Journal of Animal Biology, Summer 2024; 16(4):83-97

Research Article

Intense Endurance Running Training and Supplementation with the Aqueous Extract of Ajwain Seed: Effect on the Levels of Zinc and Some zinc Transporters in the Liver Tissue of Male Wistar Rats

Abbas Ghanbari Niaki[1], Araz Nazari[2,3]*, Khadije Nasiri[1]

1- Department of Exercise Physiology, Faculty of Sports Sciences, University of Mazandaran, Mazandaran, Babolsar, Iran
2 – Ph.D of student, Department of Exercise Physiology, Faculty of Sports Sciences, University of Mazandaran, Mazandaran, Babolsar, Iran
3 - Faculty member of Higher educational complex of Saravan, Saravan, Iran
*Corresponding author: Araznazari@gmail.com

Received: 1 April 2024 Accepted: 16 May 2024

DOI: 10.60833/ascij.2024.1118818

Abstract

Zinc, an essential trace element, plays a crucial role in cellular metabolism. By interacting with numerous proteins, it is essential for a wide range of biological processes, including normal growth, reproduction, DNA synthesis, cell division, gene expression, cell signaling, wound healing, bone formation, and immune system enhancement. The liver plays a central role in zinc metabolism and homeostasis in the body. Zinc concentrations in cells are tightly regulated by two families of zinc transporter proteins, Slc30a (Znt) and Slc39a (Zip), which are known to decrease and increase cytosolic zinc concentration, respectively. Forty male Wistar rats (4-5 weeks old, 189 ± 7.8 g) were randomly assigned to four groups: saline-control (SC), saline-exercise (ST), Ajwain-control (AC), and Ajwain-exercise (AT). Mice in the training group ran on a treadmill at 32 m/min for 60 minutes per session, 5 days a week, for 8 weeks. Mice were received orally (2 g in 10 ml water/kg body weight) and saline groups were treated in the same way. Data analysis was performed using SPSS version 27 software with a two-way ANOVA and Tukey's post hoc test. Ajwain supplementation significantly increased Znt5 and Zip8 gene expression compared to saline groups. Zinc levels and Znt6 and Zip7 gene expression did not show significant changes. Simultaneous implementation of exercise and supplementation with aqueous extract of fennel seeds may modulate zinc levels as well as the gene expression of some zinc transporters in the liver. These findings may provide novel insights into the underlying mechanisms of exercise and nutrition effects on liver tissue.

Keywords: High intensity exercise, Supplementation, aqueous extract of Ajwain seed, Slc30a (ZnT), Slc39a (Zip).

زیست‌شناسی جانوری، سال شانزدهم، شماره چهارم، تابستان ۱۴۰۳، صفحات ۹۷-۸۳

مقاله پژوهشی

تمرین دوی استقامتی شدید و مکمل‌یاری با عصاره آبی بذر زنیان: تاثیر بر سطوح روی و برخی انتقال دهنده‌های روی در بافت کبد در موش‌های صحرایی نر ویستار

عباس قنبری نیاکی[۱]، عراز نظری[۲،۳*]، خدیجه نصیری[۱]

۱- گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه مازندران، مازندران، بابلسر، ایران

۲- دانشجوی دکتری، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه مازندران، مازندران، بابلسر، ایران

۳- عضو هیات علمی مجتمع آموزش عالی سراوان، سراوان، ایران

*مسئول مکاتبات: Araznazari@gmail.com

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۱/۱۳ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۲/۲۷

DOI: 10.60833/ascij.2024.1118818

چکیده

روی بعنوان یک عنصر کمیاب ضروری، نقش مهمی در متابولیسم سلول‌ها دارد. بطوریکه با اتصال به بسیاری از پروتئین‌ها، بر طیف گسترده‌ای از فرایندهای بیولوژیکی از قبیل رشد طبیعی، تولید مثل، سنتز DNA، تقسیم سلولی، بیان ژن، سیگنالینگ سلولی، بهبود زخم، استخوان‌سازی و تقویت سیستم ایمنی بدن ضروری است. کبد، نقش اساسی در متابولیسم و هموستاز روی در بدن دارد. غلظت روی در سلول‌ها توسط دو خانواده از پروتئین‌های ناقل روی Slc30a (ZnT) و Slc39a (Zip) که به ترتیب برای کاهش و افزایش غلظت روی سیتوزولی شناخته شده‌اند به شدت تنظیم می‌شود. چهل سر موش صحرایی نر نژاد ویستار (٤ تا ٥ هفته، ۸/۷ ± ۱۸۹ گرم) به‌طور تصادفی در چهار گروه: سالین- کنترل (SC)، سالین- تمرین (ST)، زنیان- کنترل (AC) و زنیان- تمرین (AT) قرار گرفتند. موش‌های گروه تمرین روی تردمیل با سرعت ۳۲ متر در دقیقه، ٦۰ دقیقه در جلسه، ٥ روز در هفته به مدت ۸ هفته روی نوارگردان دویدند. موش‌ها به‌صورت خوراکی (۲ گرم در ۱۰ میلی‌لیتر آب/کیلوگرم وزن بدن) دریافت کردند و گروه‌های سالین به همان روش تیمار شدند. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۷ و روش اماری آنالیز واریانس دو طرفه و آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. مکمل‌یاری با زنیان نسبت به گروه‌های سالین، بیان ژن Znt5 و Zip8 را بطور معنی‌داری افزایش داده بود. سطوح روی و همچنین بیان ژن Znt6 و Zip7 تغییرات معنی‌داری نداشت. اجرای همزمان تمرین و مکمل‌یاری با عصاره آبی دانه زنیان ممکن است به‌طور سطوح روی و همچنین بیان ژن برخی از ناقلان روی را در کبد تعدیل کند. این یافته‌ها می‌تواند بینش جدیدی در مورد مکانیسم‌های اساسی اثرات ورزش و تغذیه بر بافت کبد ارائه دهد.

کلمات کلیدی: ورزش با شدت بالا، مکمل یاری، عصاره آبی دانه زنیان، Slc30a (ZnT)، Slc39a (Zip).

مقدمه

روی یک عنصر کمیاب ضروری برای تمام موجودات زنده از جمله انسان، حیوانات، گیاهان و میکروارگانیسم‌ها است. روی برای عملکرد بیش از ۳۰۰ آنزیم و ۱۰۰۰ فاکتور رونویسی ضروری است.

این آنزیم‌ها در طیف گسترده‌ای از فرآیندهای بیولوژیکی از جمله متابولیسم، رشد و تکامل، سیستم ایمنی و پاسخ التهابی نقش دارند. روی بعد از آهن دومین فلز کمیاب در بدن انسان است. کمبود روی یک مشکل جهانی است که حدود دو میلیارد نفر را در کشورهای در حال توسعه تحت تأثیر قرار می‌دهد. کمبود روی می‌تواند منجر به طیف گسترده‌ای از مشکلات سلامتی از جمله تأخیر در رشد و تکامل، کاهش ایمنی، اختلالات پوستی و ناباروری شود (۸). بدن انسان بالغ حاوی ۲–۳ گرم روی است. تقریباً ۶۰ درصد روی در عضله اسکلتی، ۳۰ درصد در استخوان، ۵ درصد در کبد و پوست و ۲ تا ۳ درصد باقیمانده در سایر بافت‌ها ذخیره می‌شود (۲۱). روی با پروتئین های بی‌شماری پیوند یافته و به اندامک‌ها و وزیکول ها منتقل می‌شود و بنابراین غلظت یون روی آزاد سیتوزولی بسیار کم است (۳٤). میزان مصرف توصیه شده روزانه روی برای زنان و مردان ۱٤ سال به بالا به‌ترتیب ۸ و ۱۱ میلی‌گرم در روز است. با این‌حال، تحقیقات نشان می‌دهد که مقدار مصرف روی در بیشتر افراد بسیار کمتر از این مقدار است (۳۵). در پستانداران هموستاز روی توسط بیان و عملکرد ۲٤ ناقل غشایی کنترل می‌شود. از این تعداد ۱۰ ناقل صادرکننده روی از خانواده ZnT (SLC30) و ۱٤ ناقل واردکننده روی از خانواده ZIP (SLC39A) هستند (۲۵). انتقال دهنده‌های Znt در غشای سلولی و همچنین در غشای اندامک‌های داخل سلولی با خارج کردن روی از ستیوزل به خارج سلول و یا انتقال به داخل اندامک‌ها و ارگانل‌های داخل سلولی باعث کاهش روی سیتوزولی می‌شوند. انتقال دهنده‌های Zip با وارد کردن روی به داخل سلول و همچنین با خارج کردن روی از داخل اندامک‌ها به محیط سیتوزل، باعث افزایش روی سیتوزولی می‌شوند (٤۰). ZnT5 به غشاهای مختلف در مسیرهای ترشحی سلول، از جمله وزیکول‌ها و دستگاه گلژی قرار دارد (۳۸). ZnT5 به‌طور ویژه با ZnT6، کمپلکس‌های هترودیمر تشکیل می‌دهد (۲۷). کمپلکس‌های هترودیمر-ZnT5 ZnT6و ZnT7 عملکردهای بیوسنتزی مهمی دارند، زیرا روی را به مسیر ترشح اولیه تحویل می‌دهند، که برای فعال شدن آنزیم‌های نیازمند روی مانند آلکالین فسفاتازها مورد نیاز است (۱۲). ZnT6 در دستگاه گلژی و شبکه آندوپلاسمی قرار دارد (۱۹). با این حال، ZnT6 خود دارای فعالیت حمل روی نیست، زیرا دو رزیدوی هیستیدین در محل اتصال روی داخل غشایی در چهار دسته مارپیچ با لوسین و فنیل آلانین جایگزین شده‌اند (۲۲). بیان mRNA ZnT6 کمتر از بیانmRNA ZnT5 است (۲٤)، و محل سلولی ZnT6 تا حدودی از ZnT5 متمایز است (۳۸)، به عنوان مثال، محل سلولی آن تحت شرایط افزایش غلظت روی، تغییر می‌کند بنابراین، ZnT6 ممکن است عملکردهای بیولوژیکی خاص در برخی از انواع سلول داشته باشد که شامل تشکیل کمپلکس-ZnT5 ZnT6 نمی‌شود (۱۹). ZIP7 در مسیر ترشح اولیه شامل شبکه اندوپلاسمی و دستگاه گلژی قرار دارد (۲۰). فعالیت حمل روی ZIP7 توسط فسفوریلاسیون پروتئین کیناز ۲ (CK2) تنظیم می‌شود (۳۹). ZIP7 در کنترل گلیسمیک در عضلات اسکلتی دخیل است (۳۰). بیانZIP7 ناشی از گلوکز ممکن است پردازش و ذخیره انسولین را در سلول های بتا پانکراس تسهیل کند (۵). ZIP8 در غشای پلاسمایی (۲۸) و همچنین در لیزوزوم (۲) قرار دارد. در هر دو مورد، فعالیت ZIP8وضعیت روی سیتوزول را افزایش می‌دهد (٤). روی در عملکردهای فیزیولوژیکی مرتبط با ورزش و فعالیت بدنی نقش مهمی ایفا می‌کند. تغییرات قابل توجهی در غلظت روی سرم پس از یک دوره تمرین هوازی مشاهده شده است، نشان می‌دهد که متابولیسم روی و عملکردهای مرتبط با ورزش به یکدیگر

مرتبط هستند. روی در تمام اعضا و بافت‌های بدن گسترش یافته است، به طوری که کبد نقش اساسی را در تنظیم یک استخر روی بازی می‌کند که به سرعت می‌تواند با پلاسما و سایر بافت‌ها تعویض شود (۹). آزادسازی روی از سلول‌های کبدی به‌صورت منظم و قابل تنظیم انجام می‌شود. تغییرات در وضعیت روی مستقیماً بر بیان ژن‌های انتقال دهنده روی در بافت‌های مختلف تأثیر می‌گذارد (۱۸). ورزش به تنهایی می‌تواند تأثیر آشکاری بر متابولیسم روی داشته باشد. ورزشکارانی که مصرف غذا و روی در رژیم غذایی خود را محدود می‌کنند، ممکن است اثرات ورزش را بر وضعیت روی تشدید کنند. این امر می‌تواند منجر به کمبود روی شود. یکی از پیامدهای سطوح پایین روی پلاسما یا سرم، کاهش غلظت روی ماهیچه است. روی برای فعالیت چندین آنزیم در متابولیسم انرژی مورد نیاز است. بنابراین، سطوح پایین روی ماهیچه‌ای می‌تواند منجر به کاهش ظرفیت استقامتی و اختلال در عملکرد ورزشی شود. از این رو، افرادی که از نظر بدنی فعال هستند باید سعی کنند از یک رژیم غذایی متعادل برای اطمینان از دریافت کافی روی استفاده کنند. این امر می‌تواند به بهبود سلامت و عملکرد بدنی کمک کند (۱۳). مکمل غذایی به عنوان یک محصول تعریف می‌شود که هدف آن تکمیل رژیم غذایی بوده و ممکن است شامل ویتامین‌ها، مواد معدنی، گیاهان دارویی یا سایر مواد گیاهی، اسیدهای آمینه یا ترکیبی از این مواد باشند. استفاده از این مکمل‌های غذایی به منظور افزایش مقدار کلی مواد مورد نیاز روزانه به این مواد است. بنابراین، اطمینان یافتن از کیفیت مکمل‌های غذایی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. گیاهان دارویی از دیرباز، در درمان بیماری‌های مختلف و بهبود سلامتی انسان مورد استفاده قرار می‌گرفته‌اند. زنیان، یکی از این گیاهان دارویی ارزشمند است که ازقدیم، در طب سنتی ایران و سایر کشورهای جهان، برای درمان طیف گسترده‌ای از بیماری‌ها مورد استفاده قرار می‌گرفته است. این گیاه دارویی، سرشار از ترکیبات بیولوژیکی فعالی مانند تیمول، کارواکرول و لیمونن و ویتامین‌ها و مواد معدنی است که خواص درمانی بی‌نظیری برای سلامتی انسان دارند. زنیان گیاهی یک ساله و معطر و خودرو با ارتفاع تقریبا ۶۰ تا ۹۰ سانتی‌متر و از تیره چتریان می‌باشد (۱). نام علمی این گیاه *Trachyspermum ammi(.L)* و نام های رایج آن آجواین (هندی)، کمون الملوکی (عربی)، Bishop's weed (انگلیسی)، و در زبان فارسی نیز نانخواه و زنیان می‌باشد. این گیاه خواص درمانی مختلفی دارد و منبع غنی از مواد معدنی ضروری از جمله روی و آهن است (جدول شماره ۲). تحقیقات قبلی نشان می‌دهد که زنیان ممکن است مزایای سلامتی فراوانی داشته باشد، اما تأثیر آن بر مکمل‌یاری و عملکرد آن در ورزش بر سطوح روی و انتقال دهنده‌های روی در ورزشکاران ناشناخته باقی مانده است. بیان ناقل‌های Znt و Zip به طور پیچیده توسط مقررات رونویسی و پس از رونویسی در پاسخ به محرک‌های مختلف، از جمله هورمون‌ها، سیتوکین‌ها، شرایط استرسی، هیپوکسی و غیره تنظیم می‌شوند (۳۶). این کنترل‌های بیان ژنی، همگی به هموستاز سلولی روی و در نتیجه حالت فیزیولوژیکی طبیعی کمک می‌کنند و در برخی موارد در پاتوژنز بیماری نقش دارند (۲۳). باتوجه به این تعاریف که روی در مسیرهای متابولیسم استفاده می‌شود، و احتمال کاهش روی در ورزشکاران وجود دارد (۱۶)، و باتوجه به اینکه زنیان حاوی مقادیر قابل توجهی روی و آهن بوده، لذا با توجه به نقش حساس روی بر عملکرد بدنی، سوال اصلی این پژوهش این است که آیا مکمل‌یاری با عصاره آبی زنیان به همراه تمرین می-

تواند بیان ژن های Znt5، Znt6، Zip8 و Zip7 و محتوای روی را در بافت کبد تحت تاثیر قرار دهد؟

مواد و روش‌ها

پس از دریافت کد اخلاق از کمیته اخلاق در پژوهش دانشگاه مازندران (IR.UMZ.REC.1401.071)، تعداد ٤٠ سر موش صحرایی نر از انستیتو پاستور آمل خریداری شدند. و در آزمایشگاه جانوری دانشگاه مازندران در قفس های استاندارد (۵ سر موش در هر قفس)، در دمای ۲۲-۱۸ درجه سانتی گراد با چرخه روشنایی و تاریکی ۱۲/۱۲ قرار گرفتند. و پس از اینکه موش‌ها به مدت یک هفته با محیط آزمایشگاه سازگار شدند بر اساس همگن‌سازی وزنی به ٤ گروه ۱۰ تایی (۱۰ سر موش گروه سالین- کنترل، ۱۰ سر موش گروه سالین- تمرین، ۱۰ سر موش گروه زنیان- کنترل و ۱۰ سر موش گروه زنیان- تمرین) تقسیم شدند. و پس از اینکه گروه های تمرینی به‌مدت یک هفته با تردمیل جوندگان آشنا شدند پروتکل تمرین به مدت ۸ هفته اجرا شد (١٤, ١٥). همچنین، موش‌ها در طول آزمایش به صورت آزادانه به آب و رژیم غذایی استاندارد دسترسی داشتند. موش‌های گروه زنیان- کنترل و زنیان- تمرین با عصاره آبی بذر زنیان و موش‌های گروه سالین- کنترل و گروه سالین- تمرین، با سالین گاواژ داده شدند. فاصله گاواژ دادن برای گروه های تمرینی ۳۰ دقیقه پس از اتمام تمرین بود. موش‌ها ٣٦ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی و ۱۲ ساعت ناشتایی برای به حداقل رساندن اثرات ورزش حاد، با مخلوط کتامین و زایلازین داخل صفاقی بیهوش شدند و خون‌گیری و بافت‌برداری شدند و بلافاصله در میکروتیوب‌های استریل، در نیتروژن مایع قرار داده شدند و سپس در یخچال ۷۰- نگهداری شدند تا مورد آنالیز و بررسی قرار گیرند. برای تهیه عصاره آبی دانه زنیان، به‌ازای هر گرم پودر زنیان، ۱۰ میلی‌لیتر آب جوشیده اضافه شد و به مدت ۳ روز در دمای ٤٥-٥٥ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت و پس از آن محلول به مدت یک ساعت با شعله ملایم جوشانده شد و بعد از سرد شدن، ۳ بار از پارچه صافی به ترتیب، یک‌لایه، دولایه و سه‌لایه عبور داده شد و با کاغذ صافی واتمن شماره ۱ صاف گردید. سپس محلول به دست آمده جهت تغلیظ در آون قرار گرفت تا غلظت آن به یک‌سوم برسد و پس از آن عصاره در ظرف شیشه‌ای کدر و تیره و در یخچال آزمایشگاه نگه‌داری شد (۳۳). موش‌های گروه زنیان روزانه به مقدار ۲ میلی‌گرم به ازای هر گرم وزن در حجم ۱۰ میلی‌لیتر از عصاره آبی زنیان به صورت گاواژ دهانی دریافت می‌کردند. گروه سالین نیز با شرایط مشابه و حجم برابر با محلول سالین گاواژ می-شدند. برای اندازه‌گیری بیان ژن، بافت کبد توسط اسکالپل به روی پلیت استریل سرد به قطعات بسیار ریز کمتر از یک میلی‌متر خورد شدند و سپس در هاون با کمک نیتروژن مایع، هموژن و در نهایت پودر یکنواختی از آن تهیه شد. سپس برای استخراج RNA براساس دستورالعمل کیت استخراج RNA ستونی شرکت دنا زیست آسیا (مشهد، ایران) انجام گردید. در مرحله بعد، کیفیت و کمیت RNA استخراج شده با روش الکتروفورز روی ژل آگارز و UV اسپکتروفتومتری (نانودراپ مبنا ایرانیان، ایران) مورد ارزیابی قرار گرفت. در ادامه، بخاطر اینکه نمونه RNAاستخراج شده فاقد آلودگی به DNA باشند، RNA های استخراجی با استفاده از آنزیم DNasI, RNase-free طبق دستورالعمل شرکت سازنده (سیناکلون، ایران) تیمار شدند. سنتز cDNA با استفاده از کیت یکتاتجهیزآزما (ایران) و با توجه به دستور عمل شرکت صورت گرفت. لازم به ذکر است که در ساخت cDNA از آغازگر Oligo-dT استفاده شد. در این پژوهش آغازگرهای اختصاصی برای تکثیر ژن-

های Slc30a5، Slc30a6، Slc39a7 و Slc39a8 و ژن رفرنس β-Actin با استفاده از نرم‌افزار Primer Premier 5 طراحی شدند و در ادامه توالی آغازگرها توسط شرکت Bioneer (کره جنوبی) سنتز شدند. توالی آغازگرهای رفت و برگشت برای ژن‌های فوق در جدول ۱ نشان داده شده است. تعیین کمیت نسبی در Real time PCR بوسیله اندازه‌گیری افزایش تشعشع نور فلورسنس، در نتیجه اتصال رنگ سایبرگرین انجام گرفت. طی این مرحله، واکنش زنجیره‌ای پلیمراز برای نمونه‌های cDNA برای ژن-های ژن‌های Slc30a5، Slc30a6، Slc39a7 و Slc39a8 و ژن رفرنس Beta-actin با استفاده از کیت سایبرگرین شرکت امپلیکون (دانمارک) در دستگاه Rotor gene Corbett6000 انجام شد. پس از بررسی مقادیر مربوط به سیکل آستانه (Ct) حاصل از تکرارهای بیولوژی و تکنیکی هر تیمار، میانگین CT برای تکرارهای تکنیکی ژن‌های مورد نظر محاسبه شد و در ادامه بیان داده‌ها توسط نسبت بیان هریک از ژن های اختصاصی فوق به ژن Beta-actin (ژن رفرنس) محاسبه شد. برای اندازه‌گیری مقدار روی کبد، ابتدا ۵۰- ۱۰۰ میلی‌گرم از بافت کبد را با چاقوی تیغه سرامیکی برش داده و روی ورقه‌های فویل آلومینیوم استریل شده قرار داده و در داخل آون در دمای ۹۰-۸۰ درجه به مدت ۲۴ ساعت قرار دادیم تا کاملا خشک شوند. سپس بافت خشک شده را به داخل فلاسک شیشه‌ای انتقال داده و به آن به‌ترتیب ۳ میلی‌لیتر اسیدنیتریک، ۱ میلی‌لیتر هیدروژن‌پراکسید و ۰/۵ میلی‌لیتر پرکلریک اسید اضافه کرده و ۴ مرحله گرمادهی به‌ترتیب ۹۰، ۱۲۰، ۱۴۰ و ۱۵۰ درجه به‌ترتیب ۱۵، ۱۵، ۶۰ و ۶۰ دقیقه در آون حرارت می‌دهیم و پس از خنک شدن محلول را به حجم ۱۰ میلی‌لیتر می‌رسانیم (۷). و به روش جذب اتمی با دستگاه ICP-EOS اندازه گیری شدند. لازم به ذکر است که مواد معدنی بذر زنیان نیز از همین روش استفاده شد که نتایج آن در جدول ۲ ارایه شده است. کلیه آنالیزهای آماری با استفاده از نرم‌افزار Spss نسخه ۲۷ انجام شد. از آزمون کولموگروف-اسمرینوف (K-S) برای بررسی توزیع نرمال بودن داده‌ها استفاده شد و برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از آزمون تحلیل واریانس دو طرفه استفاده شدند. ۰/۰۵≥ p نیز به‌عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد.

جدول۱- آغازگرهای مورد استفاده در فرآیند Real Time PCR

Table 1. Primers used in the Real Time PCR process

Genes	Sequences	Accession number	PCR products(pb)
Slc30a5	F-5'-TGACACAAACATGCTGACACC-3' R-5'-CATGACTGTGGGCGTGACT-3'	NM_001106404.1	89
Slc30a6	F-5'-TGCTAAACTTCTCAGACCACCA-3' R-5'-TCACATTTTTCCCAGGCGTATT-3'	NM_001277279.	141
Slc39a7	F-5'-CTCATTCGCACGATACTCCG-3' R-5'-TGTCTCACAAACTTCTCCACCAC-3'	NM_001164744.1	133
Slc39a8	F-5'-ATAAAGAAGTCGTATTTCCCCAAGA-3' R-5'-GTAAAATCCACCAAACACAGCAAC-3'	NM_001011952.1	165
β-Actin	F-5'-GTGTGACGTTGACATCCGTAAAGAC-3' R-5'-TGCTAGGAGCCAGGGCAGTAAT-3'	NM_031144.3	119

نتایج

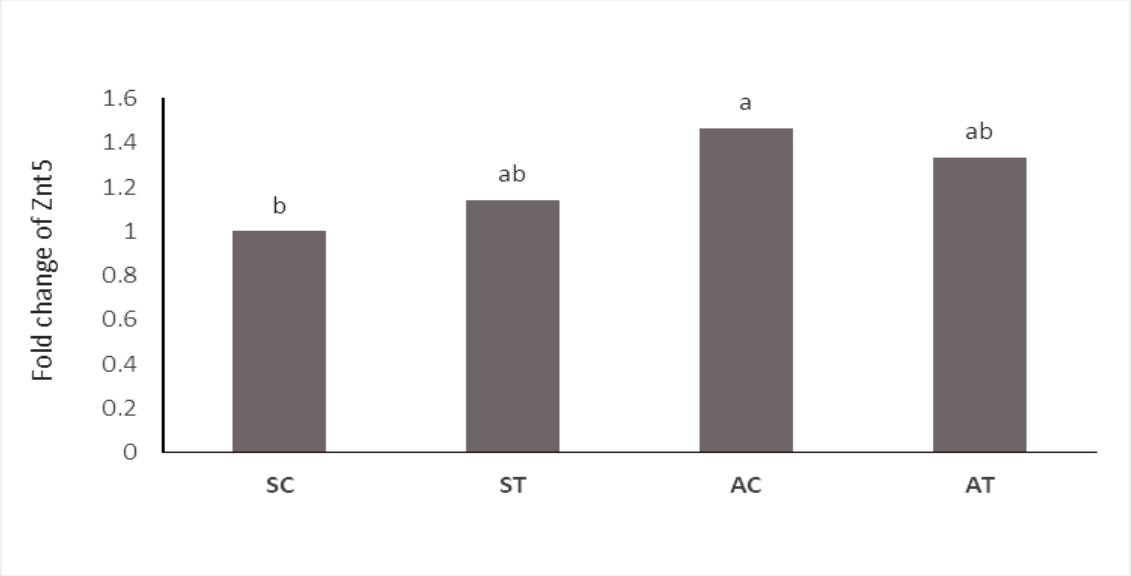
در نمودارهای ۱ و ۲ نتایج بیان ژن Znt5 و Znt6 بافت کبد نشان داده شده است. تحلیل داده‌ها با آنالیز واریانس دوطرفه نشان داد که بیان ژن Znt5، اثر محلول تغییرات معنی‌داری (p = ۰/۰۳) داشت ولی اثر تمرین (p = ۰/۹) و همچنین اثر تعاملی (p = ۰/۳) تغییر معنی‌داری نداشت. ادامه بررسی‌ها با آزمون

تعقیبی توکی نشان داد که بین گروه‌های سالین- کنترل با زنیان- کنترل (p = ۰/۰۳) تفاوت معنی‌داری داشت. ولی بیان ژن Znt6، هیچ کدام از مداخلات، اثر محلول (p = ۰/٤٨)، تمرین (p = ۰/٤٦) و همچنین اثر تعاملی (p =۰/٥٤) تغییرات معنی‌داری نشان نداد. در شکل ۳ و ٤ نتایج بیان ژن‌های Zip8 و Zip7 بافت کبد نشان داده شده است. تحلیل داده‌ها نشان داد که بیان ژن Zip7 در هیچ کدام از مداخلات، اثر محلول (p=۰/۰٦)، اثر تمرین (p = ۰/۷۷) و همچنین اثر تعاملی (محلول* تمرین) (p = ۰/۹) تغییر معنی‌داری مشاهده نشد. ولی بیان ژن Zip8 نشان داد که اثر محلول (p = ۰/۰۰۱) تغییر معنی‌داری داشت ولی اثرات تمرین (p = ۰/۰۹) و تعاملی (p =۰/۲۲) تغییر معنی‌داری نداشت. ادامه بررسی‌ها با آزمون توکی نشان داد که بین گروه‌های سالین- کنترل با زنیان- تمرین (p = ۰/۰۰۲) و همچنین بین گروه‌های سالین- تمرین با زنیان- تمرین (p = ۰/۰۰٤) تغییرات معنی‌دار بود. در شکل ۵ سطوح روی نشان داده شده است. تحلیل داده‌ها نشان داد که هیچ کدام از مداخلات، اثر محلول (p = ۰/۲۵)، اثر تمرین (p = ۰/۲۲) و همچنین اثر تعاملی (p = ۰/۹۹) باوجود تغییرات، این تغییرات از نظر آماری معنی‌دار نبود. نتایج اندازه‌گیری مواد معدنی بذر زنیان (جدول۲) مورد استفاده در این پژوهش (مکمل‌یاری) در جدول ذیل آمده است که نشان می‌دهد بذر این گیاه مقدار قابل توجهی عنصر روی و همچنین عناصر دیگری که در جدول امده است را دارا می‌باشد.

جدول ۲- مقادیر مواد معدنی بذر زنیان (میکروگرم بر گرم)

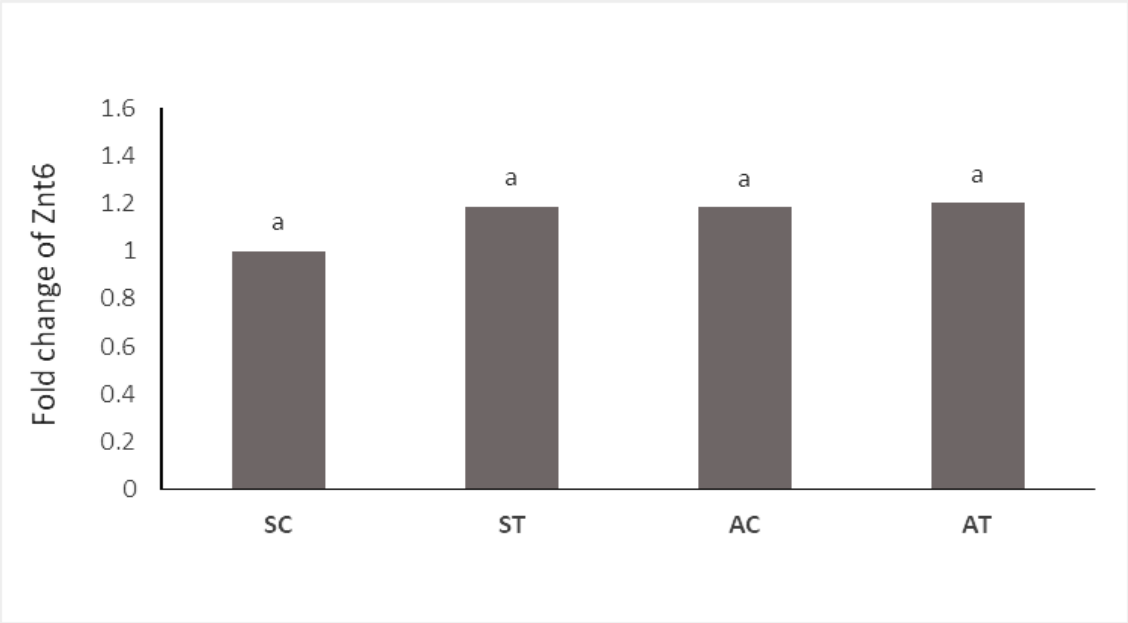
Table 2. Amounts of minerals in Ajwain seeds (microgram per gram)

Ca	Cu	Fe	K	Mg	Mn	Na	P	Se	Zn
14829.3	7.3	72.2	5531.5	3906	25.39	1621.3	2876.1	1	53.4



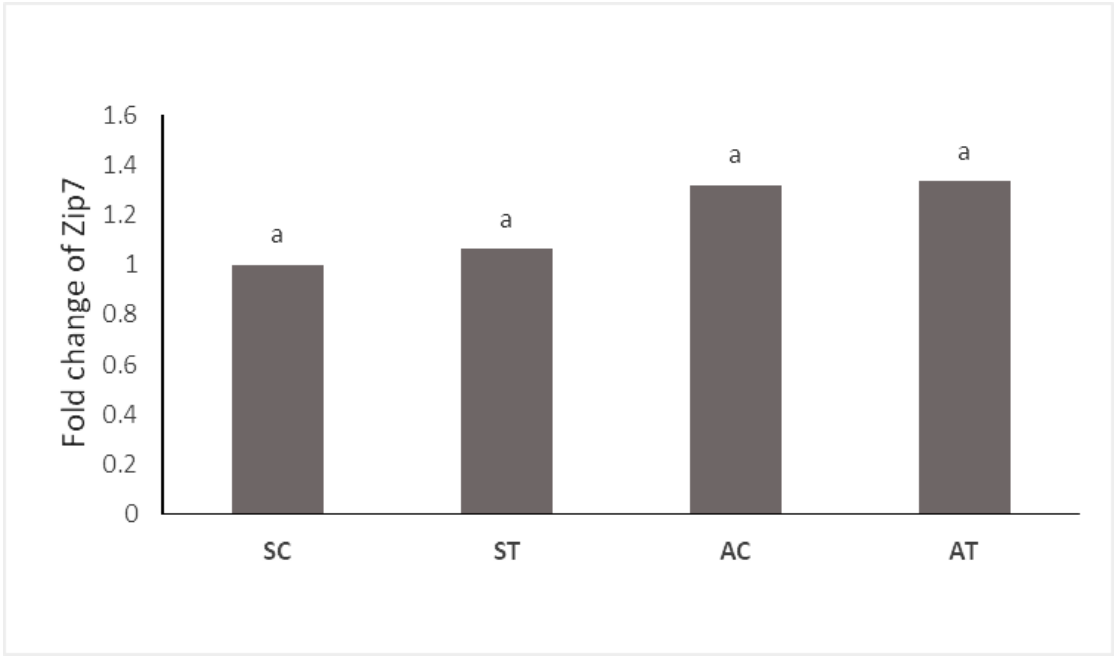
شکل ۱- بیان ژن Znt5. گروه‌های دارای حروف مشترک در هر ستون، براساس آزمون توکی اختلاف معنی‌داری ($p \leq$ ۰/۰۵) ندارند

Fig 1. Znt5 gene expression. Groups with common letters in each column have no significant difference ($p \leq 0.05$) based on Tukey's test



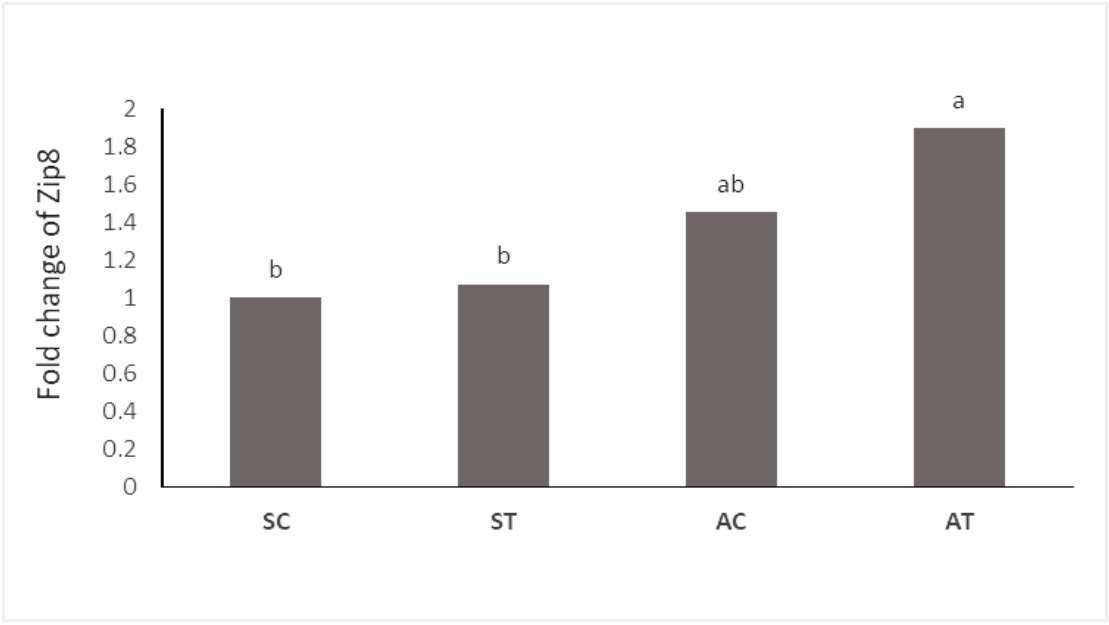
شکل ۲- بیان ژن Znt6. گروه‌های دارای حروف مشترک در هر ستون، براساس آزمون توکی اختلاف معنی‌داری ($p \leq$ ۰/۰۵) ندارند

Fig 2. Znt6 gene expression. Groups with common letters in each column have no significant difference ($p \leq 0.05$) based on Tukey's test



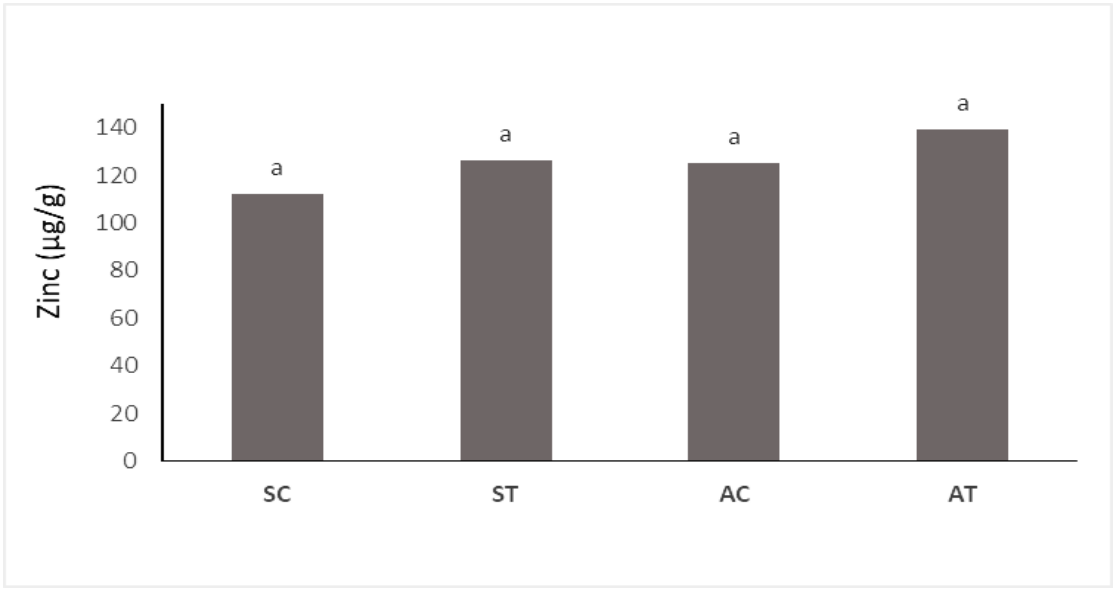
شکل ۳- بیان ژن Zip7. گروه‌های دارای حروف مشترک در هر ستون، براساس آزمون توکی اختلاف معنی‌داری ($p \leq$ ۰/۰۵) ندارند

Fig 3. Zip7 gene expression. Groups with common letters in each column have no significant difference ($p \leq 0.05$) based on Tukey's test



شکل ٤- بیان ژن Zip8. گروه‌های دارای حروف مشترک در هر ستون، براساس آزمون توکی اختلاف معنی‌داری ($p \leq$ ۰/۰۵) ندارند

Fig 4- Zip8 gene expression. Groups with common letters in each column have no significant difference ($p \leq 0.05$) based on Tukey's test



شکل ۵- سطوح روی در بافت کبد. گروه‌های دارای حروف مشترک در هر ستون، براساس آزمون توکی اختلاف معنی‌داری ($p \leq$ ۰/۰۵) ندارند

Fig 5- Zinc levels in liver tissue. Groups with common letters in each column have no significant difference ($p \leq 0.05$) based on Tukey's test

بحث

با توجه به نمودارها مشاهده می‌کنیم که بیان ژن‌های Zip8 و Zip7، Znt6، Znt5 و همچنین سطوح روی در بافت کبد، از الگوی یکسان و مشابهی پیروی نمی‌کنند و از یکدیگر متفاوت می‌باشند. با توجه به نمودار ۱ نشان می‌دهد که بیان ژن Znt5، در گروه‌های مکمل‌یاری با زنیان نسبت به گروه‌های سالینی،

افزایش معنی‌داری داشته است. ادامه بررسی‌ها با آزمون تعقیبی توکی نشان داد که گروه زنیان- کنترل نسبت به گروه سالین- کنترل افزایش معنی‌داری داشته است. عامل تمرین در بیان ژن Znt5 در گروه‌های سالین و گروه‌های مکمل‌یاری با زنیان، اثری متضاد و معکوس داشت. بطوریکه در گروه های سالین، گروه سالین- تمرین نسبت به گروه سالین- کنترل، افزایش بیان داشته است ولی در گروه‌های مکمل‌یاری با زنیان، گروه زنیان- تمرین نسبت به گروه زنیان- کنترل بیان ژن Znt5 را کاهش داده است هرچند این تغییرات از نظر آماری معنی‌دار نبود. ولی بیان ژن Znt6 در همه گروه ها تغییرات قابل توجهی نداشت و تقریبا یکسان بود.. الگوی تغییرات بیان ژن Zip7 در گروه‌های سالین با گروه‌های مکمل‌یاری با زنیان مشابه بود بطوریکه مکمل‌یاری با زنیان نسبت به گروه‌های سالین، باعث افزایش بیان ژن Zip7 شده بود. همچنین عامل تمرین نیز نسبت به گروه‌های کنترل، بیان ژن را اندکی افزایش داده بود هرچند این افزایش از نظر آماری معنی‌دار نبود. الگوی تغییرات بیان ژن Zip8 در گروه‌های سالین و مکمل‌یاری مشابه بود بطوریکه عامل تمرین در گروه‌های تمرینی نسبت به گروه‌های کنترل (سالین- تمرین نسبت به سالین- کنترل و همچنین زنیان- تمرین نسبت به زنیان- کنترل) باعث افزایش بیان ژن Zip8 شده بود. ادامه بررسی‌ها با آزمون تعقیبی توکی نشان داد که گروه زنیان- تمرین نسبت به سالین- تمرین و همچنین سالین- کنترل، افزایش معنی‌داری داشت. با توجه به نمودار۵ ، تغییرات سطوح روی در بافت کبد نشان می‌دهد که تمرین در هر دو گروه سالین و مکمل‌یاری زنیان، باعث افزایش سطوح روی شده است یعنی سطوح روی در گروه سالین- تمرین نسبت به سالین- کنترل و همچنین گروه زنیان- تمرین نسبت به زنیان- کنترل، افزایش یافته است هرچند این افزایش از نظر آماری معنی‌دار نبود. علاوه بر این اثر مکمل‌یاری نیز در گروه‌های مکمل‌یاری با عصاره آبی بذر زنیان نسبت به گروه‌های سالین، سطوح روی را در بافت کبد افزایش داده است هرچند این افزایش از نظر آماری معنی‌دار نبود. این یافته‌ها نشان می‌دهد که مصرف مکمل عصاره آبی بذر زنیان که بعنوان منبعی غنی از روی و همچنین سایر مواد معدنی درنظر گرفته می‌شود باعث می‌شود که سطوح روی و همچنین متعاقب آن بیان ژن های روی را تغییر دهند. برای حفظ هموستاز روی در سلول‌ها، بیان ژن انتقال دهنده‌های Znt و Zip بگونه‌ای تغییر می‌کنند که هموستاز روی در سلول‌ها حفظ شود. محققان با بررسی تاثیر مواد شیمیایی کادمیوم و روی، سطوح روی و بیان ژن Znt5 را در بافت استخوان ران موش‌های نوزاد نر نژاد ویستار نتیجه گرفتند که بیان ژن Znt5، مکمل‌یاری با کادمیوم و یا مکمل‌یاری با روی باعث کاهش بیان ژن Znt5 در بافت استخوان می‌شود درحالیکه مکمل‌یاری همزمان کادمیم+روی باعث افزایش بیان ژن Znt5 در بافت استخوان ران می‌شود (٦). در مطالعه دیگری تاثیر ورزش را بر روی عملکرد شناختی و رابطه آن با بیان ژن‌های Znt6 و Znt5را در موش‌های نر بررسی کردند و نتیجه گرفتند که گروه تمرینی نسبت به گروه کنترلی، عملکرد شناختی بهتری داشتند. همچنین هیپوکمپ گروه تمرینی نیز نسبت به گروه کنترلی، بیان ژن Znt6 و Znt5 در آنها افزایش یافته بود (۳۱). مکمل‌یاری عصاره گلرنگ با دو شدت مختلف برنامه تمرینی نشان داد که تمرین با شدت ۲۵ متر در دقیقه بیان ژن Znt5 در بافت کبد را بصورت معنی‌داری کاهش داده است ولی تمرین با شدت ۳۲ متر در دقیقه بیان ژن Znt5 در بافت کبد را اندکی نسبت به گروه گلرنگ- کنترل افزایش داده بود هرچند این افزایش از نظر آماری معنی‌دار نبود ولی در گروه‌های سالینی، تمرین

۲۵ متر بیان ژن Znt5 را اندکی کاهش داد ولی تمرین ۳۲ متر در دقیقه، بیان ژن Znt5 در بافت کبد را نسبت به گروه گلرنگ-کنترل اندکی افزایش داده بود که این تغییرات معنی‌دار نبود. تمرین با شدت‌های مختلف بیان ژن Znt5 در بافت قلب را افزایش داد. همچنین سطح روی در بافت‌های کبد و عضله دوقلو تغییر معنی‌داری بین گروه‌ها نداشت (۲۹). مکمل‌یاری با افزودن کربنات روی نشان داد که بیان ژن Znt5 در گروه‌های سالم با مکمل‌یاری روی با دوزهای مختلف در بافت روده تغییر نداشت ولی در گروه‌های دیابتی بیان ژن Znt5 افزایش معنی‌داری داشت ولی بیان ژن Znt5 در بافت قلب، در گروه‌های سالم با افزایش دوز مصرفی روی نسبت به گروه کنترل افزایش یافت. همچنین بیان ژنZnt8 در بافت پانکراس با افزایش دوز مصرفی روی در گروه‌های سالم و هم در گروه‌های دیابتی، نسبت به گروه‌های کنترلی افزایش یافته بود. همچنین سطوح روی در در بافت‌های پلاسما، کبد، طحال، عضله، پانکراس، استخوان ران و استخوان درشت نی در گروه‌های سالم بسته به مقدار دوز مصرفی سطوح آن نسبت به گروه کنترل افزایش یافت. لازم به ذکر است که بیماری دیابت سطوح روی را کاهش داده بود ولی با افزایش دوز مصرفی روی در این گروه‌ها نشان داد که سطوح روی در این بافت‌ها تا حدودی افزایش یافته بود (۳). مطالعه بر نمونه‌های انسانی و موش‌ها، ارتباط روی، Znt8 و تستوسترون را در سلول‌های لیدیگ را نشان داد که افزایش روی باعث افزایش بیان ژن Znt8 و تستوسترون می‌شود. همچنین، کاهش Znt8 باعث کاهش تستوسترون و سطوح روی می‌شود و عنوان کردند که Znt8 پروتئینی است که روی را به سلول های لیدیگ در بیضه منتقل می‌کند و ممکن است در تولید تستوسترون نقش داشته باشد (۴۲). مطالعات با مکمل‌یاری روی در زنان دارای اضافه وزن نشان داد که غلظت روی سرم در گروهی که مکمل روی مصرف کرده بودند ۱۸ درصد افزایش یافته بود (۳۲). مکمل‌یاری با روغن بذر کتان و روی نشان داد که در گروه‌های روی و گروه ترکیب رویی با روغن بذر کتان مقدار روی را بطور معنی‌داری افزایش داده بود ولی در گروه روغن بذر کتان و گروه دارونما تفاوتی نداشتند (۱۱). بررسی اثرات مقدار مصرف کادمیوم بر بیان ژن Zip8 و Zip14 در بافت بیضه نشان داد که مقدار مصرف کادمیوم بر مقدار کادمیوم و مقدار آهن در بافت بیضه تاثیر می‌گذارد ولی تغییرات معنی‌داری در سطوح بیان ژن Zip8 و Zip14 ندارد (۴۱). مکمل‌یاری با روغن دانه کدو و عصاره نخود سفید به همراه فعالیت بدنی نشان داد که بیان ژن ZIP14 در هر دو مکمل‌یاری (عصاره نخود و روغن تخم کدو) افزایش معنی‌داری داشت و بیان ژن‌های Znt5 و Znt9 با وجود افزایش، معنی‌دار نبود (۱۰). بررسی بیان ژن Znt8 و Zip8 نشان داد که هر دو ژن مورد پژوهش در بافت کبد با مکمل‌یاری عصاره نخود و هم با مکمل‌یاری روغن تخم کدو بطور معنی‌داری افزایش یافته بود (۱۷). در مطالعه ای محققان موش‌ها را در۲ گروه گروه کادمیوم و گروه کنترل را بررسی کردند و مشاهده کردند که مقدار روی و آهن در بیضه موش‌هایی که در معرض کادمیوم قرار گرفته بودند طی یک دوره ۲۴ ساعته روی از ۱۵ میکروگرم/گرم در نقطه زمانی صفر به نزدیک ۳۰ میکروگرم/گرم بتدریج افزایش یافت. آهن نیز از ۲۲ میکروگرم به مدت ۱۲ ساعت یکسان بوده و پس از ۱۲ ساعت تا ۳۵ میکروگرم/گرم افزایش یافت (۲۶). بررسی مکمل‌یاری با عصاره آبی بذر زنیان به همراه تمرین دویدن استقامتی شدید نشان داد که سطح گلیکوژن در بافت معده، در گروه سالین-تمرین نسبت به سالین-کنترل افزایش معنی‌داری داشت. همچنین در گروه‌های زنیان، عامل تمرین در بافت های معده و

روده کوچک سطح گلیکوژن را افزایش داده بود هرچند این افزایش از نظر آماری معنی‌دار نبود ولی در بافت روده بزرگ در گروه‌های زنیان این مورد در مقایسه با بافت روده کوچک و بافت معده، مقدار گلیکوژن را کاهش داده بود (۳۷).

نتیجه‌گیری

روی بعنوان مواد معدنی ضروری، نقش مهمی در عملکرد سلول ها دارد. بیان ژن های ناقل روی و سطوح روی می‌تواند تحت تأثیر عوامل مختلفی از جمله ورزش و تغذیه باشد. بر اساس این نتایج، می‌توان نتیجه گرفت که فعالیت بدنی همراه مکمل‌یاری با عصاره آبی دانه زنیان می‌تواند بیان ژن‌های انتقال دهنده‌های روی را در بافت کبد افزایش دهد. این یافته‌ها نشان می‌دهد که متخصصان، با درک بهتر، می‌توانند ورزش و مداخلات گیاهی را به روشی هدفمندتر و موثرتر تجویز کنند.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله از تمامی افرادی که در این تحقیق همکاری داشته‌اند صمیمانه تشکر و قدردانی می‌نماییم.

منابع

1. Asif H.M., Sultana S., Akhtar N. 2014. A panoramic view on phytochemical, nutritional, ethanobotanical uses and pharmacological values of Trachyspermum ammi Linn. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 4:S545-S553.

2. Aydemir T.B., Liuzzi J.P., McClellan S., Cousins R.J. 2009. Zinc transporter ZIP8 (SLC39A8) and zinc influence IFN-γ expression in activated human T cells. *Journal of leukocyte biology*, 86(2):337-348.

3. Barman S., Pradeep S.R., Srinivasan K. 2017. Zinc supplementation mitigates its dyshomeostasis in experimental diabetic rats by regulating the expression of zinc transporters and metallothionein. *Metallomics*, 9(12):1765-1777.

4. Begum N.A., Kobayashi M., Moriwaki Y., Matsumoto M., Toyoshima K., Seya T. 2002. Mycobacterium bovis BCG cell wall and lipopolysaccharide induce a novel gene, BIGM103, encoding a 7-TM protein: identification of a new protein family having Zn-transporter and Zn-metalloprotease signatures. *Genomics*, 80(6):630-645.

5. Bellomo E.A., Meur G., Rutter G.A. 2011 .Glucose regulates free cytosolic Zn2+ concentration, Slc39 (ZiP), and metallothionein gene expression in primary pancreatic islet β-cells. *Journal of Biological Chemistry*, 286(29):25778-25789.

6. Boughammoura S., Ben Mimouna S., Chemek M., Ostertag A., Cohen-Solal M., Messaoudi I. 2020. Disruption of bone zinc metabolism during postnatal development of rats after early life exposure to cadmium. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(4):1218-1239.

7. Cemek M., Büyükokuroğlu M.E., Sertkaya F., Alpdağtaş S ,.Hazini A., Önül A., Göneş S. 2014. Effects of food color additives on antioxidant functions and bioelement contents of liver, kidney and brain tissues in rats. *Journal of Food and Nutrition Research*, 2(10):686-691.

8. Cherasse Y., Urade Y. 2017. Dietary zinc acts as a sleep modulator. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(11):2334-2346.

9. Chu A., Petocz P., Samman S. 2018. Zinc status at baseline is not related to acute changes in serum zinc concentration following bouts of running or cycling. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 50:105-110.

10. Dashti A., Ghanbari-Niaki A., Nasiri K., Dashty H. 2024. Zinc Transporters in the Livers of Healthy Male Wistar Rats: An Investigation of the Effects of Aerobic Exercise and Supplementation with

ZIP8) and antioxidant enzyme genes in liver and muscle tissue of male rats. PhD Theses, Bobolsar: Mazandaran Univercity. [In Persian].

18. Grüngreiff K., Reinhold D., Wedemeyer H. 2016. The role of zinc in liver cirrhosis. *Annals of Hepatology*, 15(1):7-16.

19. Huang L., Kirschke C.P., Gitschier J. 2002. Functional characterization of a novel mammalian zinc transporter, ZnT6. *Journal of Biological Chemistry*, 277(29):26389-26395.

20. Huang L., Kirschke C.P., Zhang Y., Yu Y.Y. 2005. The ZIP7 gene (Slc39a7) encodes a zinc transporter involved in zinc homeostasis of the Golgi apparatus. *Journal of Biological Chemistry*, 280(15):15456-1563.

21. Jackson M.A., Slininger P.J., Bothast R. 1989. Effects of zinc, iron, cobalt, and manganese on Fusarium moniliforme NRRL 13616 growth and fusarin C biosynthesis in submerged cultures. *Applied and Environmental Microbiology*, 55(3):649-655.

22. Kambe T. 2012. Molecular architecture and function of ZnT transporters. *Current topics in membranes*, 69:199-220.

23. Kambe T. 2016. Regulation of zinc transport. *Encyclopedia of Inorganic and Bioinorganic Chemistry; Culotta, V, Scott, RA, Eds*:301-309.

24. Kambe T., Narita H., Yamaguchi-Iwai Y., Hirose J., Amano T., Sugiura N., Sasaki R., Mori K., Iwanaga T., Nagao M. 2002. Cloning and characterization of a novel mammalian zinc transporter, zinc transporter 5, abundantly expressed in pancreatic β cells. *Journal of Biological Chemistry*, 277(21):19049-19055.

25. Kambe T., Suzuki E., Komori T. 2019. Zinc Transporter Proteins: A Review and a New View from Biochemistry. In:

Pumpkin Seed and White Pea. *Zahedan Journal of Research in Medical Sciences*, 26(1):e137982.

11. Foster M., Petocz P., Samman S. 2013. Inflammation markers predict zinc transporter gene expression in women with type 2 diabetes mellitus. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 24(9):1655-1661.

12. Fukunaka A., Kurokawa Y., Teranishi F., Sekler I., Oda K., Ackland M.L., Faundez V., Hiromura M., Masuda S., Nagao M. 2011. Tissue nonspecific alkaline phosphatase is activated via a two-step mechanism by zinc transport complexes in the early secretory pathway. *Journal of Biological Chemistry*, 286(18):16363-16373.

13. Ganapathy S., Volpe S.L. 1999. Zinc, exercise, and thyroid hormone function. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 39(4):369-390.

14. Ghanbari-Niaki A., Ghanbari-Abarghooi S., Rahbarizadeh F., Zare-Kookandeh N., Gholizadeh M., Roudbari F., Zare-Kookandeh A. 2013. Heart ABCA1 and PPAR-α genes expression responses in male rats: effects of high intensity treadmill running training and aqueous extraction of black crataegus-pentaegyna. *Research in Cardiovascular Medicine*, 2(4):153-167.

15. Ghanbari-Niaki A., Rahmati-Ahmadabad S. 2013. Effects of a fixed-intensity of endurance training and pistacia atlantica supplementation on ATP-binding cassette G4 expression. *Chinese Medicine*, 8(1):1-9.

16. Ghio A.J., Soukup J.M., Ghio C., Gordon C.J., Richards J.E., Schladweiler M.C., Snow S.J., Kodavanti U.P. 2021. Iron and zinc homeostases in female rats with physically active and sedentary lifestyles. *Biometals*, 34:97-105.

17. Gholizade A. 2022. The effect of aerobic exercise and supplementation with pumpkin seed and white pea oil on the expression of zinc transporter genes (ZnT8,

Biological Trace Element Research, 162:38-45.

33. Handa S.S. 2008. An overview of extraction techniques for medicinal and aromatic plants. *Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants*, 1(1):21-40.

34. Qin Y., Dittmer P.J., Park J.G., Jansen K.B., Palmer A.E. 2011. Measuring steady-state and dynamic endoplasmic reticulum and Golgi Zn2+ with genetically encoded sensors. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108(18):7351-7356.

35. Rasmussen S.E., Andersen N.L., Dragsted L.O., Larsen J.C. 2006. A safe strategy for addition of vitamins and minerals to foods. *European Journal of Nutrition*, 45:123-135.

36. Sauer A.K., Malijauskaite S., Meleady P., Boeckers T.M ,.McGourty K., Grabrucker A.M. 2022. Zinc is a key regulator of gastrointestinal development, microbiota composition and inflammation with relevance for autism spectrum disorders. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 79(1):46.

37. Soleimantabar Z. 2023. The effect of 8 weeks of running on a treadmill and Yari supplementation with aqueous extract of fennel seeds on the expression of selected mucin genes and the level of glycogen in the digestive tract in male rats. MCs Theses. Babolsar: Mazandaran Univercity. [In Persian].

38. Suzuki T., Ishihara K., Migaki H., Matsuura W., Kohda A., Okumura K., Nagao M., Yamaguchi-Iwai Y., Kambe T. 2005. Zinc transporters, ZnT5 and ZnT7, are required for the activation of alkaline phosphatases, zinc-requiring enzymes that are glycosylphosphatidylinositol-anchored to the cytoplasmic membrane. *Journal of Biological Chemistry*, 280(1):637-643.

39. Taylor K.M., Hiscox S., Nicholson R.I., Hogstrand C., Kille P. 2012. Protein kinase CK2 triggers cytosolic zinc signaling pathways by phosphorylation of zinc Fukada, T., Kambe, T. (eds) Zinc Signaling. Springer, Singapore, pp:23-56.

26. Kusakabe T., Nakajima K., Suzuki K., Nakazato K., Takada H., Satoh T., Oikawa M., Kobayashi K., Koyama H., Arakawa K. 2008. The changes of heavy metal and metallothionein distribution in testis induced by cadmium exposure. *Biometals*, 21:71-81.

27. Lasry I., Golan Y., Berman B., Amram N., Glaser F., Assaraf Y.G., 2014 .In situ dimerization of multiple wild type and mutant zinc transporters in live cells using bimolecular fluorescence complementation. *Journal of Biological Chemistry*, 289(11):7275-7292.

28. Liu M.-J., Bao S., Gálvez-Peralta M., Pyle C.J., Rudawsky A.C., Pavlovicz R.E., Killilea D.W., Li C., Nebert D.W., Wewers M.D. 2013. ZIP8 regulates host defense through zinc-mediated inhibition of NF-κB. *Cell Reports*, 3(2):386-400.

29. Mashreghi S. 2022. The effect of running exercise at two different intensities with and without red safflower extract supplementation on the expression of zinc transporter genes (ZnT5 and ZIP8) in heart and liver tissue and zinc and iron levels in selected tissues in male rats. MCs Theses. Babolsar: Mazandaran Univercity. [In Persian].

30. Myers S.A., Nield A., Chew G.S., Myers M.A. 2013. The zinc transporter, Slc39a7 (Zip7) is implicated in glycaemic control in skeletal muscle cells. *PLoS One*, 8(11):e79316.

31. Ni H., Li C., Feng X., Cen J. 2011. Effects of forced running exercise on cognitive function and its relation to zinc homeostasis-related gene expression in rat hippocampus. *Biological Trace Element Research*, 142:704-712.

32. Noh H., Paik H.Y., Kim J., Chung J. 2014. The changes of zinc transporter ZnT gene expression in response to zinc supplementation in obese women.

channel ZIP7. *Science Signaling*, 5(210):ra11.

40. Wang X., Zhang M., Ma J., Tie Y., Wang S. 2024. Biochemical Markers of Zinc Nutrition. *Biological Trace Element Research*, doi: 10.1007/s12011-024-04091-x.

41. Xiong L., Zhou B., Young J.L., Wintergerst K., Cai L. 2022. Exposure to low-dose cadmium induces testicular ferroptosis. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 234:113373.

42. Zhang X., Guan T., Yang B., Chi Z., Wang Z.Y., Gu H.F. 2018. A novel role for zinc transporter 8 in the facilitation of zinc accumulation and regulation of testosterone synthesis in Leydig cells of human and mouse testicles. *Metabolism*, 88:40-50.