

تأثیر هشت هفته تمرین استقامتی و مکمل یاری زنیان بر بیان ژن *Zip14 (Slc39a14)* روده کوچک و بزرگ رت های نر نژاد ویستار

عراز نظری[✉]، یازکلی نظری

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۳/۰۵

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۲/۱۲

چکیده

۱- گروه تربیت بدنی، دانشگاه سراوان، سراوان، ایران

۲- گروه علوم ورزشی، دانشکده علوم انسانی و اجتماعی، دانشگاه گلستان، گرگان، ایران

✉ نویسنده مسئول: گروه تربیت بدنی، دانشگاه سراوان، سراوان، ایران.

✉ نویسنده مسئول:

Email: Araznazari@gmail.com

ISSN: ۲۹۸۰-۸۹۶۰

تمامی حقوق این مقاله برای نویسندگان محفوظ است.

هدف: هموستاز روی برای عملکرد مطلوب دستگاه گوارش ضروری است و بیان انتقال دهنده *Zip14*، که به وضعیت التهابی نیز حساس است، در تنظیم آن نقش کلیدی ایفا می کند. از آنجا که تمرین می تواند منجر به بروز پاسخ های التهابی شود و بذر گیاه زنیان، به عنوان منبع غنی از روی و دارای خواص ضدالتهابی شناخته شده است، این مطالعه با هدف بررسی تأثیر هشت هفته تمرین استقامتی شدید و مکمل یاری با عصاره آبی بذر زنیان بر بیان ژن *Zip14* در بافت روده کوچک و بزرگ رت های نر ویستار طراحی شد.

روش شناسی: ۲۴ رت نر ویستار به طور تصادفی به چهار گروه SC، ST، AC و AT تقسیم شدند. گروه های ST و AT به مدت هشت هفته (۵ روز/هفته، ۶۰ دقیقه/روز، سرعت ۳۲ متر/دقیقه) تمرین کردند. گروه های AC و AT روزانه عصاره آبی زنیان (۲۰۰ میلی گرم/کیلوگرم) را به صورت گاوژ دریافت کردند. در پایان دوره، بیان نسبی mRNA ژن *Zip14* در بافت روده کوچک و بزرگ اندازه گیری شد. **یافته ها:** نتایج نشان داد که اثر تعاملی تمرین و مکمل یاری بر بیان ژن *Zip14* در روده کوچک معنی دار بود ($P=0.001$). به طور مشخص، گروه AT کاهش معنی داری را در مقایسه با گروه ST نشان داد ($P=0.005$). در مقابل، هیچ تغییر معنی داری در بیان ژن *Zip14* در بافت روده بزرگ بین گروه های مختلف مشاهده نشد ($P>0.05$).

نتیجه گیری: تمرین همراه با مکمل یاری زنیان منجر به کاهش قابل توجه بیان ژن *Zip14* در روده کوچک گردید، در حالی که تأثیر معنی داری بر روده بزرگ نداشت. این یافته مؤید تنظیم بافت ویژه و وابسته به نوع مداخله برای *Zip14* است.

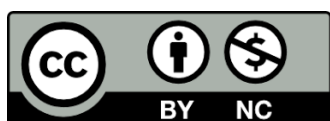
واژگان کلیدی: ورزش استقامتی شدید، زنیان، *Zip14 (Slc39a14)*، روده کوچک، روده بزرگ.

صاحب امتیاز و ناشر: دانشگاه کردستان

شاپای الکترونیکی: ۲۹۸۰-۸۹۶۰

نوع دسترسی: آزاد

DOI: <https://doi.org/10.22034/ren.2025.143612.1089>



Copyright ©The authors

ارجاع دهی:

Nazari A, Nazari Y. The Effect of Eight Weeks of Endurance Training and Ajwain Supplementation on *Zip14 (Slc39a14)* Gene Expression in the Small and Large Intestines of Male Wistar Rats. **Research in Exercise Nutrition**. 2025;3(3):49-60, Doi: <https://doi.org/10.22034/ren.2025.143612.1089>



The Effect of Eight Weeks of Endurance Training and Ajwain Supplementation on Zip14 (Slc39a14) Gene Expression in the Small and Large Intestines of Male Wistar Rats

Araz Nazari ^{1✉}, Yazgaldi Nazari

Received: 2025/02/02

Accepted: 2025/02/19

Abstract

Aim : Zinc homeostasis is crucial for optimal gastrointestinal function, and the expression of the transporter Zip14, which is also sensitive to inflammatory status, plays a key role in its regulation. As exercise can induce inflammatory responses, and Ajwain (*Trachyspermum ammi*) (seed is recognised as a rich source of zinc and possesses anti-inflammatory properties, this study was designed to investigate the effect of eight weeks of intense endurance training and aqueous Ajwain seed extract supplementation on *Zip14* gene expression in the small and large intestinal tissues of male Wistar rats.

Methodology : Twenty-four male Wistar rats were randomly assigned to four groups: Saline-Control (SC), Saline-Training (ST), Ajwain-Control (AC), and Ajwain-Training (AT). The ST and AT groups underwent an eight-week intense endurance training protocol (5 days/week, 60 min/day, 32 m/min). The AC and AT groups received daily aqueous Ajwain extract (200 mg/kg) via oral gavage. At the end of the period, relative *Zip14* mRNA expression was measured in small and large intestinal tissues.

Results : Results indicated a significant interaction effect of training and supplementation on *Zip14* gene expression in the small intestine ($P=0.001$). Specifically, the AT group exhibited significantly lower expression compared to the ST group ($P=0.005$). Conversely, no significant changes in *Zip14* gene expression were observed in the large intestinal tissue among the groups ($P>0.05$).

Conclusion : Training combined with Ajwain supplementation led to a significant downregulation of *Zip14* gene expression in the small intestine, whilst having no significant effect on the large intestine. This finding suggests tissue-specific and intervention-dependent regulation of *Zip14*.

Keywords: Intense Endurance Training, Ajwain, Zip14 (Slc39a14), Small Intestine, Large Intestine

1- Department of Physical Education, University of Saravan, Saravan, Iran

2- Department of Sport Sciences, Faculty of Humanities and Social Sciences, Golestan University, Gorgan, Iran

✉ Corresponding author:

Email:

Araznazari@gmail.com

ISSN: 2980-8960

All rights of this article are reserved for Authors.

Owner and Publisher: University of Kurdistan

Journal ISSN (online): 2980-8960

Access Type: Open Access

DOI: <https://doi.org/10.22034/ren.2025.143612.1089>

Copyright ©The authors



Citation:

Nazari A, Nazari Y. The Effect of Eight Weeks of Endurance Training and Ajwain Supplementation on Zip14 (Slc39a14) Gene Expression in the Small and Large Intestines of Male Wistar Rats. *Research in Exercise Nutrition*. 2025;3(3):49-60, Doi: <https://doi.org/10.22034/ren.2025.143612.1089>

مقدمه

روی (Zinc) به عنوان یک عنصر کم‌مقدار ضروری، نقشی چندوجهی و حیاتی در فیزیولوژی پستانداران ایفا می‌کند. این عنصر نه تنها به عنوان یک کوفاکتور ساختاری و کاتالیتیک برای صدها آنزیم و پروتئین، از جمله فاکتورهای رونویسی، ضروری است، بلکه به عنوان یک یون سیگنالینگ مهم در مسیرهای سلولی متعدد عمل می‌کند [۱، ۲]. نقش‌های فیزیولوژیک روی شامل تنظیم پاسخ ایمنی، ترمیم بافت، فرآیندهای رشد و نمو، عملکرد عصبی و به‌طور ویژه‌ای، حفظ یکپارچگی و عملکرد دستگاه گوارش است [۳، ۴]. مخاط روده به دلیل نقش آن در هضم و جذب مواد مغذی، عملکرد سد دفاعی و تعامل با میکروبیوتای روده، به‌طور خاص به وضعیت مطلوب روی وابسته است [۵]. از این رو، هموستاز دقیق روی در سطح سلولی و سیستمیک، که عمدتاً توسط پروتئین‌های انتقال‌دهنده تخصصی تنظیم می‌شود، برای حفظ سلامت کلی و به‌ویژه سلامت دستگاه گوارش، امری حیاتی است [۶].

تنظیم هموستاز روی در پستانداران توسط دو خانواده اصلی از پروتئین‌های انتقال‌دهنده غشایی صورت می‌گیرد: خانواده Zip (پروتئین‌های شبه Zrt و Irt کدگذاری شده توسط ژن‌های Slc39a) که ورود روی از فضای خارج سلولی یا لومن اندامک‌ها (مانند شبکه آندوپلاسمی و گلژی) به داخل سیتوزول را تسهیل می‌کنند و خانواده ZnT (انتقال‌دهنده‌های روی، کدگذاری شده توسط ژن‌های Slc30a) که در جهت مخالف عمل کرده و روی را از سیتوزول به خارج سلول یا به درون اندامک‌های سلولی منتقل می‌کنند [۷، ۸]. روده کوچک به عنوان محل اصلی جذب روی از رژیم غذایی، و همچنین روده بزرگ، بیان سطوح قابل توجهی از این انتقال‌دهنده‌ها را نشان می‌دهند که نقش کلیدی در جذب، توزیع و دفع روی دارند [۵، ۹]. عملکرد هماهنگ این انتقال‌دهنده‌ها برای حفظ غلظت بسیار پایین یون روی آزاد در سیتوزول (در محدوده پیکومولار تا نانومولار پایین) و جلوگیری از اختلالات ناشی از کمبود یا سمیت این عنصر ضروری است [۶، ۱۰].

در میان چهارده عضو شناخته شده خانواده Zip، انتقال‌دهنده Zip14 به دلیل ویژگی‌های منحصر به فردش، توجه زیادی را به خود معطوف کرده است. Zip14 علاوه بر انتقال روی، به عنوان یک انتقال‌دهنده اصلی برای آهن و همچنین مگنز عمل می‌کند

و از این رو در هموستاز چندین فلز ضروری نقش دارد [۱۱، ۱۲]. این پروتئین به‌طور گسترده در بافت‌های مختلف از جمله کبد، پانکراس، قلب و به‌ویژه در طول دستگاه گوارش (روده کوچک و بزرگ) بیان می‌شود [۱۳، ۱۴]. یک جنبه بسیار مهم از بیولوژی Zip14، تنظیم شدید بیان آن در پاسخ به سیگنال‌های التهابی است. مطالعات نشان داده‌اند که سایتوکاین‌های پیش‌التهابی مانند اینترلوکین-۶ (IL-6) و همچنین اندوتوکسین‌ها (مانند LPS) بیان Zip14 را به میزان چشمگیری، به‌ویژه در کبد و سلول‌های ایمنی، افزایش می‌دهند. این القاء بخشی از پاسخ فاز حاد است و به نظر می‌رسد در جابجایی و توزیع مجدد روی و آهن در بدن طی شرایط التهابی و عفونی نقش داشته باشد [۱۵]. با توجه به بیان Zip14 در روده و نقش آن در پاسخ به التهاب، بررسی تنظیم آن در این بافت تحت شرایط استرس‌زا اهمیت پیدا می‌کند. تمرین ورزشی شدید و طولانی‌مدت، مانند دویدن استقامتی، به عنوان یک عامل استرس‌زای قوی شناخته می‌شود که می‌تواند منجر به تغییرات قابل توجهی در هموستاز بدن، از جمله در دستگاه گوارش و متابولیسم مواد معدنی شود [۱۶]. شواهد نشان می‌دهد که ورزش شدید می‌تواند باعث القای پاسخ التهابی گذرا، هم در سطح سیستمیک و هم موضعی مانند افزایش IL-6 پلاسما و بافتی و همچنین افزایش استرس اکسیداتیو گردد [۱۷]. همچنین، شواهدی وجود دارد که نشان می‌دهد تمرینات ورزشی سنگین می‌تواند بر کارایی سد محافظ روده تأثیر منفی بگذارد و موجب افزایش نفوذپذیری آن شود. این وضعیت، که گاهی تحت عنوان "روده نشت‌کننده ناشی از ورزش" (EILG) شناخته می‌شود، ممکن است با بروز التهاب در ناحیه روده و همچنین جذب اندوتوکسین‌ها به داخل بدن در ارتباط باشد [۱۸]. این تغییرات التهابی و استرسی ناشی از ورزش، پتانسیل آن را دارند که بیان ژن Zip14 را در بافت روده تعدیل کنند. همچنین، ورزش می‌تواند تعادل روی را از طریق افزایش دفع یا نیاز بافتی تغییر دهد [۱۹]، که این خود می‌تواند بر بیان انتقال‌دهنده‌های روی تأثیر بگذارد.

از سوی دیگر، استفاده از مکمل‌های گیاهی با خواص تغذیه‌ای و دارویی بالقوه در کنار ورزش، مورد توجه قرار گرفته است. بذر زنیان (*Trachyspermum ammi*)، گیاهی از خانواده

حیوانات آزمایشگاهی و طرح مطالعه: تعداد ۲۴ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با میانگین وزنی 189 ± 33 گرم از مؤسسه پاستور ایران (آمل) تهیه گردید. حیوانات به حیوان‌خانه دانشگاه مازندران منتقل و در قفس‌های استاندارد پلی‌کربناتی (پنج حیوان در هر قفس) تحت شرایط کنترل‌شده محیطی شامل دمای 20 ± 2 درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی 50 ± 5 درصد و چرخه ۱۲ ساعته روشنایی/تاریکی نگهداری شدند. دسترسی حیوانات به آب آشامیدنی و غذای استاندارد موش به‌صورت آزاد بود [۲۶]. پس از طی یک دوره یک هفته‌ای جهت سازگاری با محیط، حیوانات به‌طور تصادفی ساده به چهار گروه آزمایشی براساس همگن سازی میانگین وزنی بخاطر محدودیت‌های تحقیق و همچنین براساس مقالات قبلی که برای اندازه‌گیری بیان ژن ۶ نمونه استفاده می‌شود در هر گروه ۶ سر به شرح زیر تخصیص یافتند: (۱) گروه کنترل-سالمین (SC): دریافت‌کننده سالمین (0.9% سدیم کلراید) از طریق گاواژ دهانی، بدون اعمال پروتکل ورزشی؛ (۲) گروه تمرین-سالمین (ST): دریافت‌کننده سالمین از طریق گاواژ دهانی، تحت پروتکل تمرین ورزشی روی تردمیل؛ (۳) گروه کنترل-زنیان (ZC): دریافت‌کننده عصاره آبی دانه زنیان (200 mg/kg BW) از طریق گاواژ دهانی، بدون اعمال پروتکل ورزشی؛ (۴) گروه تمرین-زنیان (ZT): دریافت‌کننده عصاره آبی دانه زنیان (200 mg/kg BW) از طریق گاواژ دهانی، تحت پروتکل تمرین ورزشی روی تردمیل. در گروه‌های تمرینی (ST و ZT)، گاواژ روزانه ۳۰ دقیقه پس از اتمام هر جلسه تمرینی صورت پذیرفت. در گروه‌های کنترل (SC و AC)، گاواژ در زمان مشابهی از روز انجام شد. کلیه مراحل اجرایی این پژوهش مطابق با دستورالعمل‌های بین‌المللی کار با حیوانات آزمایشگاهی بوده و پروتکل مطالعه حاضر به تأیید کمیته اخلاق در پژوهش‌های زیست‌پزشکی دانشگاه مازندران (کد اخلاق: IR.UMZ.REC.1403.115) رسیده است.

تهیه عصاره آبی دانه: بذره‌های گیاه زنیان (*Trachyspermum ammi* L.) متعلق به خانواده چتریان (*Apiaceae*)، که در منطقه اصفهان کشت شده بودند، از بازار سنتی شهرستان ساری در استان مازندران، ایران تهیه شدند. این بذرها بر اساس ویژگی‌های مورفولوژیکی مورد شناسایی قرار گرفتند و با نمونه‌های استاندارد موجود در هرباریوم مقایسه شدند تا صحت و دقت آن‌ها برای مراحل آزمایشی بعدی تضمین شود.

چتریان، در طب سنتی مناطق مختلف از جمله ایران برای مشکلات گوارشی و سایر بیماری‌ها استفاده شده است [۲۰]. مطالعات فارماکولوژیک برخی خواص آنتی‌اکسیدانی، ضد میکروبی و ضد التهابی را برای عصاره‌ها و اسانس آن گزارش کرده‌اند [۲۱-۲۳]. نکته بسیار مرتبط با مطالعه حاضر، محتوای قابل توجه مواد معدنی در بذر زنیان است. همانطور که در مطالعات پیشین ما نیز با استفاده از روش جذب اتمی نشان داده شد، بذر زنیان حاوی مقادیر قابل توجهی روی (حدود 53.4 میکروگرم بر گرم)، آهن (حدود 72.2 میکروگرم بر گرم) و همچنین عناصر دیگری مانند کلسیم، پتاسیم و منیزیم است [۲۴، ۲۵]. مکمل‌یاری با عصاره آبی این بذر، به عنوان منبعی غنی از روی، می‌تواند به‌طور مستقیم وضعیت روی بدن را تحت تأثیر قرار داده و بیان ژن‌های انتقال‌دهنده روی را تنظیم کند. علاوه بر این، ممکن است خواص بالقوه آنتی‌اکسیدانی یا ضد التهابی آن با اثرات استرس‌زای ناشی از ورزش شدید بر هموستاز روی و بیان Zip14 در روده تعامل داشته باشد. با وجود پیشرفت‌ها در شناخت نقش Zip14 در هموستاز فلزات و پاسخ به التهاب، و همچنین درک اثرات ورزش شدید بر فیزیولوژی روده و تعادل روی، اطلاعات بسیار کمی در مورد تأثیر همزمان و متقابل تمرین استقامتی شدید و مکمل‌یاری با یک منبع گیاهی غنی از روی (مانند عصاره بذر زنیان) بر الگوی بیان ژن Zip14 به‌طور خاص در بخش‌های مختلف روده وجود دارد. روشن شدن این تعاملات می‌تواند به درک بهتر سازگاری‌های مولکولی روده در پاسخ به استرس فیزیولوژیک ناشی از ورزش کمک کند و بینش‌هایی در مورد پتانسیل مداخلات تغذیه‌ای مبتنی بر گیاهان دارویی برای تعدیل هموستاز مواد معدنی و پاسخ‌های استرسی در ورزشکاران یا سایر شرایط مرتبط ارائه دهد. از این رو، هدف اصلی این مطالعه بررسی تأثیر هشت هفته تمرین دویدن استقامتی شدید به همراه مکمل‌یاری با عصاره آبی بذر زنیان بر سطح بیان ژن Zip14 (*Slc39a14*) در بافت‌های روده کوچک و روده بزرگ رت‌های نر ویستار بود. فرضیه ما این بود که تمرین استقامتی شدید و مکمل‌یاری با عصاره زنیان، هر یک به‌تنهایی و در ترکیب با یکدیگر، بیان Zip14 را در بافت روده تعدیل خواهند کرد و این پاسخ‌ها ممکن است بین روده کوچک و بزرگ متفاوت باشند.

روش‌شناسی:

که هر دو با سرعت ۱۵ متر بر دقیقه و شیب صفر درجه انجام می‌شدند و به ترتیب، پیش و پس از بخش اصلی تمرین هر جلسه قرار داشتند [۲۹، ۳۰].

جمع‌آوری نمونه‌ها: سی و شش ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی (برای گروه‌های ST و ZT) یا دوره مداخله (برای گروه‌های SC و ZC) و متعاقب ۱۲ ساعت ناشتایی شبانه (دسترسی آزاد به آب)، حیوانات با تزریق داخل‌صفاقی ترکیب ۸۰ میلی گرم کتامین و ۸ میلی گرم زایلازین به ازای هر کیلوگرم وزن بدن بیهوش شدند [۳۱]. پس از تأیید بیهوشی کامل، نمونه‌های خونی از ورید اجوف تحتانی (بزرگ‌سیاهرگ زیرین) در لوله‌های حاوی EDTA جمع‌آوری گردید. بلافاصله پس از خون‌گیری، بافت روده بزرگ و روده کوچک به دقت تشریح و جدا گردید. سپس بافت‌های مذکور با محلول سالین فیزیولوژیک سرد شستشو داده شد تا کاملاً پاک و تمیز شود، سپس به سرعت در میکروتیوب‌های استریل مجزا قرار گرفته و به‌منظور آنالیزهای بعدی در نیتروژن مایع به‌سرعت منجمد گردید. تمامی نمونه‌ها تا زمان انجام آزمایش‌ها در فریزر -۸۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

آنالیز بیان ژن با روش Real-Time PCR: حدود ۵۰-۱۰۰ میلی‌گرم از بافت منجمد روده بزرگ و روده کوچک در نیتروژن مایع با استفاده از هاون و دسته هاون پیش‌سرد شده، هموژنیزه گردید. RNA کل با استفاده از کیت استخراج RNA ستونی (شرکت دنا زیست آسیا، مشهد، ایران) طبق پروتکل سازنده استخراج شد. غلظت و خلوص RNA (نسبت جذب ۲۸۰/۲۶۰ نانومتر) توسط اسپکتروفتومتری نانودراپ (Nanodrop Mabna Iranian, Iran) و تمامیت آن توسط الکتروفورز ژل آگارز ۱٪ ارزیابی گردید. نمونه‌های RNA تا زمان استفاده در دمای -۸۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. به منظور حذف آلودگی DNA ژنومی، نمونه‌های RNA با آنزیم DNase I، RNase-free (شرکت سیناکلون، ایران) طبق دستورالعمل سازنده تیمار شدند. سنتز DNA مکمل (cDNA) از ۱ میکروگرم RNA کل با استفاده از پرایمر oligo-dT و کیت سنتز cDNA (شرکت یکتاتجهیزآزما، ایران) مطابق دستورالعمل سازنده انجام پذیرفت. cDNA سنتز شده تا زمان استفاده در دمای -۸۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. پرایمرهای اختصاصی

پس از تأیید، بذرها به طور کامل شسته، در سایه خشک گردیده و سپس به‌دقت آسیاب شده و به پودر یکنواخت تبدیل شدند تا برای انجام آزمایش‌های موردنظر آماده شوند. جهت تهیه عصاره آبی، به هر گرم از پودر دانه، ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر در حال جوش افزوده شد. مخلوط حاصل به مدت سه روز در دمای 50 ± 1 درجه سانتی‌گراد انکوبه و سپس به مدت یک ساعت تحت حرارت ملایم قرار گرفت. پس از خنک‌سازی تا دمای اتاق، مخلوط به‌صورت متوالی از صافی‌های پارچه‌ای تک‌لایه، دولایه و سه‌لایه عبور داده شد. در نهایت، محلول با استفاده از کاغذ صافی واتمن شماره ۱ فیلتر گردید. محلول صاف‌شده در آون، تا رسیدن به یک‌سوم حجم اولیه تغلیظ و در ظروف شیشه‌ای تیره در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد تا زمان استفاده نگهداری شد [۲۷]. دوز تجویزی عصاره برای گروه‌های AC و AT معادل ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن (mg/kg BW) در روز بود [۲۸].

نتایج اندازه‌گیری مواد معدنی بذر زنیان (جدول ۱) مورد استفاده در این پژوهش (مکمل‌یاری) در جدول ذیل آمده است که نشان می‌دهد بذر این گیاه مقدار قابل توجهی عنصر روی و همچنین عناصر دیگری که در جدول آمده است را دارا می‌باشد [۲۴، ۲۵].

پروتکل تمرین ورزشی روی تردمیل: پروتکل تمرین ورزشی هوازی به مدت هشت هفته متوالی، با فرکانس پنج روز در هفته و هر جلسه به مدت ۶۰ دقیقه، بر روی تردمیل استاندارد طراحی‌شده برای جوندگان اجرا گردید. برنامه تمرینی شامل یک مرحله سازگاری اولیه به مدت یک هفته بود که طی آن، حیوانات به منظور آشنایی با دستگاه، روزانه ۱۰ الی ۱۵ دقیقه با سرعت ۱۰ متر بر دقیقه و شیب صفر درجه راه می‌رفتند. پس از این دوره، یک مرحله پیش‌رونده دو هفته‌ای (هفته‌های دوم و سوم) آغاز شد که در ابتدای آن، حیوانات به مدت ۲۰ دقیقه با سرعت ۱۵ متر بر دقیقه (شیب صفر درجه) می‌دویدند؛ مدت زمان و شدت تمرین به صورت تدریجی طی این دو هفته افزایش یافت تا در پایان هفته سوم، به ۶۰ دقیقه دویدن با سرعت ۳۲ متر بر دقیقه (شیب صفر درجه) رسید. در مرحله نهایی که شامل هفته‌های چهارم تا هشتم بود، تمرین با شدت و مدت ثابت ادامه یافت و حیوانات به مدت ۶۰ دقیقه با سرعت پایدار ۳۲ متر بر دقیقه و شیب صفر درجه دویدند. لازم به ذکر است که هر جلسه تمرینی روزانه شامل یک دوره ۵ دقیقه‌ای گرم کردن و یک دوره ۵ دقیقه‌ای سرد کردن بود

مشاهده تفاوت معنی‌دار کلی، مقایسات دوتایی بین گروه‌ها با استفاده از آزمون تعقیبی توکی انجام گرفت. سطح معنی‌داری آماری در تمامی تحلیل‌ها $p < 0.05$ تعیین گردید.

یافته‌ها:

بررسی پروفایل بیان ژن Zip14 در بافت‌های روده بزرگ و روده کوچک نشان داد که این ژن در هر دو بافت بیان شده است. با این حال، بیان این ژن در بافت‌های روده بزرگ و روده کوچک الگوی بیانی مشابه و یکسانی نداشت. به منظور ارزیابی دقیق‌تر تأثیر تیمارها، تحلیل آماری با استفاده از آنالیز واریانس یک‌طرفه صورت گرفت. نتایج این تحلیل حاکی از آن بود که بیان ژن Zip14 در بافت روده بزرگ تغییرات معنی‌داری نداشت ($p > 0.05$). ولی بیان آن در بافت روده کوچک تغییرات معنی‌داری داشت بطوریکه این تفاوت در تعامل اثر تمرین با مکمل یاری معنی‌دار بود ($p = 0.001$). ادامه بررسی‌ها با آزمون تعقیبی توکی نشان داد که بیان ژن Zip14 در بافت روده کوچک در گروه زنیان-تمرین، نسبت به گروه سالیان-تمرین کاهش معنی‌داری داشت ($p = 0.005$). الگوی بیان Zip14 در بافت‌های روده بزرگ و روده کوچک در هر سه گروه تیماری SC، ST و ZC مشابه بود و در هر دو بافت از الگوی یکسانی پیروی میکردند بطوری که در هر دو بافت سطح بیان ST نسبت به گروه‌های SC و ZC افزایش داشت ولی این افزایش از نظر آماری معنی‌دار نبود. یافته مهم دیگر این تحقیق این بود که بیان Zip14 در گروه زنیان-تمرین در بافت‌های روده بزرگ و روده کوچک کاملاً با یکدیگر متفاوت بود بطوریکه بیان آن در روده بزرگ بیشترین سطح بیان و در روده کوچک کمترین سطح بیان را در بین تیمارها داشت (نمودار شماره ۱).

برای ژن هدف Slc39a14 و ژن مرجع (β -actin) با استفاده از نرم‌افزار Primer Premier 5 طراحی و توسط شرکت Bioneer (کره جنوبی) سنتز گردیدند. توالی پرایمر و مشخصات مربوطه در جدول ۲ ارائه شده است.

واکنش کمی Real-Time PCR (qPCR) با استفاده از مستر میکس سایبرگرین (RealQ Plus 2x Master Mix, Ampliqon, دانمارک) بر روی دستگاه Rotor-Gene Corbett 6000 انجام شد. برنامه دمایی شامل واسرشت‌سازی اولیه در ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه، و سپس ۴۰ چرخه شامل: ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ ثانیه (واسرشت‌سازی)، ۵۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه (اتصال آغازگر) و ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه (بسط) بود. آنالیز منحنی ذوب برای تأیید اختصاصیت محصول انجام شد. مقادیر آستانه چرخه (C_t) برای هر نمونه (با حداقل دو تکرار فنی) تعیین گردید. سطح بیان نسبی mRNA ژن‌های هدف با استفاده از روش $2^{-\Delta\Delta C_t}$ محاسبه و نسبت به بیان ژن مرجع β -actin نرمال‌سازی گردید [۳۲].

روش آماری:

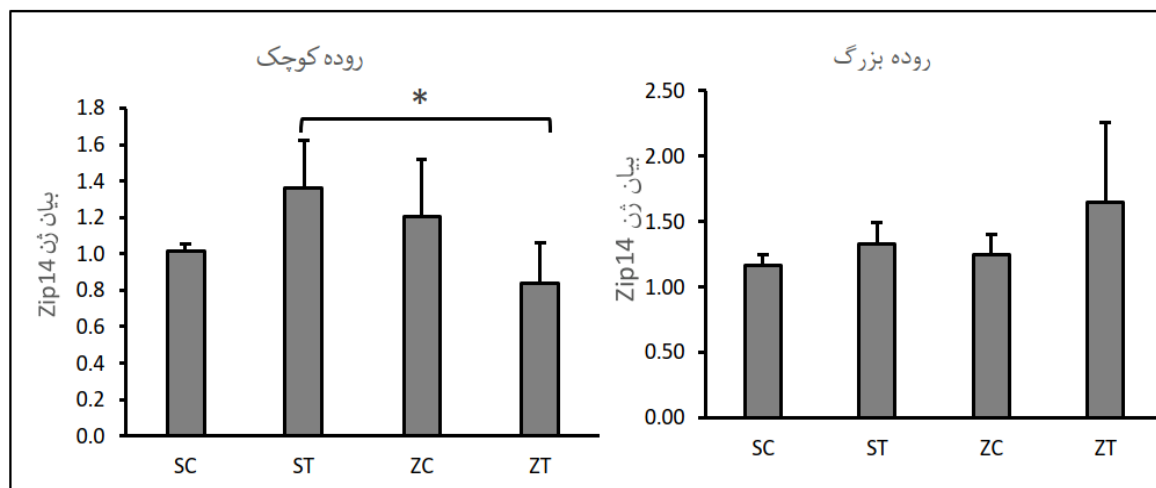
تحلیل‌های آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۷ (IBM Corp., Armonk, NY, USA) انجام پذیرفت. نرمال بودن توزیع داده‌ها با استفاده از آزمون شاپیرو-ویلک ارزیابی گردید و نتایج به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار ($Mean \pm SD$) ارائه شدند. به منظور ارزیابی تفاوت میانگین‌ها بین چهار گروه آزمایشی، از تحلیل واریانس دو سویه استفاده شد و در صورت

جدول ۱: مقادیر مواد معدنی بذر زنیان (میکروگرم بر گرم)

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

جدول ۲. توالی پرایمرهای مورد استفاده در آنالیز Real-Time PCR

Gene	Forward and Reverse primer	Accession number	Product length(bp)
Slc39a14(Zip14)	F-5'-CAATTATGTCTCCAAGTCTGCTGT-3' R-5'-GTCCGTGATGGTGCTCGTT-3'	NM_001107275.1	110
β -Actin	F-5'-GTGTGACGTTGACATCCGTAAGAC-3' R-5'-TGCTAGGAGCCAGGCGAGTAAT-3'	NM_031144.3	119



نمودار ۱. بیان نسبی mRNA ژن انتقال‌دهنده روی Zip14 در بافت روده بزرگ و روده کوچک پس از هشت هفته تمرین استقامتی و مکمل‌یاری با زنیان.

بیان ژن Zip14 (Slc39a14) با استفاده از Real-Time RT-PCR اندازه‌گیری و نسبت به ژن مرجع (β -actin) با روش $2^{-\Delta\Delta Ct}$ نرمال‌سازی شد. گروه‌ها عبارتند از: کنترل-سالیان (SC)، تمرین-سالیان (ST)، کنترل-زنیان (AC)، و تمرین-زنیان (AT). داده‌ها به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار (Mean $\pm$ SD) برای هر گروه (n=6) نمایش داده شده‌اند. * نشان‌دهنده تفاوت آماری معنی‌دار بین گروه‌های مشخص شده در سطح $P < 0.05$ می‌باشند (آزمون تعقیبی توکی).

بحث:

روی، به‌عنوان یک انتقال‌دهنده کلیدی برای آهن و منگنز نیز عمل می‌کند [۱۱، ۱۲، ۱۴]. Zip14 در تنظیم هموستاز فلزات، در بافت‌های مختلف به‌ویژه در روده، نقش مهمی ایفا می‌کند. این پروتئین علاوه بر کنترل جذب و دفع فلزات، به عنوان یک عامل حفاظتی عمل می‌کند که از اختلال در تعادل فلزات و ایجاد شرایط سمی یا کمبود جلوگیری می‌کند [۵، ۱۲]. تفاوت مشاهده شده در الگوی بیان پایه و پاسخ به تیمارها بین روده کوچک و بزرگ، احتمالاً منعکس‌کننده نقش‌ها و مکانیسم‌های تنظیمی متفاوت Zip14 در این دو بخش عملکردی متمایز روده است [۵، ۹].

در روده کوچک، محل اصلی جذب روی و آهن از رژیم غذایی [۵]، کاهش معنی‌دار بیان Zip14 در گروه ZT نسبت به ST یافته‌ای کلیدی است. تمرین استقامتی شدید، همان‌طور که در گروه ST مشاهده شد، تمایل به افزایش بیان Zip14 نسبت به گروه کنترل داشت، هرچند این افزایش از نظر آماری معنی‌دار نبود. این روند می‌تواند بازتابی از پاسخ التهابی گذرا و افزایش سیتوکین‌هایی مانند IL-6 باشد که در اثر ورزش شدید القا می‌شوند [۱۶، ۱۷]. مطالعات متعدد نشان داده‌اند که بیان Zip14 به‌شدت تحت تأثیر IL-6 و سایر محرک‌های التهابی مانند LPS

پژوهش حاضر به بررسی تأثیر هشت هفته تمرین استقامتی شدید و مکمل‌یاری با عصاره آبی بذر زنیان بر بیان ژن انتقال‌دهنده روی Zip14 (Slc39a14) در بافت‌های روده کوچک و بزرگ رت‌های نر پرداخت. یافته اصلی این مطالعه، تنظیم متمایز و مختص بافت بیان ژن Zip14 در پاسخ به مداخلات بود. بیان ژن Zip14 در روده کوچک به طور معنی‌داری تحت تأثیر تیمارهای مختلف قرار گرفت، به‌ویژه در گروه تمرین-زنیان (ZT) کاهش معنی‌داری نسبت به گروه تمرین-سالیان (ST) نشان داد. این در حالی بود که تغییرات بیان این ژن در روده بزرگ از نظر آماری معنی‌دار نبود و الگوی پاسخ گروه ZT در این بافت، که بالاترین میانگین بیان را نشان داد، کاملاً متفاوت از روده کوچک بود که کمترین میانگین بیان را داشت. این نتایج بر تنظیم پیچیده و وابسته به بافت بیان Zip14 در دستگاه گوارش در پاسخ به استرس فیزیکی ناشی از ورزش و مداخلات تغذیه‌ای تأکید دارد.

نتایج ما بیان mRNA ژن Zip14 را هم در روده کوچک و هم در روده بزرگ رت‌ها تأیید کرد که با مطالعات پیشین مبنی بر بیان گسترده این انتقال‌دهنده در بافت‌های مختلف از جمله دستگاه گوارش (کبد، پانکراس، قلب، روده کوچک و بزرگ) همخوانی دارد [۱۳، ۱۴، ۳۳]. Zip14 یک انتقال‌دهنده چندمنظوره محسوب می‌شود که علاوه بر ایفای نقش در انتقال

در مقابل، در روده بزرگ، عدم وجود تغییرات معنی‌دار در بیان Zip14 نشان‌دهنده پایداری نسبی بیان این ژن در این بافت تحت شرایط مطالعه می‌باشد و یا اینکه به محرک قوی‌تر و طولانی‌تری نیاز دارد. با این حال، الگوی متضاد مشاهده شده در گروه ZT با بالاترین میانگین بیان در روده بزرگ در مقایسه با کمترین میانگین در روده کوچک بسیار جالب توجه است و بر تنظیم بسیار اختصاصی و وابسته به بافت Zip14 در دستگاه گوارش تأکید می‌کند. احتمالاً نقش Zip14 در روده بزرگ بیشتر به حفظ تعادل موضعی فلزات، پایداری دیواره روده یا واکنش به تغییرات جمعیت میکروبی روده که خود تحت تأثیر ورزش و رژیم غذایی قرار دارد، مرتبط باشد و کمتر به جذب سیستمیک مواد مغذی وابسته باشد [۴، ۱۴]. مطالعات در تأیید نقش حیاتی Zip14 روده‌ای با استفاده از مدل موش‌های فاقد Zip14 در روده (I-KO)، نشان داد که این انتقال‌دهنده مستقر در غشای بازولترال انتروسیته‌ها، برای انتقال منگنز از سمت سروزال به لومن روده (دفع روده‌ای) ضروری است [۳۶، ۳۷]. حذف این پروتئین در روده به‌تنهایی کافی بود تا منجر به تجمع سیستمیک و مغزی منگنز و بروز علائم اولیه منگنیزسم شود، که بر اهمیت حیاتی مسیر دفع روده‌ای منگنز از طریق Zip14 تأکید دارد [۱۲]. بنابراین، ترکیب تمرین و مصرف زنیان که منبعی غنی از مواد معدنی از جمله منگنز است، ممکن است به دلیل تأثیر بر وضعیت منگنز، تغییرات در ترکیب میکروبیوتای روده یا کاهش التهاب موضعی در روده بزرگ، موجب افزایش نیاز به عملکرد Zip14 در این ناحیه شده باشد. همچنین، Zip14 نقش مهمی در حفظ عملکرد سد روده‌ای ایفا می‌کند. سد روده‌ای با کنترل عبور مواد از دیواره روده به جریان خون، از ورود مواد مضر و میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا جلوگیری می‌کند. اختلال در عملکرد Zip14 می‌تواند موجب افزایش نفوذپذیری روده شده و به اندوتوکسمی متابولیک، وضعیتی که در آن سموم باکتریایی وارد جریان خون می‌شوند، منجر شود [۱۴]. ورزش شدید نیز می‌تواند نفوذپذیری روده را افزایش دهد [۳۴، ۳۵، ۱۸]. شاید پاسخ متفاوت روده بزرگ در گروه ZT منعکس‌کننده تلاش برای حفظ هموستاز یا یکپارچگی بافت در این بخش تحت تأثیر ترکیبی ورزش و مکمل باشد.

و NO، افزایش می‌یابد و این امر به‌عنوان بخشی از پاسخ فاز حاد عمل می‌کند که منجر به هیپوزینسمی (کاهش روی پلاسما) و افزایش جذب روی توسط بافت‌هایی مانند کبد می‌شود [۱۴، ۱۵]. بنابراین، افزایش گرایشی بیان Zip14 در گروه ST احتمالاً ناشی از فعال شدن مسیرهای التهابی مرتبط با ورزش است. افزودن مکمل زنیان به پروتکل تمرینی گروه ZT باعث شد روند افزایشی بیان ژن Zip14 در روده کوچک معکوس شود و کاهش قابل توجهی در آن مشاهده شود. این نتیجه می‌تواند به دلایل مختلفی مرتبط باشد. عصاره زنیان به دلیل خواص آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی خود که در مطالعات پیشین به اثبات رسیده است [۲۲-۲۴]. و ممکن است پاسخ التهابی سیستمیک یا موضعی ناشی از تمرینات شدید در روده کوچک را کاهش داده باشد [۱۷، ۱۸، ۳۴، ۳۵]. از آنجا که بیان ژن Zip14 به شدت تحت تأثیر سیگنال‌های التهابی قرار دارد [۱۴، ۱۵]. کاهش التهاب ناشی از مصرف زنیان احتمالاً در کاهش بیان ژن Zip14 در گروه ZT نسبت به گروه ST نقش داشته است.

علاوه بر این، بذر زنیان مورد استفاده در این مطالعه به‌عنوان منبعی غنی از روی (۵۳.۴ میکروگرم بر گرم) و آهن (۷۲.۲ میکروگرم بر گرم) شناسایی شده است [۲۷]. در شرایط استرس فیزیولوژیک ناشی از ورزش، بار بالای این عناصر می‌تواند بر هموستاز کلی آنها در بدن تأثیر بگذارد و نیاز به بیان ژن Zip14 در روده کوچک، به‌عنوان محل اصلی جذب این عناصر، را کاهش دهد. این مکانیسم با تنظیم متفاوت انتقال‌دهنده‌های فلزات در پاسخ به مواد مغذی همخوانی دارد؛ به‌عنوان مثال، ژن ZIP4، یکی دیگر از انتقال‌دهنده‌های کلیدی روی، در کمبود روی افزایش و در ازدیاد روی کاهش می‌یابد [۱۴]. این موضوع نشان‌دهنده تفاوت در مکانیسم‌های تنظیمی این انتقال‌دهنده‌ها است. همچنین، ترکیبات فعال زیستی موجود در زنیان، مانند تیمول، ممکن است مستقیماً بر مسیرهای سیگنالینگ تنظیم‌کننده بیان ژن Slc39a14 تأثیر بگذارند. این مسیرها شامل فاکتورهای رونویسی مانند AP-1، ATF4 و ATF6α هستند که در تنظیم بیان ژن Zip14 نقش دارند [۱۴، ۲۲، ۳۵]. تأثیر این ترکیبات فعال زیستی ممکن است به‌ویژه در شرایط استرس ناشی از ورزش بیشتر نمایان شود و موجب تغییر در بیان ژن شود.

گروه‌های مختلف مشاهده نشد. علاوه بر این، الگوی بیان Zip14 در پاسخ به تیمار ترکیبی (ZT) بین دو بافت روده کاملاً متمایز بود؛ در حالی که این گروه کمترین سطح بیان را در روده کوچک نشان داد، در روده بزرگ، بالاترین میانگین سطح بیان (هرچند غیر معنی‌دار) را در میان گروه‌ها داشت. این یافته‌ها به وضوح نشان‌دهنده تنظیم بافت‌ویژه و وابسته به مداخله بیان ژن Zip14 در دستگاه گوارش رت در پاسخ به تمرین استقامتی شدید و مکمل‌یاری با عصاره زنیان است، که اثر کاهشی قابل توجه آن به‌طور خاص در روده کوچک مشهود بود.

پیام مقاله:

بیان ژن Zip14 در شرایط مختلف فعالیتی و تغذیه ای در بافتهای مختلف متفاوت می باشد.

تعارض منافع: بنا بر اظهار نویسندگان در این مقاله هیچگونه تعارض منافی وجود ندارد.

منابع:

- [1] Roohani N, Hurrell R, Kelishadi R, Schulin R. Zinc and its importance for human health: An integrative review. *J Res Med Sci.* 2013;18(2):144-157. doi: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23914218/>
- [2] Prasad AS. Zinc in human health: effect of zinc on immune cells. *Mol Med.* 2008;14(5-6):353-357. doi: <https://doi.org/10.2119/2008-00033.Prasad>
- [3] Hojyo S, Fukada T. Roles of zinc signaling in the immune system. *J Immunol Res.* 2016;2016:6762343. doi: <https://doi.org/10.1155/2016/6762343>
- [4] Skrovanek S, DiGuilio K, Bailey R, et al. Zinc and gastrointestinal disease. *World J Gastrointest Pathophysiol.* 2014;5(4):496-513. doi: <http://dx.doi.org/10.4291/wjgp.v5.i4.496>
- [5] Ohashi W, Hara T, Takagishi T, Hase K, Fukada T. Maintenance of

مقایسه نتایج حاضر با مطالعات پیشین، اهمیت تنظیم ویژه بافت را بیشتر آشکار می‌سازد. ترکیب تمرین شدید و مکمل‌یاری با عصاره آبی بذر زنیان در بافت بیضه تأثیر معنی‌داری بر بیان ژن Zip14 نداشت [۲۵]. اثر تمرین و مکمل‌یاری با عصاره بذر زنیان بر روی بافت کبد نشان داد که بیان ژن های Znt5 و Zip8 تغییرات معنی داری نشان داد [۲۴]. اثر تمرین هوازی و مکمل‌یاری با عصاره نخود و همچنین مکمل‌یاری با عصاره تخم کدو در بافت مشاهده کردند که بیان ژن Zip14 تغییرات معنی داری نداشت [۳۸]. این یافته‌ها در کنار نتایج مطالعه حاضر قویاً نشان می‌دهند که پاسخ بیان ژن Zip14 به ورزش و مکمل‌یاری به شدت به نوع بافت (روده کوچک، روده بزرگ، بیضه، کبد)، نوع ورزش و نوع مکمل وابسته است. به نظر می‌رسد روده کوچک به طور خاص به ترکیب تمرین استقامتی شدید و مکمل زنیان با کاهش بیان Zip14 پاسخ می‌دهد.

مطالعه حاضر بر بیان mRNA متمرکز بود، در حالی که تغییرات بالقوه در سطح پروتئین Zip14 یا فعالیت عملکردی آن در انتقال فلزات به‌طور مستقیم ارزیابی نشد. با توجه به اینکه تنظیم Zip14 می‌تواند در سطح پسارونویسی نیز رخ دهد و بر پایداری یا موقعیتیابی پروتئین تأثیر بگذارد [۱۴]، انجام آنالیزهای آتی در سطح پروتئین ضروری به نظر می‌رسد. علاوه بر این، مکانیسم‌های مولکولی دقیق منجر به تغییرات بیانی مشاهده‌شده، نیازمند بررسی بیشتر هستند که شامل اندازه‌گیری مستقیم واسطه‌های التهابی (مانند IL-6)، نشانگرهای استرس اکسیداتیو و غلظت فلزات (روی، آهن، منگنز) در بافت روده می‌شود. در نهایت، اگرچه مسیرهای بنیادین انتقال فلزات اغلب بین گونه‌ها حفاظت شده هستند، اما در تعمیم مستقیم یافته‌های حاصل از این مدل جونده به فیزیولوژی انسان باید احتیاط نمود.

نتیجه‌گیری:

نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که هشت هفته تمرین استقامتی شدید و مکمل‌یاری همزمان با عصاره آبی بذر زنیان، تأثیرات متفاوتی بر بیان ژن Zip14 (Slc39a14) در بخش‌های مختلف روده رت‌های نر دارد. به طور مشخص، مداخله ترکیبی تمرین و زنیان (گروه ZT) منجر به کاهش معنی‌دار در سطح بیان mRNA ژن Zip14 در بافت روده کوچک در مقایسه با گروه تمرین به تنهایی (گروه ST) گردید. این در حالی است که در بافت روده بزرگ، هیچ‌گونه تغییر آماری معنی‌داری در بیان این ژن بین

- [12] Aydemir TB, Thorn TL, Ruggiero CH, et al. Intestine-specific deletion of metal transporter Zip14 (Slc39a14) causes brain manganese overload and locomotor defects of manganism. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2020;318(4):G673-G681. doi: <https://doi.org/10.1152/ajpgi.00301.2019>
- [13] Girijashanker K, He L, Soleimani M, et al. Slc39a14 gene encodes ZIP14, a metal/bicarbonate symporter: similarities to the ZIP8 transporter. *Mol Pharmacol.* 2008;73(5):1413-1423. doi: <https://doi.org/10.1124/mol.107.043588>
- [14] Dufner-Beattie J, Wang F, Kuo YM, Gitschier J, Eide D, Andrews GK. The acrodermatitis enteropathica gene ZIP4 encodes a tissue-specific, zinc-regulated zinc transporter in mice. *J Biol Chem.* 2003;278(35):33474-33481. doi: <https://doi.org/10.1074/jbc.M305000200>
- [15] Liuzzi JP, Lichten LA, Rivera S, et al. Interleukin-6 regulates the zinc transporter Zip14 in liver and contributes to the hypozincemia of the acute-phase response. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2005;102(19):6843-6848. doi: <https://doi.org/10.1073/pnas.0502257102>
- [16] Peake JM, Neubauer O, Walsh NP, Simpson RJ. Recovery of the immune system after exercise. *J Appl Physiol.* 2017;122(5):1077-1087. doi: <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00622.2016>
- [17] Powers SK, Jackson MJ. Exercise-induced oxidative stress: cellular mechanisms and impact on muscle force production. *Physiol Rev.* 2008;88(4):1243-1276. doi: <https://doi.org/10.1073/pnas.0606424103>
- [6] Kambe T, Tsuji T, Hashimoto A, Itsumura N. The physiological, biochemical, and molecular roles of zinc transporters in zinc homeostasis and metabolism. *Physiol Rev.* 2015;95(3):749-784. doi: <https://doi.org/10.1152/physrev.00035.2014>
- [7] Lichten LA, Cousins RJ. Mammalian zinc transporters: nutritional and physiologic regulation. *Annu Rev Nutr.* 2009;29:153-176. doi: <https://doi.org/10.1146/annurev-nutr-033009-083312>
- [8] Young JD, Yao SY, Baldwin JM, Cass CE, Baldwin SA. The human concentrative and equilibrative nucleoside transporter families, SLC28 and SLC29. *Mol Aspects Med.* 2013;34(2-3):529-547. doi: <https://doi.org/10.1016/j.mam.2012.05.007>
- [9] Cragg RA, Christie GR, Phillips SR, et al. A novel zinc-regulated human zinc transporter, hZTL1, is localized to the enterocyte apical membrane. *J Biol Chem.* 2002;277(25):22789-22797. doi: <https://doi.org/10.1074/jbc.M200577200>
- [10] Colvin RA, Holmes WR, Fontaine CP, Maret W. Cytosolic zinc buffering and muffling: Their role in intracellular zinc homeostasis. *Metallomics.* 2010;2(5):306-317. doi: <https://doi.org/10.1039/b926662c>
- [11] Liuzzi JP, Aydemir F, Nam H, Knutson MD, Cousins RJ. Zip14 (Slc39a14) mediates non-transferrin-bound iron uptake into cells. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2006;103(37):13612-13617. doi: <https://doi.org/10.1073/pnas.0606424103>

- and Glycogen Concentrations in Healthy Rat Testis: Effect of Aqueous Ajwain (*Trachyspermum ammi*) Seeds Powder Extraction and High-intensity Treadmill Running. *J Chem Health Risks*. 2024;14(4):[In Press]. doi: <https://doi.org/10.60829/jchr.2024.3121949>
- [25] Niaki AG, Nazari A, Nasiri K. Intense Endurance Running Training and Supplementation with the Aqueous Extract of Ajwain Seed: Effect on the Levels of Zinc and Some zinc Transporters in the Liver Tissue of Male Wistar Rats. *J Anim Biol*. 2024;16(4):83-97. doi:10.61186/jab.16.4.83
- [26] Tinkov AA, Gatiatulina ER, Popova EV, et al. Early high-fat feeding induces alteration of trace element content in tissues of juvenile male Wistar rats. *Biol Trace Elem Res*. 2017;175(2):367-374. doi: <https://doi.org/10.1007/s12011-016-0777-1>
- [27] Handa SS, Khanuja SPS, Longo G, Rakesh DD, eds. Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants. ICS-UNIDO; 2008, [https://www.unido.org/sites/default/files/2009-10/Extraction technologies for medicinal and aromatic plants 0.pdf](https://www.unido.org/sites/default/files/2009-10/Extraction%20technologies%20for%20medicinal%20and%20aromatic%20plants%200.pdf)
- [28] Javed I, Iqbal Z, Rahman ZU, Khan FH, Muhammad F, Aslam B, Ali L. Comparative antihyperlipidaemic efficacy of *Trachyspermum ammi* extracts in albino rabbits. *Pak Vet J*. 2006;26(1):23-29, Doi: <https://doi.org/10.2754/avb200978020229>
- [29] Ghanbari-Niaki A, Rahmati-Ahmadabad S. Effects of a fixed-intensity of endurance training and pistacia atlantica supplementation on ATP-binding cassette G4 expression. <https://doi.org/10.1152/physrev.00031.2007>
- [18] Van Wijck K, Lenaerts K, Van Loon LJ, Peters WH, Buurman WA, Dejong CH. Exercise-induced splanchnic hypoperfusion results in gut dysfunction in healthy men. *PLoS One*. 2011;6(7):e22366. doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0022366>
- [19] Micheletti A, Rossi R, Rufini S. Zinc status in athletes: relation to diet and exercise. *Sports Med*. 2001;31(8):577-582. doi: <https://doi.org/10.2165/00007256-200131080-00002>
- [20] Bairwa R, Sodha R, Rajawat BS. *Trachyspermum ammi*. *Pharmacogn Rev*. 2012;6(11):56-60. doi:10.4103/0973-7847.95871
- [21] Boskabady MH, Alitaneh S, Alavinezhad A. *Carum copticum* L.: a herbal medicine with various pharmacological effects. *Biomed Res Int*. 2014;2014:569087. doi: <https://doi.org/10.1155/2014/569087>
- [22] Siddiquie F, Ahsan F, Mahmood T, Ahmad MA, Singh A, Bano S. Unlocking the food treasures: *Trachyspermum ammi*—A comprehensive exploration from field to pharmacology. *Food Saf Health*. 2024;2(3):322-343. doi: <https://doi.org/10.1002/fsh3.12043>
- [23] Ranjbaran A, Kavosi G, Mojallal-Tabatabaei Z, Ardestani SK. The antioxidant activity of *Trachyspermum ammi* essential oil and thymol in murine macrophages. *Biocatal Agric Biotechnol*. 2019;20:101220. doi: <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2019.101220>
- [24] Nazari A, Ghanbari-Niaki A, Nasiri K. The Selected Zinc Transporters (ZnT and ZIP) Gene Expression, Zinc, Iron

- [36] Aydemir TB, Kim MH, Kim J, et al. Metal transporter Zip14 (Slc39a14) deletion in mice increases manganese deposition and produces neurotoxic signatures and diminished motor activity. *J Neurosci*. 2017;37(25):5996-6006. doi: <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0285-17.2017>
- [37] Guthrie GJ, Aydemir TB, Troche C, Martin AB, Chang SM, Cousins RJ. Influence of ZIP14 (slc39A14) on intestinal zinc processing and barrier function. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2015;308(3):G171-G178. doi: <https://doi.org/10.1152/ajpgi.00021.2014>
- [38] Khavidaki AD, Ghanbari-Niaki A, Nasiri K, Khavidaki MH. Zinc Transporters in the Livers of Healthy Male Wistar Rats: An Investigation of the Effects of Aerobic Exercise and Supplementation with Pumpkin Seed and White Pea. *Zahedan J Res Med Sci*. 2023;26(1):e136362. doi: <https://doi.org/10.5812/zjrms-137982>
- Chin Med. 2013;8:16. doi: <https://doi.org/10.1186/1749-8546-8-23>
- [30] Ghanbari-Niaki A, Ghanbari-Abarghooi S, Rahbarizadeh F, et al. Heart ABCA1 and PPAR- α genes expression responses in male rats: effects of high intensity treadmill running training and aqueous extraction of black crataegus-pentaegyna. *Res Cardiovasc Med*. 2013;2(4):153-159. doi: 10.5812/cardiovascmed.13892
- [31] Van Pelt LF. Ketamine and xylazine for surgical anesthesia in rats. *J Am Vet Med Assoc*. 1977;171(9):842-844, Doi: <https://avmajournals.avma.org/view/journals/javma/171/9/javma.1977.171.09.842.xml>
- [32] Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2- $\Delta\Delta CT$ method. *Methods*. 2001;25(4):402-408. doi: <https://doi.org/10.1006/meth.2001.1262>
- [33] Taylor KM, Morgan HE, Johnson A, Nicholson RI. Structure-function analysis of a novel member of the LIV-1 subfamily of zinc transporters, ZIP14. *FEBS Lett*. 2005;579(2):427-432. doi: <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2004.12.006>
- [34] Costa RJS, Snipe RMJ, Kitic CM, Gibson PR. Systematic review: exercise-induced gastrointestinal syndrome—implications for health and intestinal disease. *Aliment Pharmacol Ther*. 2017;46(3):246-265. doi: <https://doi.org/10.1111/apt.14157>
- [35] Aydemir TB, Cousins RJ. The multiple faces of the metal transporter ZIP14 (SLC39A14). *J Nutr*. 2018;148(2):174-184. doi: <https://doi.org/10.1093/jn/nxx041>