



اثر هم افزایی ورزش هوازی و عصاره سیر و استویا بر بیان ژن e3Sema و وزن بدن در رت های نر

ویستار چاق عنوان مکرر: چاقی، عصاره استویا، فعالیت هوازی و سمافورین

پرستو روشندل^۱، رضا رضائی شیرازی^۲، سید جواد ضیاءالحق^۳، ندا آقایی بهمن بگلو^۴

Doi:

چکیده

e3Sema نقش مهمی در تنظیم رشد و توسعه سلول های چربی دارند و ممکن است در فرآیندهای مرتبط با چاقی و متابولیسم نقش داشته باشند. پژوهش حاضر درصدد بررسی تاثیر القاء چاقی بر بیان ژن e3Sema به همراه مکمل یاری عصاره سیر، استویا و فعالیت هوازی در موش های صحرانی نژاد ویستار است.

مواد و روش ها: در این پژوهش ۳۵ سر رت نر ویستار جهت القاء چاقی به مدت ۱۲ هفته با رژیم غذایی پرچرب مورد آزمایش قرار گرفتند و در نهایت ۳۰ سر رت چاق با استفاده از شاخص لی شناسایی شده و سپس به طور تصادفی به ۵ گروه کنترل، چاق، چاق+سیر، چاق+تمرین هوازی و گروه چاق+سیر+تمرین هوازی تقسیم شدند. تمرینات هوازی شامل ۳۰ دقیقه دویدن در روز، ۸ متر بر دقیقه و ۵ روز در هفته به مدت ۱۲ هفته و عصاره سیر و استویا با غلظت ۲۵۰ میلیگرم بر وزن بدن (کیلوگرم) نیز به آب مصرفی روزانه اضافه شد. بعد از پایان مداخلات بافت هیپوتالاموس برای سنجش فولدچنج نسبی e3Sema به روش real-time PCR به آزمایشگاه مربوطه ارسال شد. از آزمون تحلیل واریانس یکطرفه و آزمون تعقیبی توکی جهت اختلاف بین گروه ها در سطح معنی داری ۵ درصد استفاده شد.

نتایج: در بیان ژن e3Sema، تفاوت معنی داری مشاهده شد ($p=0.011$) و آزمون توکی نشان داد که گروه های چاق+سیر و چاق+استویا بیان ژن کمتری نسبت به گروه چاق+ورزش داشتند ($p=0.009$ و $p=0.024$).

بحث و نتیجه گیری: نتایج نشان داد چاقی بیان ژن e3Sema را تغییر می دهد و مکمل یاری سیر و استویا می توانند این تغییر را تعدیل کنند. همچنین ترکیب آنها با تمرین هوازی اثر متفاوتی داشته و به عنوان رویکردی کاربردی در مدیریت چاقی پیشنهاد می شود.

کلمات کلیدی: سمافورین ۳e، عصاره سیر، عصاره استویا، فعالیت هوازی، چاقی کودکان

۱- دانشجوی دکتری گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد علی آباد کتول، دانشگاه آزاد اسلامی، علی آباد کتول، ایران

۲- استادیار گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد علی آباد کتول، دانشگاه آزاد اسلامی، علی آباد کتول، ایران

۳- استادیار گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد شاهرود، دانشگاه آزاد اسلامی، شاهرود، ایران. (نویسنده مسئول) s.j.ziaolhagh@iau-shahrood.ac.ir

۴- استادیار گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد علی آباد کتول، دانشگاه آزاد اسلامی، علی آباد کتول، ایران



The Synergistic Effect of Aerobic Exercise and Garlic and Stevia Extract on *Sema3e* Gene Expression and Body Weight in Obese Male Wistar Rats

Parastoo Roshandel¹, Reza Rezaei Shirazi², Seyed Javad Ziaolhagh³, Neda Aghaei Bahman Beglou²

Abstract

Background and Aim: The expression of the *Sema3e* gene plays a crucial role in the regulation of adipocyte growth and development and may be involved in obesity- and metabolism-related processes. This study aimed to investigate the effect of obesity induction on *Sema3e* gene expression along with garlic and stevia supplementation and aerobic exercise in male Wistar rats.

Materials and Methods: In this experimental study, 35 male Wistar rats were subjected to a high-fat diet for 12 weeks to induce obesity. Finally, 30 obese rats were identified using the Lee index and randomly divided into five groups: control, obese, obese+garlic, obese+aerobic exercise, and obese+garlic+exercise. Aerobic training consisted of running on a treadmill for 30 minutes per day at 8 m/min, 5 days per week, for 12 weeks. Garlic and stevia extract (250 mg/kg body weight) were added to the daily drinking water. At the end of the interventions, hypothalamic tissue was collected, and relative fold-change of *Sema3e* expression was measured using real-time PCR. One-way ANOVA and Tukey's post-hoc test were used to assess differences between groups at a significance level of 5%.

Results: A significant difference was observed in *Sema3e* gene expression between groups ($p = 0.011$). Tukey's test revealed that the obese+garlic and obese+stevia groups had significantly lower *Sema3e* expression compared to the obese+exercise group ($p = 0.009$ and $p = 0.024$, respectively).

Discussion and Conclusion: The results demonstrated that obesity alters *Sema3e* gene expression, and garlic and stevia supplementation can modulate this alteration. Moreover, their combination with aerobic exercise showed a distinct effect, suggesting a practical approach for obesity management.

Keywords: *Semaphorin 3e*, Garlic extract, Stevia extract, Aerobic exercise, Childhood obesity

¹PhD Student, Department of Physical Education and Sport Sciences, Aliabad Katoul Branch, Islamic Azad University, Aliabad Katoul, Iran

²Assistant Professor, Department of Physical Education and Sport Sciences, Aliabad Katoul Branch, Islamic Azad University, Aliabad Katoul, Iran

³Assistant Professor, Department of Physical Education and Sport Sciences, Shahrood Branch, Islamic Azad University, Shahrood, Iran.

Corresponding Author: s.j.ziaolhagh@iau-shahrood.ac.ir

چاقی مشکلی است که انسان ها را از سنین مختلف تحت تاثیر قرار می دهد. چاقی مشکلات زیادی را به بار می آورد که شاید تبعات آن، نه در کوتاه مدت بلکه در بزرگسالی و به تبع آن کهنسالی خود را کم کم نشان می دهد. مشکلاتی مانند دیابت، فشار خون و کلسترول بالا که از کودکی شروع شده و تا بزرگسالی ادامه می یابند تنها تعدادی از شناخته شده ترین عوارض چاقی است. چاقی با محاسبه شاخص توده بدنی تشخیص داده می شود. به توده بدنی با $BMI > ۹۵\%$ براساس سن و جنس چاقی اطلاق می شود. علت چاقی مولتی فاکتوریال بوده، عوامل ژنتیک، هورمونی و محیطی را در آن دخیل می دانند. در رویکرد به چاقی ابتدا باید موارد سندرمیک و هورمونال را از چاقی های محیطی افتراق داد (۱).

در منابع بسیاری بیان شده است بی نظمی در سیستم عصبی مرکزی می تواند منجر به چاقی شود. هسته هیپوتالاموس مصرف غذا و مصرف انرژی را کنترل می کند. وضعیت تغذیه ای شامل سوء تغذیه، تغذیه بیش از حد و تغذیه پرچرب، وضعیت گلوکز و انسولین مدارهای هیپوتالاموسی و چاقی ناشی از رژیم غذایی را تعدیل میکنند. اخیرا پروتئین های جدیدی با نام سمافورین در سلول های قوس هیپوتالاموس و البته بافت های دیگر در کنترل چاقی شناخته شده اند. اختلال در سیگنال دهی سمافورین^۳ باعث اختلال در متابولیسم انرژی و ترکیب بدن با توجه به اثرگذاری بر این مدارها می شود. در میان سمافورین های گروه ۳، سمافورین^{A۳} و ^{E۳} و همچنین گیرنده های آنها نقش اساسی در سیگنالینگ این مدارها ایفا میکند (۲). سمافورین ها در بیماری های متابولیک از جمله چاقی، التهاب چربی و عوارض دیابتی، از جمله رتینوپاتی دیابتی، نوروپاتی دیابتی، نوروپاتی دیابتی، بهبود زخم دیابتی و پوکی استخوان دیابتی نقش دارند. به علاوه شواهد نشان می دهد سمافورین ها در نارسائی های متابولیک نظیر نقص تنظیم چربی زایی، مدار ملانوکورتین هیپوتالاموس، پاسخ های ایمنی و رگ زایی بسیار اثرگذار هستند. همچنین گیرنده های سمافورین ها شامل پلکسین ها، نوروپیلین ها و سایر مولکول ها، مانند اینتگرین ها، پروتئوگلیکان ها و گیرنده تیروزین کیناز هستند. در میان پنج کلاس سمافورین در مهره داران، زیر خانواده سمافورین کلاس ۳، بیشترین مطالعه سمافورین ها در اختلالات متابولیک از چاقی تا عوارض دیابتی را دارا است (۳). اکثر سمافورین های کلاس ۳، به جز سمافورین^{۳a}، از نوروپیلین ۱ یا نوروپیلین ۲ یا هر دو به عنوان اتصال اصلی آنها استفاده می کنند. سمافورین ها همچنین عملکرد بافت چربی قهوه ای را تنظیم کرده و بسیار در تنظیم اشتها و ترکیب بدن نقش دارند. گزارش شده است که دو عضو سمافورین چربی زایی را تنظیم می کنند. حذف هفت عضو سمافورین کلاس ۳ در گورخرماهی به چاقی منجر شده است (۴).

مطالعات متعددی در مورد تأثیر سیر (در انواع مختلف مکمل یاری) و مشتقات آن بر مدل های مختلف چاقی حیوانی انجام شده است. ترکیبات مشتق شده از سیر با فعال کردن AMPK (AMP-activated protein kinase) مهار استیل CoA کربوکسیلاز ۱- (ACC-1) و تنظیم کارنتین پالمیتویل ترانسفراز (CPT-1) یا فعال سازی ERK، رشد چربی را در شرایط آزمایشگاهی کاهش می دهد. آلیسین همچنین به منظور جلوگیری از چاقی و بیماری های متابولیک مرتبط با افزایش بیان ژن های مخصوص چربی قهوه ای مانند UCP-1 از طریق آبشار سیگنال KLF15 شناسایی شده است (۵). همانطور که عنوان شد فعالیت های بدنی می تواند تاثیر زیادی بر بیان ژن ها و تغییرات در هورمون های تولید شده توسط بدن داشته باشد به طوری که فعالیت بدنی طولانی مدت و

پیش آماده سازی با فعالیت ورزشی موجب سازگاری های بسیاری در سیستم عصبی مرکزی می شود. و این سازگاری از منظر فیزیولوژی می تواند سبب افزایش ضخامت و یکپارچگی تیغه پایه و سد خونی - مغزی (۶)، کاهش مارکرهای استرس اکسایشی تولید شده از میتوکندری نوروں ها و لکوسیت های فعال شده و افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسایشی، افزایش بیان اینتگرین ها که در اتصال سلول های اندوتلیال به آستروسیت ها نقش بسزائی دارند (۷)، کاهش آنزیم ماتریکس متالوپروتئیناز-۹ که توسط سلول های اندوتلیال، میکروگلیا و آستروسیت ها تولید شده و نقش اصلی آن تجزیه پروتئین های ماتریکس برون سلولی و پروتئین های تیغه پایه می باشد (۸) و بسیاری سازگاری های متابولیکی و فیزیولوژیک دیگر می شوند (۹).

همچنین تمرینات ورزشی یک ابزار موثر برای پیشگیری و بهبود بیماری های متابولیک است. با توجه به این که آدیپوکین ها در چاقی تنظیم نمی شوند و تمرینات ورزشی تأثیرات مثبتی بر اختلال در سیستم چربی سلولی و هموستاز متابولیک سیستمیک دارد، اثرات مفید ورزش تا حدی از طریق تغییرات در برخی از چربی ها ایجاد می شود. در واقع، به خوبی مشخص شده است که تمرینات ورزشی باعث تحریک حساسیت به انسولین شده و باعث تغییر در متابولیسم گلوکز / لیپید در عضلات اسکلتی، کبد و چربی و به نفع اکسیداسیون لیپید ها می شود (۵، ۱). اگرچه ۵۰٪ از اثرات مفید فعالیت بدنی همچنان غیرقابل توضیح هستند (۱۰)، اما ورزش برای فعال کردن مسیر پروتئین کیناز فعال شده با AMP (AMPK) شناخته شده است و منجر به افزایش تراکم میتوکندری و اکسیداسیون لیپید می شود (۱۱). بیان شده است فعالیت بدنی با اثرگذاری بر این مسیر می تواند بر بیان ژن ها موثر در سوخت و ساز چربی از جمله سمافورین های ۳ موثر باشند. اثرات مثبت فعالیت های هوازی ممکن است تا حدی با افزایش واکنش پذیری نوروں های هیپوتالاموس به سیگنال های غدد درون ریز که مصرف غذا و انرژی را کنترل می کنند، ایجاد شود.

ازطرفی، شیرین کننده ها به ابزاری برای مبارزه با چاقی تبدیل شده اند، زیرا شیرینی دلپذیری دارند و تقریباً بدون کالری هستند. شواهد نشان می دهد که شیرین کننده های مصنوعی بدون کالری سیستم پاداش را مانند شیرین کننده های طبیعی فعال نمی کنند. کمبود سهم کالری باعث از بین رفتن فعال شدن هسته های هیپوتالاموس می شود. باتوجه به اینکه استویا محبوب ترین شیرین کننده طبیعی موجود در بازار است، اثرات فیزیولوژیک مختلفی فراتر از نقش متابولیکی گلوکز و انسولین دارد مثل نقش ضد التهابی استویا. مطالعات متعددی به دنبال روشن کردن مکانیسم دقیق چنین اقدامات ضد التهابی است. در یک مطالعه روی موش های مبتلا به ورم پستان، حیواناتی که با استویوزید درمان شدند، کاهش غلظت نشانگرهای التهابی $TNF-\alpha$ ، IL-1 و IL-6 را از طریق کاهش مسیرهای TLR2، NF-kB و MAPK نشان دادند (۱۲). اثر مشاهده شده بر روی NF-kB در جوندگان، از مطالعات آزمایشگاهی پشتیبانی می کند، که نشان می دهد سلول های القاء شده با لیپوپلی ساکارید که با استویوزید تیمار شده بودند، کاهش سطح سیتوکین های التهابی را نشان دادند، احتمالاً از طریق مهار NF-kB و پروتئین های محرک بالادست آن (۱۳).

مواد و روش ها

تحقیق حاضر از نوع تحقیقات بنیادی بوده که به روش تجربی با طرح پس آزمون با گروه کنترل تحت نظر کمیته اخلاق با کد IR.IAU.SHAHROOD.REC.1403.002 انجام شد. تعداد ۳۵ سر رت ویستار بالغ از دانشگاه علوم پزشکی شاهرود تهیه

شد. آزمودنی‌ها به اتاق نگهداری حیوانات آزمایشگاه دانشگاه آزاد واحد شاهرود با دمای محیطی ۲۲ درجه، رطوبت ۵۰ درصد و نور کنترل شده (چرخه ۱۲ ساعته روشنایی تاریکی) منتقل شده و دوره سازش پذیری یک هفته‌ای را طی کردند تا عوامل محیطی ناخواسته مانند جا به جایی یا حتی دما، نور و رطوبت بر روی آزمودنی‌ها اثر نامطلوب نداشته باشد. بعد از پایان سه هفتگی (پایان شیرخوارگی)، ۵۰ سر موش صحرایی نر ویستار با میانگین وزنی 64 ± 5 گرم و سن سه هفته، در چرخه روشنایی و تاریکی ۱۶: ۸ (۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی) در قفس پلی کربنات نگهداری شدند. گروه کنترل از جیره موش معمولی استفاده کردند، اما گروه‌های القاء چاقی، به مدت ۱۲ هفته رژیم غذایی پرچرب ((۱۴) دریافت کردند. رژیم غذایی فوق دارای ۴۰ درصد چربی، ۴۰ درصد پروتئین و ۲۰ درصد کربوهیدرات بود. رت‌های چاق پس از ۱۲ هفته با استفاده از شاخص لی (۱۵) شناسایی شده و سپس از بین رت‌ها ۳۰ رت انتخاب شده و به طور تصادفی و مساوی به شش گروه (۵ سر در هر گروه) شامل: گروه کنترل چاق، گروه چاق به همراه مکمل سیر، گروه چاق به همراه مکمل استویا، گروه چاق به همراه تمرین، گروه چاق به همراه مکمل سیر و تمرین و نهایتاً گروه چاق به همراه مکمل استویا و تمرین تقسیم شدند.

تمرین هوازی در موش‌های تحت رژیم پرچرب شامل دویدن روی تردمیل جوندگان، به مدت ۳۰ دقیقه در روز، با سرعت ۸ متر در دقیقه و ۵ جلسه در هفته بود. به منظور پیشگیری از آسیب و با توجه به توان حرکتی موش‌های چاق، شدت تمرین در حد متوسط انتخاب شد. جدول ۱ پروتکل تمرین هوازی ارائه شده است.

جدول ۱. پروتکل تمرین هوازی ویژه موش‌های صحرایی چاق

تعداد جلسات در هفته	شیب (%)	زمان (دقیقه)	سرعت (متر بر دقیقه)
۵	۰	۵	۸
		۵	۱۱
		۲۰	۱۵
		۱۰	۸

ابتدا سیر تازه تهیه و در شرکت دارو اسانس شهرستان گرگان به عصاره سیر فراوری شد. سیر تمیز، خرد شده و به مدت ۴۸ ساعت در ۹۶ درصد اتانول تمیز و سپس به مدت ۵ دقیقه در دمای ۲۰۰ گرم سانتیفریوژ شد. پس از آن، مایع روپی قبل از تبخیر در دمای ۴۰ درجه سانتیگراد فیلتر شده و عصاره در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد منجمد نگه داشته شد. هنگامی که غلظت نهایی مورد نیاز بود، عصاره‌های یخ زده با نرمال سالین مجدداً آماده شدند. عصاره سیر، به مقدار ۲۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم، در آب مصرفی روزانه اضافه

شد (۱۶). عصاره استویا از شرکت دارو اسانس گرگان تهیه و مورد استفاده قرار گرفت. در پروسه تهیه این عصاره ابتدا ۵۰ گرم پودر خشک استویا با ۱۰۰ میلی لیتر الکل ۷۰٪ مخلوط شده و پس از آن، عصاره برای بقایای درشت با یک پارچه موسلین فیلتر و در کاغذ صافی واتمن شماره ۱ فیلتر شد و قبل از استفاده در دمای ۴ درجه سانتی گراد ذخیره و عصاره های خام با مخلوط کردن مقدار کافی عصاره خشک شده با حلال بی اثر دی متیل سولفوکسید برای به دست آوردن غلظت نهایی تهیه شد. عصاره استویا، با غلظت ۲۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم، نیز به آب مصرفی روزانه اضافه شد (۱۷).

بیست و چهار ساعت پس از آخرین جلسه تمرین و مصرف عصاره، موش ها پس از ۱۲ ساعت ناشتایی و دسترسی آزاد به آب، بین ساعات ۹ تا ۱۱ صبح تحت بیهوشی درون صفاقی با کتامین و زایلازین قرار گرفتند. پس از نمونه گیری خون از قلب، مجسمه باز شده و مغز بلافاصله در میکروتیوب حاوی RNashield قرار گرفت و در نیتروژن مایع منجمد شد تا برای بررسی بیان ژن به آزمایشگاه ارسال گردد. سنجش بیان ژن های هدف شامل *NPY* و گیرنده های آن به روش Real-time PCR انجام شد. مقادیر بیان ژن با روش $\Delta\Delta C_t$ محاسبه گردید. واکنش ها با استفاده از RealQ Plus 2x Master Mix Green در دستگاه Applied Biosystem Analyzer و طبق دستورالعمل شرکت سازنده اجرا شدند. توالی پرایمرها از پایگاه NCBI استخراج و به کمک نرم افزارهای Genrunner و Oligo طراحی و با BLAST تأیید شدند. در این مطالعه ژن HPRT به عنوان ژن مرجع انتخاب شد. توالی پرایمرها در جدول ۲ آورده شده است.

جدول ۲. الگو و توالی پرایمر ژن Sema 3e قوس هیپوتالاموس

نام ژن	توالی	دمای آنلینگ (C^0)
Sema 3e	F: GAATGTCCTCTTGCTCTGCG R: CGTACTTCTCTTCAGGGGCA	۵۷٫۶
HPRT (Housekeeping)	F: CATTATGCTGAGGATTTGGAAAGG R: CTTGAGCACACAGAGGGCTACA	۶۰

جهت تجزیه و تحلیل داده های به دست آمده در گروه ها بعد از تعیین نرمال بودن جامعه توسط آزمون کلموگروف-اسمیرنوف (و همچنین آزمون برابری واریانسها (لوین) ۲ از آزمون تحلیل واریانس یکطرفه ۳ و آزمون تعقیبی LSD جهت تعیین اختلاف بین گروه

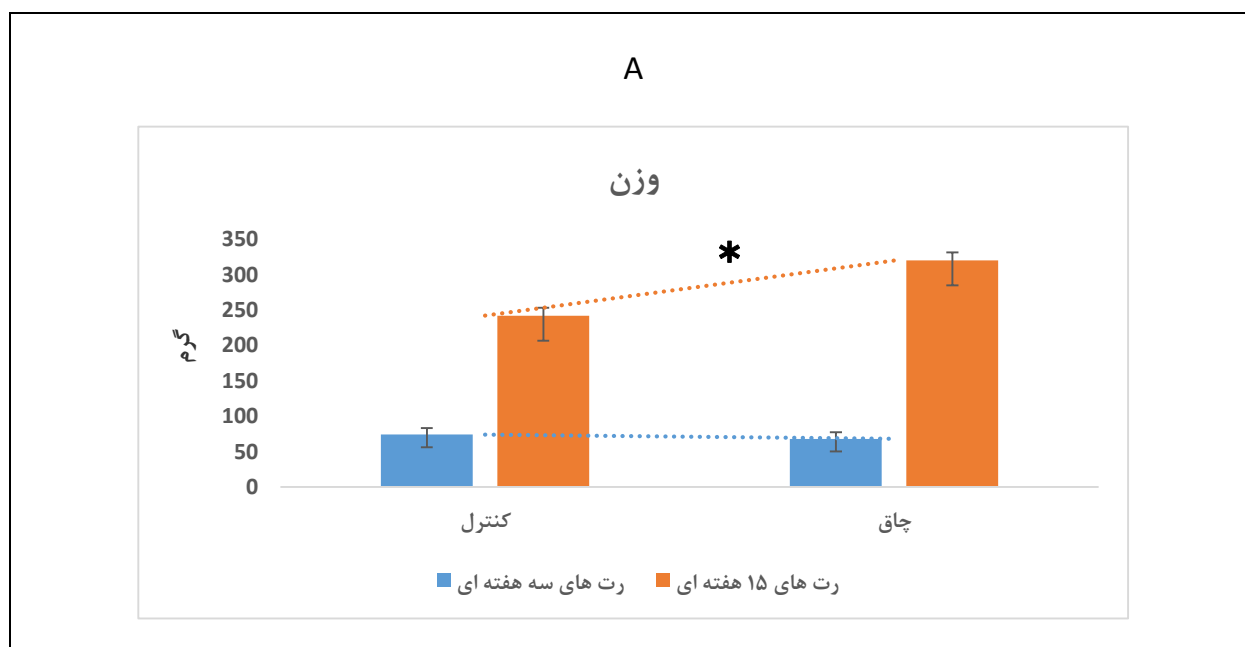
۱. Kolmogorov-Smirnov

ها در متغیر وزن و مسافت دویدن بر روی تردمیل جوندگان استفاده شد. بعلاوه سطح معنی داری در این پژوهش ۵ درصد ($p < 0.05$) در نظر گرفته شد.

نتایج

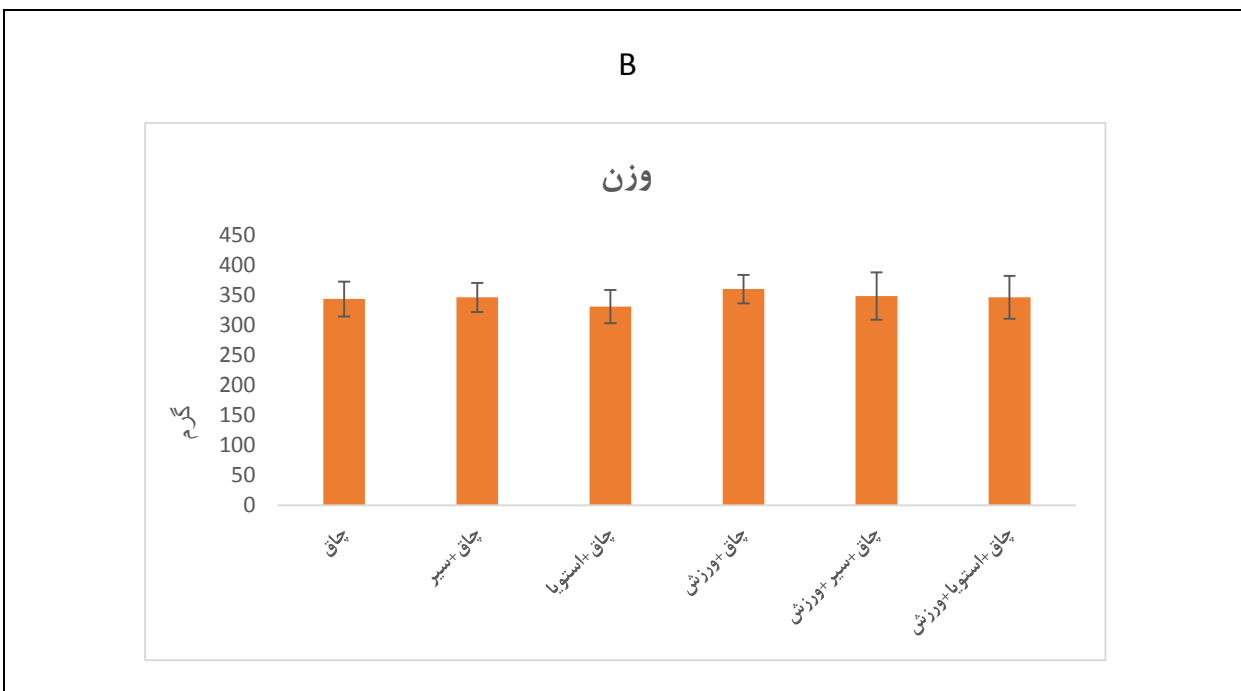
نتایج آزمون ANOVA نشان داد میان گروه‌ها از نظر وزن بدن اختلاف معنی داری وجود دارد ($p=0.003$). آزمون تعقیبی توکی مشخص کرد که تغذیه پرچرب طی ۱۲ هفته باعث افزایش معنی دار وزن بدن موش‌های صحرایی نسبت به گروه کنترل شد و این افزایش حتی پس از مداخلات تمرینی و مصرف عصاره‌ها نیز در بیشتر گروه‌ها نسبت به کنترل باقی ماند. تنها در گروه دریافت کننده عصاره استویا، اختلاف معنی داری با گروه کنترل مشاهده نشد ($p=0.080$). همچنین میان گروه‌های مداخله نسبت به گروه چاق اختلاف معنی داری وجود نداشت (نمودار ۱).

نتایج آزمون ANOVA نشان داد که بیان ژن **Sema3e** بین گروه‌ها تفاوت معنی داری داشت ($p=0.011$). یافته‌های Real-time PCR نشان داد رژیم پرچرب ۱۲ هفته‌ای موجب افزایش غیرمعنی دار بیان این ژن نسبت به گروه کنترل شد ($p=0.458$). در حالی که مداخلات هشت هفته‌ای نشان دادند بیان ژن در گروه‌های **چاق+سیر** ($p=0.009$) و **چاق+استویا** ($p=0.024$) به طور معنی داری کمتر از گروه **چاق+ورزش** بود (نمودار ۲).

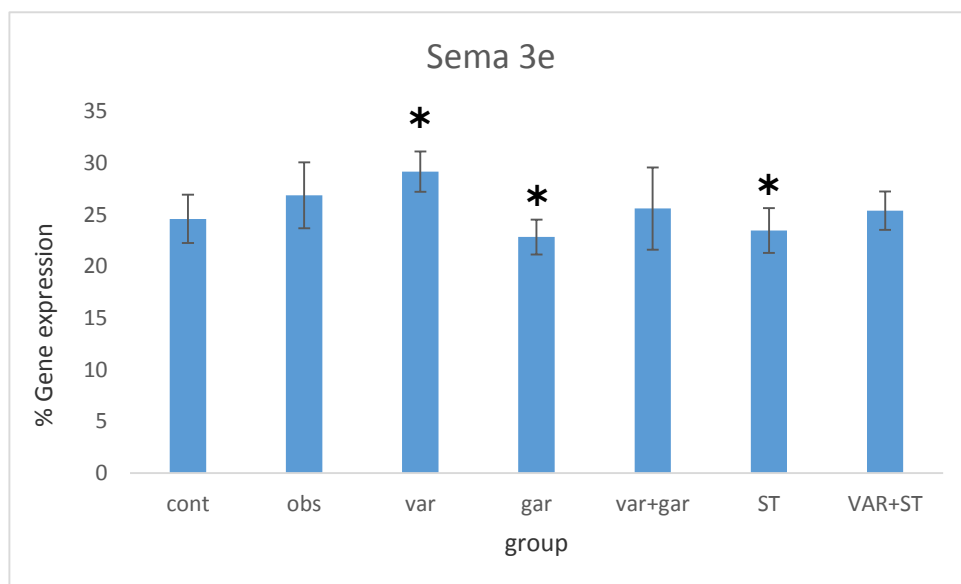


‡ Leven's Test

‡ One-Way ANOVA



نمودار ۱. تغییرات وزن قبل و بعد از رژیم پرچرب (A) و بعد از ۸ هفته مداخلات عصاره ای و تمرینی (B). $p < 0.05$ *



بحث

چاقی یکی از بیماری های شایع در سراسر جهان است که به دلیل عدم تعادل بین مصرف غذا و مصرف انرژی ایجاد می شود. بیش از ۱۰۰ سال تحقیق نشان می دهد که هیپوتالاموس منطقه حیاتی مغز است که هموستاز انرژی را تنظیم می کند و شواهد نشان می دهد که جمعیت های غیر عصبی مانند آستروسیت ها و میکروگلیا در تنظیم هموستاز انرژی مشارکت دارند. در میان پنج کلاس سمافورین در مهره داران، زیر خانواده سمافورین کلاس ۳، بیشترین مطالعه سمافورین ها در اختلالات متابولیک از چاقی تا عوارض دیابتی را داراست. اکثر سمافورین های کلاس ۳، به جز SEMA 3E، از نوروپیلین ۱ (Nrp1) یا نوروپیلین ۲ (Nrp2) یا هر دو به عنوان اتصال اصلی آنها استفاده می کنند (۱۸). سمافورینها همچنین عملکرد بافت چربی قهوه ای را تنظیم کرده و بسیار در تنظیم اشتها و ترکیب بدن نقش دارند. گزارش شده است که دو عضو سمافورین چربی زایی را تنظیم می کنند. برخی پژوهشگران نشان داده اند سمافورین های دیگر خانواده ۳ در چاقی القاء شده با رژیم غذایی در موش های صحرایی افزایش می یابند. برای مثال لو و همکاران (۲۰۲۰)، نقش سیگنال دهی سمافورین های کلاس ۳ را در توسعه مدارهای ARH-PVH بررسی کرد. آنها ۴۰ نوع نادر را در SEMA3A-3G و گیرنده های آنها (Plexin1-4 و Nrp1 و ۲-) در افراد چاق شدید پیدا کردند. همچنین SEMA3A توسط سلول های T فعال بیان می شود و از تکثیر سلول های T و ترشح سیتوکین جلوگیری می کند مسیرهای پایین دستی که توسط آن SEMA3A بر سلول های ایمنی اعمال می کند هنوز نامشخص است، اما احتمالاً شامل یک مجموعه گیرنده است که از یکی از دو نوروپیلین (NPs) و یکی از چهار پروتئین پلکسین A تشکیل شده است (۲). سلول های CD4+NP-1+ T زیرمجموعه ای از سلول های T هستند که در کنترل پاسخ های ایمنی نقش دارند. آنها مقادیر بیشتری از IL-10 را بیان می کنند و فعالیت های سرکوب کننده ای را روی سلول های CD4+ T اتولوگ نشان می دهند. SEMA3A مستقیماً روی سلول های CD4+NP-1+ T عمل می کند، زیرا می تواند تولید IL-10 را افزایش دهد و بر عملکرد تنظیمی روی رشد سلول های CD4+ تأثیر بگذارد. همچنین بیان شده است سمافورین 3E علاوه بر اثرگذاری بر متابولیسم انرژی در فرایند کموتاکسی و التهاب سیستم ایمنی همراه با گیرنده اختصاصی خود درگیر است (۱۹). درین راستا کودا و همکاران (۲۰۲۰) بیان کردند حتی بیان ژن این سمافورین در موش های چاق افزایش یافته و موجب مقاومت به انسولین نیز می شود (۲۰). همچنین سزگین و همکاران (۲۰۲۲) بیان کردند مقادیر سمافورین 3E در افراد چاق درجه ۱ افزایش یافته است که بیانگر افزایش التهاب در این بیماران است (۲۱).

نتایج فوق با نتایج پژوهش حاضر همسو بوده و مقادیر سمافورین 3E در موش های صحرایی چاق نسبت به گروه کنترل افزایش غیرمعنی دار نشان داد. بعلاوه در رابطه با نوروپیلین ۱ که گیرنده سمافورین 3E نیز میباشد از الگوی مشابهی تبعیت کرده است و بنظر میرسد گیرنده های این سمافورین نیز در گروه چاق افزایش غیرمعنی دار داشته است. اگرچه مداخلات تمرینی و عصاره ای موجب کاهش این مقادیر شده بود اما همچنان نسبت به گروه کنترل سالم بالاتر بود. باتوجه به پژوهش سزگین و همکاران و اثر بخش نبودن فعالیت و تغذیه بر مقادیر این سمافورین و گیرنده ی آن، نتایج پژوهش حاضر نیز تغییرات ناچیزی در این مداخلات گزارش

کرده است. بنظر میرسد عوامل دیگری بر تغییرات کموتاکسیک و سیگنالینگ سمافورین 3E در القاء چاقی ناشی از رژیم غذایی در دوران کودکی اثرگذار باشد و این تغییرات مستقل از نوع فعالیت بدنی و عصاره سیر باشد. بنظر میرسد شیرین کننده های مصنوعی و طبیعی نیز گیرنده های طعم را به طور متفاوتی فعال می کنند. عصاره استویا تولید انسولین را از طریق مهار کانالهای پتاسیمی وابسته به ATP و کاهش ترشح گلوکاگون توسط سلولهای آلفا لوزالمعده به جای تحریک هورمونهای اینکرتین تحریک می کند. استویا همچنین نقش تنظیم کننده ای در سلول های بتا پانکراس دارد، جایی که کانال های کلسیم را باز می کند که باعث آزاد شدن انسولین در پاسخ به گلوکز می شود (۲۲). همچنین مشخص شده استویا می تواند با کاهش مصرف کالری از چاقی جلوگیری کند. با این حال، یک مطالعه نشان داد که تجویز دوزهای استویا تقریباً ۱۰۰ برابر بیشتر از میزان استاندارد مجاز روزانه (ADI) باعث کاهش مصرف غذا و وزن بدن در موش های صحرایی ماده بالغ پس از ۱۲ هفته مصرف منظم می شود. تحقیقات جدید نشان می دهد استویا ممکن است تأثیرات فیزیولوژیکی بر متابولیسم گلوکز و تحریک اشتها داشته باشند (۲۳). علیرغم حداقل جذب سیستمیک استویا، مطالعات در مورد مزایای بالقوه آن در برابر التهاب، سرطان زایی، کنترل گلوکز آترواسکلروز و فشار خون بالا امیدوار کننده بوده است. بسیاری از اثرات ضد التهابی استویا، به ویژه کسانی که به دنبال ترویج رژیم های غذایی با مواد طبیعی تر هستند، تبلیغ کرده اند. همچنین ممکن است توسط استویوزید مهار شود. این یافته ها برخلاف مطالعه ای است که روی اسب ها انجام شده است، که در آن حیواناتی که استویا داده اند سطوح-TNF آلفا، IL-6، و-IFN گاما در مقایسه با اسب هایی که شربت ذرت داده اند افزایش یافته است. سهار و همکاران نشان داد که استویوزید باعث افزایش فعالیت فاگوسیتیک، فعالیت سلول های T و B میشود. بنابراین، می توانیم استدلال کنیم که استویوزید به جای اثرات ضد التهابی یا پیش التهابی، دارای اثرات تعدیل کننده ایمنی است. از نظر بالینی، مزایای ضد التهابی ممکن است به شکل کاهش خطر بیماری قلبی عروقی ظاهر شود، با توجه به مطالعات انجام شده بر روی موش ها که نشان دهنده کاهش آترواسکلروز با پلاک های پایدارتر در موش های دریافت کننده استویوزید است. اعتقاد بر این بود که این مزیت از طریق افزایش آدیپونکتین در گردش حاصل می شود. اگر این موضوع در انسان ثابت شود، با توجه به افزایش قابل توجه خطر بیماری قلبی عروقی در بیماران دیابتی، می تواند نکته مهمی در تحقیقات آینده باشد (۲۴).

همچنین بیان شده است سمافورین 3E علاوه بر اثرگذاری بر متابولیسم انرژی (Lu, 2020)، در فرایند کموتاکسی و التهاب سیستم ایمنی همراه با گیرنده اختصاصی خود درگیر است. درین راستا شیمیزو و همکاران بیان کردند حتی بیان ژن این سمافورین در موش های چاق افزایش یافته و موجب مقاومت به انسولین نیز می شود (Shimizu, 2013). همچنین سزگین و همکاران (۲۰۲۲) بیان کردند مقادیر سمافورین 3E در افراد چاق درجه ۱ افزایش یافته است که بیانگر افزایش التهاب در این بیماران است (Sezgin, 2022). نتایج فوق با نتایج پژوهش حاضر همسو بوده و مقادیر سمافورین 3E در موش های صحرایی چاق نسبت به گروه کنترل افزایش غیرمعنی دار نشان داد. بعلاوه در رابطه با نوروپلین ۱ که گیرنده سمافورین 3E نیز میباشد از الگوی مشابهی تبعیت کرده است و بنظر میرسد گیرنده های این سمافورین نیز در گروه چاق افزایش غیرمعنی دار داشته است. اگرچه مداخلات تمرینی و عصاره ای موجب کاهش این مقادیر شده بود اما همچنان نسبت به گروه کنترل سالم بالاتر بود. باتوجه به پژوهش سزگین و همکاران و اثر بخش نبودن فعالیت و تغذیه بر مقادیر این سمافورین و گیرنده ی آن، نتایج پژوهش حاضر نیز تغییرات ناچیزی در این مداخلات

گزارش کرده است. بنظر میرسد عوامل دیگری بر تغییرات کموتاکسیک و سیگنالینگ سماغورین 3E در القاء چاقی ناشی از رژیم غذایی در دوران کودکی اثرگذار باشد و این تغییرات مستقل از نوع فعالیت بدنی و عصاره سیر باشد.

نتیجه گیری

نتایج این پژوهش نشان داد که چاقی ناشی از رژیم پرچرب با تغییر در بیان ژن Sema3e در هیپوتالاموس همراه است و مداخلات تغذیه‌ای شامل عصاره سیر و استویا می‌توانند این تغییر را تعدیل کنند. همچنین، ترکیب این مداخلات با تمرین هوازی اثری متمایز بر بیان ژن و کنترل وزن ایجاد نمود که نشان‌دهنده ظرفیت بالقوه رویکردهای چندبعدی (تغذیه‌ای - ورزشی) در مدیریت و پیشگیری از عوارض مرتبط با چاقی است. این یافته‌ها می‌تواند به‌عنوان مبنایی برای مطالعات انسانی و طراحی راهکارهای بالینی در آینده مورد استفاده قرار گیرد.

تقدیر و تشکر

بدین‌وسیله نویسندگان مراتب قدردانی و سپاس خود را از معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحدهای شاهرود و علی‌آباد کتول، اساتید راهنما و مشاور، همکاران آزمایشگاه فیزیولوژی ورزشی، و تمامی افرادی که در اجرای این پژوهش همکاری داشتند، اعلام می‌دارند.

منابع

1. Alex S, Boss A, Heerschap A, Kersten S. Exercise training improves liver steatosis in mice. *Nutrition & metabolism*. 2015;12(1):29.
2. Lu Q, Zhu L. The role of semaphorins in metabolic disorders. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020;21.۵۶۴۱:(۱۶)
3. Nam JS, Ahn CW, Park HJ, Kim YS. Semaphorin 3 C is a novel adipokine representing exercise-induced improvements of metabolism in metabolically healthy obese young males. *Scientific reports*. 2020;10(1):10005.
4. Shimizu I, Yoshida Y, Moriya J, Nojima A, Uemura A, Kobayashi Y, Minamino T. Semaphorin3E-induced inflammation contributes to insulin resistance in dietary obesity. *Cell metabolism*. 2013;18(4):491-504.
5. Bordenave S, Metz L, Flavier S, Lambert K, Ghanassia E, Dupuy A-M, et al. Training-induced improvement in lipid oxidation in type 2 diabetes mellitus is related to alterations in muscle mitochondrial activity. Effect of endurance training in type 2 diabetes. *Diabetes & metabolism*. 2008;34(2):162-8.

۱۶. Horuzsko D. Allicin reverses diabetes-induced dysfunction of human coronary artery endothelial cells. 2019.
۱۷. Shakiba E, Sheikholeslami-Vatani D, Rostamzadeh N, Karim H. The type of training program affects appetite-regulating hormones and body weight in overweight sedentary men. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism*. 2019;44(3):282-7.
۱۸. Nam JS, Ahn CW, Park HJ, Kim YS. Semaphorin 3 C is a novel adipokine representing exercise-induced improvements of metabolism in metabolically healthy obese young males. *Scientific reports*. 2020;10.۱۰-۱:(۱)
۱۹. Mirzaei-Aghsaghali A. Importance of medical herbs in animal feeding: A review. *Ann Biol Res*. 2012;3(9):3-933.
۲۰. Neuffer PD, Bamman MM, Muoio DM, Bouchard C, Cooper DM, Goodpaster BH, et al. Understanding the cellular and molecular mechanisms of physical activity-induced health benefits. *Cell metabolism*. 2015;22(1):4-11.
۲۱. Egan B, Zierath JR. Exercise metabolism and the molecular regulation of skeletal muscle adaptation. *Cell metabolism*. 2013;17(2):162-84.
۲۲. Peteliuk V, Rybchuk L, Bayliak M, Storey KB, Lushchak O. Natural sweetener Stevia rebaudiana: Functionalities, health benefits and potential risks. *EXCLI journal*. 2021;20:1412.
۲۳. Abdallah SH, Mostafa NM, Mohamed MAEH, Nada AS, Singab ANB. UPLC-ESI-MS/MS profiling and hepatoprotective activities of Stevia leaves extract, butanol fraction and stevioside against radiation-induced toxicity in rats. *Natural Product Research*. 2021:1-7.
۲۴. Giles ED, Jackman MR, MacLean PS. Modeling diet-induced obesity with obesity-prone rats: implications for studies in females. *Frontiers in Nutrition*. 2016;3:50.
۲۵. Soares TS, Andreolla AP, Miranda CA, Klöppel E, Rodrigues LS, Moraes-Souza RQ, et al. Effect of the induction of transgenerational obesity on maternal-fetal parameters. *Systems biology in reproductive medicine*. 2018;64(1):51-9.
۲۶. Eidi A, Eidi M, Oryan S, Esmaeili A. Effect of garlic (*Allium sativum*) extract on levels of urea and uric acid in normal and streptozotocin-diabetic rats. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*. 2004;3(2):52.-
۲۷. Ajagannanavar SL, Shamarao S, Battur H, Tikare S, Al-Kheraif AA, Al Sayed MSAE. Effect of aqueous and alcoholic Stevia (*Stevia rebaudiana*) extracts against *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus acidophilus* in comparison to chlorhexidine: An in vitro study. *Journal of International Society of Preventive & Community Dentistry*. 2014;4(Suppl 2):S116.

۱۸. Inoue DS, Bin Maideen MF, Jiménez-Maldonado A, Lira FS. Role of Neuronal Guidance Cues in the Pathophysiology of Obesity: A Peripheral and Central Overview. *Current Pharmaceutical Design*. 2021;27(21):2512-21.
۱۹. Shapoori S, Mosayebi G, Ebrahimi Monfared M, Ghazavi A, Khansarinejad B, Farahani I, Ganji A. Gene expression of semaphorin-3A, semaphorin-7A, neuropilin-1, plexin-C1, and β 1 integrin in treated-multiple sclerosis patients. *Neurological Research*. 2020;42(9):783-8.
۲۰. Koda T, Namba A, Kinoshita M, Nakatsuji Y, Sugimoto T, Sakakibara K, et al. Sema4A is implicated in the acceleration of Th17 cell-mediated neuroinflammation in the effector phase. *Journal of Neuroinflammation*. 2020;17(1):1-9.
۲۱. Sezgin G, Kar F, Uslu S. The effect of nutrition and exercise training on irisin and semaphorin-3E levels in obese patients. *Archives of physiology and biochemistry*. 2022;128(2):558-67.
۲۲. He J, Zhu N-L, Kong J, Peng P, Li L-F, Wei X-L, et al. A newly discovered phenylethanoid glycoside from *Stevia rebaudiana* Bertoni affects insulin secretion in rat INS-1 islet β cells. *Molecules*. 2019;24(22):4178.
۲۳. Salehi B, López MD, Martínez-López S, Victoriano M, Sharifi-Rad J, Martorell M, et al. *Stevia rebaudiana* Bertoni bioactive effects: From in vivo to clinical trials towards future therapeutic approaches. *Phytotherapy Research*. 2019;33(11):2904-17.
۲۴. Lemus-Mondaca R, Vega-Gálvez A, Rojas P, Stucken K, Delporte C, Valenzuela-Barra G, et al. Antioxidant, antimicrobial and anti-inflammatory potential of *Stevia rebaudiana* leaves: effect of different drying methods. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*. 2018;11:37-46.