

تأثیر شش هفته تمرین هوازی با عصاره پوست انار بر آنزیم‌های کبدی

موش‌های چاق ماده

یویا شوکتی^۱، حسین فتح‌اللهی^{۲*}

۱. دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکزی، ایران
۲. استادیار فیزیولوژی ورزشی، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد پردیس، ایران

چکیده

زمینه و هدف: در دهه های اخیر توجه زیاد به کاربرد تمرینات ورزشی و طب گیاهی در پاک‌سازی رادیکال‌های آزاد ناشی از چاقی معطوف شده است. هدف مطالعه حاضر بررسی تأثیر شش هفته تمرین هوازی و مکمل عصاره پوست انار بر میزان فعالیت آنزیم‌های کبدی موش‌های چاق بود.

روش‌ها: ۳۰ سر موش ماده ویستار به صورت تصادفی در ۵ گروه کنترل، چاق، چاق + تمرین هوازی، چاق + عصاره پوست انار، چاق + تمرین هوازی + عصاره پوست انار تقسیم شدند. القای چاقی با گاوآذ ۰/۵ میلی‌لیتر به ازای صد گرم وزن بدن روغن سرخ‌کردنی پالم در طول ۴ هفته (۵ روز در هفته) و برنامه تمرین هوازی در مدت شش هفته (پنج جلسه ۳۰ دقیقه‌ای در هفته با شدت ۵۰-۶۰٪ Vo2max) روی تردمیل انجام شد. عصاره پوست انار نیز با دوز ۶۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم به روش گاوآذ در نوبت صبح ۶ هفته تجویز شد. جهت تهیه نمونه‌های سرمی و تعیین مقادیر ALT، AST و ALP بافت کبد از روش فرس استفاده و داده‌ها با آزمون تحلیل واریانس دو راهه در سطح معناداری ۰/۰۵ تجزیه و تحلیل شد.

نتایج: القای چاقی موجب افزایش معنادار میزان فعالیت آنزیم‌های ALT، AST و ALP کبد شد ($P < 0/05$). اثر اصلی تمرین هوازی، اثر اصلی عصاره پوست انار و اثر تعاملی تمرین هوازی × عصاره پوست انار بر هر سه آنزیم کبدی رت‌های ماده چاق معنی‌دار بود ($P < 0/05$). بیشترین کاهش معنادار در آنزیم‌های ALT و AST هنگام ترکیب تمرین هوازی و عصاره پوست انار مشاهده شد. از طرفی، بین سه گروه تجربی تفاوت معناداری در میزان کاهش آنزیم کبدی ALP مشاهده نشد ($P > 0/05$).

نتیجه‌گیری: ویژگی‌های ضدالتهابی و آنتی‌اکسیدانی عصاره پوست انار و تمرینات هوازی موجب تعدیل سطوح نشانگرهای زیستی یا جبران اختلال در فعالیت‌های آنزیمی کبدی آزمودنی‌های چاق ماده پس از شش هفته مداخله می‌شود.

کلید واژه‌ها:

تمرین، عصاره انار، آنزیم‌های کبد، چاقی، روغن پالم

تمامی حقوق نشر برای دانشگاه علوم پزشکی تربت حیدریه محفوظ است.

مقدمه

چاقی از مهم‌ترین دغدغه‌ها و مشکلات تهدیدکننده سلامتی در سرتاسر جهان است. طبق آخرین آمار سازمان بهداشت جهانی بیش از ۶۵۰ میلیون نفر فرد بزرگسال چاق و بیش از ۱/۹ میلیارد فرد دارای اضافه‌وزن در جهان وجود دارد. تحقیقات نشان می‌دهد بی‌حرکی و چاقی به دلیل مسائل فرهنگی و اجتماعی در زنان بیشتر از مردان است. این مشکل با افزایش عوامل التهابی و رادیکال‌های آزاد سبب گسترش و پیشرفت بیماری‌های مزمن متابولیکی، سرطان و بیماری‌های قلبی-عروقی در این قشر شده است (۱). این تحقیقات به افزایش آنزیم‌های کبدی در نمونه‌های حیوانی و انسانی در معرض رژیم غذایی پرچرب اشاره کرده‌اند. در این راستا بیماری کبد چرب غیرالکلی (NAFLD)^۱ توجه بسیاری از محققان را به‌عنوان عامل پاتوژنیک مقاومت به انسولین و دیابت نوع دو به خود معطوف داشته است. اگرچه مکانیسم اصلی که منجر به بروز NAFLD می‌شود، هنوز به طور کامل روشن نیست؛ اما تجمع بیش‌ازحد تری‌گلیسیرید در سیتوپلاسم سلول‌های کبدی در غیاب مصرف الکل مشخص شده است (۲). از آنجایی که سطوح سرمی آنزیم‌های کبدی شامل آسپاراتات آمینوترانسفراز^۲ (AST)، آلانین آمینوترانسفراز^۳ (ALT) و آلکالین فسفاتاز^۴ (ALP) در افراد مبتلا به چاقی شایع است. پژوهشگران عواملی مانند سندرم متابولیک، کمبود منابع آنتی‌اکسیدانی، ژنتیک، سبک زندگی ناسالم، بی‌حرکی و تغذیه نامناسب را در بروز این مشکلات مؤثر می‌دانند (۳). این آمینوترانسفرازهای کبدی، شاخص‌های حساسی برای تعیین آسیب‌دیدگی سلول‌های کبدی هستند و بیشترین کاربرد آن‌ها در تشخیص بیماری‌های حاد کبدی است. از آنجایی که داروی قطعی برای درمان بیماری کبد چرب غیرالکلی وجود ندارد؛ رویکرد در مان این بیماری شامل تغییر سبک زندگی، افزایش فعالیت بدنی و تغذیه مناسب می‌شود (۴).

مشخص شده است فعالیت‌های منظم ورزشی تا حدودی در بهبود عوامل خطرزای چاقی تأثیرگذار هستند. به‌عنوان مثال، فان و همکاران (۲۰۲۱) در تحقیقی بر روی افراد ۳۰ تا ۷۹ ساله ارتباط معکوس خطی بین میزان فعالیت بدنی، میزان چربی و سطح آنزیم‌های کبدی GGT و ALT پیدا کردند. همچنین مطالعات زیادی به اثرات فعالیت‌های ورزشی در کاهش چربی کبدی، چربی احشایی، مقاومت به انسولین، IL6، TNF- α ، آنزیم‌های ALT، ALP، AST و افزایش آدیپونکتین، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و کاهش غلظت مالون‌دی‌آلدئید اشاره کرده‌اند (۵). پژوهشگران معتقدند تمرینات ورزشی با افزایش بتا اکسایش و کاهش لیپوژنز، یکی از تنظیم‌کننده‌های اصلی متابولیسم کبد محسوب می‌شوند. با این حال، تاکنون اثرات نوع، شدت و حجم تمرینات ورزشی در بیماران مبتلا به کبد چرب غیرالکلی مشخص نشده است. تصور می‌شود احتمالاً روابط معکوسی بین میزان فعالیت بدنی و شدت کبد چرب وجود دارد و اینکه آیا شدت مهم‌تر از مدت زمان یا حجم کل تمرین است، هنوز مشخص نیست (۶). برخی مطالعات در این زمینه، تمرینات هوازی و برخی دیگر تمرینات مقاومتی را در بهبود کبد چرب مؤثر دانسته‌اند. علاوه‌براین، از آنجایی که تمرینات هوازی معمولاً با شدت و حجم‌های مختلف انجام می‌شود، میزان کارایی آن‌ها در کاهش سطوح آنزیم‌های کبدی مرتبط با بیماری چاقی و دیابت بر حسب جدسیت مشخص نشده است (۷). از آنجایی که تمرینات هوازی موجب سازگاری‌های مطلوب در دستگاه‌های انرژی و بهبود آمادگی هوازی می‌شوند؛ بررسی تأثیر این تمرینات با حجم متوسط بر کبد چرب غیرالکلی ضروری به نظر می‌رسد.

از طرفی توجه زیاد به استفاده از طب گیاهی با هدف افزایش شرایط آنتی‌اکسیدانی و پاک‌سازی رادیکال‌های آزاد ناشی از چاقی معطوف شده است. در این راستا، محققان تجویز برخی از

1. Non-alcoholic fatty liver disease
2. Aspartate transaminase

3. Alanine transaminase
4. Alkaline Phosphatase

کلاسترول و در نهایت انسداد عروق ناشی از آن هشدار داده‌اند (۱۱). در این راستا و بنا بر محدودیت اطلاعات یکپارچه، تأثیر مصرف عصاره پوست انار همراه با تمرین هوازی بر فاکتورهای کبدی ناشی از چاقی با روغن پالم مشخص نیست. براساس شواهد علمی، این نوع مداخلات احتمالاً ضمن افزایش عملکرد ورزشی، باعث تقویت دفاع ضد اکسایشی و کاهش آسیب‌های ناشی از چاقی می‌شود. از طرفی ضرورت تحقیق روی موش‌های ماده به دلیل اهمیت سلامتی و پیشگیری از چاقی در زنان نسبت به مردان است (۱۲). بنابراین، مطالعه حاضر قصد دارد تا با بررسی تأثیر مکمل‌یاری عصاره پوست انار همراه با شش هفته تمرین هوازی بر آنزیم‌های کبدی موش‌های چاق ماده، به برخی از ابهامات و تناقضات پاسخ دهد.

روش‌ها

این پژوهش از نوع توسعه‌ای با طرح تحقیق تجربی (پس‌آزمون با گروه کنترل)، روش تحقیق بالینی و با اهداف بنیادی مطابق با دستورالعمل‌های مؤسسه ملی بهداشت (NIH) و کد اخلاق IR.IAU.M.REC.1398.032 انجام شد. بدین منظور با مراجعه به انستیتو پاستور ایران تعداد ۳۰ سر موش صحرایی ماده با سن ۱۲ هفته و وزن بین ۱۸۰ تا ۲۲۰ گرم انتخاب (۱۳) و پس از انتقال به آزمایشگاه دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکزی به صورت تصادفی در ۵ گروه کنترل، چاق، چاق-تمرین هوازی، چاق-مکمل انار، چاق-تمرین هوازی و مکمل انار تقسیم شدند. این آزمودنی‌ها به منظور سازگاری و کنترل عوامل مخدوش‌کننده، به مدت یک هفته در قفسه‌های استاندارد (پلی‌کربنات شفاف با ابعاد ۱۵*۲۶/۵*۴۲) با دمای ۲۳±۳، رطوبت نسبی ۱۰±۵٪، چرخه روشنایی ۱۲ ساعت و با دسترسی آزاد به تغذیه مخصوص موش‌های آزمایشگاهی نگهداری شدند (۱۴).

پروتکل چاقی

در مرحله چاقی از روش تغذیه با روغن سرخ‌کردنی پالم به مدت چهار هفته با دوز ۰/۵ میلی‌لیتر به ازای هر ۱۰۰ گرم وزن بدن به صورت خوراکی و به روش گاواژ در ۵ روز در هفته

مکمل‌های گیاهی را جهت افزایش اثربخشی تمرینات ورزشی مدنظر قرار داده‌اند. یکی از این مکمل‌ها با خواص ضد اکسایشی و سلامت‌زایی، مکمل انار (*granatum Punica*) از گونه *Punicaceae* است که به‌طور عمده در ایران، هند، ایالات متحده آمریکا و کشورهای خاور دور رشد می‌کند. این میوه با دارا بودن پونیکالائین اثر مهمی در تضعیف پرولیفراسیون و تهاجم سلول‌های سرطانی از طریق مهار مسیر بتا-کانتین دارد (۸). از طرفی، آب انار حاوی تانن‌ها، الاجیتانن‌ها، آنتوسیانین‌ها، کاتچین‌ها، گالیک اسید و الایک اسید و ویتامین‌های C و E است. کاتچین‌ها به دلیل ساختار کاتکولی خود به فلزات چسبیده و مانع از تشکیل رادیکال آزاد می‌شوند. اسید گالیک موجود در عصاره انار به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان قوی مطرح است که از سلول‌ها در برابر آسیب‌های اکسیداتیو حفاظت می‌کند. پلی‌فنول‌ها (الاجیتانن‌ها و اسید الایک)، پلی‌فنول اکسیداز و فعالیت پرکسیداز از فراوان‌ترین ترکیبات آنتی‌اکسیدانی انار است که از DNA سلولی در برابر استرس‌های اکسیداتیو و فعالیت رادیکال آزاد محافظت می‌کنند (۹). استرس اکسیداتیو زمانی ایجاد می‌شود که تعادل بین گونه‌های واکنشگر اکسیژن (ROS) و آنتی‌اکسیدان‌ها مختل شود. علاوه بر این، در برخی از گزارش‌های موجود، به اثرات مفید انار در کاهش چربی‌های نامطلوب خون و یا اثرات ضد میکروبی و ضدالتهابی آن اشاره شده است. نتایج این مطالعات حاکی از آن است که آنتی‌اکسیدان موجود در انار، سه برابر سایر میوه‌ها و سرشار از ویتامین‌های A، E و C است. از این رو، انار ضمن مقابله با اثرات نامطلوب استرس اکسایشی ناشی از چاقی، باعث کاهش شاخص آسیب‌های غشای سلولی مانند مالون دی‌آلدئید (MDA)^۱ و افزایش ظرفیت ضد اکسایشی سرم می‌شود (۱۰). روغن پالم نوعی روغن گیاهی است که مقدار اسید چرب اشباع آن حداقل ۵۰٪ است.

دانشمندان حد مجاز مصرفی این روغن را ۳۰٪ روغن مصرفی فرد در طول روز تعیین کرده‌اند و نسبت به افزایش چربی خون،

1. Malondialdehyde

و تهیه نمونه‌های سرمی از روش فرش استفاده می‌شود. براساس این روش، جهت رعایت موازین اخلاقی موش‌ها ۴۸ ساعت پس از آخرین مداخله با حداقل ۸ ساعت ناشتایی با محلول کلروفورم بیهوش و پس از شکافتن قفسه سینه از بطن چپ قلب با سرنگ ۳ سی سی خون‌گیری به عمل آمد. خون جمع آوری شده داخل لوله‌های ساده EDTA ۱۲×۱۰۰ سانتریفیوژ یخچال‌دار به‌منظور برداشت سرم و پلاسما قرار داده شد. پس از عمل سانتریفیوژ با سرعت ۲۰۰۰ دور به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد، مایع شفاف رویی با سمپلر ۱۰۰ میکرولیتر داخل میکروتیوب ۲ ml قرار داده شد و به فریزر -۸۰ تا زمان اندازه‌گیری انتقال داده شد. این محلول‌های بیوشیمیایی در نهایت برای تعیین مقادیر ALT، AST و ALP بافت کبد با استفاده از شنا سگر ریباب بر روی دستگاه تحلیل‌گر خودکار Olympus AU 800 (High Density Lipopr) به کار رفت. در نهایت جهت تجزیه و تحلیل‌های آماری، پس از بررسی طبیعی بودن توزیع داده‌ها (شاپیرو-ویلک) و نیز هم‌سانی واریانس‌ها (آزمون لون) از آزمون‌های آماری پارامتریک استفاده شد. برای آزمون فرضیه‌های پژوهش نیز از آزمون آماری تی تست مستقل و تحلیل واریانس یکطرفه و در صورت لزوم از تست تعقیبی توکی جهت شناسایی محل تفاوت‌ها استفاده گردید. کلیه عملیات‌های آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۲ انجام و نتایج در سطح معناداری ۰/۰۵ براساس میانگین و انحراف استاندارد گزارش شده است.

نتایج

نتایج آزمون تی مستقل تفاوت معنی‌داری در فعالیت آنزیم‌های کبدی گروه‌های کنترل و چاق نشان داد. بر این اساس القای چاقی ناشی از روغن پالم موجب افزایش معنادار میزان فعالیت آنزیم‌های ALT، AST و ALP کبدی پس از شش هفته دریافت آن نسبت به گروه کنترل شد ($P < 0/05$) (جدول ۱).

نتایج تحلیل واریانس یکطرفه نشان داد که اثر اصلی تمرین هوازی ($P = \text{sig} = 0/008$)، اثر اصلی مکمل پوست انار ($\text{sig} = 0/014$) و اثر تعاملی تمرین هوازی × مکمل پوست انار

استفاده شد. براساس پیشینه پژوهش، این روش منجر به بیشترین افزایش وزن بدن و افزایش بیومارکرهای چاقی در نمونه‌های حیوانی می‌شود. براساس شاخص لی رسیدن وزن نمونه‌های حیوانی به ۳۱۹ گرم چاقی محسوب می‌شد (۱۵).

پروتکل تمرین هوازی

جهت انجام پروتکل تمرین هوازی گروه‌های هدف قبل از شروع تمرینات، یک هفته با تردمیل مخصوص جوندگان (مدل DSI شرکت دانش سالار ایرانیان) به مدت ۲۰ دقیقه و با سرعت ۹ متر در دقیقه آشنا و سازگار شدند. در ادامه، تمرینات به مدت شش هفته، پنج جلسه در هفته، با شدت متوسط ۵۰-۶۰ درصد Vo2max در طول ۳۰ دقیقه انجام شد. سرعت دویدن در اولین روز ۱۶ m/s و در روز آخر به ۲۶ m/s رسید. فرآیند گرم کردن و سرد کردن نیز به ترتیب با سرعت ۷ m/min و ۵ m/min دقیقه به مدت پنج دقیقه انجام شد (۱۶).

عصاره گیری

جهت تهیه عصاره پوست انار ابتدا مقادیر لازم از پژوهشگاه گیاهان دارویی کرج تهیه و در دمای محیط خشک و با استفاده از غربال ۴۰ آسیاب شد. در ادامه از پروتکل و فرمولاسیون اختصاصی شامل حلال متانول/آب (۶۰/۴۰) استفاده شد. ۴ لیتر از حلال به یک کیلوگرم پوست انار افزوده و به مدت ۶ ساعت در دمای اتاق نگهداری گردید. سپس محلول با کاغذ واتمن شماره ۴۲ به‌منظور جداسازی ذرات درشت فیلتر شد. بعد از عصاره گیری، محلول با استفاده از روتاری اوپریاتور (تحت شرایط خلاء و ۳۰ درجه سانتی‌گراد) تغلیظ و در شرایط انجماد نگهداری شد (۱۷). در نهایت دوز ۶۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم عصاره با بیشترین اثربخشی و حداقل اثرات منفی جانبی انتخاب و به‌روش گاواژ در طول ۶ هفته ۳۰ دقیقه قبل از غذای نوبت صبح تجویز شد.

سنجش‌های آزمایشگاهی و آماری

متغیرهای مورد سنجش این مطالعه مربوط به داده‌های یک مگاپروژه بوده که بخشی از آن در مطالعه حاضر استفاده شده است. عموماً در مطالعات سلولی و مولکولی جهت قربانی کردن

در موش‌های گروه تمرین هوازی و عصاره پوست انار یافت شد ($P=0/001$).

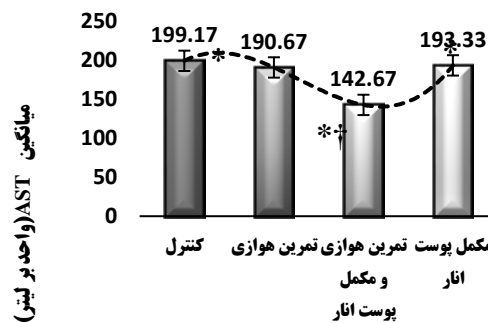
در ارتباط با آنزیم کبدی ALP، اثر اصلی تمرین هوازی ($p=0/003$)، اثر اصلی مکمل پوست انار ($p=0/004$) و اثر تعاملی تمرین هوازی × مکمل پوست انار ($p=0/001$) معنی‌دار می‌باشد. در این زمینه بین سه گروه تجربی تفاوت معناداری در میزان کاهش آنزیم کبدی ALP مشاهده نشد ($P=0/271$) (شکل ۳).

بر آنزیم کبدی AST موش‌های ماده چاق معنی‌دار بود. باین حال، تفاوت معناداری بین دو گروه تمرین هوازی و مکمل پوست انار در میزان اثرگذاری مشاهده نشد ($P=0/513$) (شکل ۱).

در شکل ۲ مشاهده می‌شود که اثر اصلی تمرین هوازی ($p=0/003$)، اثر اصلی مکمل پوست انار ($p=0/001$) و اثر تعاملی تمرین هوازی × مکمل پوست انار ($p=0/000$) بر آنزیم کبدی ALT معنی‌دار بود. بیشترین کاهش معنادار آنزیم

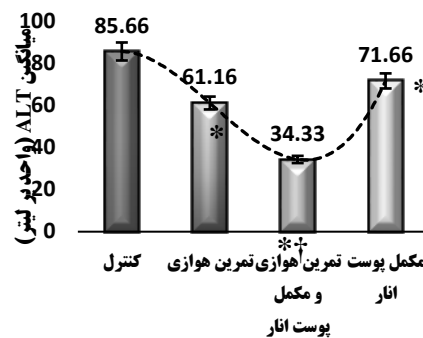
جدول ۱. تغییرات شاخص‌های کبدی ناشی از القای چاقی با روغن سرخ‌کردنی پالم

| متغیر | گروه کنترل | | گروه چاق | | اختلاف میانگین‌ها | t | p |
|-----------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|-------------------|---|---|
| | انحراف معیار ± میانگین | انحراف معیار ± میانگین | انحراف معیار ± میانگین | انحراف معیار ± میانگین | | | |
| AST (U/L) | ۲۴/۷۲ ± ۱۲۹/۰۰ | ۲۴/۳۴ ± ۱۹۹/۱۷ | ۷۰/۱۶ | ۴/۹۵ | ۰/۰۰۳ | | |
| ALT (U/L) | ۴/۵۹ ± ۳۱/۵۰ | ۶/۴۰ ± ۸۵/۶۶ | ۵۴/۱۶ | ۱۶/۸۲ | ۰/۰۰۱ | | |
| ALP (U/L) | ۲۳/۴۳ ± ۳۲۲/۵۰ | ۲۲/۷۸ ± ۴۱۰/۰۰ | ۸/۵۰ | ۶/۵۵ | ۰/۰۰۶ | | |



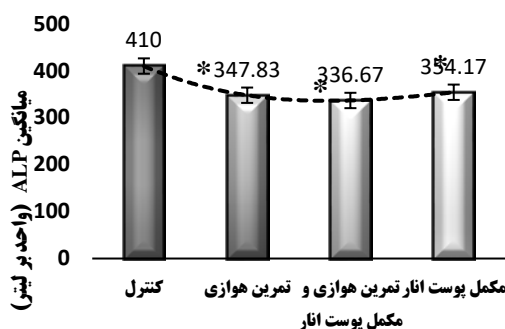
شکل ۱. مقایسه میزان فعالیت آنزیم کبدی AST گروه‌های آزمایشی. * نشانه کاهش معنادار نسبت به گروه کنترل.

† * نشانه کاهش معنادار نسبت به سایر گروه‌ها



شکل ۲. مقایسه میزان فعالیت آنزیم کبدی ALT گروه‌های آزمایشی. * نشانه کاهش معنادار نسبت به گروه کنترل.

† * نشانه کاهش معنادار نسبت به سایر گروه‌ها



شکل ۳. مقایسه میزان فعالیت آنزیم کبدی ALP گروه‌های آزمایشی. * نشانه کاهش معنادار نسبت به گروه کنترل

بحث

در این پژوهش به بررسی پاسخ شاخص‌های کبدی موش‌های صحرایی چاق ماده متعاقب ۶ هفته تمرین هوازی و مصرف عصاره پوست انار پرداختیم. نتایج حاصل از پژوهش، نشان‌دهنده تغییرات معنادار در میزان سطوح آنزیم‌های منتخب سرمی موش‌های ماده چاق متعاقب تمرین هوازی و مصرف عصاره پوست انار بود. همچنین بین میزان کاهش دو آنزیم ALT و AST تفاوت معنی‌داری بین گروه ترکیبی (تمرین به همراه عصاره انار) با سایر گروه‌ها مشاهده شد. هم‌راستا با این نتایج، لرستانی و همکاران، دهکردی و همکاران همکاران کاهش مقادیر ALT و AST و ALP را پس از ۶ و ۸ هفته تمرین هوازی نشان داده‌اند (۱۸-۲۰). از طرفی برخی مطالعات به افزایش مقادیر سرمی این آنزیم‌ها بر اثر تمرین و امانده ساز و تمرین با شیب منفی و چندین پژوهش به عدم تغییر سطح آنزیم‌های ALT و AST اشاره کرده‌اند. همچنین احتمال دارد که تمرین هوازی منجر به تغییر معنادار مقادیر ALT و AST کبدی زنان چاق مبتلا به دیابت نوع دو نشود (۲۱). برخی پژوهشگران معتقدند تمرین ترکیبی نسبت به تمرین هوازی تأثیر بیشتری در بهبود چربی کبد و کاهش آنزیم ALT دارد. در این زمینه نشان داده شده است که علی‌رغم تأثیرگذاری تمرینات هوازی، مقاومتی و ترکیبی بر آنزیم‌های کبدی ALT و AST موش‌های اوریکتومی‌شده، بیشترین تأثیر را تمرینات ترکیبی دارند (۲۱، ۲۲). بهرام و همکاران نیز در جدیدترین یافته‌ها پی بردند که تمرینات تناوبی با شدت بالا منجر به کاهش

آنزیم‌های کبدی در بیماران مبتلا به کبد چرب غیرالکلی می‌شود (۵). از جمله دلایل تناقض این مطالعات می‌توان به مدت مداخله، نوع و شدت تمرین و برنامه غذایی اشاره کرد. براساس مطالعات علمی کاهش ۵ تا ۱۰ درصدی وزن بدن با تغییرات پاتوفیزیولوژیک همراه است و منجر به تغییر حساسیت به انسولین، کاهش اسیدهای چرب کبد، کاهش مکانیسم‌های التهابی و بهبود سطح آنزیم‌ها می‌گردد.

باین حال نتایج ما نشان داد شش هفته فعالیت از طریق سیستم هوازی بر میزان فعالیت آنزیم‌های ALT و ALP تأثیرگذار است. یک توضیح احتمالی برای کاهش چربی کبدی پس از تمرین هوازی، افزایش ظرفیت اکسایشی عضله عنوان شده است که می‌تواند چربی درون سلولی را به‌عنوان سوخت حین ورزش مصرف کند (۲۳). از این رو، فعال شدن مسیرهای گلوکونئوز و پراکسیداسیون لیپیدها دلیل منطقی برای کاهش آنزیم‌های کبدی در این مطالعه محسوب می‌شود. Machado و همکاران نیز در تبیین اثر مثبت تمرین هوازی بر مقادیر ALT کبدی، این اثرات را مربوط به میزان استرس کمتر مربوط دانستند. در واقع، تمرینات هوازی با افزایش آدیپونکتین، اکسیداسیون چربی کبدی و افزایش حساسیت انسولینی، خطر پیشرفت بیماری کبد چرب غیرالکلی را کاهش می‌دهد (۲۴). بنابراین مکانیسم اصلی تغییر در چربی کبد بر اثر فعالیت ورزشی بازتاب تغییرات در حساسیت انسولینی، چربی‌های گردش خون و تعادل انرژی است.

باشد که فقط در شرایط مصرف رژیم پرچرب بر چاقی اثر می‌کند.

مهم‌ترین یافته ما نشان داد، ترکیب تمرین هوازی با مصرف عصاره پوست انار منجر به کاهش بیشتر سطح آنزیم‌های AST و ALT در مقایسه با اثرات مجرد این مداخلات می‌شود. در این زمینه تفاوت معناداری بین مداخلات انجام شده در سطح آنزیم ALP کبدی مشاهده نشد. این یافته در راستای نتایج پژوهش رهنمای و همکاران مبنی بر کاهش ۵۰ درصدی وزن بدن و حساسیت انسولینی پس از ترکیب تمرین هوازی و عصاره پوست انار است (۱۷). عبدی و همکاران نتیجه گرفتند ترکیب تمرینات ورزشی و مصرف عصاره پوست انار در بیماران دیابتی نوع دوم، موجب کاهش خطرات عوامل خطر ساز قلبی عروقی می‌گردد به طوری که ترکیب آن‌ها باعث تعدیل در شاخص‌های APOA-1 و APOB در زنان دیابتی نوع دوم می‌شود (۲۹). پژوهش حاضر در توجیه اینکه چرا با وجود کاهش سطح آنزیم‌های AST و ALT در گروه تمرین و مصرف عصاره پوست انار، کاهش مشابهی در مقادیر ALP کبدی مشاهده نشد، ناتوان است. با این حال، تصور بر این است که شاید این میزان مداخلات با وجود بهبود عملکرد در نهایت منجر به تغییر معنادار در مقادیر این آنزیم کبدی نشده است. بر اساس نظر محققان ترکیب هم‌زمان مکمل‌های گیاهی با مداخلات ورزشی جهت خنثی‌سازی استرس اکسایشی ناشی از فعالیت بدنی منطقی است (۳۰). بر این اساس، ویژگی‌های ضدالتهابی و آنتی‌اکسیدانی عصاره پوست انار در کنار افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی و غیر آنزیمی تمرینات هوازی موجب کاهش آنزیم‌های کبدی AST و ALT می‌شود. از این رو، ترکیب این مداخلات از طریق مکانیسم نرمال کردن سطوح نشانگرهای زیستی یا جبران اختلال در فعالیت‌های آنزیمی عمل می‌کند.

نتیجه‌گیری

بر اساس یافته‌های پژوهش و در راستای کاهش عوامل وابسته به بیماری کبد چرب غیر الکلی، تمرینات هوازی با شدت متوسط

از طرفی به نظر می‌رسد تأثیر آنتی‌اکسیدان‌ها به‌ویژه ترکیبات مرتبط با فلاونوئیدها، پلی‌فنول‌ها و اسید آسکوربیک موجود در عصاره انار مانع افزایش آنزیم‌های سلول‌های کبدی می‌شود و این عصاره می‌تواند نقش تنظیمی برای این آنزیم‌ها در موش‌های چاق ماده ایفا کند. مکانیسم عملکردی پوست انار در بیماران کبدی مبتنی بر محتوای آنتی‌اکسیدان‌ها و ترکیبات فنولی است که می‌تواند باعث کاهش پراکسیداسیون اسیدهای چرب اشباع‌نشده و جلوگیری از آسیب غشاهای سلولی شود (۲۵). هم‌راستا با نتایج ما، Rapa و همکاران در بررسی اثر حفاظتی انار بر استرس اکسیداتیو ناشی از سمیت، مشاهده کردند که استفاده از عصاره انار می‌تواند موجب کاهش معنی‌دار آنزیم‌های ALT، ALP و AST شود (۲۶). با توجه به ارتباط دیابت و سندروم کبد چرب، فضل‌الدین و همکاران در مطالعه بیوشیمیایی و هیستوپاتولوژی دریافتند که آنزیم‌های کبدی AST و ALT بعد از مصرف عصاره انار به مقادیر اولیه بر می‌گردند (۲۷). علاوه بر این، پژوهشگران معتقدند که عصاره انار حاوی یک فلاونوئید فعال گلیکوزیدی به نام ترانس تریلیوزید است که اثر مهاری مهمی بر افزایش وزن دارد. پنی‌کالاگین اسید الاجیک و اسیدهای لینوئیک موجود در این عصاره دارای قابلیت مهار فعالیت آنزیم اسید چرب سینتتاز است که نقش مهمی در بیوسنتز اسیدهای چرب دارد و آن را به‌عنوان یک مکمل مفید در محافظت از چاقی و مقاومت انسولینی مطرح می‌کند. به نظر می‌رسد این آثار تا اندازه‌ای از طریق مهار فعالیت آنزیم لیپاز پانکراس و سرکوب دریافت انرژی (اشتها) بروز پیدا می‌کند (۱۷). همچنین مصرف روزانه ۵۴۴ میلی‌گرم از عصاره گل انار سبب اصلاح متابولیسم چربی‌های قلبی از طریق فعال‌سازی PPAR- α ، کاهش چربی‌های گردش خون و مهار برداشت چربی‌ها می‌شود. احتمالاً عناصر شیمیایی و مواد آنتی‌اکسیدانی این عصاره تأثیر مثبتی بر بازسازی سلول‌های جزایر پانکراسی و تحریک سلول‌های بتا برای تولید انسولین دارند (۲۸). بنابراین عصاره پوست انار می‌تواند یک سرکوب‌کننده نوین برای اشتها

تشکر و قدردانی

این مقاله منتج از کارگروهی جمعی از دانشجویان دوره دکتری بروی یک مگاپروژه با کد اخلاق IR.IAU.PS.REC.1398.322 بوده و بدینوسیله از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکزی که امکانات لازم را جهت اجرا و پیشبرد این پژوهش در اختیار ما قرار دادند، تشکر و قدردانی می‌شود.

تضاد منافع

در این پژوهش هیچ گونه تعارض منافی توسط نویسندگان گزارش نشده است.

مشارکت نویسندگان:

(۱) مفهوم پردازی و طراحی مطالعه، یا جمع آوری داده‌ها، یا تجزیه و تحلیل و تفسیر داده‌ها: نویسندگان مشارکت برابری در نگارش مقاله داشته‌اند.

(۲) تهیه پیش نویس مقاله یا بازبینی آن جهت تدوین محتوای اندیشمندانه: نویسندگان مشارکت برابری در نگارش مقاله داشته‌اند.

(۳) تایید نهایی دستنوشته پیش از ارسال به مجله:

نویسندگان مشارکت برابری در نگارش مقاله داشته‌اند.

به همراه مصرف عصاره پوست انار به‌عنوان یک مداخله درمانی مفید پیشنهاد می‌شود. اگرچه اختلال در مسیرهای سیگنالینگ درون سلولی انسولین، لیپوژنز مجدد اسیدهای چرب آزاد، کاهش بتااکسیداسیون، اختلال میتوکندریایی و استرس اکسیداتیو به توسعه کبد چرب منجر می‌شود (۳۱)؛ اما کاهش چاقی شکمی، تغییر سطوح لیپوپروتئین‌های پلاسما، افزایش قابلیت‌های جسمانی همراه با آنزیم‌های کبدی می‌تواند از فواید مهم مداخلات باشد. در این پژوهش استفاده از نمونه‌های حیوانی، کنترل پروتکل‌ها و حذف تأثیر متغیرهای مزاحم از نکات قوت پژوهش بودند. از طرفی، نداشتن توجه دقیق به دوز مصرفی عصاره پوست انار، نبودن موش‌های نر، عدم اندازه‌گیری ترکیب بدن در طول مداخلات و عدم بررسی سایر آنزیم‌های اکسیدانی و آنتی‌اکسیدانی از محدودیت‌های اصلی پژوهش حاضر بودند. از این‌رو، جهت تفسیر منطقی و تعمیم این نتایج به سایر زمینه‌ها نیازمند تحقیقات بیشتری درباره نقش کمکی دوزهای عصاره پوست انار و تأثیر انجام فعالیت‌های مقاومتی، هوازی و ترکیبی بر آنزیم‌های کبدی مرتبط با چاقی و سایر مسیرهای مولکولی و سلولی هستیم.

References

1. Kanter R, Caballero B. Global Gender Disparities in Obesity: A Review. *Advances in Nutrition*. 2012;3(4):491-8.
2. Araújo AR, Rosso N, Bedogni G, Tiribelli C, Bellentani S. Global epidemiology of non-alcoholic fatty liver disease/non-alcoholic steatohepatitis: What we need in the future. *Liver International*.
3. Molla NH, Kathak RR, Sumon AH, Barman Z, Mou AD, Hasan A, et al. Assessment of the relationship between serum uric acid levels and liver enzymes activity in Bangladeshi adults. *Scientific Reports*. 2021;11.
4. Kwak MS, Kim D. Non-alcoholic fatty liver disease and lifestyle modifications, focusing on physical activity. *Korean J Intern Med*. 2018;33(1):64-74.
5. Bahram ME, Afroundeh R, Ghiyami Taklimi SH, Sadeghi A, Gholamhosseini M. Effect of High-intensity Interval Training and Loquat Leaf Extract Consumption on Liver Enzymes in Obese Men With Non-alcoholic Fatty Liver Disease. *complementary Medicine Journal*. 2021;11(2):102-15.
6. Kistler KD, Brunt EM, Clark JM, Diehl AM, Sallis JF, Schwimmer JB. Physical activity recommendations, exercise intensity, and histological severity of nonalcoholic fatty liver disease. *Am J Gastroenterol*. 2011;106(3):460-8; quiz 9.
7. Charatcharoenwitthaya P, Kuljiratitikal K, Aksornchanya O, Chaiyasoot K, Bandidniyamanon W, Charatcharoenwitthaya N. Moderate-Intensity Aerobic vs Resistance Exercise and Dietary Modification in Patients With Nonalcoholic Fatty Liver Disease: A Randomized Clinical Trial. *Clinical and Translational Gastroenterology*. 2021;12(3):e00316.
8. Kandyli P, Kokkinomagoulos E. Food Applications and Potential Health Benefits of Pomegranate and its Derivatives. *Foods (Basel, Switzerland)*. 2020;9(2):122.
9. Urbaniak A, Basta P, Ast K, Wołoszyn A, Kuriańska – Wołoszyn J, Latour E, et al. The impact of supplementation with pomegranate fruit (*Punica granatum L.*) juice on selected antioxidant parameters and markers of iron metabolism in rowers. *Journal of the International Society of Sports Nutrition*. 2018;15(1):35.
10. Giménez-Bastida JA, Ávila-Gálvez MÁ, Espín JC, González-Sarrías A. Evidence for health properties of pomegranate juices and extracts beyond nutrition: A critical systematic review of human studies. *Trends in Food Science & Technology*. 2021;114:410-23.
11. Dauqan E, Sani HA, Abdullah A, Kasim ZM. Effect of four different vegetable oils (red palm olein, palm olein, corn oil, coconut oil) on antioxidant enzymes activity of rat liver. *Pakistan journal of biological sciences : PJBS*. 2011;14(6):399-403.
12. Li JB, Qiu ZY, Liu Z, Zhou Q, Feng LF, Li JD, et al. Gender Differences in Factors Associated with Clinically Meaningful Weight Loss among Adults Who Were Overweight or Obese: A Population-Based Cohort Study. *Obesity Facts*. 2021;14(1):108-20.
13. Seyedalipour B, Arefifar A, Khanbabaee R, Hoseini SM. Toxicity investigating of silver nanoparticles on ALT, AST, ALP and histopathological changes in NMRI mice. *Journal of Mazandaran University of Medical Sciences*. 2015;25(124):183-93.
14. Ranjbar K, Nazem F, Sabrinezhad R, Nazari A. Aerobic training and L-arginine supplement attenuates myocardial infarction-induced kidney

and liver injury in rats via reduced oxidative stress. *Indian heart journal*. 2018;70(4):538-43.

15. tabe h, abbassi dalooi a, ziaolhagh sj, barari a. The effect of aerobic training and garlic supplementation on expression of metabolic markers in heart tissue of obese rats. *Razi Journal of Medical Sciences*. 2021;28(5):80-9.

16. MalekiPoya M, Abedi B, Palizvan MR, Saremi A. Effect of an incremental aerobic training program on improving angiogenesis and balance in vascular endothelial growth factor and endostatinic in male rats with myocardial infarction. *Feyz Journal of Kashan University of Medical Sciences*. 2019;23(4):407-14.

17. Rahnama Z, Poozesh Jadidi R, Nasir Zadeh MR. Effect of two month aerobic training and pomegranate peel extract (PPE) supplementation on Insulin resistance index levels in obese rats. *Journal of Applied Health Studies in Sport Physiology*. 2017;4(1):1-10.

18. Ali Asghari Gelodar S, Ghanbari-Niaki A, Nasiri K. Effect of Moderate Endurance Training and Consumption of Rosa Canina L. Extract on Liver Enzyme Profile in Male Rats. *Journal of Mazandaran University of Medical Sciences*. 2020;30(190):11-23.

19. Basirat-Dehkordi S, Vahidian-Rezazadeh M, Moghtaderi A. Response of aspartate aminotransferase, alanine aminotransferase, and alkaline phosphatase enzymes to aerobic exercise and royal jelly in multiple sclerosis patients. *Feyz Journal of Kashan University of Medical Sciences*. 2019;23(4):352-60.

20. Zeinvand Iorestani A, Mirnasouri R, Rahmati M. The effect of eight weeks of aerobic training on the levels of enzymes associated with non-alcoholic fatty liver in obese children. *scientific magazine yafta*. 2018;20(2):53-61.

21. Xiong Y, Peng Q, Cao C. Effect of Different Exercise Methods on Non-Alcoholic Fatty Liver Disease: A Meta-Analysis and Meta-Regression. 2021;18(6).

22. Moosavi-Sohroforouzani A, Ganbarzadeh M. Reviewing the physiological effects of aerobic and resistance training on insulin resistance and some biomarkers in non-alcoholic fatty liver disease. *Feyz Journal of Kashan University of Medical Sciences*. 2016;20(3):282-96.

23. Loeffelholz CV, Roth J, Coldewey SM, Birkenfeld AL. The Role of Physical Activity in Nonalcoholic and Metabolic Dysfunction Associated Fatty Liver Disease. *Biomedicines*. 2021;9(12).

24. Machado MV. Aerobic Exercise in the Management of Metabolic Dysfunction Associated Fatty Liver Disease. *Diabetes, metabolic syndrome and obesity : targets and therapy*. 2021;14:3627-45.

25. Ali H, Jahan A, Samrana S, Ali A, Ali S, Kabir N, et al. Hepatoprotective Potential of Pomegranate in Curbing the Incidence of Acute Liver Injury by Alleviating Oxidative Stress and Inflammatory Response. *Frontiers in Pharmacology*. 2021;12.

26. Rapa SF, Magliocca G, Pepe G, Amodio G, Autore G, Campiglia P, et al. Protective Effect of Pomegranate on Oxidative Stress and Inflammatory Response Induced by 5-Fluorouracil in Human Keratinocytes. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*. 2021;10(2):203.

27. Faddladdeen KA, Ojaimi AA. Protective Effect of Pomegranate (*Punica granatum*) Extract against Diabetic Changes in Adult Male Rat Liver: Histological Study. *Journal of microscopy and ultrastructure*. 2019;7(4):165-70.

28. Ammar A, MounaTurki, Trabelsi K, Bragazzi NL, Boukhris O, Bouaziz M, et al. Effects of natural polyphenol-rich pomegranate juice on the acute and delayed response of Homocysteine and steroidal hormones following weightlifting exercises: a double-blind, placebo-controlled trial. *Journal of the International Society of Sports Nutrition*. 2020;17(1):15.
29. Abdi A, Aohajer iravani O. The effect of *Punica granatum* L. along with aerobic training on resistin, serum adiponectin and insulin resistance in women with type 2 diabetes. *Feyz Journal of Kashan University of Medical Sciences*. 2018;22(1):39-47.
30. Rahimi G, Heydari S, Rahimi B, Abedpoor N, Niktab I, Safaeinejad Z, et al. A combination of herbal compound (SPTC) along with exercise or metformin more efficiently alleviated diabetic complications through down-regulation of stress oxidative pathway upon activating Nrf2-Keap1 axis in AGE rich diet-induced type 2 diabetic mice. *Nutrition & Metabolism*. 2021;18(1):14.
31. Bessone F, Razori MV, Roma MG. Molecular pathways of nonalcoholic fatty liver disease development and progression. 2019;76(1):99-128.

The effect of six weeks of aerobic exercise with pomegranate peel extract on liver enzymes of obese female rats

Pooya Shokati¹, Hoseyn Fatolahi^{2*}

1. Phd student of Sports Physiology, Faculty of Physical Education and Sports Sciences, Islamic Azad University, Central Tehran Branch, Iran
2. Associate Professor of Exercise Physiology, Department of Physical Education and Sports Sciences, Islamic Azad University, Pardis Branch, Iran

Corresponding author: Islamic Azad University, Pardis Branch, Department of Physical Education and Sports Sciences

Email: hoseyn.fatolahi@pardisiau.ac.ir

Abstract

Background & Aim: In recent decades, much attention has been paid to the application of exercise and herbal medicine in the elimination of free radicals caused by obesity. The aim of this study was to investigate the effect of six weeks of aerobic training and supplementation of pomegranate peel extract on the activity of liver enzymes in obese rats.

Methods: 30 female Wistar rats were randomly divided into 5 groups: control, obese, obese+ aerobic exercise, obese+ pomegranate peel extract, obese+ aerobic exercise+ pomegranate peel extract. Obesity was induced by gavage of 0.5 ml per 100 g of body weight of palm oil frying for 4 weeks (5 days a week). The aerobic training program was performed on a treadmill for six weeks (five 30-minute sessions per week with an intensity of 50 to 60% Vo₂max). Pomegranate peel extract at a dose of 60 mg per kg was administered by gavage in the morning for 6 weeks. Feresh method was used to prepare serum samples and determine ALT, AST and ALP values of liver tissue and the data were analyzed by two-way analysis of variance at a significance level of 0.05.

Results: Induction of obesity significantly increased the activity of AST, ALT and ALP enzymes in the liver ($P < 0.05$). The main effect of aerobic exercise, the main effect of pomegranate peel extract and the interactive effect of aerobic exercise and pomegranate peel extract on all three liver enzymes of obese female rats were significant ($P < 0.05$). The most significant decrease in AST and ALT enzymes was observed when combining aerobic exercise and pomegranate peel extract. However, there was no significant difference in the reduction of liver enzyme ALP between the three experimental groups ($P > 0.05$).

Conclusion: The anti-inflammatory and antioxidant properties of pomegranate peel extract and aerobic exercise modulate the levels of biomarkers or compensate for the impaired liver enzymatic activity in obese female subjects after six weeks of intervention.

Keywords:

Exercise ,
Pomegranate
Extract, Liver
Enzymes , Obesity ,
Palm Oil

How to Cite this Article: Shokati P, Fatolahi H. The effect of six weeks of aerobic exercise with pomegranate peel extract on liver enzymes of obese female rats. Journal of Torbat Heydariyeh University of Medical Sciences. 2022;10(2):13-24.