (۳۵). قنبری- نیایکی و همکاران^۵ کاهش در بیان ژن گرلین بافت معده را در پاسخ به هشت هفته تمرین استقامتی نشان دادند (۳۶). با توجه به اینکه

1 Anacardiaceae

2 Gourine et al

3 Mager et al (2008)

4 Fathi et al (2009)

5 Ghanbari-Niaki et al (2010)

6 National Institutes of Health (NIH)

بین گروه‌ها با استفاده از آنالیز واریانس دوطرفه آزمون شد و $P < 0/05$ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

سطوح بیان ژنی گرلین در گروه‌های چهارگانه تحقیق در شکل ۱ ارائه شده است. تحلیل داده‌های مربوط به بیان ژن گرلین بافت روده نشان داد که هشت هفته تمرین هوازی به‌طور معنی‌داری باعث کاهش بیان ژن گرلین ($P=0/001$) شده است در حالی که استفاده از عصاره پسته وحشی به‌طور معنی‌داری آن را افزایش داده است ($P=0/001$)، همچنین استفاده از تمرین باعث تعدیل اثر بنه در گروه تمرین بنه نسبت به کنترل بنه شده است ($P=0/001$) (شکل ۱).

بحث و بررسی

به‌طور کلی پژوهش حاضر نشان داد که یک دوره فعالیت بدنی استقامتی باعث کاهش بیان ژن گرلین بافت روده موش‌های صحرایی شد و عصاره پسته وحشی اثر معکوس در مقابل با تمرین داشت. در مطالعه حاضر، فعالیت استقامتی به‌طور قابل توجهی بیان ژن گرلین را کاهش داد. در مطالعه حاضر همچنین روند افزایش بیان نسبی گرلین را در حیوانات تحت درمان با پسته وحشی مشاهده شد. در مطالعات اندکی به بررسی اثر تمرین استقامتی و عصاره پسته وحشی بر بیان ژن گرلین در بافت روده پرداخته شده است. گورین و همکاران^۲ با استفاده از روش جی سی مس^۳ نشان دادند که پسته سرشار از اسید چرب است (۳۱). همچنین آنالیز بنه با استفاده از روش جی سی مس نشان داد که این گیاه دارای اسید چرب غیراشباع فراوان شامل: آلفا‌پینین^۴ (۷۰٪)، بتا‌پینین^۵ (۱۹۴٪)، ۳-کارن^۶ (۰/۲٪)، کاروتول^۷ (۲/۱۸٪)، اپوکسینین^۸ (۲/۱۵٪)، لیمونن اکساید^۹ (۹٪)، مایرتنول^{۱۰} (۵/۳۱٪)، لیمونن^{۱۱} (۰/۶۲٪)، سیترال^{۱۲} (۲/۷۳٪)، آلفافلاندین^{۱۳} (۰/۲٪) و بتامایسین^{۱۴} (۰/۳٪) است. مقدار اسید چرب مفید آن ۲۲ درصد بیشتر از دیگر گونه‌های پسته است (۳۲).

عصاره پسته وحشی (بنه): میوه بنه از شهرستان میبد واقع در استان یزد جمع‌آوری و با روش حمدان و همکاران عصاره‌گیری شد (۳۷). هر ۱۰ گرم پودر میوه بنه با ۱۵۰ میلی‌لیتر آب، به مدت ۴۵ دقیقه جوشانده و محلول به دست آمده پس از آنکه به دمای اتاق رسید دو بار از کاغذ صافی شماره چهار واتمن صاف شد. گروه‌های تمرین و کنترل بنه، عصاره بنه را به مقدار دو میلی‌لیتر (حاوی ۲۰۰ میلی‌گرم ماده اولیه) به ازای ۲۰۰ گرم وزن (۱۰ میکرولیتر به ازای هر گرم وزن یا یک میلی‌گرم به ازای هر گرم وزن) به مدت هشت هفته (پنج روز در هفته) به‌طور دهانی دریافت کردند. گروه سالیین نیز به مقدار و روش مشابه با گروه بنه، سرم فیزیولوژی دریافت نمود (۳۸).

بافت‌برداری: ۷۲ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی و در وضعیت ناشتایی موش‌ها به‌وسیله ترکیبی از زایلوزین (۳ تا ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن) و کتامین (۳۰ تا ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن) بیهوش شدند و بافت روده آن‌ها برداشته شد و بلافاصله پس از شستشو با محلول سالیین در تیوپ‌های مخصوص قرار گرفت و در نیتروژن مایع منجمد شدند و به آزمایشگاه منتقل شد (۲۴).

اندازه‌گیری بیان ژن: تخلیص RNA توسط کیت مخصوص (AccuZol) انجام شد که از ۱۰۰ میلی‌گرم بافت استفاده شد. برای سنتز cDNA یک میکرولیتر الیگو دی تی ۱۸ و ۱۰ میکرولیتر RNA در تیوپ‌های اتوکلاو شده با هم پیپت شدند. سپس در PCR در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد و به مدت پنج دقیقه نگهداری شدند. پس از آن تیوپ‌ها بر روی یخ قرار گرفتند و به کیت مخصوص سنتز (Accu Power RT) اضافه شدند و سپس ۱۲ میکرولیتر آب RNase Free به آن‌ها اضافه شد. تیوپ‌های جدید در PCR معمولی در دمای ۴۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۶۰ دقیقه قرار گرفت تا cDNA ساخته شود. پس از آن دما برای پنج دقیقه به ۹۵ درجه سانتی‌گراد برده شد تا آنزیم (Reverse transcriptase) از بین برود. cDNA ساخته شده در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد تا برای Real-time PCR مورد استفاده قرار گیرد. Real-time PCR به‌وسیله دستگاه کربت^۱ انجام گرفت. برای اندازه‌گیری هر ژن ۷/۵ میکرولیتر ماده سایبرگرین کیاژن را با پنج میکرولیتر آب RNase Free مخلوط و یک میکرولیتر آغازگر رفت و یک میکرولیتر آغازگر برگشت به همراه ۰/۵ میکرولیتر از cDNA اضافه شد. پرایمرهای اختصاصی مورد استفاده در جدول ۱ گزارش شده است. سپس تیوپ‌ها در دستگاه Real-time PCR با برنامه شامل ۹۵ درجه سانتی‌گراد برای پنج دقیقه و پس از آن ۴۵- ۳۰ سایکل ۹۰ درجه سانتی‌گرادی به مدت پنج ثانیه و به دنبال آن در ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ ثانیه قرار گرفتند. برای تعیین اندازه بیان ژن نسبی از فرمول $2^{-\Delta\Delta CT}$ استفاده شد (۳۹-۴۱).

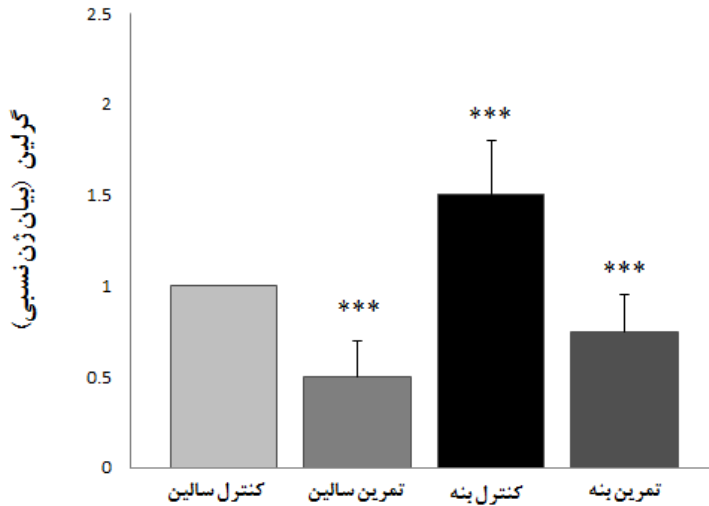
آنالیز آماری: داده‌ها با استفاده از آمار توصیفی به‌عنوان میانگین \pm انحراف استاندارد بیان شدند. آزمون شاپیروویلیک نشان داد داده‌ها از توزیع طبیعی برخوردارند بنابراین برای بررسی تفاوت بین گروه‌ها از آمار پارامتریک استفاده شد. تفاوت

1 Corbet

2 Gourin
3 GC-MS
4 α -pinene
5 β -pinene
6 3-carene
7 Carveol
8 Epoxy-pinene
9 Limonene oxide
10 Myrtenol
11 Limonene
12 Citral
13 α -phellandrene
14 β -myrcene

جدول ۱: پرایمرهای اختصاصی استفاده شده در مرحله Real-time PCR

نام ژن	آغازگر رفت	آغازگر برگشت	بانک ژن	اندازه	منبع
گرلین	GACAGCTTGATGCCA- ACA	CAGGTTCCAGCTTCTTGA	AB029433	۱۹۱	(۴۲)
بتاکتین	TATCGGCAATGAGCGGTTCC	AGCACTGTGTTGGCATAGAGG	NM_031144	۱۴۵	(۴۳)



شکل ۱: تغییرات در بیان ژن گرلین بافت روده موش‌های صحرایی نر در به دنبال هشت تمرین هوازی و استفاده از مکمل پسته وحشی. تغییر معنی‌دار نسبت به گروه کنترل. داده‌ها با استفاده از آزمون واریانس دوطرفه آنالیز شده است. $P < 0.001$ ***

(۲۰۰۴) نشان دادند که سلول‌های مثبت برای mRNA های گرلین و گرلین در معده در موش‌های تغذیه شده با چربی بالا به دلیل کاهش سطح پلازما در گرلین کاهش می‌یابند (۱۲). آساکاوا^۷ و همکاران (۲۰۰۳) دریافت که بیان mRNA گرلین معده موش در طول روزه‌داری با رژیم غذایی پرچرب افزایش می‌یابد (رژیم پرچرب حاوی ۴۵٪ انرژی کل به‌عنوان چربی) (۴۶). همانطور که از مطالعات پیشین مشخص است نوع، مقدار و مدت مصرف رژیم پرچرب استفاده شده می‌تواند اثرات متفاوتی را بر گرلین داشته باشد. همچنین نوع بافت نیز ممکن است عامل تفاوت نتایج در مطالعات باشد. به نظر می‌رسد نوع اسید چرب و دوز بالای عصاره پسته وحشی استفاده شده در مطالعه حاضر سبب افزایش بیان این ژن در بافت روده شده است. فعالیت بدنی منظم اثر تعدیل‌کنندگی بر اسیدهای چرب دارد و همین اثر ممکن است موجب تعدیل افزایش بیان ژن گرلین در بافت روده در مطالعه حاضر شده باشد. از محدودیت‌های مطالعه حاضر می‌توان به عدم اندازه‌گیری سطوح پروتئین گرلین به روش وسترن بلات اشاره نمود. گرچه روش اندازه‌گیری بیان ژن یک روش دقیق می‌باشد ولی نمی‌توان از تبدیل mRNA به پروتئین مطمئن بود. بنابراین پیشنهاد می‌شود جهت تایید یافته‌های مطالعه حاضر، در

نتایج حاصل از جی سی مس در پژوهشی دیگر نشان داد که پسته‌ی وحشی حاوی اسیدهای چرب غیراشباع (هگزاسدنونیک اسید: ۷/۵۲٪، پالمیتینیک اسید: ۲۸/۸۶٪، ۹-کتالسنونیک اسید: ۴۹/۲۸٪) می‌باشد (۲۴). ماگر^۴ و همکاران (۲۰۰۸) نشان دادند که طی یک دوره ۳۳ هفته‌ای، ورزش مقاومتی با ۶۰-۷۰٪ یک تکرار بیشینه، دو تا چهار جلسه تمرین در هفته و تمرینات هوازی با تکرار حداقل چهار بار در هفته و حداقل ۳۰ دقیقه در هر جلسه در ۵۵-۶۵٪ باعث کاهش قابل توجهی در بیان سلول‌های تک‌هسته‌ای خون محیطی ژن گرلین می‌شود (۳۴). سهین^۵ و همکاران (۲۰۰۸) نشان داد که مصرف اسید لینولئیک (CLA) (کپسول‌های ژلاتین حاوی ۶۰۰ میلی‌گرم CLA در هر کپسول) که به مدت ۸ هفته ۱/۸ گرم CLA در روز دریافت می‌شود، باعث افزایش اندکی غلظت گرلین پلازما در زنان چاق می‌شود (۴۴). نشان داده شده است اعمال رژیم پرچرب طولانی مدت، میزان گرلین پلازما را کاهش می‌دهد (۴۵). موسگار^۶ و همکاران

- 1 Hexadecenoic acid
- 2 Palmitinic acid
- 3 9-Octalecenoec acid
- 4 Mager
- 5 Sahin
- 6 Moesgaard

⁷ Asakawa

مطالعات از روش های اندازه گیری سطوح پروتئینی وسترن بلات و الایزا استفاده شود.

ملاحظات اخلاقی

پیروی از اصول اخلاق پژوهش

تمام ملاحظات اخلاقی بر اساس نسخه انتشار یافته انجمن ملی سلامتی در مورد کار با حیوانات آزمایشگاهی مد نظر قرار گرفت.

حامی مالی

هزینه های مطالعه حاضر توسط نویسنده مقاله تامین شد.

مشارکت نویسندگان

این مقاله دارای یک نویسنده است.

تعارض منافع

بنابر اظهارات نویسنده مقاله حاضر فاقد هرگونه تعارض منافع می باشد.

نتیجه گیری

یافته های پژوهش حاضر نشان داد استفاده از عصاره بنه (رژیم غذایی پرچرب) باعث افزایش بیان ژن گرلین بافت روده شد و انجام هشت هفته تمرین هوازی این افزایش را تعدیل نمود.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله نویسنده از زحمات آقای دکتر عباس قنبری نیکی (استاد تمام فیزیولوژی ورزش، دانشگاه مازندران - بابلسر) تشکر می نمایند.

References

- Mabhout Moghadam T, Mosaferi Ziaaldini M, Fathi M, Attarzadeh Hoseini S. Review the effect of high intensity interval training on obesity-related hormones. *Res Sport Sci Med Plants*. 2020; 1 (1): 1- 18. [DOI:10.30495/varzesh.2020.677981]
- Delporte C. Structure and physiological actions of ghrelin. *Scientifica (Cairo)*. 2013; 2013: 518909. [DOI:10.1155/2013/518909]
- Hattori N, Saito T, Yagyu T, Jiang BH, Kitagawa K, Inagaki C. GH, GH receptor, GH secretagogue receptor, and ghrelin expression in human T cells, B cells, and neutrophils. *J Clin Endocrinol Metab*. 2001; 86 (9): 4284- 91. [DOI:10.1210/jcem.86.9.7866]
- Kageyama H, Funahashi H, Hirayama M, Takenoya F, Kita T, Kato S, et al. Morphological analysis of ghrelin and its receptor distribution in the rat pancreas. *Regul Pept*. 2005; 126 (1-2): 67- 71. [DOI:10.1016/j.regpep.2004.08.031]
- Akalu Y, Molla MD, Dessie G, Ayelign B. Physiological effect of ghrelin on body systems. *Int J Endocrinol*. 2020; 2020: 1385138. [DOI:10.1155/2020/1385138]
- Nahata M, Muto S, Oridate N, Ohnishi S, Nakagawa K, Sadakane C, et al. Impaired ghrelin signaling is associated with gastrointestinal dysmotility in rats with gastroesophageal reflux disease. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2012; 303 (1): G42- 53. [DOI:10.1152/ajpgi.00462.2011] [PMID:PMC3404573].
- Isgaard J, Granata R. Ghrelin in cardiovascular disease and atherogenesis. *Mol Cell Endocrinol*. 2011; 340 (1): 59- 64. [DOI:10.1016/j.mce.2011.03.006]
- Koutroubakis IE, Zavos C, Damilakis J, Papadakis G, Neratzoulakis J, Karkavitsas N, et al. Role of ghrelin and insulin-like growth factor binding protein-3 in the development of osteoporosis in inflammatory bowel disease. *J Clin Gastroenterol*. 2011; 45 (6): e60-5. [DOI:10.1097/MCG.0b013e3181f42543]
- Ma X, Lin L, Qin G, Lu X, Fiorotto M, Dixit VD, et al. Ablations of ghrelin and

- ghrelin receptor exhibit differential metabolic phenotypes and thermogenic capacity during aging. *PLoS One*. 2011; 6 (1): e16391. [DOI:10.1371/journal.pone.0016391] [PMID:PMC3027652]
10. Vallejo-Cremades MT, Gomez-Garcia L, Chacatas-Corteseo M, Moreno C, Sanchez M, De Miguel E, et al. Enriched protein diet-modified ghrelin expression and secretion in rats. *Regul Pept*. 2004; 121 (1-3): 113- 9. [DOI:10.1016/j.regpep.2004.04.016]
 11. Beck B, Musse N, Stricker-Krongrad A. Ghrelin, macronutrient intake and dietary preferences in long-evans rats. *Biochem Biophys Res Commun*. 2002; 292 (4): 1031- 5. [DOI:10.1006/bbrc.2002.6737]
 12. Moesgaard SG, Ahren B, Carr RD, Gram DX, Brand CL, Sundler F. Effects of high-fat feeding and fasting on ghrelin expression in the mouse stomach. *Regul Pept*. 2004; 120 (1-3): 261- 7. [DOI:10.1016/j.regpep.2004.03.018]
 13. Ghanbari-Niaki A. Ghrelin and glucoregulatory hormone responses to a single circuit resistance exercise in male college students. *Clin Biochem*. 2006; 39 (10): 966- 70. [DOI:10.1016/j.clinbiochem.2006.05.009]
 14. Ghanbari-Niaki A, Jafari A, Moradi M, Kraemer RR. Short-, moderate-, and long-term treadmill training protocols reduce plasma, fundus, but not small intestine ghrelin concentrations in male rats. *J Endocrinol Invest*. 2011; 34 (6): 439- 43. [DOI:10.3275/743710.1007/BF03346710]
 15. Shirvani H, Ghanbari-Niaki A, Rahmati-Ahmadabad S. Effects of endurance training and herb supplementation on tissue nesfatin-1/nucleobindin-2 and ghrelin mRNA expression. *Int J Appl Exer Physiol*. 2017; 6 (1):71-84. [DOI:10.22631/ijaep.v6i1.118]
 16. Zarezadeh-Mehrizi AA, Rajabi H, Gharakhanlou R, Naghdi N, Azimidokht SMA. Effect of 8 weeks of aerobic training on genes expression of hypoxia inducible factor HIF-1 α , vascular endothelial growth factor (VEGF) and angiostatin in hippocampus of male rats with wistar model. *J Shahid Sadoughi Univ Med Sci*. 2020; 27 (11): 2063- 75. [DOI:10.18502/ssu.v27i11.2493]
 17. Azimi Dokht SMA, Gharakhanlou R, Naghdi N, Khodadadi D, Zarezadeh-Mehrizi AA. The effect of the treadmill running on genes expression of the PGC-1 α , FNDC5 and BDNF in hippocampus of male rats. *J Pract Stud Biosci Sport*. 2019; 7 (14): 91- 101. [DOI:10.22077/jpsbs.2017.1037.1321]
 18. Shirvani H, Rahmati-Ahmadabad S. The combined effect of high intensity interval training and flaxseed oil supplement on cardioprotection: by UCP2, UCP3 and eNOS mRNA expression. *J Mazandaran Univ Med Sci*. 2018; 28 (160): 8- 18. <http://jmums.mazums.ac.ir/article-1-10023-en.html>
 19. Rahmati-Ahmadabad S, Shirvani H, Sobhani V. Long term effect of high intensity interval training and flaxseed oil supplementation on the expression of genes involved in reverse cholesterol transport in male rats. *J Med Plants*. 2018; 4 (64): 59- 75. <http://jmp.ir/article-1-1976-en.html>
 20. Rahmati-Ahmadabad S, Shirvani H, Ghanbari-Niaki A, Rostamkhani F. The effects of high-intensity interval training on reverse cholesterol transport elements: A way of cardiovascular protection against atherosclerosis. *Life Sci*. 2018; 209: 377- 82. [DOI:10.1016/j.lfs.2018.08.036] [PMID:30125578]
 21. Rahmati-Ahmadabad S, Broom DR, Ghanbari-Niaki A, Shirvani H. Effects of exercise on reverse cholesterol transport: A systemized narrative review of animal studies. *Life Sci*. 2019; 224: 139- 48. [DOI:10.1016/j.lfs.2019.03.058]
 22. Rahmati-Ahmadabad S, Azarbayjani M-A, Farzanegi P, Moradi L. High-intensity interval training has a greater effect on reverse cholesterol transport elements compared with moderate-intensity continuous training in obese male rats. *Eur J Prev Cardiol*. 2019;

2047487319887828.
[DOI:10.1177/2047487319887828]
[PMID:31718266]
23. Rahmati-Ahmadabad S, Azarbayjani M, Nasehi M. The effects of high- intensity interval training with supplementation of Flaxseed oil on BDNF mRNA expression and pain feeling in male rats. *Ann Appl Sport Sci.* 2017; 5 (4): 1-12. [DOI:10.29252/aassjournal.5.4.1]
 24. Ghanbari-Niaki A, Rahmati-Ahmadabad S. Effects of a fixed-intensity of endurance training and pistacia atlantica supplementation on ATP-binding cassette G4 expression. *Chinese Med.* 2013; 8 (1): 23. [DOI:10.1186/1749-8546-8-23] [PMID:4175503]
 25. Benhammou N, Bekkara F, Panovska T. Antioxidant and antimicrobial activities of the Pistacia lentiscus and Pistacia atlantica extracts. *Pharm Pharmacol.* 2008; 2: 22- 8. [DOI:10.5897/AJPP.9000056]
 26. Rahmati-Ahmadabad S, Ansari-Pirsaraei Z, Ghanbari-Niaki A, Deldar H, Zare-Kookandeh N, Shahandeh F. Effect of 8 weeks treadmill running with or without pistachia atlantica liquid extraction on liver ABCG8 gene expression and cholesterol level in female rat. *Iranian J Health Phys Act.* 2012; 3 (1): 1-8.
 27. Kookandeh NZ, Deldar H, Niaki AG, Pirsaraei ZA, Ahmadabad SR, Raof Z. ABCG1 gene responses to treadmill running with or without pistachio-atlantica in female rats. *Iranian J Health Phys Act.* 2012; 3 (1): 1- 7.
 28. Ghanbari-Niaki A, Rahmati-Ahmadabad S, Zare-Kookandeh N. ABCG8 gene responses to 8 weeks treadmill running with or without Pistachia atlantica (Baneh) extraction in female rats. *Int J Endocrinol Metab.* 2012; 10 (4): 604. [DOI:10.5812/ijem.5305] [PMID:23843831] [PMCID:PMC3693642]
 29. Ghanbari Niaki A, Zare Kookandeh N, Rahmati Ahmadabad S, Yazdani M. PYY (3-36) gene responses to treadmill running with or without Pistachio-Atlantica in female rats. *Iranian J Health Phys Act.* 2012; 3 (2):
 30. Abbass G-N, Navabeh Zare K, Saleh Rahmati A, Rozita F. Visfatin gene responses to 8 weeks of treadmill running with or without pistachio atlantica liquid extraction in female rat tissues. *Food Nutr Sci.* 2012; 3 (8): 1144-1149. [DOI:10.4236/fns.2012.38150]
 31. Gourine N, Bombarda I, Yousfi M, Gaydou EM. Chemotypes of Pistacia atlantica leaf essential oils from Algeria. *Nat Prod Commun.* 2010; 5 (1): 115- 20. [PMID:20184035]
 32. Delazar A, Reid RG, Sarker SD. GC-MS analysis of the essential oil from the oleoresin of pistacia atlantica var. mutica *Chemistry of Natural Compounds.* 2004;40:24-7. [DOI:10.1023/B:CONC.0000025459.72590.9e]
 33. Rahmati-Ahmadabad S, Ghanbari-Niaki A, Zare-Kookandeh N, Ansari-Pirsaraei Z. Nesfatin-1/nucleobindin-2 and visfatin genes responses to 8 weeks of treadmill running with or without pistachio atlantica liquid extraction in female rat tissue. *Brazilian J Biomotricity.* 2012; 6 (1): 43- 52. <https://www.redalyc.org/pdf/930/93023652006.pdf>
 34. Mager U, Kolehmainen M, de Mello VD, Schwab U, Laaksonen DE, Rauramaa R, et al. Expression of ghrelin gene in peripheral blood mononuclear cells and plasma ghrelin concentrations in patients with metabolic syndrome. *Eur J Endocrinol.* 2008; 158 (4): 499- 510. [DOI:158/4/499 10.1530/EJE-07-0862]
 35. Fathi R, Ghanbari-Niaki A, Rahbarizadeh F, Hedayati M, Ghahramanloo E, Farshidi Z. The effect of exercise on plasma acylated grelin concentrations and gastrocnemius muscle mRNA expression in male rats. *Iranian J Endocrinol Metab.* 2009; 10 (5): 519-526. <http://ijem.sbm.ac.ir/article-1-627-en.html>
 36. Ghanbari Niaki A, Fathi R, Hedayati M. Effects of treadmill exercise on fundus ghrelin expression and plasma acylated ghrelin level in male rats. *Int J Endocrinol Metab.* 2010; 1:22- 31.

- <https://sites.kowsarpub.com/ijem/articles/94635.html>
37. Hamdan, II, Afifi FU. Studies on the in vitro and in vivo hypoglycemic activities of some medicinal plants used in treatment of diabetes in Jordanian traditional medicine. J Ethnopharmacol. 2004; 93 (1): 117- 21. [DOI:10.1016/j.jep.2004.03.033S0378874104001576]
 38. Ghanbari-Niaki A, Rahmati-Ahmadabad S, Zare-Kookandeh N. ABCG8 gene responses to 8 weeks treadmill running with or without pistachia atlantica (Baneh) extraction in female rats. Int J Endocrinol Metab. 2012; 10 (4): 604-10. [DOI:10.5812/ijem.5305] [PMID: 3693642]
 39. Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method. Methods. 2001; 25 (4): 402- 8. [DOI:10.1006/meth.2001.1262]
 40. Rahmati-Ahmadabad S, Azarbayjani MA, Farzanegi P, Moradi L. High-intensity interval training has a greater effect on reverse cholesterol transport elements compared with moderate-intensity continuous training in obese male rats. Eur J Prev Cardiol. 2019; 2047487319887828. [DOI:10.1177/2047487319887828]
 41. Fotovat S, Jalali dehkordi K, Taghian F. The effect of eight- weeks of aerobic training with nano-eugenol supplementation on pancreatic tissue UPC3 gene expression and MDA serum levels in diabetic rats. Res Sport Sci Med Plants. 2020; 1 (1): 79- 89. [DOI:10.30495/varzesh.2020.678661]
 42. Gao X, Yuan S. High density lipoproteins-based therapies for cardiovascular disease. J Cardiovasc Dis Res. 2010; 1 (3): 99- 103. [DOI:10.4103/0975-3583.70898]
 43. Rahmati-Ahmadabad S, Shirvani H, Ghanbari-Niaki A, Rostamkhani F. The effects of high-intensity interval training on reverse cholesterol transport elements: A way of cardiovascular protection against atherosclerosis. Life Sci. 2018; 209: 377- 82. [DOI:10.1016/j.lfs.2018.08.036]
 44. Sahin H, Uyanik M, Inanc N. Effects of Conjugated Linoleic Acid on Body Composition and Selected Biochemical Parameters in Obese Women. Pakistan J Nutr. 2008; 7: 546- 9. [DOI:10.3923/pjn.2008.546.549]
 45. Gomez G, Han S, Englander EW, Greeley GH, Jr. Influence of a long-term high-fat diet on ghrelin secretion and ghrelin-induced food intake in rats. Regul Pept. 2012; 173 (1-3): 60- 3. [DOI:10.1016/j.regpep.2011.09.006]
 46. Asakawa A, Inui A, Kaga T, Katsuura G, Fujimiya M, Fujino MA, et al. Antagonism of ghrelin receptor reduces food intake and body weight gain in mice. Gut. 2003; 52 (7): 947- 52. [DOI:10.1136/gut.52.7.947] [PMID: PMC1773718]