تاثیر القاء چاقی بر بیان ژن های سمافورین 3a، 3e و گیرنده های پلکسین a1، a2 و نوروپلین ۱ به همراه مکمل یاری عصاره سیر و فعالیت هوازی در موش های صحرائی نژاد ویستار

عنوان مکرر: چاقی، عصاره سیر، فعالیت هوازی و سمافورین های قوس هیپوتالاموس

پرستو روشندل [۱]، رضا رضائی شیرازی [۲]، سید جواد ضیاءالحق [*۳]، ندا آقائی [۲]

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:** استادیار گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد شاهرود، دانشگاه آزاد اسلامی، شاهرود، ایران. تلفن: ۰۹۲۱۵۱۲۱۲۴۲

چکیده

پژوهش حاضر درصدد بررسی تاثیر القاء چاقی بر بیان ژن های سمافورین ۳a، 3e و گیرنده های پلکسین a1، a2 و نوروپلین ۱ به همراه مکمل یاری عصاره سیر و فعالیت هوازی در موش های صحرائی نژاد ویستار است.

روش شناسی: در این پژوهش ۳۵ سر رت نر ویستار جهت القاء چاقی به مدت ۱۲ هفته با رژیم غذایی پرچرب مورد آزمایش قرار گرفتند و درنهایت 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 شامل۳۰ دقیقه دویدن در روز، ۸ متر بر دقیقه و ۵ روز در هفته به مدت ۱۲ هفته و عصاره سیر با غلظت ۲۵۰ میلگرم بر وزن بدن (کیلوگرم) نیز به آب مصرفی روزانه اضافه شد.

نتایج: نتایج نشان داد در مقایسه با گروه کنترل، ۱۲ هفته تغذیه پرچرب، وزن بدن موش های صحرائی را افزایش داد (p=۰/۰۱۳) و حتی در طول مداخلات عصاره ای ۸ هفته ای و تمرینات، همچنان نسبت به گروه کنترل بالاتر باقی ماند. نتایج بیان ژن در Real-time PCR، نشان داد مقادیر بیان ژن SEMA3A، در نتیجه ۱۲ هفته رژیم پرچرب نسبت به گروه کنترل که رژیم استاندارد دریافت کرده بودند، کاهش غیرمعنی دار داشت (p=۰/۴۱۷). همچنین مقادیر بیان ژن SEMA3E، نسبت به گروه کنترل سالم، کاهش داشت، اما این میزان از لحاظ آماری معنی دار نبود و تفاوتی میان گروه ها وجود نداشت (p=۰/۶۵۲).

بحث و نتیجه گیری: القاء چاقی ناشی از رژیم غذائی موجب کاهش ناچیز سمافورین کلاس ۳ و گیرنده های آنان شده و همچنین اثرات فعالیت بدنی و عصاره سیر و ترکیب آن باهم نیز می تواند اثرات خفیف بر این مقادیر داشته باشد.

کلمات کلیدی: سمافورین گروه ۳، پلکسین، نوروپلین، عصاره سیر، فعالیت هوازی

The effect of obesity induction on the expression of semaphorin ۳a, ۳e and plexina۱, a۲ and neuropilin ۱ receptors along with supplementation of garlic extract and aerobic activity in Wistar rats

Running title: obesity, garlic extract, aerobic activity and hypothalamic arc semaphorins

Parastoo Roshandel [1], Reza Rezaei-Shirazi [2], Sayyed-Javad Ziaolhagh [3*], Neda Aghaei [2]

1. Ph.D. student of the Department of Physical Education and Sports Sciences, Aliabad Katool Branch, Islamic Azad University, Aliabad Katool, Iran
2. Assistant Professor, Department of Physical Education and Sports Sciences, Aliabad Katool Branch, Islamic Azad University, Aliabad Katool, Iran
3. Department of Sport Physiology, Shahrood Branch, Islamic Azad University, Shahrood, Iran

*Corresponding author: Assistant Professor, Department of Physical Education and Sports Sciences, Shahrood Branch, Islamic Azad University, Shahrood, Iran. Phone: 09215121242

Abstract

The present study aims to investigate the effect of obesity induction on the expression of semaphorin 3a, 3e and plexina1, a2 and neuropilin 1 receptors along with garlic extract supplementation and aerobic activity in Wistar rats.

Methodology: In this research, 35 male Wistar rats were tested with a high-fat diet for 12 weeks to induce obesity, and finally, 30 obese rats were identified using the Lee index, and then randomly divided into 5 control, obese groups. , obese+garlic, obese+aerobic exercise and obese+garlic+aerobic exercise group were divided. Aerobic exercises including 30 minutes of running per day, 8 meters per minute, 5 days per week for 12 weeks, and garlic extract with a concentration of 250 milligrams per body weight (kg) was also added to the daily water intake.

Results: The results showed that compared to the control group, 12 weeks of high-fat diet increased the body weight of rats (p=0.013) and even during the 8-week extract interventions and exercises, it was still higher than the control group. Remained. The results of gene expression in Real-time PCR showed that SEMA3A gene expression values decreased significantly as a result of 12 weeks of high-fat diet compared to the control group that received the standard diet (p=0.417). Also, the expression values of SEMA3E gene decreased compared to the healthy control group, but this amount was not statistically significant and there was no difference between the groups (p=0.652).

Discussion and conclusion: The induction of obesity caused by the diet caused a slight decrease in semaphorin class 3 and their receptors, and the effects of physical activity and garlic extract and their combination can also have mild effects on these values.

Keywords: semaphorin group ۳, plexin, neuropilin, garlic extract, aerobic activity

مقدمه

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 وبه 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 ۹۵٪ <BMI 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 چاقی‌های 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 سمافورین۳ باعث اختلال در متابولیسم انرژی و ترکیب بدن با توجه به اثرگذاری براین مدارها می شود. در میان سمافورین های گروه ۳، سمافورین A۳ و E۳و همچنین گیرنده های آنها نقش اساسی درسیگنالینگ این مدارها ایفا میکند (۳). سمافورین ها در بیماری های متابولیک از جمله چاقی، التهاب چربی و عوارض دیابتی، از جمله رتینوپاتی دیابتی، نفروپاتی 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 اثرگذارهستند. همچنین گیرنده های سمافورین ها شامل پلکسین ها، نوروپیلین ها و سایر مولکول ها، مانند اینتگرین ها، پروتئوگلیکان ها و گیرنده تیروزین کیناز [1] 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. اکثر سمافورین های کلاس ۳، به جزسمافورین[2]e3 ، از نوروپیلین ۱ [3] یا نوروپیلین ۲ [4]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. انواع نادر در این ژن ها در ۹۸۲ فرد چاق

---

[1] *RTKs*
[2] *Sema3E*
[3] *Nrp1*
[4] *Nrp2*

شدید در مقایسه با گروه شاهد افزایش یافته است. حذف هفت عضو سمافورین کلاس ۳ در گورخرماهی به چاقی منجر شده است. اعضای Sema3 در PVH هیپوتالاموس بیان می‌شوند و گیرنده‌های Nrps و پلکسین‌های آنها در نورون‌های POMC در ARH بیان می‌شوند. در موش‌ها، حذف گیرنده نوروپیلین ۲ (Nrp2) در نورون‌های POMC، پیش‌بینی آنها از ARH به PVH را مختل ، مصرف انرژی را کاهش و باعث افزایش وزن شد. در مجموع، نتایج نشان داد که سمافورین‌های کلاس ۳ به توسعه مدارهای ملانوکورتین هیپوتالاموس درگیر در هموستاز انرژی و چاقی کمک می‌کنند.(۵)

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 ، مهار استیل CoA کربوکسیلاز -۱ (ACC-1) و تنظیم کارنیتین 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 (۲). 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،۷)، کاهش مارکرهای استرس اکسایشی تولید شده از میتوکندری نورون ها و لکوسیت های فعال شده و افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسایشی (۸،۹)، افزایش بیان اینتگرین ها که در اتصال سلول های اندوتلیال به آستروسیت ها نقش بسزائی دارند (۹)، 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 (۱۱) و بسیاری سازگاری های متابولیکی و فیزیولوژیک دیگر می شوند (۱۲).

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 (۱, ۲). اگرچه ۵۰٪ از اثرات مفید فعالیت بدنی همچنان غیرقابل توضیح هستند (۱۳)، 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 (۴).

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 نورون های هیپوتالاموس به سیگنال های غدد درون ریز که مصرف غذا و انرژی را کنترل می کنند، ایجاد شود. به عنوان مثال، در موش های بدون چربی و چاق، یک حرکت ورزشی شنا اثرات بی اشتهایی لپتین و همچنین سیگنالینگ لپتین هیپوتالاموس را افزایش می دهد (۱۴). بر اساس یافته ها، ۶ هفته چرخ داوطلبانه سیگنالینگ لپتین را در هیپوتالاموس موش های چاق افزایش می دهد (۱۴). از آنجا که تحقیقات فوق، حساسیت لپتین را بلافاصله پس از یک جلسه تمرین اندازه گیری کرد، تأثیر طولانی مدت تمرینات ورزشی، صرف نظر از سیگنالینگ حاد ناشی از ورزش، ناشناخته است. ورزش باعث رشد نورونهای جدید در چندین ناحیه مغزی می شود که مهمترین آنها هیپوکامپ است که با شبکه های عصبی موجود ادغام شده و بر فعالیتهای سیستم عصبی مرکزی تأثیر می گذارد (۱۱). با توجه به مطالب عنوان شده ما در این پژوهش به دنبال پاسخ به این سوال هستیم که تاثیر القاء چاقی بر بیان ژن های سمافورین ۳a، 3e و گیرنده های پلکسین1a، a2 و نوروپلین ۱ به همراه مکمل یاری عصاره سیر و فعالیت هوازی در موش های صحرائی نژاد ویستار چیست؟

روش شناسی

این پژوهش تحت نظر کمیته اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی واحد شاهرود و کد اخلاق IR.IAU.SARI.REC.1403.002 در آزمایشگاه فیزیولوژی ورزشی این دانشگاه به انجام رسید. بعد از پایان ۳ هفتگی (پایان شیرخوارگی)، ۳۵ سر موش صحرایی نر ویستار در چرخه روشنایی و تاریکی در قفس پلی کربنات نگهداری شدند. گروه کنترل از جیره موش معمولی و در گروه های القاء چاقی به مدت ۱۲ هفته رژیم غذایی پرچرب (۱۴) استفاده شد. رت های چاق پس از ۱۲ هفته با استفاده از شاخص لی (۱۵) شناسایی شده و سپس به طور تصادفی به ۵ گروه کنترل سالم(توده بدنی نرمال)، کنترل چاق، چاق به همراه سیر، چاق به همراه تمرین، چاق به همراه سیر و تمرین تقسیم شدند.

۸هفته تمرینات هوازی با دویدن (۳۰ دقیقه در روز، ۸ متر بر دقیقه و ۵ روز در هفته) بر روی تردمیل جوندگان در موش هایی که رژیم غذایی پرچربی داشتند انجام شد. با توجه به ظرفیت عملکرد حرکتی موش های صحرایی چاق و همچنین احتمال آسیب به حیوانات، پروتکل تمرین هوازی با شدت متوسط انتخاب شد (۱۶). جدول ۱ پروتکل تمرین را نشان می دهد.

(m/min) speed (17) Time (%) slope (day/week) sequence

8	5		
11	5	0	5
15	20		
8	10		

Table 1. Aerobic exercise protocol in obese rats

جهت تهیه عصاره سیر، 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 سانتریفیوژ شد. پس از آن، مایع رویی 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، عصاره های یخ زده با نرمال سالین مجدداً آماده شدند. عصاره سیر ، به مقدار ۲۵۰ میلی گرم بر وزن بدن کیلوگرم، در آب مصرفی روزانه اضافه شد (۱۹).

بعد از ۲۴ ساعت از آخرین تمرین و عصاره دهی، موش ها ۱۲ ساعت ناشتا با دسترسی آزاد به آب نگهداری شده و درنهایت فاصله زمانی ساعت ۹ تا ۱۱ صبح با رعایت پروتکل های کمیته اخلاق با داروی بیهوشی کتامین و زایلازین به صورت درون صفاقی بیهوش و آماده نمونه گیری شدند. بعد از خارج کردن خون از قلب، استخوان جمجمه برداشته شده و مغز رت ها بلافاصله در میکروتیوب حاوی RNAshield قرار گرفته و در نیتروژن مایع جهت انجام مطالعات بیان ژن به آزمایشگاه مربوطه فرستاده شد. اندازه گیری بیان ژن های NPY و گیرنده های NPY با تکنیک Real time-PCR، سنجش و پس از کمی سازی مقادیر بیان ژن با استفاده از فرمول ΔΔct- ۲ تجزیه و تحلیل شد. واکنشQ-PCR، با استفاده RealQ Plus 2x Master Mix Green در دستگاه Applied BioSystem DNA Analyzer، طبق پروتکل شرکت سازنده انجام گرفت (۲۰). به منظور طراحی پرایمرها، توالی های مربوطه از سایتNCBI گرفته شده است. پرایمر ژن های مدنظر و بتا اکتین توسط نرم افزارهایGenrunner و Oligo طراحی و بررسی شد. اختصاصی بودن پرایمرها برای ژن های هدف به وسیله ی برنامهBLAST بررسی شد. در این مطالعه از ژن GAPDH به عنوان ژن مرجع استفاده شده است. توالی پرایمرهای استفاده شده در جدول ۲ نشان داده شده است.

Table 2. Sequence of primers used

annealing temperature (C0)	sequence	jen
56.7	F: AAGGGCTCTGCTGTGTGTAT	Sema 3a
	R: TGGGTTGTACATGGCTGGAT	
57.6	F: GAATGTCCTCTTGCTCTGCG	Sema 3e
	R: CGTACTTCTCTTCAGGGGCA	
54.6	F: CCTGGATGTGTTTGGGCAAA	NPR1
	R: GCCAAGAGTTTCAGCTGCTT	
55.8	F: TCCCCAACTACAAGAGCTGG	PLEXA1
	R: CGTCCTTGTACTTGGCGATG	
53.7	F: TATAACTGCAGTGCCCACCA	PLEXA2
	R: AATCTCTTCTGTGGGCACGA	

جهت تجزیه و تحلیل داده های به دست آمده در گروه ها بعد از تعیین نرمال بودن جامعه توسط آزمون کلوموگروف-اسمیرنوف[1] و همچنین آزمون برابری واریانس ها (لوین)[2]، از آزمون تحلیل واریانس یکطرفه و آزمون تعقیبی LSD جهت تعیین اختلاف بین گروه ها در متغیر وزن و مسافت دویدن بر روی تردمیل جوندگان استفاده شد. به علاوه سطح معنی داری در این پژوهش ۵ درصد ($p<۰/۰۵$) درنظر گرفته شد.

نتایج

در مقایسه با گروه کنترل، ۱۲ هفته تغذیه پرچرب، وزن بدن موش های صحرائی را افزایش داد ($p=۰/۰۱۳$) و حتی در طول مداخلات عصاره ای ۶ هفته ای و تمرینات، همچنان نسبت به گروه کنترل بالاتر باقی ماند (نمودار۱). نتایج بیان ژن در Real-time PCR، نشان داد مقادیر بیان ژن سمافورین 3A، در نتیجه ۱۲ هفته رژیم پرچرب نسبت به گروه کنترل که رژیم استاندارد دریافت کرده بودند، ازطرفی در مواجهه با مداخلات ۶ هفته ای تمرینی و عصاره ای، افزایش خفیف میان گروه چاق و سیر ($p=۰/۱۴۵$)، تمرین هوازی ($p=۰/۳۲۲$)، و سیر به همراه تمرین هوازی ($p=۰/۲۷۹$)، بوجود آمد (نمودار۲).(همچنین مقادیر بیان ژن سمافورین3E، در

---

[1]. Kolmogorov-Smirnov

[2]. Leven's Test

۱۲ هفته رژیم پرچرب در موش های صحرائی، نسبت به گروه کنترل سالم، کاهش داشت، اما این میزان از لحاظ آماری معنی دار نبود و تفاوتی میان دو گروه وجود نداشت (p=۰/۶۵۲).) با این حال نتایج گزارش کردند، در اثر ۶ هفته مداخله عصاره‌ای و تمرین هوازی، موش های صحراپی چاق دریافت کننده سیر(گروه آزمایش)، کاهش قابل توجهی در بیان ژن سمافورینE3 ، نسبت به گروه کنترل داشتند (p=۰/۰۳۲). به علاوه موش های صحرائی در این گروه حتی نسبت به گروه تمرین هوازی نیز به صورت معنی داری بیان ژن کمتری داشتند (p=۰/۰۰۲) (نمودار۳). در رابطه با پلکسینA1، نتایج بیان ژن در Real-time PCR، نشان داد در نتیجه ۱۲ هفته رژیم پرچرب نسبت به گروه کنترل که رژیم استاندارد دریافت کرده بودند، کاهش غیرمعنی دار داشت (p=۰/۵۸۹). ازطرفی در مواجهه با مداخلات ۶ هفته ای تمرینی و عصاره ای، افزایش خفیف میان گروه چاق و سیر (p=۰/۷۷۸)، تمرین هوازی (p=۰/۱۲۹)، و سیر به همراه تمرین هوازی (p=۰/۶۹۸)، به وجود آمد (نمودار۴). به علاوه مقادیر بیان ژن پلکسینA2، در گروه کنترل نسبت به گروه کنترل سالم(توده بدنی نرمال) کاهش جزئی نشان داد (p=۰/۲۵۹) اما مقادیر این ژن در اثر دریافت سیر (p=۰/۰۴۷) و ترکیب فعالیت هوازی و سیر (p=۰/۰۲۳) نسبت به گروه تمرین هوازی به تنهائی کاهش چشمگیر و معنی دار داشت (نمودار۵). درارتباط با مقادیر بیان ژن در گیرنده نوروپلین ۱، نتایج نشان داد القاء چاقی موجب افزایش غیرمعنی دار این گیرنده نسبت به گروه کنترل شده(p=۰/۳۶۸) اگرچه در مواجهه با مداخلات تمرینی و عصاره ای کاهش یافت و تقریبا به مقادیر گروه کنترل سالم رسید (نمودار۶).

باتوجه به نتایج به دست آمده از آزمون های شاپیرو-ویلک و کلوموگروف-اسمیرنوف داده ها ی پژوهش و همچنین بالاتر بودن ضریب معنی داری از ۰,۰۵ فرض صفر تایید شده و جامعه نرمال است و میتوان به مراحل بعدی آزمون های پارامتریک ورود کرد

Significance level	F	mean	df	the square of the square		
0.03	4.409	4256.255	6	2557.25537	between groups	**After weighing**
		956.354	26	25099.200	Intergroup	
			32	50639.727	Total	
0.363	1.144	8.148	6	48.889	between groups	**Semaphorin a3**
		7.122	28	199.410	Intergroup	
			34	248.299	Total	
0.011	3.436	22.804	6	136.822	between groups	**Semaphorin e3**
		6.637	28	185.829	Intergroup	
			34	322.651	Total	

Plexin D 1	between groups	6	9.130	1.805	0.136
	Intergroup	27	5.057		
	Total	33			
Plexin D 2	between groups	6	9.645	1.802	0.135
	Intergroup	28	5.351		
	Total	34			
Neuropilin 1	between groups	6	6.546	1.355	0.267
	Intergroup	28	4.831		
	Total	34			

بحث

هدف از این مطالعه بررسی تاثیر ۶ هفته عصاره سیر، همراه با تمرین هوازی، بر بیان ژن های سمافورین های 3A، 3E و گیرنده های آنها مانند پلکسین A1، A2 و نوروپلین ۱ در موش های صحرائی چاق القاء شده با ۱۲ هفته رژیم پر چرب بود که نتایج بیانگر افزایش معنی دار وزن رت ها در مقایسه با گروه کنترل بود. همچنین مقادیر بیان ژن سمافورین ها و گیرنده های آنها میان گروه کنترل سالم و چاق و مداخله های آنها دچار تغییرات جزئی تا شدید بود.

مدارهای عصبی در هیپوتالاموس نقش مهمی در تنظیم هموستاز انرژی دارند. مدار ملانوکورتین هیپوتالاموس توسط نورون های پاسخگو به لپتین در هسته کمانی هیپوتالاموس (ARH) تشکیل می شود که پرو-اپیوملانوکورتین (POMC) یا نوروپپتید Y /(NPY)پروتئین مرتبط با آگوتی (AgRP) را بیان می کند. اختلال ژنتیکی POMC و MC4R منجر به چاقی شدید در جوندگان و انسان می شود و بر نقش حیاتی این مدار ملانوکورتین در هموستاز انرژی تاکید می کند. با تمرکز بر سهم سمافورین های کلاس ۳ (SEMA3A-G)، که توسعه نورون های هورمون آزاد کننده گنادوتروپین (GnRH) را به هیپوتالاموس هدایت می کنند(۱۸). دراین راستا لیو[1] و همکاران (۲۰۲۰)، گزارش کردند سمافورین 3A سلول های بنیادی مزانشیمی چربی را به سمت فنوتیپ استخوانی

[1] liou

ارتقا می دهد و نقش مهاری در چربی زایی ایفا می کند. همچنین بیان ژن های مرتبط با چربی مانند ۴FABP ، PPAR، و CEBP و همچنین تشکیل قطرات چربی را کاهش می دهد (۱۷). همچنین لو و همکاران (۲۰۲۰)، بیان کردند سمافورین های گروه ۳ مانند 3A و 3G، در متابولیسم چربی و انرژی نقش مهمی ایفا می کنند و در ترکیب بدنی هستند (۱۳). نتایج پژوهش حاضر نیز هم راستا با پژوهش های فوق بود و نشان داد در اثر ۱۲ هفته رژیم پرچرب به موش های صحرائی نر تازه از شیر گرفته شده، میزان سمافورین 3A نسبت به گروه کنترل کاهش داشت؛ اگرچه عصاره سیر و فعالیت بدنی و ترکیب آنها توانسته بود این مقادیر را به سطوح کنترل سالم برساند. از طرفی بیان شده است سیر با توجه به اثرات ضد اشتهائی خود و اثربخشی خود در سیگنالینگ اشتها در قوس هیپوتالاموس اعم از اثربخشی بر سطح لپتین، گرلین، NPY و .... هم درسطح بیان ژن و هم درسطح پلاسما (۱۲, ۲۱) موجب افزایش بیان ژن های سمافورین 3A شده و درنهایت درکنار فعالیت هوازی (۱۰, ۲۲) موجب افزایش بیان این ژن نسبت به گروه چاق شود.

در رابطه با گیرنده ها سمافورین های گروه سوم مثل پلکسین A1 و A2 پژوهش ها نشان داده است افزایش گیرنده ها اثرات مختلف و متفاوتی را در سیگنالینگ سلولی ایفا می کنند. میکروگلیا در شرایط فیزیولوژیکی در حالت استراحت وجود دارد اما پس از آسیب عصبی فعال می شود. مطالعات اخیر نقش متقابل نورون ها را در کنترل تعداد و فعالیت میکروگلیا برجسته کرده است. درین راستا ماجد[1] و همکاران (۲۰۰۶)، نشان دادند افزایش گیرنده های اختصاصی سمافورین 3A از جمله پلکسین A1 و A2، می تواند اثرات حمایتی و حافظتی بر میکروگلیاها بویژه در سیستم عصبی مرکزی داشته باشند (۲۳). همچنین ژوان[2] و همکاران (۲۰۱۹) بیان کردند تنظیم افزایشی پلکسین A2 موجب افزایش تولید بافت استخوان شده و ترکیب بدنی را تغییر می دهد (۲۳). در پژوهش حاضر نیز علیرغم همسوئی با پژوهش های فوق، الگوی تغییرات گیرنده های سمافورین 3A مثل پلکسین A1 و A2، شبیه بهم بود اگرچه مقادیر پلکسین A2 در گروه دریافت کننده سیر و ترکیب سیر و فعالیت هوازی نسبت به گروه هوازی به تنهائی بصورت معنی داری کمتر بود. دراین رابطه بنظر می رسد فعالیت هوازی باتوجه به تاثیر آن بر قطر عروق و افزایش نیترواکساید و فاکتور وابسته به هایپوکسی (HIF)، جریان خون منطقه را افزایش داده و موجب بیان بیشتر این گیرنده ها شده است(۱۳).

همچنین بیان شده است سمافورین 3E علاوه بر اثرگذاری بر متابولیسم انرژی(لو،۲۰۲۰) ، در فرایند کموتاکسی و التهاب سیستم ایمنی همراه با گیرنده اختصاصی خود درگیر است. نتایج فوق با نتایج پژوهش حاضر همسو بوده و مقادیر سمافورین 3E در موش های صحرائی چاق نسبت به گروه کنترل افزایش غیرمعنی دار نشان داد. به علاوه در رابطه با نوروپلین ۱ که گیرنده سمافورین 3E نیز می باشد از الگوی مشابهی تبعیت کرده است و به نظر میرسد گیرنده های سمافورین نیز در گروه چاق افزایش غیرمعنی دار

[1] majed
[2] juan

داشته است. اگرچه مداخلات تمرینی و عصاره ای موجب کاهش این مقادیر شده بود اما همچنان نسبت به گروه کنترل سالم بالاتر بود. به نظر می رسد 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.

نتیجه گیری

القاء چاقی ناشی از رژیم غذائی موجب کاهش ناچیز سمافورین گروه سوم و گیرنده های آن شده و همچنین اثرات فعالیت بدنی و عصاره سیر و ترکیب آن باهم نیز می تواند اثرات جزئی بر این مقادیر داشته باشد.

تقدیر و تشکر

نویسندگان مقاله حاضر نهایت تشکر وقدردانی خود را از آزمایشگاه فیزیولوژی ورزشی حیوانات دانشگاه آزاد اسلامی واحد شاهرود دارند.

منابع

.۱ *Alex S, Boss A, Heerschap A, Kersten S. Exercise training improves liver steatosis in mice. Nutrition & metabolism. 2015;12(1):29.*

.۲ *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*

.۳ *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):1-10.*

.٤ *Egan B, Zierath JR. Exercise metabolism and the molecular regulation of skeletal muscle adaptation. Cell metabolism. 2013;17(2):162-84.*

.٥ *Zangeneh M, Tahvilian R, Zangeneh A, Moradi R, Najafi F, Haghnazari L. Effect of Alhagi maurorum oil on anxiety markers in Balb/C male mice. Online Journal of Veterinary Research. 2017;2*.٧-١١٥:(٣)١

.٦ *Zangeneh M, Zangeneh A, Moradi R, Hajialiani M, Sadeghi S, Khaef S, et al. Effect of Cucurbita moschata oil seed on growth of Staphylococcus aureus ATCC No. 25923. Onl J Vet Res. 2017;21(3):106-9.*

.٧ *Zangeneh M, Najafi F, Tahvilian R, Haghnazari L, Zangeneh A, Moradi R, et al. Effect of Allium sativum oil on Escherichia coli O157: H7. Online Journal of Veterinary Research. 2017;21(1):19-24.*

.٨ *Foroughi A, Pournaghi P, Zhaleh M, Zangeneh A, Zangeneh MM, Moradi R. Antibacterial activity and phytochemical screening of essential oil of Foeniculum vulgare. International Journal of Pharmaceutical and Clinical Research. 2016;8(11):1505-9.*

.٩ *Foroughi A, Pournaghi P, Najafi F, Zangeneh A, Zangeneh MM, Moradi R. Evaluation of antibacterial activity and phytochemical screening of Pimpinella anisem's essential oil. Int J Pharm Phytochem Res. 2016;8(11):1886-90.*

.١٠ *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.*

.١١ *Mirzaei-Aghsaghali A. Importance of medical herbs in animal feeding: A review. Ann Biol Res. 2012;3(9):3-933.*

.١٢ *Neufer 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.*

.١٣ *Lu Q, Zhu L. The role of semaphorins in metabolic disorders. International Journal of Molecular Sciences. 2020;21(16):5641.*

.١٤ *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.*

.١٥ *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.*

.١٦ *Choi DH, Kwon IS, Koo JH, Jang YC, Kang EB, Byun JE, et al. The effect of treadmill exercise on inflammatory responses in rat model of streptozotocin-induced experimental dementia of Alzheimer's type. Journal of exercise nutrition & biochemistry. 2014;18(2):225.*

.١٧ *Liu M, Xie S, Liu W, Li J, Li C, Huang W, et al. Mechanism of SEMA3G knockdown-mediated attenuation of high-fat diet-induced obesity. Journal of Endocrinology. 2020;244(1):223-36.*

.۱۸ *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.-*

.۱۹ *Saunders NA, Lee MA. Real-time PCR: advanced technologies and applications. Horizon Scientific Press; 2013.*

.۲۰ *Seo DY, Lee S, Figueroa A, Kwak YS, Kim N, Rhee BD, et al. Aged garlic extract enhances exercise-mediated improvement of metabolic parameters in high fat diet-induced obese rats. Nutrition Research and Practice. 2012;6(6):513-9.*

.۲۱ *Aghajani R, Zidashti ZH, Nemati N, Bagherpour T. Nervous evaluation conducted by the changes of ghrelin and obestatin executed by aerobic exercise. BRAIN Broad Research in Artificial Intelligence and Neuroscience. 2019;10(4):100-14.*

.۲۲ *Majed HH, Chandran S, Niclou SP, Nicholas RS, Wilkins A, Wing MG, et al. A novel role for Sema3A in neuroprotection from injury mediated by activated microglia. Journal of Neuroscience. 2006;26(6):1730-8.*

.۲۳ *Zhuang J, Li X, Zhang Y, Shi R, Shi C, Yu D, et al. Sema6A-plexin-A2 axis stimulates RANKL-induced osteoclastogenesis through PLCγ-mediated NFATc1 activation. Life sciences. 2019;22.*۳۵-۲:۲۹