

Research Article

Comparison of the Effects of Barberry and Saffron Extracts Combined with a Period of Endurance Physical Activity on POMC and MC4R Genes in Female Wistar Rats Addicted to Methamphetamine

Daniyal Hakak¹, Rambod Khajaei¹, Sayyed Javad Ziaolhagh^{2*}, Akbar Safipour-Afshar³

1- Department of Sports Sciences, Neyshabur Branch, Islamic Azad University, Neyshabur, Iran

2- Department of Sports Science, Shahroud Branch, Islamic Azad University, Shahroud, Iran

3- Department of Biology, Neyshabur Branch, Islamic Azad University, Neyshabur, Iran

*Corresponding author: javadzia@gmail.com

Received: 16 February 2025

Accepted: 20 April 2025

DOI: 10.60833/ascij.2025.1199681

Abstract

Methamphetamine is a potent central nervous system stimulant that directly affects brain function, causing significant changes in feeding patterns and appetite regulation. Given the extensive side effects of this substance, the use of alternative interventions such as herbal remedies and exercise has been considered as harm reduction strategies. In this study, 30 female Wistar rats were divided into seven groups of six: healthy control, methamphetamine, methamphetamine + aerobic exercise, methamphetamine + berberine (barberry extract), methamphetamine + exercise + berberine, methamphetamine + crocin (saffron extract), and methamphetamine + exercise + crocin. Methamphetamine was injected intraperitoneally at an initial dose of 10 and then 40 mg/kg six days a week. Berberine hydrochloride (100 mg/kg) was administered via drinking water, and crocin was administered in a similar manner. Aerobic exercise consisted of treadmill running at a speed of 25 m/min for 30 minutes, six days a week, for four weeks. After the intervention, the expression of pro-opiomelanocortin (POMC) and melanocortin 4 receptor (MC4R) genes in hypothalamic tissue was examined using the relative fold change method. The results showed that methamphetamine use increased the expression of POMC (166%) and MC4R (42%). Berberine caused a greater decrease in the expression of both POMC (47% vs. 14%) and MC4R (47% vs. 29%) genes than crocin. Aerobic exercise also had a similar effect. The combination of berberine + exercise showed the greatest reduction in POMC (50%) and the combination of crocin + exercise showed the greatest reduction in MC4R (76%). These results show the effective role of herbal and exercise interventions in inhibiting the neurochemical consequences of methamphetamine.

Keywords: Methamphetamine, Berberine Hydrochloride, Crocin, Aerobic Exercise, Pro-opiomelanocortin, Melanocortin-4 Receptor.

مقاله پژوهشی

مقایسه تاثیر عصاره زرشک و زعفران همراه با یک دوره فعالیت بدنی استقامتی بر ژن‌های POMC و MC4R در رت‌های ویستار ماده معتاد به مت‌آمفتامین

دانیال حکاک^۱، رامبد خواجه‌ای^۱، سید جواد ضیاء‌الحق^{۲*}، اکبر صفی‌پور افشار^۳

۱- گروه علوم ورزشی، واحد نیشابور، دانشگاه آزاد اسلامی، نیشابور، ایران

۲- گروه علوم ورزشی، واحد شاهرود، دانشگاه آزاد اسلامی، شاهرود، ایران

۳- گروه زیست‌شناسی، واحد نیشابور، دانشگاه آزاد اسلامی، نیشابور، ایران

*مسئول مکاتبات: javadzia@gmail.com

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۱/۳۱

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۱۱/۲۸

DOI: 10.60833/ascij.2025.1199681

چکیده

مت‌آمفتامین (شیشه) یک محرک قوی سیستم عصبی مرکزی است که با تأثیر مستقیم بر عملکرد مغز، تغییرات قابل توجهی در الگوهای تغذیه‌ای و تنظیم اشتها ایجاد می‌کند. با توجه به عوارض گسترده این ماده، استفاده از مداخلات جایگزین مانند درمان‌های گیاهی و فعالیت ورزشی به‌عنوان راهکارهای کاهش آسیب مورد توجه قرار گرفته است. در این پژوهش، ۳۰ سر موش صحرایی ماده نژاد ویستار به هفت گروه شش‌تایی شامل: کنترل سالم، مت‌آمفتامین، مت‌آمفتامین + تمرین هوازی، مت‌آمفتامین + بربرین (عصاره زرشک)، مت‌آمفتامین + تمرین + بربرین، مت‌آمفتامین + کروسین (عصاره زعفران)، و مت‌آمفتامین + تمرین + کروسین تقسیم شدند. مت‌آمفتامین به‌صورت تزریق داخل صفاقی با دوز اولیه ۱۰ و سپس ۴۰ میلی‌گرم/کیلوگرم شش روز در هفته تزریق شد. بربرین هیدروکلراید (۱۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) از طریق آب آشامیدنی و کروسین نیز با روش مشابه تجویز شد. تمرین هوازی شامل دویدن روی تردمیل با سرعت ۲۵ متر در دقیقه، به مدت ۳۰ دقیقه، شش روز در هفته و به مدت چهار هفته انجام گرفت. پس از اتمام مداخلات، بیان ژن‌های پرواپیوملانوکورتین (POMC) و گیرنده ملانوکورتین ۴ (MC4R) در بافت هیپوتالاموس با روش فولدچنج نسبی بررسی شد. نتایج نشان داد مصرف مت‌آمفتامین باعث افزایش بیان ژن‌های POMC (۱۶۶ درصد) و MC4R (۴۲ درصد) می‌شود. بربرین نسبت به کروسین کاهش بیشتری در بیان هر دو ژن POMC (۴۷ درصد در برابر ۱۴ درصد) و MC4R (۴۷ درصد در برابر ۲۹ درصد) تمرین هوازی نیز اثری مشابه داشت. ترکیب بربرین + تمرین بیشترین کاهش را در POMC (۵۰٪) و ترکیب کروسین + تمرین بیشترین کاهش را در MC4R (۷۶ درصد) نشان داد. این نتایج نقش مؤثر مداخلات گیاهی و ورزشی را در مهار پیامدهای نوروشیمیایی مت‌آمفتامین نشان می‌دهد.

کلمات کلیدی: مت‌آمفتامین، بربرین هیدروکلراید، کروسین، فعالیت بدنی هوازی، پرواپیوملانوکورتین، گیرنده ملانوکورتین ۴.

مقدمه

هیپوتالاموس نقش مهمی در تنظیم سیری و اشتها از طریق مسیرهای مختلف ژن ایفا می‌کند. دو مسیر کلیدی درگیر در این فرآیند، مسیر ملانوکورتین و مسیر لپتین هستند. در مسیر ملانوکورتین نورون‌های پرواپیوملانوکورتین (POMC) در هسته کمانی هیپوتالاموس، هورمون محرک ملانوسیت آلفا (α -

می‌کند. مت‌آفتامین می‌تواند بیان پپتیدهای مشتق شده از POMC را تغییر دهد که ممکن است به اثرات بی-اشتهایی آن کمک کند. مت‌آفتامین می‌تواند با مسیر MC4R که نقش مهمی در تنظیم اشتها و وزن بدن دارد، تعامل داشته باشد (۵). از طرفی، مت‌آفتامین می‌تواند بر بیان MC4R و مسیرهای سیگنال‌دهی پایین دست آن تأثیر بگذارد و بر مصرف غذا و سیری تأثیر بگذارد. همچنین مت‌آفتامین می‌تواند با مهار بیان نوروپپتید Y (یک پپتید انرژی‌زا)، مصرف غذا را سرکوب کند. این اثر در موش‌هایی با دسترسی محدود به غذا آشکارتر است، که نشان می‌دهد اثرات بی‌اشتهایی دارو در موقعیت‌های محرومیت از غذا بارزتر است. مت‌آفتامین می‌تواند با فعال کردن مسیر MC4R، سیری را افزایش دهد که منجر به سرکوب اشتها می‌شود. این اثر در بیماران مبتلا به واریانت‌های ژنتیکی نادر در مسیر POMC/MC4R مشاهده می‌شود، جایی که نشان داده آگونیست انتخابی MC4R، باعث سیری و کاهش وزن بدن می‌شود. مصرف مت‌آفتامین به دلیل اثرات سرکوب‌کننده اشتها می‌تواند منجر به سوء تغذیه و کاهش شدید وزن شود. مصرف مزمن همچنین می‌تواند باعث ایجاد طیف وسیعی از مشکلات سلامت جسمی و روانی از جمله مشکلات قلبی عروقی، مشکلات تنفسی و اختلالات روانی شود (۶). ورزش هوازی با POMC و MC4R به روش‌های مختلف تعامل دارد و بر اشتها و هموستاز انرژی تأثیر می‌گذارد. نشان داده شده است که ورزش هوازی باعث افزایش فعالیت نورون‌های POMC در هسته کمانی (ARC) هیپوتالاموس می‌شود که در تنظیم اشتها و تعادل انرژی نقش دارد. این افزایش در فعالیت POMC می‌تواند منجر به سرکوب اشتها و افزایش مصرف انرژی شود (۷). ورزش هوازی همچنین می‌تواند فعالیت MC4R را تعدیل کند، گیرنده‌ای که نقش مهمی در تنظیم اشتها و

تولید می‌کنند که به گیرنده ملانوکورتین-۴ (MSH) در پارابطنی متصل می‌شود (۱). نورون‌های MC4R در PVN با کاهش مصرف غذا و افزایش مصرف انرژی به α -MSH پاسخ می‌دهند. این مسیر در حالت تغذیه فعال می‌شود، زمانی که هورمون‌های در گردش مانند لپتین و انسولین به فراوانی مواد مغذی سیگنال می‌دهند (۲). در مسیر لپتین که توسط بافت چربی تولید می‌شود، به گیرنده خود (LEPR) روی نورون‌های POMC متصل می‌شود. این اتصال، پردازش POMC به α -MSH را ارتقا می‌دهد که سپس نورون‌های MC4R را فعال می‌کند و در حالت گرسنگی، نورون‌های پپتید مرتبط با آگوتی (AgRP) و نوروپپتید Y (NPY) فعال می‌شوند و با مهار نورون‌های MC4R، مصرف غذا را تقویت می‌کنند (۳). نورون‌های بیان‌کننده گیرنده اکسی‌توسین در هسته کمانی با درگیر کردن نورون‌های MC4R در PVN از طریق انتقال سریع گلو تاماتریک تقویت شده توسط α -MSH به سرعت باعث سیری می‌شوند. از طرفی، نورون‌های موجود در هسته دسته منزوی (NTS) که کوله سیستوکینین (CCK) را بیان می‌کنند مستقیماً نورون‌های MC4R را در PVN تحریک می‌کنند تا سیگنال سیری را نشان دهند. این مسیرها و نورون‌ها برای تنظیم اشتها و سیری، تضمین هموستاز انرژی و جلوگیری از چاقی با هم کار می‌کنند. رابطه بین مت‌آفتامین، POMC و MC4R پیچیده است و شامل مکانیسم‌های متعددی است که بر مصرف غذا و سیری تأثیر می‌گذارد. در حالی که مت‌آفتامین می‌تواند با مهار بیان NPY، مصرف غذا را سرکوب کند، همچنین می‌تواند مسیر MC4R را برای القای سیری فعال کند. مت‌آفتامین می‌تواند بر پردازش POMC که پیش‌ساز پپتید بی‌اشتهایی، هورمون محرک ملانوسیت آلفا است، تأثیر بگذارد (۴). α -MSH به MC4R متصل می‌شود و سرکوب اشتها را تحریک

هیدروکلراید تولید پپتید-۱ شبه گلوکاگون (GLP-1) را افزایش می‌دهد، هورمونی که به تنظیم اشتها و متابولیسم گلوکز کمک می‌کند. نشان داده شده است که بربرین هیدروکلراید سطح گرلین را کاهش می‌دهد، هورمونی که اشتها را تحریک می‌کند بربرین هیدروکلراید تولید پپتید YY (PYY) را افزایش می‌دهد، هورمونی که به تنظیم اشتها و سیری کمک می‌کند. دوز و مدت بهینه مکمل بربرین هیدروکلراید برای سرکوب اشتها و کاهش وزن به خوبی مشخص نشده است (۱۳). با این حال، بیشتر مطالعات از دوزهای مختلف از ۵۰۰ میلی‌گرم تا ۱۵۰۰ میلی‌گرم در روز برای دوره‌های ۴-۱۲ هفته استفاده کرده‌اند. مکمل هیدروکلراید بربرین بیان ژن POMC را در مغز افزایش می‌دهد که در تنظیم اشتها و تعادل انرژی نقش دارد (۱۴). کروسین که ماده موثر کلالة زعفران است دارای اثرات سرکوب‌کننده اشتها است و ممکن است با تأثیر بر بیان ژن‌های POMC و MC4R به کاهش وزن کمک کند. کروسین بیان ژن POMC را که در تنظیم اشتها و تعادل انرژی نقش دارد، تنظیم می‌کند. مکمل کروسین بیان ژن POMC را در مغز افزایش می‌دهد که در تنظیم اشتها و تعادل انرژی نقش دارد (۱۵). کروسین همچنین بر بیان ژن MC4R که یک تنظیم‌کننده کلیدی اشتها و تعادل انرژی است، تأثیر می‌گذارد. مکمل کروسین بیان ژن MC4R را در هیپوتالاموس افزایش می‌دهد که در تنظیم اشتها و تعادل انرژی نقش دارد. اثرات کروسین بر روی ژن‌های POMC و MC4R با مکانیسم‌های مختلفی انجام می‌شود، از جمله افزایش فعالیت AMPK که کروسین پروتئین‌کیناز فعال‌شده با AMP (AMPK) را فعال می‌کند که در تنظیم تعادل انرژی و اشتها نقش دارد. فعال‌سازی AMPK با افزایش بیان ژن‌های POMC و MC4R مرتبط است (۱۶). کروسین تولید پپتید-۱ شبه گلوکاگون (GLP-1) را افزایش می‌دهد،

وزن بدن دارد (۳). ورزش بیان MC4R را در هیپوتالاموس افزایش می‌دهد، که می‌تواند به اثرات بی‌اشتهایی آن کمک کند (۸). اثرات ورزش بر روی POMC و MC4R می‌تواند بسته به وضعیت انرژی فرد متفاوت باشد. به عنوان مثال، روزه گرفتن قبل از ورزش باعث افزایش فعالیت نورون‌های POMC و بیان MC4R می‌شود که منجر به افزایش سرکوب اشتها و مصرف انرژی می‌شود. شدت ورزش می‌تواند بر اثرات ورزش بر POMC و MC4R نیز تأثیر بگذارد. ورزش با شدت بالا در مقایسه با ورزش با شدت کم، اثرات بارزتری بر روی POMC و MC4R دارد (۷). ورزش هوازی از چاقی و سندرم متابولیک در موش‌های مبتلا به ناک اوت ژن MC4R جلوگیری می‌کند، که نشان می‌دهد ورزش می‌تواند به کاهش اثرات کمبود MC4R بر هموستاز انرژی کمک کند (۹). به طور کلی، ورزش هوازی به روش‌های پیچیده‌ای با POMC و MC4R تعامل دارد و بر اشتها و هموستاز انرژی تأثیر می‌گذارد. اثرات ورزش بر روی این مسیرها بسته به عواملی مانند وضعیت انرژی و شدت ورزش می‌تواند متفاوت باشد (۱۰). از طرفی، بربرین هیدروکلراید، یک ترکیب طبیعی مشتق شده از گیاه زرشک کوهی، برای اثرات بالقوه آن بر اشتها مورد مطالعه قرار گرفته است. بربرین هیدروکلراید ممکن است بر اشتها و مدیریت وزن تأثیر بگذارد (۱۱). بربرین هیدروکلراید با افزایش تولید هورمون‌های خاصی که گرسنگی و سیری را تنظیم می‌کنند، اشتها را کاهش می‌دهد. بربرین هیدروکلراید با کاهش وزن مرتبط است که ممکن است تا حدی به دلیل اثرات سرکوب‌کننده اشتها باشد. مکمل بربرین هیدروکلراید منجر به کاهش وزن قابل توجهی در بیماران مبتلا به دیابت نوع ۲ و چاقی می‌شود (۱۲). اثرات سرکوب‌کننده اشتها بربرین هیدروکلراید با مکانیسم‌های مختلفی انجام می‌شود، از جمله: بربرین

هورمونی که به تنظیم اشتها و متابولیسم گلوکز کمک می‌کند GLP-1 با افزایش بیان ژن‌های POMC و MC4R مرتبط است (۱۷). دوز و مدت زمان: دوز و مدت بهینه مکمل کروسین برای سرکوب اشتها و کاهش وزن به خوبی مشخص نشده است. با این حال، بیشتر مطالعات از دوزهای مختلف از ۵۰۰ تا ۱۵۰۰ میلی‌گرم در روز برای دوره‌های ۴-۱۲ هفته استفاده کرده‌اند. با توجه به موارد ذکر شده و اثرگذار بودن فعالیت بدنی هوازی و سیلوسایبین بر ژن‌های پروپوملانوکورتین (POMC) و گیرنده ملانوکورتین ۴ (MC4R) در قوس هیپوتالاموس و البته عدم وجود منابع کافی جهت بررسی این متغیرها در کنار یکدیگر، پژوهش حاضر درصدد کشف این روابط در موش‌های صحرانی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

طرح تحقیق حاضر از نوع تجربی است که با نظارت کمیته اخلاق در پزشکی و کمیته حمایت از حقوق حیوانات با کد IR.IAU.NEYSHABUR.REC.1403.002 به تصویب رسید. در مطالعه حاضر ۴۲ سر موش ویستار از جنس ماده در محدوده وزنی ۲۰۰-۱۴۰ گرم تشکیل می‌دادند. موش‌ها از مرکز حیوانات دانشگاه علوم پزشکی شاهرود تهیه شدند. برای موش‌ها پس از انتقال به محیط آزمایشگاه، یک هفته زمان جهت کاهش استرس و آشنایی با محیط جدید و یک هفته زمان برای آشنایی با تردمیل در نظر گرفته شد. در ادامه با توجه به وزن، حیوانات در ۷ گروه ۶ تایی کنترل سالم، دریافت مت‌آفتامین، مت‌آفتامین + فعالیت هوازی، مت‌آفتامین + بربرین‌هیدروکلراید، مت‌آفتامین + کروسین، مت‌آفتامین + فعالیت هوازی + بربرین‌هیدروکلراید و مت‌آفتامین + فعالیت هوازی + کروسین تقسیم‌بندی شدند. برای ثبت تغییرات وزنی حیوانات، وزن‌کشی قبل از شروع، در

طول اجرای پروتکل‌ها و پس از آن هر هفته انجام و ثبت گردید. مت‌آفتامین از شرکت سیگما آلدریج خریداری و در نرمال سالین ۰/۹ درصد محلول شد جهت القای مت‌آفتامین، موش‌ها میزان ۱۰ میلی‌گرم/کیلوگرم/روز تزریق درون صفاقی مت-آفتامین (به دلیل ایجاد استرس مزمن) را با استفاده از سرنگ انسولین به مدت ۵ روز دریافت کردند (۱۸). کروسین مشتق شده از عصاره گل زعفران تحت مجوز کروسینا، ایران برای استفاده در این مطالعه تهیه شد. کروسین ابتدا در محلول نرمال سالین حل شد و شش روز در هفته با دوز ۴۰ میلی‌گرم/کیلوگرم به حیوانات بصورت درون صفاقی تزریق شد (۱۹). بربرین هیدروکلراید که ماده موثره زرشک کوهی می‌باشد از شرکت گلوکبر (ایران) تهیه شد و به حیوانات با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم در روز با حل کردن آن در آب آشامیدنی اضافه شد (۲۰). پروتکل تمرین هوازی که به صورت تمرین استقامتی روی تردمیل جوندگان با پنج لاین مجزا انجام شد. در انتهای هر لاین، یک بخش الکتریکی قرار داشت که وقتی موش‌ها در نزدیکی بخش انتهایی لاین خود وارد می‌شدند، شوک الکتریکی سبکی را دریافت می‌کردند. قبل از شروع پروتکل تمرینی، حیوانات یک دوره آشناسازی کبا تردمیل را انجام دادند. برنامه تمرینی به مدت ۴ هفته تمرین هوازی روی تردمیل بود. ورزش مزمن (تمرین) شامل ۴ هفته برنامه دویدن با سرعت ۲۵ متر در دقیقه به مدت ۳۰ دقیقه و ۶ روز در هفته (در مجموع ۲۴ جلسه) و بین ساعت ۹ تا ۱۲ صبح انجام می‌شد (21) (جدول ۱). جهت بررسی های مولکولی در سطح بیان ژن، ابتدا استخراج RNA از بافت قشر مخ با استفاده از تیزول، انجام گرفت، سپس با استفاده از خاصیت جذب نور در طول موج ۲۶۰ نانومتر و با کمک رابطه زیر غلظت و درجه خلوص نمونه RNA به صورت کمی بدست آمد: $C (\mu\text{g}/\mu\text{l}) = A_{260} \times \epsilon \times$

به نمونه‌ی دیگر تغییر کرده است. مراحل محاسبه فولدچنج به طور کلی به شرح زیر است:
استخراج RNA و سنتز cDNA: ابتدا RNA از نمونه‌ها استخراج می‌شود و سپس به cDNA تبدیل می‌شود.

اندازه‌گیری سطح بیان ژن با استفاده از qPCR: بیان ژن مورد نظر و ژن مرجع (ژن‌هایی که سطح بیان آنها ثابت است، مانند GAPDH) در هر دو نمونه اندازه‌گیری می‌شود. این کار با استفاده از روش qPCR انجام می‌شود.

محاسبه میانگین Ct: مقدار Ct (چرخه‌ی آستانه) برای هر نمونه و هر ژن به دست می‌آید. بهتر است میانگین Ct چندین تکرار محاسبه شود تا دقت افزایش یابد.

محاسبه ΔCt (Delta Ct): با کم کردن مقدار Ct ژن مرجع از مقدار Ct ژن مورد نظر به دست می‌آید.

$$\Delta Ct = Ct_{\text{target}} - Ct_{\text{reference}}$$

محاسبه $\Delta\Delta Ct$ (Delta Delta Ct): با کم کردن ΔCt کنترل از ΔCt نمونه به دست می‌آید.

$$\Delta\Delta Ct = \Delta Ct_{\text{sample}} - \Delta Ct_{\text{control}}$$

محاسبه فولدچنج: فولدچنج با استفاده از رابطه‌ی زیر محاسبه می‌شود: $\text{Fold Change} = 2^{-\Delta\Delta Ct}$

در این معادله، اگر $\Delta\Delta Ct$ منفی باشد، فولدچنج بزرگتر از ۱ خواهد بود که نشان‌دهنده افزایش بیان ژن در نمونه مورد نظر است. اگر $\Delta\Delta Ct$ مثبت باشد، فولدچنج کمتر از ۱ خواهد بود که نشان‌دهنده کاهش بیان ژن در نمونه مورد نظر است (۲۲).

پس از استخراج RNA با خلوص و غلظت بسیار بالا از تمامی نمونه‌های مورد مطالعه مراحل سنتز cDNA طبق پروتکل شرکت سازنده انجام گرفت و سپس cDNA سنتز شده جهت انجام واکنش رونویسی معکوس مورد استفاده قرار گرفت. ابتدا پرایمرهای طراحی شده، مربوط به ژن‌ها مورد بررسی قرار گرفت، و سپس بررسی بیان ژن‌ها با استفاده از روش کمی q-RT PCR انجام پذیرفت. توالی آغازگرها در جدول ۲ نشان داده شده است. برای کنترل داخلی از mRNA β -actin استفاده شد. پروتکل چرخه حرارتی مورد استفاده Real time-PCR شامل: 95° به مدت ۱۰ دقیقه، 95° به مدت ۱۰ ثانیه، و به دنبال آن 45° سیکل 10° ثانیه‌ای در حرارت 60° درجه بود. نسبت بیان ژن‌های مورد بررسی در این مطالعه، با روش مقایسه‌ای چرخه آستانه (Threshold Cycle: CT) مورد ارزیابی قرار گرفتند. در این پژوهش از برای بررسی تفاوت میان بیان ژن گروه‌های مختلف از روش‌های نوین بیوانفورماتیک استفاده شده است. بدین منظور جهت تجزیه و تحلیل داده‌های به دست آمده در گروه‌ها، از روش فولدچنج و محاسبه اختلاف داده‌ها با ژن مرجع تجزیه و تحلیل انجام شده است.

محاسبه Fold Change: برای بیان ژن یک روش رایج برای مقایسه سطح بیان ژن در شرایط مختلف (مانند قبل و بعد از یک درمان) است. فولدچنج نشان می‌دهد که سطح بیان ژن در یک نمونه چگونه نسبت

جدول ۱- پروتکل تمرین هوازی

Table 1: Aerobic exercise protocol

Week	Speed (m/min)	Duration (min)
1	20	20
2	20	25
3	25	25
4	25	30

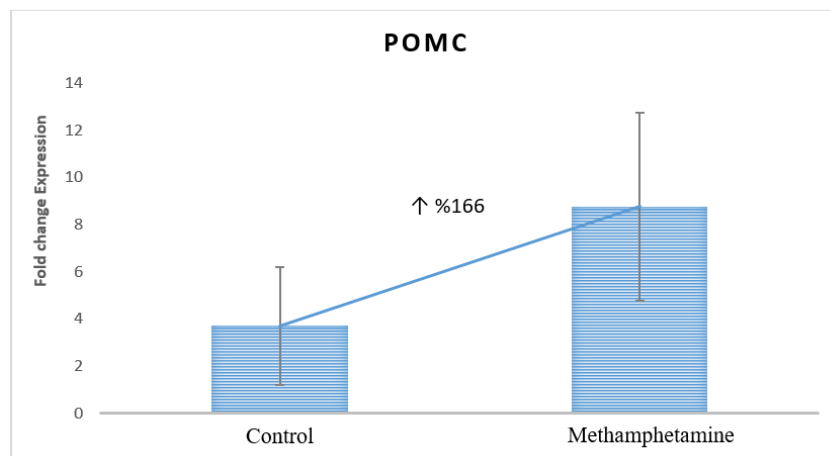
جدول ۲- الگوی پرایمر ژن‌ها

Gene Name	Primer Sequence (5'→3')	Product Size (bp)
POMC	F: CCATAGATGTGTGGAGCTGGTG R: CATCTCCGTTGCCAGGAAACAC	200
MC4R	F: CCTGAGGTGTTTGTGACTCTGG R: AACGCTCACCAGCATATCAGCC	380
GAPDH (Housekeeping)	F: AAAGTTGTCATGGATGACC R: CATGGAGAAGGCTGGGG	195

نتایج

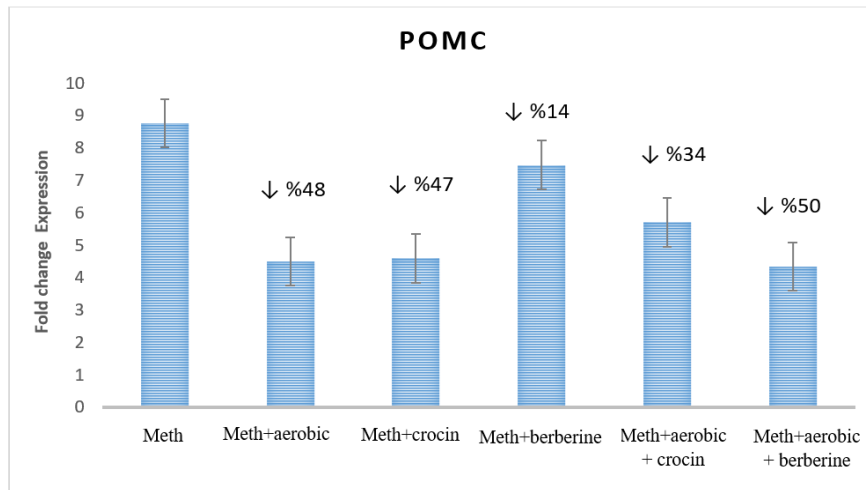
موجب افزایش ۴۲ درصدی این ژن نسبت به گروه کنترل سالم شده است (نمودار ۳). همچنین نتایج نشان داد بربرین هیدروکلراید نسبت به کروسین کاهش بیشتری در بیان ژن MC4R داشتند (به ترتیب ۴۷ درصد در برابر ۲۹ درصد کاهش). میزان کاهش این ژن در گروه تمرین هوازی نیز تقریباً به اندازه گروه کروسین بود (۲۸ درصد کاهش). در گروه‌های ترکیبی عصاره‌های گیاهی و تمرین، نتایج بطور شگفت‌آوری عکس ژن POMC بود و کاهش بیشتر در گروه ترکیب کروسین و تمرین هوازی نسبت به بربرین هیدروکلراید و تمرین هوازی نشان داده شد (به ترتیب ۷۶ درصد در برابر ۳۲ درصد کاهش) (نمودار ۴).

بررسی بیان ژن پروپیوملانوکورتین نشان داد القاء مت‌آمفتامین (شیشه) موجب افزایش ۱۶۶ درصدی این ژن نسبت به گروه کنترل سالم شده است (نمودار ۱). نتایج نشان داد کروسین زعفران نسبت به بربرین هیدروکلراید زرشک کوهی کاهش بیشتری در بیان ژن POMC داشتند (به ترتیب ۱۴ درصد در برابر ۴۷ درصد کاهش) تقریباً به اندازه گروه تمرین هوازی (۴۸٪ کاهش). در گروه‌های ترکیبی عصاره‌های گیاهی و تمرین، نتایج بطور شگفت‌آوری از کاهش بیشتر در گروه ترکیب زرشک کوهی و تمرین هوازی نسبت به کروسین و تمرین هوازی بود (به ترتیب ۵۰ درصد در برابر ۳۴ درصد کاهش) (نمودار ۲). در رابطه با بیان ژن MC4R، نتایج پژوهش حاضر الگویی مشابه ژن POMC نشان داد بطوریکه القاء مت‌آمفتامین (شیشه)



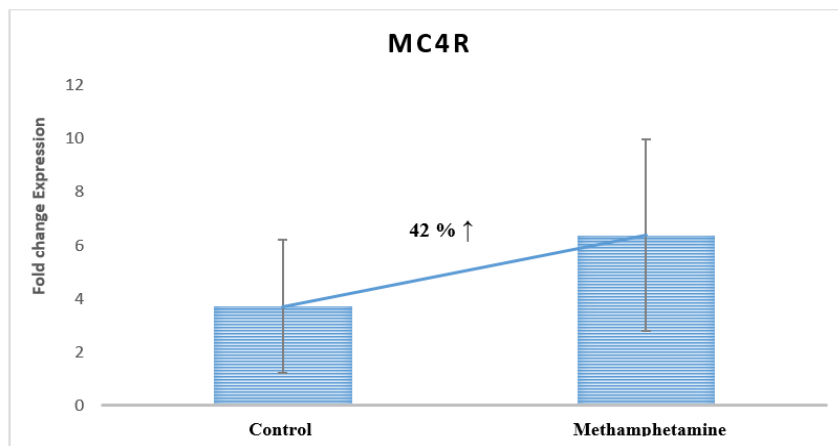
نمودار ۱- مقادیر بیان ژن POMC در گروه کنترل سالم و القاء شیشه

Fig. 1. POMC gene expression values in the healthy control and glass-induced groups



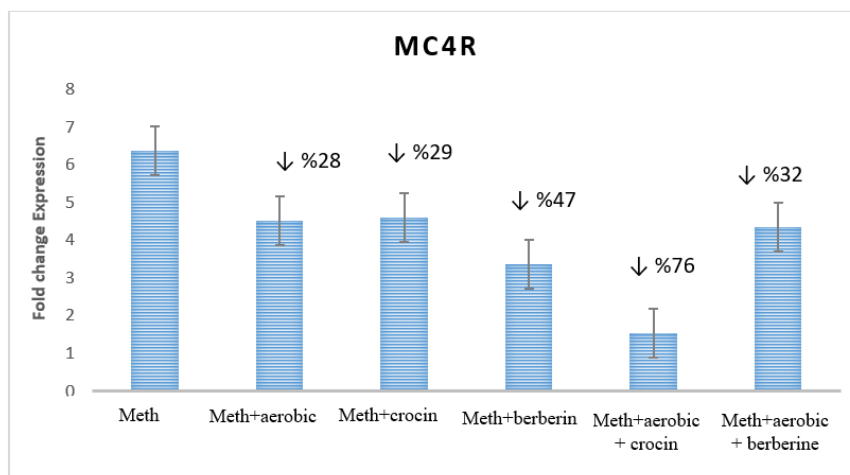
نمودار ۲- مقادیر بیان ژن POMC در گروه‌های مختلف

Fig. 2. POMC gene expression values in different groups



نمودار ۳- مقادیر بیان ژن MC4R در گروه کنترل سالم و القاء شیشه

Fig. 3. MC4R gene expression values in the healthy control and glass-induced groups



نمودار ۴- مقادیر بیان ژن MC4R در گروه‌های تمرین و سیلوسایبین

Fig. 4. MC4R gene expression values in the exercise and psilocybin groups

بحث

پژوهش حاضر نشان داد القاء مت‌آمفتامین موجب افزایش بیان ژن پروپیوملانوکورتین و گیرنده ملانوکورتین ۴ در موش‌های صحرایی ماده شده و زرشک کوهی و کلالة زعفران موجب کاهش بیان این ژن‌ها در هیپوتالاموس می‌شوند. همچنین بنظر می‌رسد ترکیب هردو مداخله موجب هم‌افزایی و بهبود بیشتر این ژن‌ها شده است. نتایج پژوهش حاضر در رابطه با افزایش هورمون‌های سیری ناشی باز مت‌آمفتامین، با بسیاری از مطالعات همسو می‌باشد. درین راستا، بیان شده است مت‌آمفتامین به عنوان یک داروی محرک قوی می‌تواند بر سطح و عملکرد هورمون‌های مرتبط با اشتها مانند لپتین و گرلین تأثیر بگذارد. لپتین و گرلین هورمون‌هایی هستند که نقش کلیدی در تنظیم احساس گرسنگی و سیری ایفا می‌کنند. مت‌آمفتامین می‌تواند باعث کاهش اشتها شود که ممکن است منجر به کاهش وزن و در نتیجه کاهش سلول‌های چربی بدن شود. کاهش سلول‌های چربی ممکن است سطح لپتین را کاهش دهد، هرچند تأثیر مستقیم مت‌آمفتامین بر ترشح لپتین به صورت کامل مشخص نیست. بعلاوه، مطالعات نشان داده‌اند که مت‌آمفتامین می‌تواند سطح گرلین را تحت تأثیر قرار دهد (۲۳). مت‌آمفتامین ممکن است باعث کاهش سطح گرلین شود، که منجر به کاهش احساس گرسنگی می‌شود. کاهش گرلین می‌تواند یکی از دلایلی باشد که مت‌آمفتامین باعث کاهش اشتها و کاهش وزن می‌شود. اثرات سرکوب‌کننده اشتها آفتمتامین در درجه اول با اثر آن بر هیپوتالاموس، ناحیه‌ای در مغز که مسئول تنظیم اشتها و سیری است، انجام می‌شود. به‌طور خاص، آفتمتامین بیان پروپیوملانوکورتین را افزایش می‌دهد و بیان نوروپپتید Y (NPY) را کاهش می‌دهد، که هر دو نوروپپتیدهای مهمی هستند که در تنظیم اشتها نقش دارند. آفتمتامین همچنین فعالیت

گیرنده‌های دوپامین را مهار می‌کند که به نوبه خود باعث افزایش بیان POMC و کاهش بیان NPY می‌شود (۲۴). اثرات سرکوب‌کننده اشتها آفتمتامین وابسته به دوز است و می‌تواند به طور قابل توجهی بین افراد متفاوت باشد. در دوزهای پایین، آفتمتامین می‌تواند اشتها را افزایش دهد، در حالی که در دوزهای بالاتر می‌تواند اشتها را سرکوب کند (۲۵). تصور می‌شود که این اثر دوگانه به دلیل توانایی دارو در تحریک آزادسازی پپتیدهای بی‌اشتها و پپتیدهای بی‌اشتهایی در مغز باشد (۲۶). یک مطالعه نشان داد که آفتمتامین بیان POMC را افزایش داده و بیان NPY را در هیپوتالاموس کاهش می‌دهد که منجر به سرکوب اشتها می‌شود. مطالعه دیگری نشان داد که آفتمتامین باعث کاهش وزن بدن و بهبود اشتها در بیماران مبتلا به بیماری التهابی روده می‌شود. در نتیجه، رابطه آفتمتامین با اشتها پیچیده و چندوجهی است. اثرات سرکوب‌کننده اشتها این دارو در درجه اول با اثر آن بر هیپوتالاموس انجام می‌شود، جایی که بیان پپتیدهای بی‌اشتها را افزایش می‌دهد و بیان پپتیدهای اشتها را کاهش می‌دهد (۲۷). بربرین هیدروکلراید ترکیبی مشتق شده از گیاه زرشک کوهی است که به دلیل اثرات بالقوه آن بر اشتها و مدیریت وزن مورد مطالعه قرار گرفته است. برخی تحقیقات نشان می‌دهد که بربرین هیدروکلراید ممکن است به تنظیم اشتها و کاهش وزن کمک کند، اگرچه شواهد متفاوت است. بربرین هیدروکلراید ممکن است به کاهش مصرف غذا و وزن بدن در افراد دارای اضافه وزن و چاق کمک کند. مکانیسم‌های پیشنهادی شامل بهبود حساسیت به انسولین، کاهش التهاب و تعدیل هورمون‌های روده است که بر اشتها تأثیر می‌گذارد (۲۰). مسیر گیرنده ملانوکورتین-۴ در مغز، که تحت تأثیر نورون‌های پرو-اپیوملانوکورتین قرار دارد، نقش

مطالعه بر روی اثرات هیستوپاتولوژیک عصاره گل زعفران در موش نشان داد که این عصاره باعث تغییرات رفتاری از جمله کمبود اشتها برای آب و غذا می‌شود (۲۹). مطالعه دیگری در مورد تأثیر مکمل زعفران بر سطح لپتین سرم در بیماران مبتلا به سندرم متابولیک، هیچ تأثیر قابل توجهی بر لپتین، هورمونی که اشتها و وزن بدن را تنظیم می‌کند، نشان نداد (۳۰). مطالعات بالینی بیشتری برای درک بهتر تأثیر بالقوه زعفران بر تنظیم اشتها مورد نیاز است. در رابطه با نتایج پژوهش حاضر در کاهش بیان ژن‌های POMC و MC4R ناشی از فعالیت بدنی هوازی که به عنوان ورزش قلبی عروقی نیز شناخته می‌شود، سازوکارهای متعددی را محققان مختلف گزارش می‌کنند که با نتایج پژوهش حاضر همسو هستند (۳۱، ۳۲). فعالیت بدنی هوازی کالری می‌سوزاند و بسته به شدت و مدت ورزش می‌تواند منجر به کسری انرژی قابل توجهی شوند. بدن ممکن است با افزایش اشتها برای جبران انرژی مصرف شده به این کمبود پاسخ دهد. بعلاوه در حین و بعد از فعالیت بدنی هوازی، نوسانات هورمونی رخ می‌دهد. به عنوان مثال، سطوح گرلین، هورمونی که گرسنگی را تحریک می‌کند، ممکن است بعد از ورزش افزایش یابد. به طور همزمان، سطح لپتین، هورمونی که سیگنال سیری را نشان می‌دهد، ممکن است به طور موقت کاهش یابد. این تغییرات هورمونی می‌تواند باعث احساس گرسنگی و میل به خوردن شود (۳۳). همچنین فعالیت بدنی هوازی شدید می‌تواند سطح گلوکز خون را کاهش دهد، به خصوص در افرادی که عادت به فعالیت بدنی منظم ندارند یا در حالت ناشتا ورزش می‌کنند. این افت قند خون می‌تواند گرسنگی را تحریک کند زیرا بدن به دنبال بازیابی سطح گلوکز خود است و کاهش انسولین موجب افزایش گرلین و کاهش لپتین می‌شود (۳۴). از طرفی، بسیاری از

مهمی در تنظیم اشتها و وزن بدن دارد (۳). مسیر POMC-MC4R نقش مهمی در تنظیم اشتها و وزن بدن دارد. نورون‌های POMC در هیپوتالاموس POMC را به هورمون هورمون محرک ملانوسیت آلفا پردازش می‌کنند، که سپس روی نورون‌های بیان‌کننده MC4R برای کاهش مصرف غذا عمل می‌کند. اختلال عملکرد ژن‌ها در این مسیر، مانند کمبود POMC، می‌تواند منجر به چاقی ژنتیکی نادری شود که با هیپرفازی (گرسنگی سیری‌ناپذیر) و چاقی مشخص می‌شود. برخی از مطالعات نشان داده‌اند که بربرین هیدروکلراید ممکن است به کاهش مصرف غذا و وزن بدن در افراد دارای اضافه وزن و چاق کمک کند. مکانیسم‌های پیشنهادی شامل بهبود حساسیت به انسولین، کاهش التهاب و تعدیل هورمون‌های روده است که بر اشتها تأثیر می‌گذارد (۲۸). اگرچه بربرین نمی‌تواند به راحتی از سد خونی مغزی عبور کند، مطالعات نشان داده‌اند که تجویز حاد بربرین به صورت داخل صفاقی یا خوراکی منجر به افزایش سطح سروتونین در مغز می‌شود. سروتونین مغز مصرف غذا را مهار می‌کند، درحالی‌که کاهش سروتونین مغز باعث پرخوری و افزایش وزن می‌شود (۲۸). بعلاوه، شواهد در مورد اثرات زعفران بر اشتها متفاوت است. در حالی که طب سنتی نشان می‌دهد که زعفران ممکن است دارای خواص کاهش اشتها باشد، تحقیقات محدود مدرن به طور مداوم این ادعا را تایید نمی‌کند. کروسین، یک ترکیب کاروتنوئید طبیعی مشتق شده از زعفران، دارای مزایای بالقوه برای سلامت قلب و عروق است و اثرات آنتی-اکسیدانی بر قلب دارد. کروسین می‌تواند عملکرد قلب را با کاهش التهاب و استرس اکسیداتیو و همچنین بهبود تغییرات هیستوپاتولوژیک از جمله نکروز سلولی میوکارده، خون‌ریزی، هیپرتروفی و انفیلتراسیون سلولی التهابی بهبود بخشد (۱۹). با این حال، یک

مطالعات نشان می‌دهند که فعالیت بدنی هوازی می‌تواند بلافاصله پس از جلسه تمرین به طور موقت اشتها را سرکوب کند. این سرکوب اغلب به تغییرات هورمونی مانند افزایش سطح پپتید YY و پپتید شبه گلوکاگون ۱ (GLP-1) نسبت داده می‌شود که با کاهش گرسنگی مرتبط است. تمرینات هوازی با شدت بیشتر ممکن است منجر به سرکوب بیشتر اشتها در مقایسه با تمرینات با شدت کمتر شود (۳۵). با این حال، شدت و مدت زمان دقیق مورد نیاز برای سرکوب اشتها می‌تواند بین افراد متفاوت باشد. فعالیت بدنی هوازی منظم با مدیریت وزن مرتبط است و ممکن است در طولانی مدت به تنظیم اشتها کمک کند. این می‌تواند به تعادل انرژی منفی کمک کند (کالری سوزانده شده بیشتر از مصرف شده)، که برای کاهش وزن یا حفظ وزن بسیار مهم است. فعالیت بدنی هوازی می‌تواند حساسیت به انسولین را بهبود بخشد و توانایی بدن را برای استفاده از چربی به عنوان منبع انرژی افزایش دهد. این سازگاری‌های متابولیک می‌تواند با تثبیت سطح قند خون و کاهش هوس روی تنظیم اشتها تأثیر بگذارند. تحقیقات نشان می‌دهد که اثرات ورزش هوازی بر اشتها ممکن است بین مردان و زنان متفاوت باشد. در برخی از مطالعات، زنان پس از ورزش نسبت به مردان کاهش اشتها بارزتری را تجربه می‌کنند. افراد با سطوح آمادگی جسمانی بالاتر یا ترکیبات بدنی متفاوت (مثلاً لاغر در مقابل اضافه وزن) ممکن است از نظر تنظیم اشتها به تمرینات هوازی واکنش متفاوتی نشان دهند. فعالیت بدنی هوازی به طور مثبت بر خلق و خو تأثیر می‌گذارد و استرس را کاهش می‌دهد، که می‌تواند به طور غیرمستقیم بر تنظیم اشتها تأثیر بگذارد. بهبود خلق و خو و کاهش سطح استرس ممکن است منجر به کنترل بهتر اشتها و کاهش خوردن احساسی شود. برخی از مطالعات نشان می‌دهد که افراد ممکن است

کالری سوزانده شده در طول ورزش را با مصرف بیشتر مواد غذایی پس از آن جبران کنند، که می‌تواند کمبود کالری مورد نظر برای کاهش وزن را خنثی کند. زمان‌بندی و ترکیب وعده‌های غذایی بعد از ورزش می‌تواند بر نحوه تأثیر ورزش بر اشتها تأثیر بگذارد. در نتیجه، در حالی که ورزش هوازی به طور کلی بلافاصله پس از ورزش به دلیل تغییرات هورمونی و اثرات متابولیک، اشتها را سرکوب می‌کند، پاسخ‌های فردی می‌تواند متفاوت باشد. برای مدیریت وزن و فواید کلی سلامت، ترکیب ورزش هوازی منظم با عادات غذایی آگاهانه توصیه می‌شود. مطالعات نشان داده‌اند که فعالیت بدنی هوازی می‌تواند تولید POMC را افزایش دهد. این تولید افزایشی می‌تواند به کنترل اشتها و تنظیم وزن بدن کمک کند به خصوص افزایش در سطح بتا-اندورفین که باعث کاهش اشتها و افزایش حس رضایت می‌شود. تحقیقات نشان داده‌اند که وجود نسخه‌های متفاوت MC4R و همچنین تأثیرات مختلف توالی‌های ژنی آن می‌تواند تأثیرات متفاوتی بر روی پاسخ به فعالیت بدنی و تنظیمات متابولیکی داشته باشد (۳۶).

نتیجه‌گیری

متمم‌فتمین موجب افزایش بیان ژن‌های POMC و MC4R در موش‌های صحرایی ماده شده و زرشک کوهی و کلاله زعفران موجب کاهش بیان این ژن‌ها در هیپوتالاموس می‌شوند. همچنین به نظر می‌رسد ترکیب هردو مداخله موجب هم افزایی و بهبود بیشتر این ژن‌ها شده است.

تقدیر و تشکر

تیم حاضر نهایت تشکر و قدردانی خود را از آزمایشگاه فیزیولوژی ورزشی حیوانات دانشگاه آزاد اسلامی واحد شاهرود ابراز می‌کند.

knockout mouse. *FASEB J.* 2009;23(2): 642.

10. Ribeiro FM, Silva MA, Lyssa V, Marques G, Lima HK, Franco OL, Petriz B. The molecular signaling of exercise and obesity in the microbiota-gut-brain axis. *Front Endocrinol.* 2022;13:927170.

11. Yang LJ, He JB, Jiang Y, Li J, Zhou ZW, Zhang C, et al. Berberine hydrochloride inhibits migration ability via increasing inducible NO synthase and peroxynitrite in HTR-8/SVneo cells. *J Ethnopharmacol.* 2023;305:116087.

12. Och A, Podgórski R, Nowak R. Biological activity of berberine—a summary update. *Toxins.* 2020;12(11):713.

13. Han M, Liu Y, Zhang T, Li D, Jiang Q, Zuraini Z. Effect of berberine hydrochloride treatment on transcriptomic response in gill tissue of *Charybdis japonica* infected with *Aeromonas hydrophila*. *Front Mar Sci.* 2021;8:754588.

14. Lee YS, Kim WS, Kim KH, Yoon MJ, Cho HJ, Shen Y, et al. Berberine, a natural plant product, activates AMP-activated protein kinase with beneficial metabolic effects in diabetic and insulin-resistant states. *Diabetes.* 2006;55(8):2256-64.

15. Luo Y, Yu P, Zhao J, Guo Q, Fan B, Diao Y, et al. Inhibitory effect of crocin against gastric carcinoma via regulating TPM4 gene. *Onco Targets Ther.* 2021:111-22.

16. Algardaby MM. Crocin prevents metabolic syndrome in rats via enhancing PPAR-gamma and AMPK. *Saudi J Biol Sci.* 2020;27(5):1310-6.

17. El Tabaa MM, El Tabaa MM, Anis A, Elgharabawy RM, El-Borai NB. GLP-1 mediates the neuroprotective action of crocin against cigarette smoking-induced cognitive disorders via suppressing HMGB1-RAGE/TLR4-NF-κB pathway. *Int Immunopharmacol.* 2022;110:108995.

18. Tokunaga I, Kubo S-i, Ishigami A, Gotohda T, Kitamura O. Changes in renal

منابع

1. Baldini G, Phelan KD. The melanocortin pathway and control of appetite-progress and therapeutic implications. *J Endocrinol.* 2019;241(1):R1-R33.
2. Huvenne H, Dubern B, Clément K, Poitou C. Rare genetic forms of obesity: clinical approach and current treatments in 2016. *Obes Facts.* 2016;9(3):158-173.
3. Mohammadi F, Younesian A, Zia-ul-Haq SJ. The effect of 8 weeks of endurance training with stevia supplementation on the expression of genes (POMC and MC4R) involved in hypothalamic axis metabolism in obese male wistar rats. *Middle East J Disabil Stud.* 2023;13(0):8.
4. Zuloaga DG, Jacobskind JS, Raber J. Methamphetamine and the hypothalamic-pituitary-adrenal axis. *Front Neurosci.* 2015; 9:178.
5. Dunigan AI, Roseberry AG. Actions of feeding-related peptides on the mesolimbic dopamine system in regulation of natural and drug rewards. *Addict Neurosci.* 2022; 2:100011.
6. Chen Y. Regulation of food intake and the development of anti-obesity drugs. *Drug Discov Ther.* 2016;10(2):62-73.
7. Landry T, Shookster D, Chaves A, Free K, Nguyen T, Huang H. Energy status differentially modifies feeding behavior and POMCARC neuron activity after acute treadmill exercise in untrained mice. *Front Endocrinol.* 2021;12:705267.
8. Fatima MT, Ahmed I, Fakhro KA, Akil ASAS. Melanocortin-4 receptor complexity in energy homeostasis, obesity and drug development strategies. *Diabetes Obes Metab.* 2022;24(4):583-98.
9. Haskell-Luevano C, Schaub JW, Andreasen A, Haskell KR, Moore MC, Koerper LM, et al. Voluntary exercise prevents the obese and diabetic metabolic syndrome of the melanocortin-4 receptor

- has the bidirectional effects on appetite in Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*). *Fish Physiol Biochem*. 2018;44:411-422.
27. Kobeissy FH, Jeung JA, Warren MW, Geier JE, Gold MS. Preclinical Study: Changes in leptin, ghrelin, growth hormone and Neuropeptide-Y after an acute model of MDMA and methamphetamine exposure in rats. *Addict Biol*. 2008;13(1):15-25.
28. Uwaifo F, John-Ohimai F. Body weight, organ weight, and appetite evaluation of adult albino Wistar rats treated with berberine. *Int J Health Allied Sci*. 2020; 9(4):329.
29. Abd AA, Salah BAAM, Al-Azow NS. Histopathological Effects Of Ethanolic Extract of Saffron Flowers *Crocus sativus* L. On Stomach And Small Intestine of White Mice Females *Mus musculus*. *Tikrit J Pure Sci*. 2018;23(4):10-16.
30. Zilae M, Soukhtanloo M, Kermani T, Ghayour MM, Alidade M, Shemshian M, et al. Oral: effect of saffronon serum leptin levels in patients with metabolic syndrome, a double-binded, randomized and placebo controlled trial study. *J Aerosp Mech*. 2014; 1(1):48.
31. Rodrigues KCDC, Pereira RM, Campos TDD, Moura RFD, Silva ASD, Cintra DE, et al. The role of physical exercise to improve the browning of white adipose tissue via POMC neurons. *Front Cell Neurosci*. 2018;12:88.
32. Benite-Ribeiro SA, Putt DA, Santos JM. The effect of physical exercise on orexigenic and anorexigenic peptides and its role on long-term feeding control. *Med Hypotheses*. 2016;93:30-33.
33. Smith JK .Exercise, obesity and CNS control of metabolic homeostasis: a review. *Front Physiol*. 2018;9:339961.
34. Shojaei M. A systematic review of the relationship between sex hormones and leptin and insulin resistance in men. *Eurasian J Chem Med Pet Res*. 2024; 3(2):443-453.
- function and oxidative damage in methamphetamine-treated rat. *Leg med*. 2006;8(1):16-21.
19. Norallahpour S, Abbassi dalooi A , Ziaolhagh Sj, Barari A. The Protective Effects of Endurance Training and Crocin on Tissue Changes of the Cerebral Cortex in an Animal Model of Methamphetamine Addiction. *Res Addict*. 2023;17(68):181-200.
20. Mortezaei Z, Rajabi S, Ziaolhagh SJ . The Effect of Aerobic Training and Berberine Supplementation on the Expression of Dopamine 4 Receptor and CREB Gene in Heart Tissue of Female Rats During Withdrawal from Methamphetamine. *J Arak Univ Med Sci*. 2023;26(3):18-24.
21. Sajadi A, Amiri I, Gharebaghi A, Komaki A, Asadbeigi M, Shahidi S, et al. Treadmill exercise alters ecstasy-induced long-term potentiation disruption in the hippocampus of male rats. *Metabol Brain Disease*. 2017;32:1603-1607.
22. Adler M, Alon U. Fold-change detection in biological systems. *Curr Opin Syst Biol*. 2018;8:81-89.
23. Shevchouk OT, Tufvesson-Alm M, Jerlhag E. An overview of appetite-regulatory peptides in addiction processes; from bench to bed side. *Front Neurosci*. 2021;15:774050.
24. Hsieh YS, Chen PN, Yu CH, Kuo DY. Central dopamine action modulates neuropeptide-controlled appetite via the hypothalamic PI3K/NF- κ B-dependent mechanism. *Genes Brain Behav*. 2014; 13(8):784-793.
25. Sustkova-Fiserova M, Charalambous C, Khryakova A, Certilina A, Lapka M, Šlamberová R. The role of ghrelin/GHS-R1A signaling in nonalcohol drug addictions. *Int J Mol Sci*. 2022;23(2):761.
26. Zhang X, Gao Y, Tang N, Qi J, Wu Y, Hao J, et al. One evidence of cocaine-and amphetamine-regulated transcript (CART)

36. Halliday TM, White MH, Hild AK, Conroy MB, Melanson EL, Cornier MA. Appetite and energy intake regulation in response to acute exercise. *Med Sci Sports Exerc.* 2021;53(10):2173.

35. Beaulieu K, Blundell JE, van Baak MA, Battista F, Busetto L, Carraca EV, et al. Effect of exercise training interventions on energy intake and appetite control in adults with overweight or obesity: A systematic review and meta-analysis. *Obes Rev.* 2021; 22:e13251.