



## تأثیر مکمل یاری عصاره سیر و استویا به همراه فعالیت استقامتی بر بیان ژن سروتونین و گیرنده سروتونین در بافت مغز رت‌های نر ویستار چاق

مهسا طالب‌نسی: گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد علی آباد کتول، دانشگاه آزاد اسلامی، علی آباد کتول، ایران  
رضا رضایی شیرازی: گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد علی آباد کتول، دانشگاه آزاد اسلامی، علی آباد کتول، ایران (\* نویسنده مسئول) [Dr.rezaee@aliabadiu.ac.ir](mailto:Dr.rezaee@aliabadiu.ac.ir)  
سید جواد ضیاءالحق: گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد شاهرود، دانشگاه آزاد اسلامی، شاهرود، ایران  
حبیب اصغری‌پور: گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد علی آباد کتول، دانشگاه آزاد اسلامی، علی آباد کتول، ایران

### چکیده

#### کلیدواژه‌ها

تمرین،  
سیر،  
استویا،  
سروتونین،  
گیرنده سروتونین،  
چاقی

**زمینه و هدف:** چاقی سبب اختلالات عروقی در بافت‌های مختلف از قبیل قلب و سیستم عصبی مرکزی می‌شود. لذا هدف از این انجام تحقیق حاضر تعیین تأثیر تمرینات استقامتی با مصرف مکمل سیر و استویا بر بیان ژن سروتونین و گیرنده سروتونین در بافت مغز موش‌های نر ویستار چاق بود.

**روش کار:** برای انجام تحقیق تجربی و کاربردی حاضر ۳۵ موش با وزن ۱۹۰ تا ۲۲۰ گرم و سن ۸ هفته با رژیم غذایی پرچرب (۲۴ گرم چربی، ۲۴ گرم پروتئین و ۴۱ گرم کربوهیدرات در هر ۱۰۰ گرم) تغذیه شده و به هفت گروه شم، مکمل استویا، مکمل سیر، تمرین استقامتی، مکمل استویا + تمرین استقامتی، مکمل سیر + تمرین استقامتی و کنترل سالم تقسیم شدند. گروه‌های تمرینی به مدت ۵۰-۱۵ دقیقه تمرینات استقامتی افزایشی را با سرعت (m.s) ۱۵-۲۵، پنج جلسه در هفته انجام دادند. مکمل‌های سیر و استویا با دوز (mg/kg) ۲۵۰ به رژیم غذایی گروه‌های مکمل اضافه شد.

**یافته‌ها:** نتایج نشان داد سطح سروتونین در گروه تمرین به‌طور معنی‌داری بالاتر از سایر گروه‌ها بود ( $P > 0/05$ ). بین گروه‌های استویا با سیر ( $P = 0/996$ )، شم با استویا ( $P = 0/856$ )، سیر ( $P = 0/994$ )، تمرین استقامتی + استویا ( $P = 0/303$ ) و تمرین استقامتی + سیر ( $P = 0/094$ ) تفاوت معناداری وجود نداشت. همچنین مشخص شد سطح گیرنده سروتونین در گروه تمرین به‌طور معنی‌داری بیشتر از سایر گروه‌ها ( $P > 0/05$ )، و در گروه‌های استویا ( $P = 0/094$ ) و تمرین استقامتی با سیر بیشتر از گروه سیر بود ( $P = 0/006$ ).

**نتیجه‌گیری:** نتایج تایید کننده تأثیر تمرین استقامتی + مکمل استویا بر پروتئین کنترل اشتها می‌باشد.

**تعارض منافع:** گزارش نشده است.

**منبع حمایت‌کننده:** حامی مالی ندارد.

شیوه استناد به این مقاله:

Taleshi M, Rezaeeshirazi R, Ziaalghaj SJ, Asgharpour H. Supplemental Effect of Garlic and Stevia Extract along with Endurance Activity on Serotonin and Serotonin-Receptor Gene Expression in the Brain Tissue of Male Wistar Rats Obesity. Razi J Med Sci. 2023;29(12): 89-99.

\*انتشار این مقاله به‌صورت دسترسی آزاد مطابق با **CC BY-NC-SA 3.0** صورت گرفته است.



Original Article

## Supplemental Effect of Garlic and Stevia Extract along with Endurance Activity on Serotonin and Serotonin-Receptor Gene Expression in the Brain Tissue of Male Wistar Rats Obesity

**Mahsa Taleshi:** Department of Physical Education and Sport Science, Aliabad Katoul Branch, Islamic Azad University, Aliabad Katoul, Iran

**Reza Rezaeeshirazi:** Department of Physical Education and Sport Science, Aliabad Katoul Branch, Islamic Azad University, Aliabad Katoul, Iran (\* Corresponding author) [Dr.rezaee@aliabadiu.ac.ir](mailto:Dr.rezaee@aliabadiu.ac.ir)

**Seyed Javad Ziaalhigh:** Department of Physical Education and Sport Science, Sahrood Branch, Islamic Azad University, Shahrood, Iran

**Habib Asgharpour:** Department of Physical Education and Sport Science, Aliabad Katoul Branch, Islamic Azad University, Aliabad Katoul, Iran

### Abstract

**Background & Aims:** Several studies have reported that obesity causes vascular disorders in all tissues such as the heart and even the central nervous system along with disorders in the function of the hypothalamus, in such a way that these disorders in the nervous system, especially in the hypothalamus as the center of homeostasis and control of satiety and hunger can cause a significant increase in weight at different ages and even in children. Recent studies have led researchers to the etiology of this global epidemic and have drawn their attention to the influence of genetics, environmental factors, social and behavioral factors. Appetite is a physiological response to eating food, and behavioral signals and energy fluctuations throughout the day regulate the appetite in the central nervous system. Among these, the monoamine neurotransmitter serotonin can cause the development and evolution of some behaviors related to appetite through the regulation of the interval between two meals and the role of this neurotransmitter in inducing satiety. On the other hand, some studies have shown that moderate and intense sports activity and even intense intermittent exercise led to an increase in serotonin levels, which can have an effect on the caloric intake of obese women. In addition, recently, the attention of sports science researchers has been drawn to the use of medicinal plants effective in fat metabolism. Among medicinal herbs, there has been a recent increase in interest in naturally sweet herbs such as stevia and garlic. The purpose of this research was to investigate the effect of endurance training with garlic and stevia supplementation on serotonin gene expression and serotonin receptor in the brain tissue of obese Wistar rats.

**Methods:** 35 obese male Wistar rats fed with a high-fat diet (24 grams of fat, 24 grams of protein and 41 grams of carbohydrates per 100 grams) were divided into seven groups, including: 1) Sham. 2) stevia supplement, 3) garlic supplement, 4) endurance exercise, 5) stevia supplement+endurance exercise, 6) garlic supplement+endurance exercise, and 7) healthy control. The training groups performed incremental endurance training for 15-50 minutes at a speed of 15-25 meters per minute, five sessions per week for eight weeks. Garlic and stevia supplements were added to the diet of the supplemented groups at a dose of 250 mg/kg. 48 hours after the last training session and in a state of 12 hours of fasting, the rats were anesthetized with ketamine (80 mg/kg) and xylosin (15 mg/kg) in a ratio of 3 to 1. Further, after ensuring complete anesthesia and painlessness, rats were perfused with 10 cc of 9% sodium chloride to drain the brain tissue from the blood. In order to extract the brain tissue, first the rats were completely restrained and after cutting the upper part of the skull, the brain tissue was carefully separated, and after weighing

### Keywords

Training,  
Garlic,  
Stevia,  
Serotonin,  
Serotonin-Receptor,  
Obesity

Received: 07/01/2023

Published: 04/03/2023

and washing, they were placed in special tissue preservation cryotypes and immediately cooled to -80 were transferred. The qReal Time PCR method was used to measure the gene expression levels of the variables in the brain tissue. One-way ANOVA with Tukey's post hoc test was used for the data analysis. All statistical methods were performed using SPSS version 26 software at a significance level of  $P < 0.05$ .

**Results:** Regarding serotonin, the results showed that there was no significant difference in serotonin gene expression level between the healthy control group and the sham group ( $P = 0.903$ ). Also, there was no significant difference between the sham group with stevia ( $P = 0.856$ ), garlic ( $P = 0.994$ ), endurance training+stevia ( $P = 0.303$ ) and endurance training+garlic ( $P = 0.094$ ). However, the results showed that the serotonin gene expression level of the endurance exercise group was significantly higher than that of the sham group ( $P = 0.000$ ). Another important result is that there was no significant difference between the stevia and garlic groups ( $P = 0.996$ ). However, adding endurance training to stevia had a significant effect on serotonin gene expression, so that the level of serotonin gene expression in the stevia+exercise group was significantly higher than the stevia group ( $P = 0.022$ ). Also, adding endurance training to garlic caused the level of serotonin gene expression in the garlic+exercise group to be significantly higher than the stevia ( $P = 0.005$ ) and garlic ( $P = 0.021$ ) groups. Finally, the expression level of serotonin gene in the exercise group was significantly higher than all groups ( $P < 0.05$ ).

Regarding the serotonin receptor, the results showed that the expression level of the serotonin receptor gene in the healthy control group is significantly higher than the sham group ( $P = 0.003$ ). Also, the level of serotonin receptor gene expression in stevia ( $P = 0.000$ ), exercise ( $P = 0.000$ ), exercise+garlic ( $P = 0.002$ ) groups was significantly higher than the sham group. From other important results, it can be stated that the level of serotonin receptor gene expression in the stevia group was significantly higher than that of the garlic group ( $P = 0.000$ ). Adding endurance exercise to stevia caused the serotonin receptor gene expression level to be significantly lower than the stevia group ( $P = 0.000$ ). But, adding endurance exercise to garlic caused the serotonin receptor gene expression level to be significantly higher than the garlic group ( $P = 0.006$ ). Finally, the expression level of the serotonin receptor gene in the exercise group was significantly higher than all groups ( $P < 0.05$ ).

**Conclusion:** It seems that aerobic exercise with stevia supplement with AMPK activation mechanism activates hormone-sensitive lipase, improves fat and sugar metabolism and increases the expression of metabolic proteins in the hypothalamus. Therefore, it seems that consumption of stevia and aerobic exercise have synergistic effects in modulating and increasing serotonin in the brain tissue of desert rats exposed to high-fat food. Therefore, it can be concluded that endurance training with stevia supplementation synergistically affects the appetite control protein. However, more studies are needed on the changes in serotonin and serotonin receptor levels following the exercise and supplements used in this study.

**Conflicts of interest:** None

**Funding:** None

#### Cite this article as:

Taleshi M, Rezaeeshirazi R, Ziaalghagh SJ, Asgharpour H. Supplemental Effect of Garlic and Stevia Extract along with Endurance Activity on Serotonin and Serotonin-Receptor Gene Expression in the Brain Tissue of Male Wistar Rats Obesity. *Razi J Med Sci.* 2023;29(12): 89-99.

\*This work is published under [CC BY-NC-SA 3.0 licence](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/3.0/).

## مقدمه

محققین گزارش نمودند که چاقی سبب اختلالات عروقی در بافت‌های مختلف مانند قلب و حتی سیستم عصبی مرکزی همراه با اختلالاتی در عملکرد هیپوتالاموس می‌شود، به گونه‌ای که این اختلالات در سیستم عصبی به ویژه در هیپوتالاموس به عنوان مرکز هموستاز و کنترل سیری و گرسنگی می‌تواند موجب افزایش قابل توجه وزن در سنین مختلف و حتی در کودکان گردد (۱،۲). در همین زمینه محققین با مطالعاتی بر روی دوقلوهای همسان به این نتیجه رسیده‌اند که بیان برخی از نورهورمون‌ها در سیستم عصبی مرکزی و روده موجب تفاوت‌هایی در کالری دریافتی و مصرفی می‌گردد و برخی از این ژن‌ها می‌توانند بر روی اشتها و تمایل به خوردن در افراد اثر داشته باشند. اما از آنجا که عدم تعادل بین کالری دریافتی و کالری مصرفی به اشتها و تمایل به خوردن وابسته است، به نظر می‌رسد این تفاوت‌ها در شیوع چاقی اثرگذار باشد (۳). علاوه بر این به نظر می‌رسد چاقی، باعث اختلال در عملکرد سیستم عصبی و رفتاری با تغییراتی در مورفولوژی بافت مغز مانند حجم و یکپارچگی ماده خاکستری و سفید می‌گردد (۴). زیرا اشتها و تمایل به خوردن یک پاسخ فیزیولوژیک برای خوردن غذا بوده و سیگنال‌های رفتاری و نوسانات انرژی در طول روز موجب تنظیم تمایل به خوردن در سیستم عصبی مرکزی می‌شوند. از این بین، مونوآمین نوروترانسمیتر سروتونین از طریق تنظیم فاصله بین دو وعده غذایی و نقش این نوروترانسمیتر در القاء سیری، می‌تواند موجب توسعه و تکامل برخی از رفتارهای مربوط به اشتها شود (۵). تعادل انرژی در بدن توسط هسته‌های هیپوتالاموسی و تحت تاثیر سیگنال‌های محیطی توسط نوروپپتیدها تنظیم می‌شوند. این نوروپپتیدها به سیستم سروتونرژیک که موجب تنظیم اشتها می‌شود متصل است؛ به گونه‌ای که برخی مطالعات، اثرات تعاملی نوروپپتید گاما و سروتونین را در مقدار غذای دریافتی موثر می‌دانند و گزارش کرده‌اند که آگونیست‌های سروتونین، اورکسین و نوروپپتید گاما با مهار گیرنده‌های این پروتئین‌ها سبب افزایش تمایل به خوردن غذا می‌شوند (۵). علاوه بر این محققین گزارش کرده‌اند که چاقی با ایجاد اختلال در نوروترانسمیترها

می‌تواند موجب بروز اضطراب در افراد چاق شود (۶). از طرف دیگر، مطالعات نشان داده‌اند که فعالیت ورزشی می‌تواند موجب مهار پروتئین‌های القاء گرسنگی و افزایش پپتید شبه گلوکاگون-۱ به عنوان هورمون القاء سیری شود (۷). این روند با تغییرات فیزیولوژیک در سیستم عصبی مرکزی می‌تواند منجر به کاهش اشتها در افراد چاق و دیابتی گردد (۸). در همین زمینه برخی مطالعات نشان داده‌اند که فعالیت ورزشی متوسط و شدید و حتی تناوبی شدید منجر به افزایش سطوح سروتونین شده که این امر می‌تواند در کالری دریافتی زنان چاق اثرگذار باشد (۹). یافته‌های مطالعات پیشین نیز نشان دهنده کاهش اشتها پس از فعالیت‌های ورزشی مداومی با شدت ۵۰ تا ۷۰ درصد ضربان قلب برای مدت هشت هفته تمرین می‌باشد (۱۰). با این حال بسیاری از محققین معتقدند که حتی در صورت انجام فعالیت ورزشی باید تعادل کالری دریافتی و کالری مصرفی برای سلامت این افراد رعایت شود. از این رو، اخیراً توجه محققین علوم ورزشی به استفاده از گیاهان دارویی موثر در متابولیسم چربی از جمله استویا جلب شده است. این گیاه از ایزوفلاون‌هایی تشکیل شده است که دارای اثرات آنتی‌اکسیدانی بوده و اثرات بالقوه‌ای در چربی‌سوزی دارد. در این راستا، مطالعات متعدد گزارش کرده‌اند که مصرف استویا می‌تواند موجب کاهش وزن شده و بر روی هورمون‌های وابسته به چاقی در مدل‌های حیوانی دیابتی و چاق اثر داشته باشد (۱۱،۱۲). همچنین، مطالعات نشان داده‌اند که مصرف استویا می‌تواند با مکانیسم تعدیل نسبت سروتونین-دوپامین به تنظیم مقدار کالری دریافتی و تنظیم متابولیسم گلوکز منجر شود (۱۱). علاوه بر استویا، اثرات تنظیمی متابولیکی از مسیر سیستم عصبی مرکزی در گیاهان دیگری نیز گزارش شده است، به عنوان مثال، سیر گیاهی یک ساله از خانواده گیاهان پیازی است که دارای اثرات آنتی‌اکسیدانی فراوانی می‌باشد. عصاره سیر به همراه رژیم غذایی پرچرب با افزایش تعداد گیرنده‌های بتا آدرنرژیک-۳ در بافت آدیپوز و بهبود نیم‌رخ چربی، سبب کاهش گیرنده لپتین، تعدیل بیان AgRP و NPY در بیماری عروقی القا شده در موش‌های صحرایی گردید (۱۳). علی‌رغم مطالب فوق، تاثیر این دو عصاره گیاهی برای

حاوی ۲۴ گرم چربی، ۲۴ گرم پروتئین و ۴۱ گرم کربوهیدرات در هر ۱۰۰ گرم بود، قرار گرفتند تا به وزن بالای ۳۱۰ گرم برسند. این نکته قابل ذکر است که بر اساس منابع علمی وزن بالای ۳۱۰ گرم در موش‌های صحرایی به معنی چاقی شناخته می‌شود (۱۴). سپس رت‌ها به‌طور تصادفی به هفت گروه کنترل سالم، شم، استویا، سیر، ورزش، استویا+ورزش، و سیر+ورزش تقسیم شدند. رت‌ها هم‌زمان تحت مکمل‌دهی عصاره سیر و استویا در حین رژیم غذایی (۲۵۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم) قرار گرفتند (۱۵).

سپس برای انجام پروتکل تمرین استقامتی رت‌ها جهت آشنایی با محیط تمرین ابتدا به مدت ۵ روز و هر روز به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۱۵-۳۰ متر در دقیقه و شیب صفر درصد بر روی تردمیل تمرین کردند. سپس رت‌ها با رعایت اصل اضافه بار، پنج روز اول هفته و به مدت ۸ هفته بر روی تردمیل تمرین کردند. هر جلسه تمرین نیز ابتدا با سرعت ۱۰ متر در دقیقه شروع شد و هر دو دقیقه، سه متر در دقیقه بر سرعت آن اضافه گردید. علاوه بر این، سرعت تردمیل به مدت سه دقیقه به منظور سرد کردن به آرامی کاهش پیدا کرد (۱۶). در ادامه گروه‌های تمرینی به مدت هشت هفته، پنج جلسه در هفته تمرینات استقامتی فزاینده را برای ۱۵ دقیقه در روز با سرعت ۱۵ متر بر دقیقه در هفته اول تا ۵۰ دقیقه در روز با سرعت ۲۵ متر بر دقیقه در هفته هشتم با شیب صفر درصد انجام دادند (۱۶، ۱۵). قابل ذکر است که در این تحقیق، رت‌ها با توجه به قدرت استقامتی خود تمرین کردند. به عبارت دیگر، هر زمان که دیگر نمی‌توانستند تمرین کنند به قفس بازگردانده می‌شدند.

در ادامه و ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین و در حالت ۱۲ ساعت ناشتایی، موش‌های صحرایی با کتامین (۸۰ mg/kg) و زایلوزین (۱۵ mg/kg) به نسبت ۳ به ۱ بی‌هوش شده و جهت تخلیه بافت مغز از خون موش‌های صحرایی به وسیله ۱۰ سی‌سی سدیم کلراید ۹ درصد پرفیوژ شدند؛ جهت استخراج بافت مغز، ابتدا موش‌های صحرایی کاملاً مهار شدند و پس از برش قسمت فوقانی مجموعه بافت مغز به دقت جداسازی شد

کاهش وزن مورد بررسی قرار نگرفته است و با توجه به علاقه روز افزون افراد چاق به استفاده از گیاهان دارویی و بدون عارضه برای کاهش وزن، به نظر می‌رسد یافتن گیاه دارویی که بتواند اثر مطلوبی را همراه با فعالیت ورزشی داشته باشد، اهمیت پیدا می‌کند. همچنین با توجه به شیوع روزافزون چاقی و اضافه وزن و مشکلات حرکتی، به نظر می‌رسد یافتن روش‌هایی که بتوانند در سریع‌ترین زمان ممکن موجب کاهش وزن گردند ضروری می‌باشد. بطوریکه تعامل تمرینات ورزشی و گیاهان دارویی مانند سیر و استویا بر سروتونین گیرنده سروتونین می‌تواند اطلاعات جدیدی برای محققین فراهم آورد. از این‌رو محقق در صدد پاسخگویی به این سوال است که آیا مکمل‌یاری عصاره سیر و استویا به همراه فعالیت استقامتی بر بیان ژن سروتونین و گیرنده سروتونین در بافت مغز رت‌های نر ویستار القا شده چاقی با رژیم غذای پرچرب تاثیر دارند؟

## روش کار

برای انجام تحقیق تجربی حاضر از بین رت‌های با وزن ۱۹۰ تا ۲۲۰ گرم و با میانگین سنی ۸ هفته در مرکز تحقیقات علوم اعصاب دانشگاه علوم پزشکی شاهرود، ۳۵ سر رت به عنوان نمونه آماری انتخاب و در قفس‌های پلی‌کربنات شفاف با قابلیت اتوکلاو در سالی با دمای ۲۰ تا ۲۴ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی حدود ۵۵ تا ۶۵ درصد قرار گرفتند و چرخه روش‌شنایی-تاریکی نیز هر ۱۲ ساعت به طور دقیق توسط تنظیم‌کننده الکترونیکی نور سالن نگهداری حیوانات آزمایشگاهی رعایت شد. همچنین برای جذب ادرار و مدفوع حیوانات و راحتی آنها از تراشه و بریده‌های چوب استریل استفاده شد. یک روز در میان شستشوی قفس‌ها انجام شد و تراشه‌های چوب نیز تعویض گردید. همچنین غذای مورد نیاز رت‌ها، به صورت نامحدود به صورت پلت در اختیار حیوانات قرار گرفت. آب مورد نیاز نیز به صورت آزاد در بطری‌های ۲۵۰ میلی‌لیتری ویژه حیوانات آزمایشگاهی تأمین شد. در ادامه پس از طی دوره سازگاری، رت‌ها تحت رژیم غذایی پرچرب که شامل ۴۵ درصد انرژی کل از چربی (مشتمل از روغن حیوانی)

نهایتاً از آمار توصیفی (میانگین و انحراف معیار)، و آزمون‌های شاپیروویلک جهت بررسی طبیعی بودن توزیع داده‌ها و تحلیل واریانس یک‌راهه همراه با آزمون تعقیبی توکیبا استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۶ در سطح معنی‌داری  $P < 0/05$  جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها استفاده شد.

### یافته‌ها

نتایج مربوط به متغیرهای تحقیق در جدول ۱ آمده است.

در خصوص سروتونین، نتایج تحلیل واریانس یک طرفه نشان داد که تفاوت معنی‌داری در سطوح سروتونین بین گروه‌های تحقیق وجود دارد ( $P=0/000$ ،  $F=16/658$ ،  $df=28$ ). در ادامه نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد که بین گروه کنترل سالم و گروه شم تفاوت معنی‌داری وجود ندارد ( $P = 0/903$ ). همچنین بین گروه شم با استویا ( $P = 0/856$ )، سیر ( $P = 0/994$ )، تمرین استقامتی + استویا ( $P = 0/303$ ) و تمرین استقامتی + سیر ( $P = 0/094$ ) تفاوت معنی‌داری وجود نداشت. با این حال، نتایج نشان داد که سطح بیان ژن سروتونین گروه ورزش استقامتی به طور معنی‌داری بالاتر از گروه شم بود ( $P = 0/000$ ). از نتایج مهم دیگر می‌توان بیان داشت که تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های استویا و سیر وجود نداشت ( $P = 0/996$ ). با این حال، اضافه کردن تمرین استقامتی به استویا بر روی بیان ژن سروتونین تاثیر معنی‌داری داشت، به طوری که سطح بیان ژن سروتونین در گروه استویا+ورزش به طور معنی‌داری بیشتر از گروه استویا بود ( $P = 0/022$ ). همچنین، اضافه کردن تمرین استقامتی به سیر باعث شد که سطح بیان ژن سروتونین در گروه سیر+ورزش به طور

و پس از توزین و شست و شو، در کرایوتیوپ‌های ویژه نگهداری بافت قرار داده شدند و بلافاصله به دمای  $-80^{\circ}\text{C}$  منتقل شدند. نمونه‌گیری از بافت قشر مخ جهت اندازه‌گیری سطوح بیان ژنی متغیرهای وابسته تحقیق به وسیله دستگاه Real Time PCR در میکروتیوپ‌های ویژه نگهداری بافت قرار گرفت تا اندازه‌گیری متغیرهای وابسته متعاقباً بر روی آنها انجام شود.

همچنین جهت استخراج RNA از بافت‌ها در همه گروه‌های مورد بررسی، طبق پروتکل شرکت سازنده (کیاژن، آلمان) انجام شد. برای اطمینان از کیفیت RNA، با استفاده از ژل آگارز الکتروفورز و با استفاده از خاصیت جذب نوری در طول موج  $260$  نانومتر با دستگاه پیکو دراپ شرکت سیگما (ساخت آمریکا) استفاده شد. علاوه بر این برای بررسی کیفیت RNA از فرمول  $(C (\mu\text{g}/\mu\text{l}) = A260 \times \epsilon \times d/1000)$  استفاده گردید.

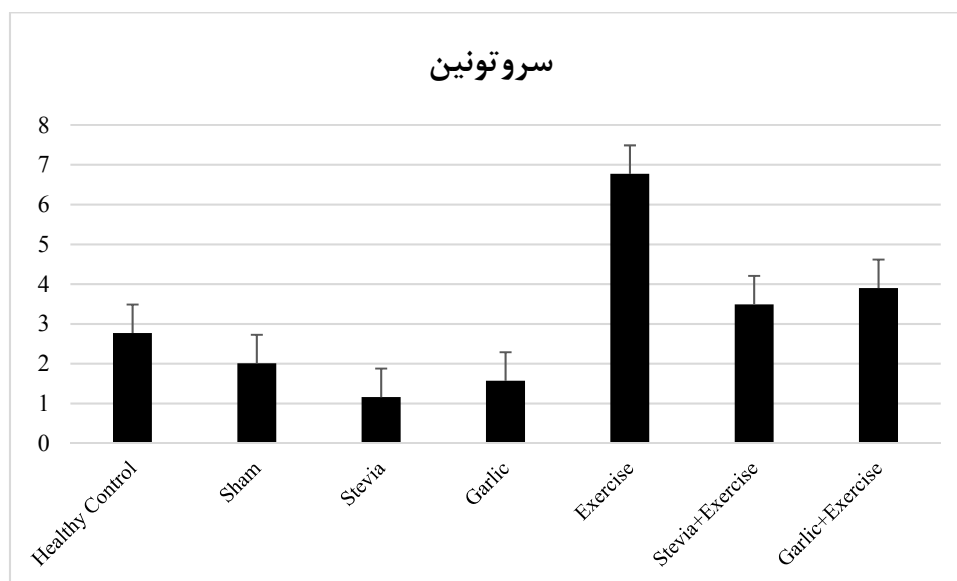
در ادامه پس از سنتز cDNA با استفاده از پروتکل شرکت سازنده در کیت فرمنتاز (K1621) و با استفاده از پرایمرهای طراحی شده (جدول ۱) بر اساس راهنمای ژن‌های سروتونین و گیرنده سروتونین در سایت PUBMED واکنش رونویسی معکوس انجام شد. برای تعیین کارایی و اختصاصی بودن پرایمرها از پیش پرایمرها با استفاده از نرم افزار موجود در سایت NCBI ارزیابی گردید، همچنین جهت اندازه‌گیری سطوح بیان ژنی متغیرهای تحقیق با استفاده از ژن کنترل داخلی بتا ۲ میوگلوبولین (B2m) استفاده شد و پس از اطمینان از اتمام کار دستگاه qReal Time PCR و پس از رسیدن نمونه‌ها به آستانه بیان (Cycle Treshold) جهت کمی سازی نسبت ژن مورد نظر به ژن مرجع از فرمول  $2^{-\Delta\Delta\text{CT}}$  استفاده شد.

جدول ۱- میانگین و انحراف استاندارد متغیرهای سروتونین و گیرنده سروتونین در گروه‌های تحقیق

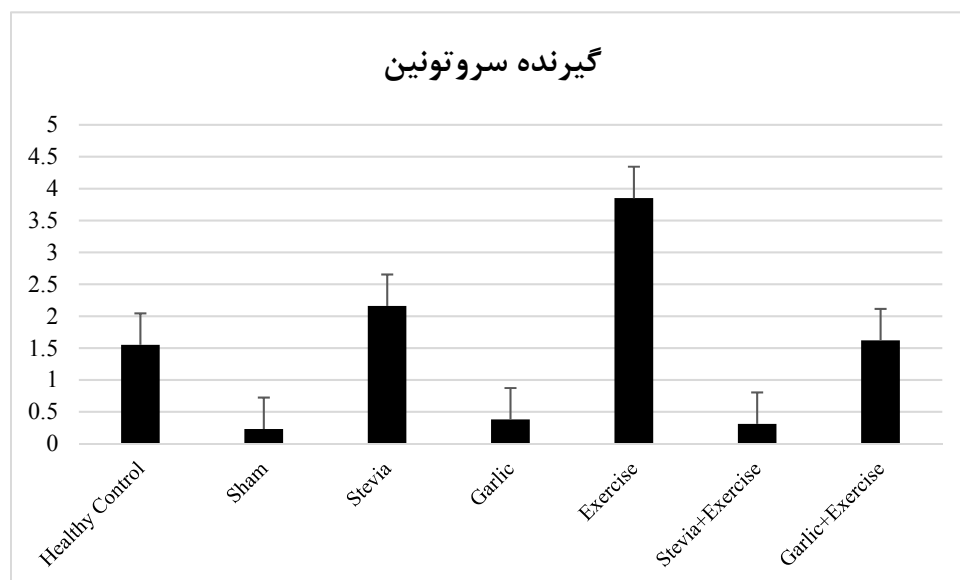
سروتونین	میانگین	کنترل سالم	شم	استویا	سیر	ورزش	استویا+ورزش	سیر+ورزش
انحراف استاندارد	۲/۷۷	۲/۰۱	۱/۱۶	۱/۵۷	۶/۷۷	۲/۴۹	۳/۹۰	۰/۶۶
گیرنده سروتونین	۱/۵۵	۰/۲۳	۲/۱۶	۰/۳۸	۳/۸۵	۰/۳۱	۱/۶۲	۰/۳۶
انحراف استاندارد	۰/۳۹	۰/۰۵	۰/۸۵	۰/۰۹	۰/۷۴	۰/۱۹	۰/۳۶	۰/۳۶

همچنین نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد که سطح بیان ژن گیرنده سروتونین در گروه کنترل سالم به طور معنی داری بیشتر از گروه شام است ( $P = 0/003$ ). همچنین، سطح بیان ژن گیرنده سروتونین در گروه‌های استویا ( $P = 0/000$ )، ورزش ( $P = 0/000$ )، ورزش+سیر ( $P = 0/002$ ) به طور معنی داری بیشتر از گروه شام است. از نتایج مهم دیگر می‌توان بیان داشت که سطح بیان ژن گیرنده سروتونین در گروه استویا به طور معنی

معنی داری بیشتر از گروه‌های استویا ( $P = 0/005$ ) و سیر ( $P = 0/021$ ) بود. بین دو گروه تفاوت معنی داری وجود نداشت ( $P = 0/995$ ). در نهایت، سطح بیان ژن سروتونین گروه ورزش به طور معنی داری از تمامی گروه‌ها بالاتر بود ( $P < 0/05$ ) (شکل ۱). یافته دیگر تحقیق حاضر نشان داد در میزان سطوح گیرنده سروتونین بین گروه‌های تحقیق تفاوت معنی داری وجود دارد ( $F=36/721$ ,  $df=28$ ,  $P=0/000$ ).



شکل ۱- میانگین و انحراف استاندارد سطح بیان ژن سروتونین در گروه‌های تحقیق



شکل ۲- میانگین و انحراف استاندارد سطح بیان ژن گیرنده سروتونین در گروه‌های تحقیق

عملکرد نوروپپتیدهایی که بر متابولیسم تأثیر می‌گذارند به نوع تمرین ورزشی نیز بستگی دارد. به نظر می‌رسد کاهش تریپتوفان پلاسما و افزایش مسیره‌های التهابی می‌تواند عوامل موثر بر کاهش سروتونین در قشر مغز را القا کند. نشان داده شده است که افزایش در مقادیر سروتونین در اثر انجام فعالیت ورزشی، منجر به انتقال اثرات سودمند فعالیت ورزشی بر اختلالات نورولوژیک و روانی می‌گردد. همچنین پیشنهاد شده که افزایش مقادیر سروتونین در اثر تمرینات ورزشی، هماهنگ با افزایش در مقادیر BDNF، منجر به کاهش اشتها می‌شود (۲۳). مطالعات انجام شده در زمینه تأثیر تمرینات ورزشی بر کاهش وزن و یا نگهداری و کنترل وزن، پیشنهاد می‌کنند که تمرینات ورزشی احتمالاً باعث افزایش انرژی مصرفی و بهبود شرایط خلقی و کاهش استرس می‌گردد که می‌تواند منجر به کاهش در میزان غذای دریافتی گردد. بنابراین تمرینات ورزشی می‌تواند باعث تغییر رفتار، کاهش وزن و کنترل و نگهداری وزن شود (۲۴).

در خصوص پدیده چاقی، بعد روانشناختی نیز می‌بایست مورد توجه قرار گیرد. زمانی که افراد چاق از فعالیت ورزشی و یا رژیم غذایی برای کاهش وزن استفاده می‌کنند، دچار مشکلات روانی می‌شوند. مداخلات موثر بر کاهش این نوع اختلالات و مشکلات روانی درگیر در پدیده چاقی، می‌توانند در روند کاهش وزن و به دنبال آن نگهداری وزن به افراد چاق کمک کنند. بر اساس یسافته‌های تحقیق حاضر، انجام تمرینات ورزشی استقامتی به عنوان یکی از این مداخلات می‌تواند بر متغیرهای فیزیولوژیک مانند سروتونین اثرگذار باشد. این متغیرها به نوعی جنبه‌های روانی پدیده چاقی را تحت تأثیر قرار می‌دهند و افزایش در مقادیر سروتونین می‌تواند در روند مقابله با چاقی اثرات مفیدی به دنبال داشته باشد (۲۳).

در خصوص گیاهان دارویی استفاده شده در تحقیق حاضر، نتایج نشان داد که استفاده از گیاهان دارویی استویا و سیر به تنهایی باعث افزایش بیان ژن سروتونین در بافت مغز رت‌های چاق نشده است. اما، ترکیب استویا و سیر با ورزش استقامتی باعث افزایش سطح بیان ژن

داری بیشتر از گروه سیر بود ( $P = 0/000$ ). اضافه کردن ورزش استقامتی به استویا باعث شد که سطح بیان ژن گیرنده سروتونین به طور معنی‌داری کمتر از گروه استویا شود ( $P = 0/000$ ). اما، اضافه کردن ورزش استقامتی به سیر باعث شد که سطح بیان ژن گیرنده سروتونین به طور معنی‌داری بیشتر از گروه سیر شود ( $P = 0/006$ ). در نهایت، سطح بیان ژن گیرنده سروتونین گروه ورزش به طور معنی‌داری از تمامی گروه‌ها بالاتر بود ( $P < 0/05$ ) (شکل ۲).

## بحث

چاقی، به عنوان یکی از مهم‌ترین چالش‌های سلامت در جهان مطرح می‌باشد. با وجود شیوع بالای اضافه وزن و چاقی و همینطور اثرات مخرب آن بر روی سلامت، شناخت عوامل موثر بر کنترل و یا کاهش آن ضروری به نظر می‌رسد. در همین رابطه نتایج تحقیق حاضر نشان داد که تمرین استقامتی باعث افزایش سطح بیان ژن سروتونین در بافت مغز رت‌های چاق شده است. همچنین مشخص شد تمرین استقامتی باعث افزایش سطح بیان ژن گیرنده سروتونین در بافت مغز رت‌های چاق شده است. و به خوبی نشان داده شده است که تمرین ورزشی می‌تواند اثرات مفیدی در کاهش عوامل خطرزای مرتبط با بیماری‌های قلبی-عروقی داشته باشد. به عبارت دیگر، تمرینات ورزشی باعث بهبود هموستاز در قسمت‌های مختلف مغز از جمله هیپوتالاموس می‌شود (۱۷). سروتونین با تأثیر بر هسته‌های پاراونتریکولار اثر مهارتی بر عملکرد نوروپپتید Y دارد، که باعث افزایش میل به غذا شده و به عنوان عوامل کلیدی در هموستاز انرژی نقش دارد (۱۸، ۵، ۱۹).

ارتباط بین افزایش بیان ژن سروتونین و کاهش وزن به نحوی در مطالعات قبلی گزارش شده است (۱۹، ۲۰). تحقیقات به خوبی نشان داده‌اند که تمرینات ورزشی متابولیسم بدن را افزایش می‌دهد، سطح لپتین را بهبود می‌بخشد، نورونز را بهبود می‌بخشد، و همچنین عملکردهای اشتهازی و بی‌اشتهایی را در مطالعات حیوانی بهبود می‌بخشد (۲۱، ۲۲). با این حال، بهبود

باعث فعال شدن لیپاز حساس به هورمون، بهبود متابولیسم چربی و قند و افزایش بیان پروتئین‌های متابولیک در هیپوتالاموس می‌شود (۲۹، ۲۸، ۲۱). بنابراین به نظر می‌رسد مصرف استویا و تمرین هوازی با اثرات هم‌افزایی در تعدیل و افزایش سروتونین در بافت مغز رت‌های صحرایی در معرض غذای پرچرب نقش داشته باشد. محققان گزارش کرده‌اند که هم‌تمرین و هم مصرف استویا باعث افزایش سروتونین می‌شود و به تعادل منفی انرژی کمک می‌کند (۲۵). همچنین به نظر می‌رسد ورزش و مصرف استویا با مکانیسم‌های مشابهی مانند افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، بهبود عوامل التهابی و کاهش لپتین در کاهش اشتها نقش دارد (۲۹، ۲۲، ۲۵، ۲۷).

با توجه به نقش نوروپپتید Y، لپتین، گرلین و سایر پروتئین‌ها در تنظیم اشتها، عدم اندازه‌گیری این متغیرها از محدودیت‌های مطالعه حاضر است. بنابراین، پیشنهاد می‌شود که آدیپوکین‌ها و نوروپپتیدهای مرتبط بیشتری در مطالعات آینده اندازه‌گیری شوند. با توجه به نقش‌های متفاوت تمرین ورزشی در استرس اکسیداتیو و التهاب، به نظر می‌رسد عدم اندازه‌گیری این متغیرها از دیگر محدودیت‌های پژوهش حاضر باشد، بنابراین پیشنهاد می‌شود این عوامل در مطالعات آتی نیز اندازه‌گیری شوند. در نهایت محققین امیدوار هستند با استفاده از نتایج تحقیق حاضر بتوانند دیدگاه روشنی در زمینه تاثیر تمرین همراه با سیر و استویا بر سروتونین و گیرنده آن در افراد چاق بپردازند تا گامی موثر هرچند کوچک جهت کاهش اثرات چاقی برداشته باشند.

### نتیجه‌گیری

به نظر می‌رسد تمرینات استقامتی با مکمل استویا به طور هم‌افزایی در پروتئین کنترل اشتها نقش دارند. با این حال، مطالعات بیشتری در مورد تغییرات در سطوح سروتونین و گیرنده سروتونین به دنبال تمرین و مکمل‌های مورد استفاده در این تحقیق مورد نیاز است.

سروتونین در رت‌های چاق شده است. همچنین، استفاده از استویا باعث افزایش بیان ژن گیرنده سروتونین در بافت مغز رت‌های چاق شده است. مصرف استویا باعث بهبود آنتی‌اکسیدان‌های سرم، کاهش میل به خوردن (۲۵) و کاهش مصرف غذا (۲۶) می‌شود. همچنین، مصرف استویا باعث کاهش عوامل التهابی، بهبود انسولین، بهبود متابولیسم گلوکز و کاهش مصرف غذا در رت‌ها می‌شود (۲۷). مطالعات محدودی در مورد تأثیر استویا بر پروتئین‌های مؤثر بر اشتها انجام شده است. با این حال، محققان نشان داده‌اند که استویا با مکانیسم آنتی‌اکسیدانی خود، سطوح گونه‌های اکسیژن فعال را کاهش می‌دهد. علاوه بر این، با کاهش عوامل التهابی مانند IL-1 $\beta$ ، IL-6 و TNF- $\alpha$  و با افزایش ترشح انسولین، متابولیسم گلوکز و سطح ATP را بهبود می‌بخشد (۲۷). به نظر می‌رسد افزایش سطح سروتونین و گیرنده سروتونین در این تحقیق پس از کاهش عوامل التهابی و بهبود متابولیسم گلوکز و اثرات نوروتروفین در هیپوتالاموس، افزایش یافته است و این افزایش را می‌توان در تعدیل اشتها نیز به دست آورد. علاوه بر مصرف سیر با مکانیسم‌های کاهش عوامل التهابی، کاهش استرس اکسیداتیو و افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل، می‌تواند آدیپوکین‌هایی مانند لپتین را کاهش دهد. در پاسخ به این، بیان گیرنده لپتین در سطح سلول‌های عصبی کاهش می‌یابد و در نتیجه سطح سروتونین افزایش می‌یابد. فعال شدن ملانوکورتین ۴ می‌تواند منجر به فعال شدن نوروپپتید Y و در نهایت افزایش سروتونین شود (۲۸). نکته دیگر این است که بهبود متابولیسم سلول‌های عصبی به دنبال مصرف سیر باعث تعدیل هورمون‌های اورکسینرژیک و بی‌اشتهایی شده و در بهبود عملکرد هیپوتالاموس نقش دارد (۲۸). در این راستا، محققان نشان دادند که مصرف سیر باعث بهبود پروفایل چربی، شاخص‌های گلیسمی، افزایش بیان POMC، لیپاز حساس به هورمون، کاهش لپتین و بهبود گیرنده بتا آدرنرژیک در رت‌های صحرایی چاق با رژیم غذایی پرچرب شد (۱۳).

بر اساس مطالعات انجام شده، به نظر می‌رسد تمرین هوازی با مکمل استویا با مکانیسم فعال سازی AMPK

11. Nettleton JE, Klancic T, Schick A, Choo AC, Shearer J, Borgland SL, et al. Low-dose stevia (Rebaudioside A) consumption perturbs gut microbiota and the mesolimbic dopamine reward system. *Nutrients*. 2019;11(6):1248.

12. Ahmad U, Ahmad RS. Anti diabetic property of aqueous extract of Stevia rebaudiana Bertoni leaves in Streptozotocin-induced diabetes in albino rats. *BMC Complementary Alter Med*. 2018;18(1):179

13. Amor S, González-Hedström D, Martín-Carro B, Inarejos-García AM, Almodóvar P, Prodanov M, et al. Beneficial effects of an aged black garlic extract in the metabolic and vascular alterations induced by a high fat/sucrose diet in male rats. *Nutrients*. 2019;11(1):153.

14. Kang K, Park S, Kim YS, Lee S, Back K. Biosynthesis and biotechnological production of serotonin derivatives. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2009;83(1):27–34.

15. Do Keun Cho DHC, Cho JY. Effect of treadmill exercise on skeletal muscle autophagy in rats with obesity induced by a high-fat diet. *J Exerc Nutr Biochem*. 2017;21(3):26.

16. Haghshenas R, Jafari M, Ravasi A, Kordi M, Gilani N, Shariatzadeh M, et al. The effect of eight weeks endurance training and high-fat diet on appetite-regulating hormones in rat plasma. *Iran J Basic Med Sci*. 2014;17(4):237.

17. Vehapoğlu A, Türkmen S, Terzioğlu Ş. Alpha-melanocyte-stimulating hormone and agouti-related protein: do they play a role in appetite regulation in childhood obesity? *J Clin Res Pediatr Endocrinol*. 2016;8(1):40.

18. Oláh T, Ocsovszki I, Mándi Y, Pusztai R, Bakay M, Balint E. Opposite effects of serotonin and Interferon- $\alpha$  on the membrane potential and function of human natural killer cells. *J In Vitro Cell Dev Biol Anim*. 2005;41(5-6):165-170.

19. Meneses A, Perez-García G, Ponce-Lopez T, Tellez R, Castillo C. Serotonin transporter and memory. *Neuropharmacology*. 2011;61(3):355-363

20. Nazem H, Takhshid MA, Tabei M, Sholevar F, Entezam M, Manoochehri J. The study of relationship between polymorphism of serotonin transporter and type 2 diabetes Mellitus (T2D). *diabet and lipid in Iran*. 2010;10(1):83-88.

21. Carnier J, de Mello MT, Ackel-DElia C, Corgosinho FC, da Silveira Campos RM, de Lima Sanches P, et al. Aerobic training (AT) is more effective than aerobic plus resistance training (AT+RT) to improve anorexigenic/orexigenic factors in obese adolescents. *Appetite*. 2013;69:168–73.

22. Rodrigues KC, Pereira RM, De Campos TDP, Moura RF de, Da Silva ASR, Cintra DE, et al. The role of physical exercise to improve the browning of white

## تقدیر و تشکر

این مقاله برگرفته از رساله دکتری نویسنده اول می باشد. پروتکل تحقیق حاضر دارای کد اخلاق (IR.IAU.AK.REC.1399.024) از دانشگاه آزاد اسلامی واحد علی آباد کتول می باشد.

## References

1. Emery E, Patra K, Mains N, Brant RW, Kothari V, Ely B. Rapid-onset obesity with hypothalamic dysregulation, hypoventilation, and autonomic dysregulation (ROHHAD) in a 3-year-old boy: A case report. *Am Acad Pediatr*. 2018.

2. Bagheri B, Pournakhtyan E, Kiasari FT, Taherkhanchi B, Salarian S, Sadeghi A. Rapid-onset obesity with hypothalamic dysfunction, hypoventilation, and autonomic dysregulation (ROHHAD) syndrome: A case report. *Arch Pediatr Infect Dis*. 2017;5(1).

3. Gluck ME, Viswanath P, Stinson EJ. Obesity, appetite, and the prefrontal cortex. *Curr Obes Rep*. 2017;6(4):380-388.

4. Stillman CM, Weinstein AM, Marsland AL, Gianaros PJ, Erickson KI. Body-Brain Connections: The Effects of Obesity and Behavioral Interventions on Neurocognitive Aging. *Front Aging Neurosci*. 2017;9:115.

5. Sharma S, Sharma J. Regulation of appetite: role of serotonin and hypothalamus. *Iran J Pharmacol Ther*. 2013;11(2):73-79.

6. Amiri S, Behnezhad S. Obesity and anxiety symptoms: A systematic review and meta-analysis. *Neuropsychiatry*. 2019;33(2):72-89.

7. Heiston EM, Eichner NZ, Gilbertson NM, Gaitán JM, Kranz S, Weltman A, Malin SK. Two weeks of exercise training intensity on appetite regulation in obese adults with prediabetes. *J Appl Physiol*. 2019;126(3):746-754.

8. Hosseini SA, Norouzi S, Rafiee N, Farzanegi P, Salehi O, Farkhaie F. Interactive Effects of Endurance Training and Crocin on Aerobic Capacity, Dietary Intake and Weight of High-Fat Diet-Induced Type 2 Diabetic Rats. *J Nutr Sci Diet*. 2018;4(3).

9. Irandoust K, Taheri M. Effect of a High Intensity Interval Training (HIIT) on Serotonin and Cortisol Levels in Obese Women With Sleep Disorders. *Women Health*. 2018;6(1):e83303.

10. Salesi M, Dehganipour F. Effects of different modes of training on ghrelin concentration in normal-weight middle-age women. *J Physic Act Hormones*. 2019;3(2):13-24.

adipose tissue via POMC neurons. *Front Cell Neurosci.* 2018;12:88.

23. Lee M, Moon W, Kim J. Effect of yoga on pain, brain-derived neurotrophic factor, and serotonin in premenopausal women with chronic low back pain. *Evid Based Complementary Altern Med.* 2014:1-7.

24. Bernstein AM, Bar J, Ehrman JP, Golubic M, Roizen MF. Yoga in the management of overweight and obesity. *Am J Lifestyle Med.* 2014;8(1):33-41.

25. Farhat G, Berset V, Moore L. Effects of stevia extract on postprandial glucose response, satiety and energy intake: a three-arm crossover trial. *Nutrients.* 2019;11(12):3036.

26. Anton SD, Martin CK, Han H, Coulon S, Cefalu WT, Geiselman P, et al. Effects of stevia, aspartame, and sucrose on food intake, satiety, and postprandial glucose and insulin levels. *Appetite.* 2010;55(1):37-43.

27. Rosales-Gómez CA, Martínez-Carrillo BE, Reséndiz-Albor AA, Ramírez-Durán N, Valdés-Ramos R, Mondragón-Velásquez T, et al. Chronic consumption of sweeteners and its effect on glycaemia, cytokines, hormones, and lymphocytes of GALT in CD1 mice. *Biomed Res Int.* 2018;2018.

28. Donma MM, Donma O. The effects of allium sativum on immunity within the scope of COVID-19 infection. *Med Hypotheses.* 2020;144:109934.

29. Baldini G, Phelan KD. The melanocortin pathway and control of appetite-progress and therapeutic implications. *J Endocrinol.* 2019;241(1):R1-33.