

## Original Article

# Effects of concurrent eight-week aerobic trainings and *Rosa canina* L. fruit hydroalcoholic extract on liver enzymes and malondialdehyde of liver in male rats following an acute aerobic exercise until exhaustion

Amir Khosravi\* 

Department of Physical Education and Exercise Science, Faculty of Humanities, Ayatollah Ozma Borujerdi University, Borujerd, Iran

\*Corresponding author; E-mail: STU\_KHOSRAVI1@yahoo.com

Received: 28 Jan 2019 Accepted: 20 Feb 2019 First Published online: 24 Feb 2021

Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2021;42(6):701-712

## Abstract

**Background:** *Rosa canina* L. has high levels of carotenoids, flavonoids and, vitamin C antioxidant compounds that can withstand the destructive effects of exhaustive exercise-induced oxidative stress. The present study aims to investigate the effects of concurrent eight-week aerobic training and *Rosa canina* L. fruit hydroalcoholic extract on some liver enzymes and malondialdehyde of liver in male rats following an acute aerobic exercise until exhaustion.

**Methods:** The present research was an experimental study. Forty male Wistar rats were randomly divided into four groups (N=10): placebo (without exercise + distilled water 2 ml supplement), supplement (without exercise + *Rosa canina* L extract, 100 mg/kg), exercise (8 weeks exercise + distilled water 2 ml), combined (8 weeks exercise + *Rosa canina* L extract, 100 mg/kg). At the end of the experiment, half of the rats were killed immediately before exhaustive exercise; while the other half were killed immediately after performing an acute exhaustive exercise on the treadmill. Serum enzymes AST, ALT, and hepatic malondialdehyde levels were measured by ELISA and thiobarbituric acid methods, respectively.

**Results:** The results show that in all groups except the combined group serum AST, ALT, and malondialdehyde of the liver were significantly increased following an acute exhaustive exercise compared to the prior exhaustive exercise ( $P<0.05$ ).

**Conclusion:** The use of *Rosa canina* L Fruit hydroalcoholic extract with aerobic exercise prevented the increase of hepatic malondialdehyde and serum enzymes AST, ALT levels following an acute exhausting exercise.

**Keywords:** Aerobic Exercise Exhaustion, Liver Enzymes, *Rosa Canina* L Fruit Extract, Malondialdehyde

**How to cite this article:** Khosravi A. [T Effects of concurrent eight-week aerobic trainings and *Rosa canina* L. fruit hydroalcoholic extract on liver enzymes and malondialdehyde of liver in male rats following an acute aerobic exercise until exhaustion]. Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2021;42(6):701-712. Persian.

## مقاله پژوهشی

## اثر همزمان هشت هفته تمرین هوازی و عصاره هیدروالکلی میوه نسترن کوهی بر برخی آنزیم های کبدی سرم و مالون دی آلدئید کبد موش های ویستار متعاقب یک وهله فعالیت وامانده ساز هوازی

امیر خسروی\*

گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشکده علوم انسانی، دانشگاه آیت الله العظمی بروجردی (ره)، بروجرد، ایران  
\* نویسنده مسئول: ایمیل: STU\_KHOSRAVI1@yahoo.com

دریافت: ۱۳۹۷/۱۱/۸ پذیرش: ۱۳۹۷/۱۲/۱ انتشار برخط: ۱۳۹۹/۱۲/۶  
مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز. ۱۳۹۹؛ ۴۲(۶): ۷۰۱-۷۱۲

## چکیده

**زمینه:** نسترن کوهی سرشار از ترکیبات آنتی اکسیدانی مثل کاروتنوئیدها، فلاونوئیدها، و ویتامین C بوده که قادر به مقابله با اثرات مخرب استرس اکسیداتیو ناشی از ورزش های وامانده ساز است. تحقیق حاضر به منظور تعیین اثر همزمان هشت هفته تمرین هوازی و عصاره هیدروالکلی میوه نسترن کوهی بر برخی آنزیم های کبدی سرم و مالون دی آلدئید کبد موش های ویستار متعاقب یک وهله فعالیت وامانده ساز هوازی انجام شد.

**روش کار:** در این مطالعه تجربی، ۴۰ سر موش نر نژاد ویستار به صورت تصادفی به چهار گروه مساوی، دارونما (بدون تمرین + ۲ میلی لیتر آب مقطر)، مکمل (بدون تمرین + ۱۰۰ میلی گرم عصاره هیدروالکلی نسترن کوهی + ۲ میلی لیتر آب مقطر)، تمرین (۸ هفته تمرین استقامتی + ۲ میلی لیتر آب مقطر)، ترکیبی (۸ هفته تمرین استقامتی + ۱۰۰ میلی گرم عصاره هیدروالکلی نسترن کوهی + ۲ میلی لیتر آب مقطر) تقسیم شدند. در پایان تحقیق نیمی از موش ها بلافاصله پیش و نیمی دیگر بلافاصله پس از وامانده شدن روی نوار گردان، جراحی شدند. آنزیم های آسپاراتات آمینوترانسفراز و آلانین آمینوترانسفراز سرمی و مالون دی آلدئید بافت کبد به ترتیب با روش های الیزا و تیوباریتوریک اسید سنجیده شدند. داده ها با روش آماری تحلیل واریانس یک طرفه و آزمون تعقیبی توکی، در سطح معناداری  $p < 0/5$  تجزیه و تحلیل شدند.

**یافته ها:** مقادیر آنزیم های آسپاراتات آمینوترانسفراز و آلانین آمینوترانسفراز سرمی و مالون دی آلدئید بافت کبد تمامی گروه ها بجز گروه ترکیبی متعاقب وامانده سازی افزایش معنی داری نشان دادند ( $p < 0/05$ ).

**بحث و نتیجه گیری:** نتایج حاصل نشان داد تمرین هوازی به همراه مصرف عصاره هیدروالکلی نسترن کوهی از افزایش مالون دی آلدئید بافت کبد و آنزیم های آسپاراتات آمینوترانسفراز و آلانین آمینوترانسفراز سرمی متعاقب یک وهله فعالیت وامانده ساز جلوگیری می کند.

**کلید واژه ها:** فعالیت وامانده ساز هوازی، آنزیم های کبدی، عصاره میوه نسترن کوهی، مالون دی آلدئید.

**نحوه استناد به این مقاله:** خسروی ا. اثر همزمان هشت هفته تمرین هوازی و عصاره هیدروالکلی میوه نسترن کوهی بر برخی آنزیم های کبدی سرم و مالون دی آلدئید کبد موش های ویستار متعاقب یک وهله فعالیت وامانده ساز هوازی. مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز. ۱۳۹۹؛ ۴۲(۶): ۷۰۱-۷۱۲

حق تالیف برای مولف محفوظ است.

این مقاله با دسترسی آزاد توسط دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز تحت مجوز کرییتیو کامنز (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>) منتشر گردیده که طبق مفاد آن هرگونه استفاده تنها در صورتی مجاز است که به اثر اصلی به نحو مقتضی استناد و ارجاع داده شده باشد.

## مقدمه

فعالیت های ورزشی به ویژه تمرینات هوازی با شدت و مدت پایین تا متوسط با مکانیسم های مختلفی از جمله تقویت سیستم دفاع آنتی اکسیدانی بدن نقش چشمگیری در کنترل و پیشگیری از بیماری های مزمن غیرواگیر مانند بیماری های قلبی عروقی، اختلالات متابولیکی، پیری، آلزایمر و سرطان دارند. کبد نیز از اندام های حیاتی است که با فعالیت های بدنی در برابر تنش های مختلف محیطی و فیزیولوژیک مانند سرما، گرما، هیپوکسی، ایسکمی و تخلیه انرژی مقاوم می شود (۱). برخلاف تمرینات هوازی با شدت و مدت پایین تا متوسط، در خلال تمرینات ورزشی هوازی با شدت و یا مدت بالا، اکسیژن مصرفی بدن به ۱۰ تا ۲۰ برابر و در سطح سلول های عضلانی فعال به ۱۰۰ تا ۲۰۰ برابر حالت استراحت افزایش می یابد. در خلال اینگونه فعالیت ها ۲ تا ۵ درصد اکسیژن مصرفی تبدیل به رادیکال های آزاد می شوند. با توجه به نقش حیاتی کبد در حفظ هموستاز بدن، میزان اکسیژن مصرفی سلول های این بافت به دلیل افزایش فعالیت جهت برآورده کردن نیازهای انرژی، از طریق افزایش میزان گلیکوژنولیز و گلوکونئوز، بالا رفته (۱) در نتیجه تولید گونه های اکسیژنی فعال سلول های کبدی به بیش از ۲ تا ۳ برابر حالت طبیعی افزایش می یابد. همچنین هیپوکسی، فعالیت گزانتین اکسیداز (Xanthine Oxidase) و افزایش درجه حرارت بدن نیز میزان تولید گونه های اکسیژنی فعال را افزایش می دهند. در این شرایط سیستم دفاع آنتی اکسیدانی سلول های کبدی جهت خنثی سازی گونه های اکسیژنی فعال کارایی کافی را نداشته بنابراین استرس اکسیداتیو در این بافت رخ می دهد و موجب آسیب به لیپیدها، پروتئین ها و داکسی ریبونوکلیک اسید سلول شده، عملکرد سلولی آسیب می بیند و حتی منجر به مرگ سلولی و در نتیجه آسیب بافتی می شود (۲). یکی از مهم ترین شاخص ها برای ارزیابی استرس اکسیداتیو غشا سلولی، اندازه گیری مالون دی آلدئید (Malondialdehyde) بافت است. این شاخص در نتیجه تخریب اکسیداسیونی سلولی اسید های چرب با چند پیوند دوگانه موجود در ساختمان غشا سلولی توسط رادیکال های آزاد و به عنوان پراکسیداسیون لیپید شناخته می شود (۲). همچنین یکی دیگر از روش های رایج و اصلی نشانگر آسیب سلول های کبدی، اندازه گیری آنزیم های سیتوپلاسمی آسپاراتات آمینوترانسفراز (aspartate aminotransferase) و آلانین آمینوترانسفراز (alanine aminotransferase) خون است. این آنزیم ها عامل انتقال آمین از یک سوبسترا به سوبسترای دیگر هستند. مواقعی که سلول های کبدی آسیب ببینند، میزان آنزیم های AST و ALT پلاسمایی به سرعت افزایش پیدا می کند. غلظت پلاسمایی این آنزیم ها، بهترین شاخص برای ارزیابی وضعیت کبد هستند، زیرا با آسیب سلول های کبدی، میزان این آنزیم ها در خون افزایش می یابد. در تحقیقات

متعددی مانند تحقیقات راموس و همکاران (۳) همچنین کوریوی و همکاران (۴) گزارش شده که متعاقب یک وهله تمرین هوازی و اماانده ساز میزان مالون دی آلدئید بافت کبد و آنزیم های سرمی نشانگر آسیب کبدی (آسپاراتات آمینوترانسفراز، آلانین آمینوترانسفراز و آلکالین فسفاتاز)، به طور معنی داری افزایش می یابد. با توجه به اینکه تمرینات ورزشی هوازی با شدت و مدت بالا موجب برهم خوردن تعادل اکسیدان آنتی اکسیدانی سلول های کبدی و بروز استرس اکسایش در سلول های کبدی و در نتیجه پراکسیداسیون لیپیدی غشا سلولی و آسیب سلول های کبدی و رهائش آنزیم های AST و ALT به سیستم گردش خون می شوند (۲) بنابراین احتمالاً یکی از راه کارهای موثر در جهت کاهش و یا جلوگیری از اثرات منفی تمرینات هوازی با شدت و مدت بالا در سلول های کبدی مصرف مکمل های آنتی اکسیدانی جهت تقویت سیستم دفاع آنتی اکسیدانی این سلول ها است (۵). با وجود این، ممکن است مصرف مکمل های آنتی اکسیدانی سنتزی اثرات نامطلوبی مانند اختلال در سازگاری بافت های عروقی و عضلات اسکلتی به تمرینات ورزشی (از طریق مسدود کردن سیگنال های درون سلولی)، آلوده بودن به مواد ممنوعه و تسریع روند استرس اکسایش داشته باشند (۶). از سوی گرایش به مصرف داروها و مکمل های با منشأ گیاهی بین ورزشکاران و غیر ورزشکاران به دلیل سهولت دسترسی، عدم عوارض جانبی در دوزهای مجاز و قیمت مناسب، داروهای گیاهی را به عنوان جایگزین مکمل های سنتزی مورد توجه محققین قرار داده است (۵). نسترن کوهی (*Rosa canina L*) درختچه ای چند ساله است که به طور خودرو در مناطق خشک، روی صخره ها و حتی در بوته زارها می روید. میوه آن گرد یا تخم مرغی کوزه ای شکل، کشیده، صاف با رنگ قرمز روشن (در مرحله رسیدگی کامل به رنگ قرمز تیره مایل به قهوه ای) است و دانه ها در داخل آن قرار دارند. نسترن کوهی گیاهان دارویی ارزشمندی است که مردم اکثر سرزمین ها از میوه های این گیاه در جهت پیشگیری و درمان بیماری های مختلف از جمله هموروئید، دیابت شیرین، آرتريت، روماتیسم، سیاتیک، سرماخوردگی، آنفولانزا، تفرس، زخم معده، سنگ صفرا و کلیه استفاده می کنند (۷). دلیل خواص دارویی فراوان میوه این گیاه به دلیل ترکیبات آن است. این میوه سرشار از فلاونوئیدها، لیگنین، توکوفرولها، کاروتنوئیدها (لیکوپن، زتا و بتا کاروتن، گزانتوفیل، نئوگزانتین و لوتئین)، قندها، اسیدهای آلی، اسیدهای آمینه، اسیدهای چرب ضروری، پکتین و تانن ها، همچنین ویتامین های B1، B2، C، E، K و پتاسیم و فسفر است. مجموع ترکیبات فنولی نسترن کوهی ۱۴/۹۴-۱۳/۸۳ میلی گرم اکی والان اسید گالیک بر گرم وزن خشک، و مقدار ویتامین C آن حدود ۶۴۳ میلی گرم و ۱۲/۹-۳۵/۲ میلی گرم لیکوپن در هر ۱۰۰ گرم ماده خشک است (۷). با توجه به مقادیر بالای ترکیبات آنتی اکسیدانی موجود در میوه نسترن کوهی این میوه دارای اثر آنتی اکسیدانی قوی بوده که در تحقیقات

موش ها از مرکز پرورش حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی لرستان تهیه شد. برای نگهداری موش های صحرایی از قفس های جنس پلی کربنات شفاف با قابلیت اتو کلاو استفاده شد. برای جذب ادرار و مدفوع حیوانات و راحتی آنها از تراشه و بریده های چوب استریل استفاده شد. یک روز در میان قفس ها شست و شو و تراشه های چوب نیز تعویض می شد. دمای مطلوب سالن نگهداری حیوانات ۲۰ تا ۲۴ درجه سانتی گراد و رطوبت نسبی حدود ۵۵ تا ۶۵ درصد کنترل و ثبت شد. چرخه روشنایی تاریکی نیز هر ۱۲ ساعت یکبار به طور دقیق توسط تنظیم کننده الکترونیکی نور سالن نگهداری حیوانات آزمایشگاهی رعایت شد. طی دوره پژوهش، موش ها به آب و غذای مخصوص حیوانات آزمایشگاهی دسترسی آزادانه داشتند. حجم نمونه بر اساس مطالعات قبلی در سطح معناداری آلفا یا خطای نوع اول (۰/۰۵ درصد) و توان بتا یا خطای نوع دوم (۰/۸) با نرم افزار SPSS نسخه ۲۲ در مجموع ۴۰ سر موش صحرایی و برای هر گروه ۱۰ سر موش صحرایی تعیین شد. با توجه به حجم نمونه مورد نیاز یک هفته پس از انتقال موش ها به محیط آزمایشگاهی برای غربالگری، موش ها مجبور به دویدن با سرعت ۱۶/۶ متر بر دقیقه و به مدت ۵ دقیقه بر روی تردمیل ۱۲ کاناله TURBO T310 ساخت کره شدند. ۴۰ سر موش صحرایی با وزن تقریبی  $224 \pm 18$  گرم که توانایی دویدن در این سرعت را داشتند انتخاب شده و پس از همسان سازی وزن به صورت تصادفی ساده به ۴ گروه (هر گروه ۱۰ سر موش)، گروه دارونما (بدون تمرین + ۲ میلی لیتر آب مقطر)، گروه مکمل (بدون تمرین + ۱۰۰ میلی گرم عصاره هیدروالکلی نسترن کوهی + ۲ میلی لیتر آب مقطر)، گروه تمرین (۸ هفته تمرین استقامتی + ۲ میلی لیتر آب مقطر)، و گروه ترکیبی تمرین + مکمل (۸ هفته تمرین استقامتی + ۱۰۰ میلی گرم عصاره هیدروالکلی نسترن کوهی + ۲ میلی لیتر آب مقطر) تقسیم شدند. گروه های تمرین و ترکیبی تمرین + مکمل به مدت هشت هفته، پنج جلسه تمرین در هفته (روزهای پنج شنبه و جمعه تمرین انجام نمی شد)، تحت تمرین روی نوارگردان (شیب صفر درجه) قرار گرفتند. در جدول ۱، جزئیات پروتکل تمرینی ارائه شده است. در ابتدا و انتهای هر جلسه تمرین موش ها جهت گرم و سرد کردن در هر مرحله به مدت ۵ دقیقه با سرعت ۱۶/۶۶ متر بر دقیقه می دویدند (۱۱). همچنین موش های گروه های دارونما و مکمل همزمان با برنامه تمرینی هفته هشتم دو گروه دیگر (یک هفته پیش از وامانده شدن) به مدت ۱ هفته، ۵ روز متوالی هفته و هر روز یک جلسه (بین ۵ تا ۱۵ دقیقه) با سرعت ۱۶/۶ تا ۲۰ متر بر دقیقه روی تردمیل با شیب صفر درصد دویدند (۱۱). در انتهای هفته هشتم تحقیق متعاقب ۷۲ ساعت استراحت پس از آخرین جلسه تمرین، نیمی از موش های هر چهار گروه (هر گروه ۵ سر و در مجموع

متعددی گزارش شده است (۱۰-۸). صادقی و همکاران (۸) در تحقیقی عنوان کردند عصاره هیدروالکلی میوه نسترن کوهی از تغییرات معنی دار آنزیم های کبدی آلکالین فسفاتاز (Alkaline phosphatase), ALT, AST, serum و مالون دی آلدئید پلاسما موش های مبتلا شده به سمیت کبدی جلوگیری می کند. همچنین بنان خجسته و همکاران (۹)، نشان دادند که عصاره الکی میوه نسترن کوهی باعث کاهش معنی دار آنزیم های ALP, ALT و AST سرم موش های دیابتی می شود. تقی زاده و همکاران (۱۰) نیز نشان دادند عصاره الکی میوه نسترن کوهی باعث کاهش معنی دار آنزیم های ALT و AST و جلوگیری از کاهش ظرفیت کل آنتی اکسیدانی پلاسما در موش های دیابتی می شود. مطالعات اندک انجام شده در زمینه اثرات آنتی اکسیدانی نسترن کوهی در سلول های کبدی، استرس اکسایش به روش ساختگی با استفاده از مواد شیمیایی (۸) و یا القا دیابت (۱۰،۹) انجام شده است، در حالی که استرس اکسایش ناشی از تمرینات هوازی وامانده ساز که منجر به آسیب دیدگی سلول های کبدی و رهایش آنزیم های نشانگر این آسیب در سرم می شوند، از لحاظ مکانیسم وقوع استرس اکسیداتیو، میزان، گستردگی و.. متفاوت هستند. از سویی با توجه نقش تمرینات هوازی با شدت بالا در افزایش آمادگی جسمانی، اینگونه تمرینات شیوع گسترده ای بین افراد ورزشکار و غیر ورزشکار دارند. با توجه به تاثیرات منفی شناخته شده اینگونه تمرینات بر بافت های مختلف از جمله کبد و عوارض نامطلوب مصرف داروهای صنعتی جهت مقابله با اثرات نامطلوب تمرینات هوازی با شدت بالا از جمله استرس اکسایشی، همچنین معرفی مکمل های گیاهی کمتر شناخته شده برای عموم مثل نسترن کوهی، که قابل استفاده در روش های مختلف، در دسترس، ارزان، اثرات مثبت اثبات شده بر کبد، بدون عوارض جانبی در دوزهای مجاز، برای کاهش اثرات مخرب ناشی از تمرینات هوازی وامانده ساز بر کبد، بسیار مفید و ضروری است. بنابراین معرفی نسترن کوهی برای کاهش اثرات مخرب تمرینات هوازی وامانده ساز برای ارابه به افراد درگیر در تمرینات ورزشی با شدت بالا می تواند در جلوگیری از بروز صدمات کبدی احتمالی و پیامدهای خطرناک اینگونه تمرینات به حفظ و افزایش سلامتی افراد جامعه، جلوگیری و یا کاهش هزینه های درمانی کمک کند. در نتیجه، مطالعه حاضر با هدف بررسی تاثیر هشت هفته تمرین هوازی و مصرف همزمان عصاره هیدروالکلی میوه نسترن کوهی بر برخی آنزیم های کبدی سرم و مالون دی آلدئید کبد موش های ویستار متعاقب یک وهله فعالیت وامانده ساز هوازی انجام شد.

## روش کار

پژوهش حاضر، به روش مطالعه تجربی روی ۵۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با وزن تقریبی ۲۴۰ - ۲۰۰ گرم انجام شد.

دوم در انتهای ۸ هفته تمرین متعاقب ۷۲ ساعت عدم فعالیت ورزشی نیم باقی مانده دیگر پس از وامانده سازی با داروی دی اتیل اتر بیهوش شدند (بیهوشی با محفظه شیشه‌ای درب دار محتوی پنبه آغشته به دی اتیل اتر انجام شد که پس از گذشت ۳-۵ دقیقه حیوان در بیهوشی مناسب قرار می‌گرفت). سپس با سرنگ و به میزان کافی از ورید کاروتید گردن خونگیری شد. نمونه های خون جهت لخته شدن به مدت ۳۰ دقیقه در دما آزمایشگاه انکوبه و به دنبال آن به مدت ۱۰ دقیقه در ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند و سرم حاصل جدا شده و تا زمان انجام آزمایش اسپاراتات آمینوترانسفراز و آلانین آمینوترانسفراز به صورت منجمد در دما منفی ۸۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. فعالیت آنزیم‌های اسپاراتات آمینوترانسفراز و آلانین آمینوترانسفراز فسفاتاز آسیب کبدی با کیت شرکت پارس آزمون (ساخت ایران) و طبق دستورالعمل ارائه شده در کیت ها انجام شد (۱۴). حساسیت کیت‌ها برای اسپاراتات آمینوترانسفراز برابر ۲ واحد بین المللی بر لیتر و برای آلانین آمینوترانسفراز ۴ واحد بین المللی بر لیتر بود. محدوده اندازه‌گیری کیت ها برای اسپاراتات آمینو ترانسفراز تا ۰/۱۶ در دقیقه، و برای آلانین آمینوترانسفراز تا تغییرات جذب نوری ۰/۱۶ در دقیقه، بود. همچنین، بلافاصله بعد از خون گیری با کالبد شکافی، کبد حیوانات سریعا خارج و قسمتی از آن در سالیین بسیار سرد شستشو شد. برای تعیین محصول نهایی پراکسیداسیون لیپیدها (MDA)، به حجم مناسبی از بافت همورثه کبد، TCA ده درصد اضافه و به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. پس از جدا کردن مایع رویی، تیوباریتوریک اسید ۰/۶۷ درصد اضافه کرده و به مدت ۳۰ دقیقه در بن ماری جوشانده شد. سپس n-بوتانول به محلول اضافه و بعد از ورتکس شدید به مدت ۱۵ دقیقه در ۴۰۰۰ دور سانتریفیوژ شد. جذب محلول رویی صورتی رنگ در طول موج ۵۳۲ نانومتر خوانده شد. منحنی استاندارد مالون دی آلدئید با استفاده از ۱ و ۳ و ۳ و ۳ تراآتوکسی پروپان رسم و از روی آن میزان غلظت MDA بر حسب نانومول بر میلی‌گرم پروتئین محاسبه شد (۱۵). همچنین، برای اندازه‌گیری پروتئین بافت کبد حجم مناسبی از بافت همورثه را به حجم ۱ میلی‌لیتر رسانده و ۳ میلی‌لیتر از محلول برادفورد (حاوی کوماسی بریلیانت بلو در اتانول و اسید فسفریک) به آن اضافه و به مدت ۱۰ دقیقه انکوبه شد. سپس در طول موج ۵۹۵ نانومتر جذب خوانده شد و غلظت پروتئین نمونه‌ها از روی منحنی استاندارد پروتئین با محلول ۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر آلبومین سرم گاوی (BSA) محاسبه شد (۱۶).

#### روش تجزیه و تحلیل اطلاعات

از آمار توصیفی برای تعیین شاخص‌های مرکزی (میانگین) و پراکندگی (انحراف استاندارد) استفاده شد. پس از تایید توزیع نرمال داده‌ها با آزمون کولموگوروف - اسمیرنوف (Kolmogorov-Smirnov Test) داده های خام توسط

۲۰ سر موش) به طور تصادفی انتخاب و پس از بیهوشی جراحی شدند و نیم دیگر باقی مانده از موش های تمامی گروه ها وامانده شده (هر گروه ۵ سر و در مجموع ۲۰ سر موش) و بلافاصله بیهوش و سپس جراحی شدند. برای وامانده سازی ابتدا به مدت ۳ تا ۵ دقیقه با سرعت ۸ متر در دقیقه موش ها روی تردمیل دویدند و سپس سرعت نوار گردان طوری افزایش یافت تا سرعت به ۲۰ متر بر دقیقه رسید. در این مرحله موش ها به مدت ۵ دقیقه دویده و سپس سرعت نوار گردان به ۲۵ متر در دقیقه افزایش یافت. در این مرحله نیز به مدت ۱۰ دقیقه دویدند در انتها سرعت نوار گردان به ۳۰ متر در دقیقه افزایش یافت و این سرعت تا زمان رسیدن آزمودنی به واماندگی حفظ شد. این پروتکل فزاینده وامانده ساز با توجه به هزینه انرژی طراحی شده و شدت آن در زمان واماده شدن تقریبا ۷۰ تا ۹۴ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی بود (۱۲). زمانی که موش ها در هر مرحله از وامانده‌سازی به سه بار شوک الکتریکی تعبیه شده در ابتدای تردمیل واکنش نمی دادند و به حالت خوابیده به پشت باقی می‌ماندند وامانده محسوب شده و سپس جراحی می‌شدند (۱۲).

برای تهیه و خوردن عصاره آبی نسترن کوهی، پس از شناسایی و تایید هویت میوه نسترن کوهی توسط مرکز تحقیقات گیاهان دارویی رازی دانشگاه علوم پزشکی لرستان، میزان سه کیلوگرم از میوه رسیده نسترن کوهی (خشک شده در سایه) پودر شده و در سه لیتر اتانول به مدت ۷۲ ساعت در دما اتاق به دور از نور خورشید خیسانده شد. پس از صاف کردن محلول با کاغذ صافی واتمن شماره یک با دستگاه روتاری در شرایط خلا، حلال از عصاره خارج شد (۱۳). پودر عصاره‌ها تا زمان استفاده در فریزر و در دما منفی ۲۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. موش‌های گروه مکمل و گروه ترکیبی تمرین + مکمل عصاره هیدروالکلی نسترن کوهی را به میزان ۱۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن در ۲ میلی‌لیتر آب مقطر حل شده، روزانه یک وهله راس ساعت ۸ صبح و ۷ روز هفته به مدت ۸ هفته از طریق گاواژ دریافت کردند. همزمان به موش‌های گروه دارونما و گروه تمرین نیز روزانه به همان میزان ۲ میلی‌لیتر آب مقطر به عنوان حلال عصاره نسترن کوهی گاواژ شد (۱۳). در انتهای پروتکل هشت هفته ای پژوهش وزن حیوانات با ترازوی دیجیتال ۰،۰۱ (ساخت کشور ژاپن) اندازه گیری شد. وزن همه موش‌های صحرایی ۲۴ ساعت قبل از جراحی با این ترازو اندازه گیری و ثبت شد. برای سنجش آزمایشگاهی میزان مالون دی آلدئید، پروتئین بافت کبد، سطوح سرمی اسپاراتات آمینوترانسفراز و آلانین آمینوترانسفراز فسفاتاز که در دو مرحله انجام شد، تمامی موش ها در دو مرحله جراحی شدند. در مرحله اول (بلافاصله پیش از وامانده سازی) در انتهای ۸ هفته تمرین متعاقب ۷۲ ساعت عدم فعالیت ورزشی نیمی از تمامی موش‌ها (هر گروه ۵ سر و در مجموع ۲۰ سر موش) و در مرحله

بود ( $p < 0.05$ ). در ابتدای دوره تحقیق هیچ گونه اختلاف معنی داری بین وزن گروه های مختلف مشاهده نشد ( $p > 0.05$ ). با این وجود در پایان تحقیق این اختلاف مشاهده شد که میانگین وزنی گروه های دارونما و مکمل به طور معنی داری از گروه های تمرین و ترکیبی تمرین مکمل بیشتر بود ( $p < 0.05$ ). همچنین جدول ۱ میانگین زمان وامانده شدن موش های ۴ گروه را نشان می دهد، که این زمان در گروه های تمرین و ترکیبی تمرین + مکمل به طور معنی داری از موش های گروه های دارونما و مکمل بیشتر بود ( $p < 0.05$ ). در ابتدای تحقیق تعداد ۱۰ سر موش به دلیل عدم توانایی در دویدن در سرعت ۱۶/۶ متر بر دقیقه روی تردمیل از تحقیق کنار گذاشته شدند.

نرم افزار آماری SPSS نسخه ۲۲ و با آزمون تحلیل واریانس یک طرفه و آزمون تعقیبی توکی (Tukey's Test) در سطح معنی داری  $p \leq 0.05$  تجزیه و تحلیل شد.

### یافته ها

بر اساس آزمون کولموگروف - اسمیرنوف، داده های تمامی متغیرها در تمامی گروه ها، توزیع طبیعی دارند ( $p < 0.05$ ). جدول ۲ تغییرات وزن بدن موش های صحرائی را در گروه های بررسی شده پس از دو بار توزین نشان می دهد. میانگین وزن بدن تمامی گروه ها، در مرحله دوم نسبت به مرحله اول به طور معنی داری افزایش یافت که با توجه به افزایش سن موش های جوان، طبیعی

جدول ۱. برنامه تمرینی گروه های مختلف در طی دوره ۸ هفته ای

سرعت بر حسب متر بر دقیقه	مدت هر جلسه تمرین بر حسب دقیقه	تعداد جلسات تمرین در هفته	گروه
۲۰ تا ۱۶/۶	۲۵ تا ۵	۵ جلسه	گروه های دارونما و مکمل (بی تمرین)
۲۰	۲۵	۵ جلسه	یک هفته آشنایی با دویدن بر روی تردمیل هفته اول
۲۰	۳۰	۵ جلسه	هفته دوم
۲۱/۶۶	۳۵	۵ جلسه	هفته سوم
۲۱/۶۶	۴۰	۵ جلسه	هفته چهارم
۲۳/۳۲	۴۵	۵ جلسه	هفته پنجم
۲۳/۳۲	۵۰	۵ جلسه	هفته ششم
۲۴/۹۸	۵۵	۵ جلسه	هفته هفتم
۲۴/۹۸	۶۰	۵ جلسه	هفته هشتم

جدول ۲. میانگین وزن و زمان وامانده شدن گروه های مختلف

شاخص	زمان اندازه گیری	گروه دارونما	گروه مکمل	گروه تمرین	گروه ترکیبی تمرین مکمل
ابتدای دوره تحقیق	۲۱۲/۳ ± ۹/۱	۲۱۵/۶ ± ۱۱/۱	۲۱۳/۷ ± ۱۲/۵	۲۱۶/۸ ± ۱۵/۹	
انتهای دوره تحقیق	۲۹۱/۶ ± ۱۹/۸*	۳۰۰/۹ ± ۱۸/۵*	۲۴۸/۶ ± ۱۰/۳**	۲۴۱/۷ ± ۱۷/۵**	
سطح معنی داری	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	
زمان وامانده شدن (دقیقه)	۱۸/۶ ± ۸/۳ <sup>##</sup>	۲۲/۵ ± ۹/۲	۷۳/۵ ± ۱۱/۶*	۸۰/۹ ± ۱۳/۸ <sup>##†</sup>	

داده ها به صورت میانگین ± انحراف معیار می باشند؛ \* اختلاف معنی دار بین دو مرحله اندازه گیری (درون گروهی). # اختلاف معنی دار با سایر گروه ها (بین گروهی). L و H به ترتیب کمترین و بیشترین میزان نسبت به سایر گروه ها؛ † اختلاف معنی دار با گروه های دارونما و مکمل (سطح معنی داری  $p < 0.05$ ).

جدول ۳. مقایسه میانگین و انحراف معیار غلظت آنزیم های ALT و AST

گروه	شاخص ها	پیش از وامانده سازی (واحد بین الملل / لیتر)	پس از وامانده سازی (واحد بین الملل / لیتر)
دارونما	آلانین آمینو ترانسفراز	۷۶/۱ ± ۵/۱	۱۴۶/۳ ± ۸/۷*
	آسپارات آمینو ترانسفراز	۱۵۶/۶ ± ۱۱/۳	۲۲۹/۹ ± ۱۶/۶*
مکمل	آلانین آمینو ترانسفراز	۷۳/۳ ± ۷/۴	۱۳۸/۵ ± ۹/۳*
	آسپارات آمینو ترانسفراز	۱۵۴/۱ ± ۸/۶	۲۲۱/۸ ± ۱۲/۴*
تمرین	آلانین آمینو ترانسفراز	۷۷/۸ ± ۸/۵	۱۱۲/۵ ± ۱۲/۸**
	آسپارات آمینو ترانسفراز	۱۵۰/۶ ± ۶/۹	۱۹۲/۷ ± ۹/۶**
ترکیبی تمرین + مکمل	آلانین آمینو ترانسفراز	۷۵/۲ ± ۴/۳	۸۷/۸ ± ۹/۸ <sup>#</sup>
	آسپارات آمینو ترانسفراز	۱۵۷/۵ ± ۱۰/۷	۱۷۰/۶ ± ۱۳/۱ <sup>#</sup>

\* نشانه تفاوت معنی دار نسبت به پیش از وامانده سازی  $p < 0.05$

† نشانه تفاوت معنی داری با گروه یک و دو  $p < 0.05$

# نشانه تفاوت معنی داری با تمامی گروه ها  $p < 0.05$

نسترن کوهی به میزان ۱۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن، از تغییر معنی دار میزان ALT سرم موش ها متعاقب یک وهله فعالیت حاد هوازی جلوگیری کرد ( $p > 0.05$ ) (جدول ۳). همچنین مقدار ALT سرم موش های گروه ترکیبی تمرین + مکمل متعاقب یک وهله فعالیت حاد استقامتی نسبت به سه گروه دیگر و مقدار ALT سرم موش های گروه تمرین نسبت به گروه دارونما و مکمل به طور معنی داری کمتر بود ( $p < 0.05$ ).

مالون دی آلدئید (MDA):

مقدار MDA بافت کبد موش های تمامی گروه ها بجز گروه ترکیبی تمرین + مکمل (۸ هفته تمرینات استقامتی + ۱۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) متعاقب یک وهله فعالیت حاد استقامتی نسبت به پیش از وامانده سازی به طور معنی داری افزایش نشان داد. بر این اساس ۸ هفته تمرینات استقامتی به همراه مصرف نسترن کوهی به میزان ۱۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن، از تغییر معنی دار میزان MDA بافت کبد متعاقب یک وهله فعالیت حاد هوازی جلوگیری کرد ( $p > 0.05$ ). همچنین میزان MDA بافت کبد گروه تمرین (۸ هفته تمرینات استقامتی) نسبت به گروه دارونما و مکمل به طور معنی داری کمتر افزایش نشان داد ( $p < 0.05$ ). (نمودار ۱).

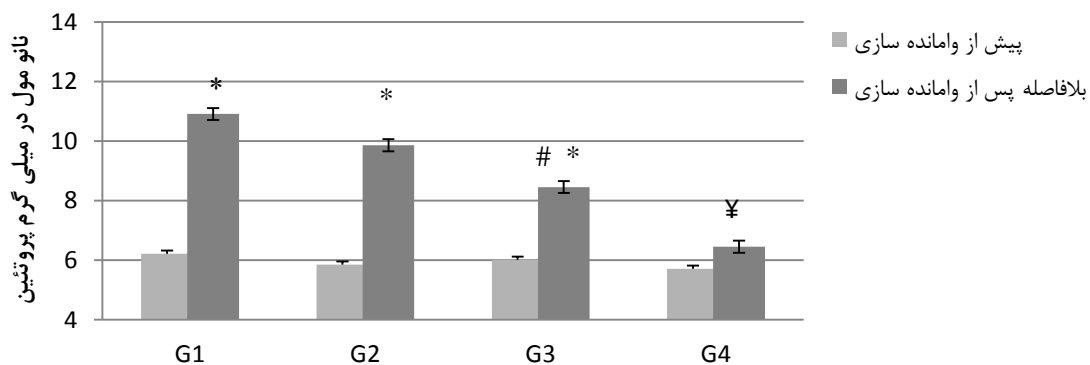
آسپاراتات آمینو ترانسفراز (AST):

مقدار AST سرم موش های تمامی گروه ها بجز گروه ترکیبی تمرین + مکمل (۸ هفته تمرینات استقامتی + مصرف ۱۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن نسترن کوهی) متعاقب یک وهله فعالیت حاد استقامتی نسبت به پیش از وامانده سازی به طور معنی داری افزایش نشان داد ( $p > 0.05$ ). بر این اساس ۸ هفته تمرینات استقامتی به همراه مصرف نسترن کوهی به میزان ۱۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن، از تغییر معنی دار میزان AST سرم موش ها متعاقب یک وهله فعالیت حاد هوازی جلوگیری کرد (جدول ۳). همچنین مقدار AST سرم موش های گروه ترکیبی تمرین + مکمل متعاقب یک وهله فعالیت حاد استقامتی نسبت به سه گروه دیگر و مقدار AST سرم موش های گروه تمرین نسبت به گروه دارونما و مکمل به طور معنی داری کمتر بود ( $p < 0.05$ ).

آلانین آمینو ترانسفراز (ALT):

مقدار ALT سرم موش های تمامی گروه ها بجز گروه ترکیبی تمرین + مکمل (۸ هفته تمرینات استقامتی + ۱۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) متعاقب یک وهله فعالیت حاد استقامتی نسبت به پیش از وامانده سازی به طور معنی داری افزایش نشان داد. بر این اساس ۸ هفته تمرینات استقامتی به همراه مصرف

میزان مالون دی آلدئید بافت کبد



نمودار ۱. تغییرات غلظت مالون دی آلدئید کبد گروه های مختلف (G1: دارونما، G2: گروه مکمل، G3: گروه تمرین، G4: گروه ترکیبی تمرین + مکمل) در خلال دو مرحله اندازه گیری پیش و بلافاصله پس از وامانده سازی. \* نشانه تفاوت معنی دار نسبت به پیش از وامانده سازی  $P < 0.05$ . # نشانه تفاوت معنی دار نسبت به گروه های یک و دو  $P < 0.05$ . ¥ نشانه تفاوت معنی دار نسبت به سایر گروه ها  $P < 0.05$ .

## بحث

خودی آنها، متابولیسم پروستاگلانندین، نیکوتین آمید آدنین دی نوکلئوتید فسفات اکسیداز (Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase) و فعالیت ماکروفاژها اشاره کرد (۱۷). بنابراین در خلال فعالیت های بدنی با شدت بالا عواملی از جمله هیپوکسی، فعالیت گزانتین اکسیداز، و افزایش درجه حرارت بدن و سایر عوامل عنوان شده در این بخش از بحث منجر به بروز استرس اکسیداتیو در سلول های کبدی می شوند (۱۷). در پی وقوع استرس اکسیداتیو غشا سلول های کبدی آسیب دیده و منجر به افزایش میزان مالون دی آلدئید در بافت کبدی و رهایش آنزیم های درون سلولی از جمله آنزیم های اسپاراتات آمینوترانسفراز و آلانین آمینوترانسفراز در سیستم گردش خون می شوند. با وجود این، اطلاعات محدودی در مورد میزان حاد و یا مزمن بودن و گستردگی این آسیب در کبد، همچنین مدت و شدت دقیق فعالیت های بدنی آسیب زنده به کبد در دسترس است (۱۷).

در دیگر یافته تحقیق حاضر مشخص شد که میزان مالون دی آلدئید بافت کبد و غلظت اسپاراتات آمینوترانسفراز و آلانین آمینوترانسفراز سرمی گروه تمرین (۸ هفته تمرین هوازی) به طور معنی داری نسبت به گروه دارونما و گروه مکمل (گروه های کنترل) افزایش کمتری نشان داد. نتایج حاصل از این بخش با نتایج تحقیقات پتیز و همکاران (۱۸) و لیما و همکاران (۱۹) که نشان دادند در نتیجه یک دوره تمرینات هوازی میزان مالون دی آلدئید بافت کبدی موش های گروه تمرین نسبت به گروه کنترل متعاقب یک وهله فعالیت وامانده ساز کمتر افزایش می یابد، همسو است. افزایش میزان مالون دی آلدئید بافت کبد و غلظت اسپاراتات آمینوترانسفراز و آلانین آمینوترانسفراز سرمی ناشی از وقوع استرس اکسیداتیو است. بنابراین کاهش میزان این شاخص ها در گروه تمرین ناشی از کاهش استرس اکسیداتیو در این گروه به دلیل تقویت سیستم دفاع آنتی اکسیدانی آنزیمی و غیر آنزیمی و سایر سازگاری های ناشی از تمرینات هوازی در این گروه است. یکی از مهم ترین دلایل وقوع استرس اکسیداتیو در بافت کبد در خلال تمرینات شدید، هیپوکسی در سلول های کبد در نتیجه کاهش جریان خون به این بافت است. در خلال یک دوره تمرینات هوازی از یک سو با توجه به سازگاری های به وجود آمده در قلب و از سویی با افزایش میزان حجم خون در گردش، میزان حجم خون در دسترس جهت پمپاژ توسط قلب سازگار شده با تمرینات هوازی به تمامی بافت ها به ویژه بافت های فعال افزایش یافته و از سویی دیگر با توجه به تغییرات گسترده ای که در سطح سلول های مختلف در نتیجه تمرینات هوازی به وجود می آید، از جمله افزایش میزان برداشت اکسیژن از خون، افزایش غلظت آدنین

نتایج به دست آمده از پژوهش حاضر نشان داد که یک وهله فعالیت حاد وامانده ساز هوازی باعث افزایش معنی دار میزان مالون دی آلدئید بافت کبد و غلظت اسپاراتات آمینوترانسفراز و آلانین آمینوترانسفراز سرمی، در تمامی گروه ها بجز گروه ترکیبی تمرین + مکمل (۸ هفته تمرینات استقامتی + ۱۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) شد. همسو با نتایج پژوهش حاضر در مورد گروه های کنترل، راموس و همکاران (۳) و همچنین کوریوی و همکاران (۴) عنوان کردند که متعاقب یک وهله فعالیت هوازی وامانده ساز میزان مالون دی آلدئید بافت کبد و آنزیم های سرمی نشانگر آسیب کبدی (اسپاراتات آمینو ترانسفراز، آلانین آمینوترانسفراز و آلکالین فسفاتاز)، به طور معنی داری افزایش می یابد. در حین ورزش متناسب با افزایش شدت تمرین میزان جریان خون کبد کاهش می یابد، به طوری که در خلال تمرینات شدید در مقایسه با شرایط استراحت تا ۱۸ درصد از جریان خون کبد کاهش می یابد که باعث هیپوکسی در سلول های کبد می شود. هیپوکسی آدنین نوکلئوتیدهای (Adenine Nucleotides) درون سلول مانند آدنوزین تری فسفات (Adenosine triphosphate) را تخلیه می کند، موجب اختلال در پمپ سدیم-پتاسیم سلول و غشا میتوکندری، تجمع متابولیت های توکسیک در سلول های کبدی، اختلال در فرآهمی مواد لازم برای تولید انرژی، اختلال در هموستاز کلسیم و فعال شدن آنزیم فسفولیپاز و در نهایت تجزیه غشا دو لایه سلولی می شود. چرا که تحت شرایط هیپوکسی چه به صورت حاد و چه مزمن، تعادل بین سیستم های اکسیدانی و آنتی اکسیدانی به هم خورده که در نهایت ممکن است مرگ سلولی را در پی داشته باشد (۱۷). فرضیه دیگر، فعالیت گزانتین اکسیداز است. در حین فعالیت های ورزشی تبدیل گزانتین دهیدروناز، که غلظت بالایی در بافت کبد دارد، به گزانتین اکسیداز و سپس سنتز آنیون های سوپراکسید و دیگر گونه های اکسیژن فعال مثل هیدروژن پراکسید (Hydrogen Peroxide) موجب وقوع استرس اکسیداتیو و در نهایت افزایش فرآورده های ناشی از استرس اکسیداتیو از جمله مالون دی آلدئید در بافت کبد می شود. از دیگر عوامل آسیب رسان به سلول های کبدی می توان به افزایش درجه حرارت بدن در حین فعالیت های ورزشی اشاره کرد. با توجه به افزایش متابولیسم بدن در حین فعالیت های ورزشی ممکن است درجه حرارت بدن حتی به بیش از ۴۰ درجه سانتی گراد هم برسد. در این شرایط تشکیل سوپراکسید از گزانتین اکسیداز و تخلیه سطوح گلوکاتیون کبد تسریع شده و استرس اکسیداتیو در کبد رخ داده و سطوح مالون دی آلدئید بافت کبد افزایش می یابد. از دیگر عواملی که احتمالاً موجب استرس اکسایشی و در نتیجه پراکسیداسیون لیپیدی و آسیب کبدی می شوند می توان به فعالیت کاتکولامین ها و اکسایش خود به



احتمالا به دلیل اثرات آنتی اکسیدانی مصرف میوه نسترن کوهی است که در تحقیقات متعددی مانند صادقی و همکاران (۸)، بنان خجسته و همکاران (۹) و تقی زاده و همکاران (۱۰) ثابت شده است. صادقی و همکاران (۸) در تحقیقی عنوان کردند مکمل دهی عصاره هیدروالکلی میوه نسترن کوهی به میزان ۵۰۰ و ۷۵۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به موش های ویستاری که همزمان با مکمل دهی به سمیت کبدی مبتلا شده بودند، از تغییرات معنی دار آنزیم های کبدی ALT, AST, ALP سرم و مالون دی آلدئید پلازما جلوگیری می کند. بنان خجسته و همکاران (۹) نیز نشان دادند که تیمار با عصاره الکی میوه نسترن کوهی باعث کاهش قابل توجه آنزیم های کبدی ALT, AST, ALP، گروه های درمان شده با عصاره نسبت به گروه دیابتی می شود. تقس زاده و همکاران (۱۰) نیز گزارش کردند که تیمار با عصاره الکی میوه نسترن کوهی ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن باعث کاهش قابل توجهی در آنزیم های کبدی ALT, AST و جلوگیری از کاهش ظرفیت تام آنتی اکسیدانی پلازما در گروه های دیابتی درمان شده با عصاره نسبت به گروه کنترل می شود. استفاده از مکمل های آنتی اکسیدانی مناسب یکی از روش های تقویت سیستم دفاع آنتی اکسیدانی سلول ها است که اهمیت حیاتی در حفظ بهینه مکانیسم های دفاع آنتی اکسیدانی دارند (۲۱). گزارش شده که مصرف میوه نسترن کوهی از طریق افزایش بیان ژن های آنزیم های آنتی اکسیدانی و کاهش تولید رادیکال های آزاد از بروز استرس اکسایش جلوگیری می کند (۲۲). بنابراین، یکی از دلایلی که میزان مالون دی آلدئید بافت کبد و غلظت آنزیم های اسپاراتات آمینوترانسفراز و آلانین آمینوترانسفراز سرمی اندازه گیری شده در گروه ترکیبی تمرین + مکمل متعاقب و امانده سازی افزایش معنی داری نیافته ممکن است افزایش میزان فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی کبد در نتیجه مصرف میوه نسترن کوهی باشد. از سویی، با توجه به ترکیبات متنوع آنتی اکسیدانی میوه نسترن کوهی، ممکن است این میوه در تقویت دفاع غیر آنزیمی و در نتیجه افزایش ظرفیت تام آنتی اکسیدانی سلول های کبدی موثر بوده باشد (۲۳). به طور کلی ترکیبات آنتی اکسیدانی میوه نسترن کوهی مانند فلاونوئیدها، کاروتنوئیدها و ویتامین C احتمالا از دو طریق مانع از بروز استرس اکسایش در سلول های کبدی و در نتیجه موجب جلوگیری از افزایش میزان مالون دی آلدئید بافت کبدی و رهایش آنزیم های نشانگر آسیب کبدی به سرم شده است (۲۴). ابتدا از طریق تقویت ظرفیت آنتی اکسیدانی سلول های کبدی، این افزایش احتمالا از طریق افزایش غلظت فاکتور هسته ای اریتروئید ۲ مرتبط با فاکتور ۲ (Nuclear factor-erythroid 2-related factor 2) که موجب افزایش بیان ژن آنزیم های آنتی اکسیدانی می شود و سایر مکانیسم های غیر آنزیمی سیستم دفاع ضد اکسایش سلولی است (۲۵). مکانیسم احتمالی دیگر، ناشی از روش های تقویت

نوکلئوتیدها درون سلول از جمله ATP، ارتقا دفع متابولیت های توکسین در سلول های کبدی، افزایش ذخایر مواد لازم برای تولید انرژی از جمله گلیکوژن، افزایش دانسیته مویرگی، افزایش میزان میتوکندری و... (۲۰) موجب می شود در خلال تمرینات شدید، بافت کبد موش های تمرین کرده با هیپوکسی کمتری در مقایسه با بافت کبد موش های بی تمرین مواجه شده و در نتیجه اثرات مخرب استرس اکسیداتیو بر سلول های کبدی در مقایسه با گروه بی تمرین کمتر باشد. از سویی ظرفیت تولید انرژی بی هوازی در سلول های کبدی در نتیجه تمرینات استقامتی افزایش می یابد که موجب می شود سلول های کبدی در شرایط هیپوکسی مقاوم تر باشند (۳). همچنین سیستم دفاع آنتی اکسیدانی بافت کبد موش های تمرین کرده نسبت به موش های بی تمرین کارایی بیشتری دارد چراکه تمرینات استقامتی با تولید مکرر رادیکال های آزاد ناشی از ایسکمی و انتشار مجدد خون و سایر روش ها موجب تقویت سیستم دفاع آنتی اکسیدانی آنزیمی بافت کبد می شود (۱۹)، (۱۸). همچنین غلظت آنتی اکسیدانهای غیر آنزیمی بافت کبدی نیز با تمرینات هوازی افزایش می یابد. در نتیجه با تقویت سیستم دفاع آنتی اکسیدانی آنزیمی و غیر آنزیمی بافت کبد در نتیجه تمرینات هوازی، ظرفیت آنتی اکسیدانی تام سلول های کبدی گروه تمرین کارایی بهتری در مقابل گونه های اکسیژنی فعال داشته و سد دفاع آنتی اکسیدانی سلول های کبدی در مقابل اکسیدان ها مقاوم تر بوده و در نتیجه استرس اکسیداتیو در سلول های کبدی به میزان کمتری رخ می دهد، بنابراین میزان مالون دی آلدئید و شاخص های نشانگر آسیب سلول های کبدی در گروه تمرین در مقایسه با گروه های بی تمرین کمتر افزایش می یابد. تمامی موارد عنوان شده در بالا باعث می شوند که سلول های کبدی موش های تمرین کرده در شرایط تمرینات و امانده ساز در مقایسه با موش های تمرین نکرده از استرس اکسایش کمتر آسیب دیده و میزان مالون دی آلدئید بافت کبدی و غلظت اسپاراتات آمینوترانسفراز و آلانین آمینوترانسفراز سرمی گروه تمرین کرده نسبت به گروه بی تمرین به طور معنی داری کمتر باشد. در مهم ترین یافته پژوهش حاضر نشان داده شد که یک وهله فعالیت حاد و امانده ساز هوازی تغییر معنی داری در میزان مالون دی آلدئید بافت کبد و غلظت آنزیم های اسپاراتات آمینوترانسفراز و آلانین آمینوترانسفراز سرمی ایجاد نکرد. همانطوری که در بخش قبلی بحث عنوان شد دلیل اصلی افزایش میزان مالون دی آلدئید بافت کبد و آنزیم های اسپاراتات آمینوترانسفراز و آلانین آمینوترانسفراز سرمی در نتیجه تمرینات و امانده ساز هوازی، بروز استرس اکسایش در سلول های کبد است. بنابراین عدم افزایش معنی دار میزان مالون دی آلدئید بافت کبد و آنزیم های نشانگر آسیب کبدی گروه ترکیبی تمرین + مکمل با توجه به افزایش میزان این شاخص ها در گروه تمرین

یافتن مالون دی آلدئید بافت کبد و آنزیم های نشانگر آسیب کبدی سرم در مقایسه با گروه کنترل) و دیگر یافته پژوهش مبنی بر عدم تفاوت معنی دار میزان شاخص های مالون دی آلدئید بافت کبد و آنزیم های نشانگر آسیب کبدی سرم گروه مکمل با گروه دارونما متعاقب یک وهله فعالیت هوازی شدید، می توان نتیجه گرفت که تعامل بین تمرین هوازی از یک سو و مصرف عصاره میوه نسترن کوهی در گروه ترکیبی تمرین + مکمل منجر به جلوگیری از افزایش شاخص های مالون دی آلدئید بافت کبد و آنزیم های نشانگر آسیب کبدی سرم متعاقب یک وهله فعالیت هوازی شدید شد. احتمالاً دلیل این اثرات تعاملی را می توان با نظریه هرمنسیس (hormesis) توجیح کرد بدین شکل که در حقیقت در پاسخ به مواجه شدن تکراری با آثار زیان آور و فشارهای اعمال شده در بدن در خلال فعالیت های ورزشی سازگاری های مطلوب رخ می دهد که باعث بهبود عملکرد فیزیولوژیکی و افزایش سلامت جسمانی می شود (۲۸). بدین ترتیب که سطح بهینه ای از تولید گونه های اکسیژنی فعال (RONS) برای سلامتی مفید به نظر می رسد. اما مقدار خیلی کم RONS (با توجه به تنظیم منفی سیستم دفاع آنتی اکسیدانی بدن و سایر مکانیسم های موثر در بهبود عملکرد بدن) و یا RONS خیلی زیاد، از طریق آسیب اکسایشی شدید و التهاب منجر به تضعیف سلامت و کارکرد بهینه می شوند. بنابراین می توان نتیجه گیری کرد که اولاً با توجه نتایج حاصل از گروه تمرین سطح تولید RONS (احتمالاً به دلیل شدت بالا و در نتیجه تولید بیش از حد بهینه) در خلال ۸ هفته تمرین هوازی در حد مطلوبی نبوده که شرایط سازگاری مطلوب در بدن از جمله در سیستم دفاع آنتی اکسیدانی کبد موش ها ایجاد کند که از استرس اکسایشی در این بافت متعاقب یک وهله فعالیت هوازی و امانده ساز جلوگیری کند و از سویی مصرف عصاره میوه نسترن کوهی با توجه با وجود ترکیبات آنتی اکسیدانی در این میوه در گروه ترکیب تمرین + مکمل باعث کاهش سطح RONS در خلال ۸ هفته تمرین هوازی شده که احتمالاً با کمک به بهبود عملکرد فیزیولوژیکی مانند تقویت سیستم دفاع آنتی اکسیدانی بافت های مختلف از جمله کبد نسبت به سایر گروه ها شده و از سویی کاهش سطح تولید RONS در خلال ۸ هفته بی تمرین در گروه های دارونما و مکمل احتمالاً نقش تعیین کننده ای در بروز استرس اکسایشی بافت کبد موش های این گروه ها متعاقب یک وهله فعالیت هوازی و امانده ساز داشته است. تحقیق حاضر اولین تحقیق انجام شده در مورد تاثیر توام تمرینات هوازی و مصرف عصاره میوه نسترن کوهی جهت جلوگیری از استرس اکسایشی ناشی از یک وهله تمرین و امانده ساز بر بافت کبد بود. از سویی گرچه در تحقیق حاضر فرض بر این گذاشته شد که تمرینات هوازی و مصرف عصاره میوه نسترن کوهی منجر به تقویت سیستم دفاع آنتی اکسیدانی سلول های کبدی شده، اما میزان فعالیت آنزیم های

غیر آنزیمی دفاع آنتی اکسیدانی سلول های کبدی است، به شکلی که ترکیبات آنتی اکسیدانی موجود در این میوه به روش های مختلفی از بروز استرس اکسیداتیو جلوگیری می کنند. اولین روش، جمع کنندگی مستقیم رادیکالهای آزاد است. در این روش اکسیده شدن فلاونوئیدها توسط رادیکالهای آزاد موجب پایداری رادیکالهای آزاد و خنثی شدن خاصیت واکنش زای آنها می شود. در روش دوم به دام اندازی یون فریک موجب جلوگیری از واکنش هابر ویس (Haber-Weiss reaction) توسط فلاونوئیدها می شود، همچنین قابلیت مسدود کنندگی این ترکیبات بر تولید نیتريد اکساید و اکسایتین اکسیداز و کاهش تعداد لکوسیت های ساکن و جلوگیری از بیان شاخص های التهابی مثل فاکتور نکروز دهنده تومور آلفا (tumor necrosis factor alpha) و سیکلواکسیژناز ۲ (cyclooxygenase-2) در خلال ایسکمی ریبریوژن را می توان نام برد (۲۵، ۲۶). همچنین سایر ترکیبات موجود در این میوه از جمله ویتامین C به تقویت سیستم دفاع غیر آنزیمی سلول کمک می کند. در مجموع باید گفت که با توجه به ترکیبات غنی آنتی اکسیدان موجود در میوه نسترن کوهی مصرف این میوه موجب افزایش ظرفیت تام آنتی اکسیدانی سلول های کبدی شده که موجب جلوگیری از بروز استرس اکسیداتیو در سلول های کبدی و در نتیجه جلوگیری از افزایش میزان مالون دی آلدئید بافت کبد و رهايش آنزیم های کبدی به سرم می شود. همچنین، عنوان شده میوه نسترن کوهی از صدمات استرس اکسیداتیو ناشی از ایسکمی جلوگیری کرده و اثرات ضد ایسکمی دارد (۲۷). یکی از روش هایی که ورزش موجب بروز استرس اکسیداتیو در کبد شده و سطوح MDA این بافت را افزایش می دهد، کاهش جریان خون یا هیپوکسی است که شرایط مشابه البته با اثرات مخرب کمتر در مقایسه با شرایط ایسکمی ایجاد می کند. بنابراین یکی از دلایلی که میزان مالون دی آلدئید بافت کبد و آنزیم های اسپاراتات آمینوترانسفراز و آلانین آمینوترانسفراز سرمی، گروه ترکیبی تمرین + مکمل (مصرف کننده میوه نسترن کوهی به همراه تمرین هوازی) سطوح کمتری را در مقایسه با گروه دارونما داشتند، خاصیت ضد ایسکمی این میوه است. میزان گردش خون بافت کبد در خلال فعالیت های سنگین ورزشی تا ۱۸ درصد کاهش می یابد (۱۷). بنابراین این بافت با هیپوکسی (Hypoxia) مواجه شده و با بروز استرس اکسیداتیو در سلول های کبدی و افزایش میزان مالون دی آلدئید بافت کبد و در نهایت رهايش آنزیم های کبدی به گردش خون مواجه می شود. در مجموع خاصیت آنتی اکسیدانی میوه نسترن کوهی موجب جلوگیری از افزایش میزان مالون دی آلدئید بافت کبد و آنزیم های نشانگر آسیب کبدی در سرم موش های ویستار متعاقب یک وهله فعالیت هوازی شدید شده است. از سویی با توجه به دیگر یافته پژوهش حاضر در مورد گروه تمرین متعاقب یک وهله فعالیت هوازی شدید (کمتر افزایش

جلوگیری کرده و از افزایش میزان مالون دی آلدئید بافت کبد و رهایش آنزیم های نشانگر آسیب کبدی به سرم جلوگیری می کند.

### قدردانی

از تمامی کارکنان مرکز تحقیقاتی داروهای گیاهی رازی دانشگاه علوم پزشکی لرستان جهت فراهم کردن شرایط اجرای این تحقیق سپاسگزاری می شود.

### ملاحظات اخلاقی

پروتکل این مطالعه در کمیته پزشکی دانشگاه آیت الله العظمی بروجردی (ره) استان لرستان شهرستان بروجرد به شماره IR-ABRUH-1397380210-1 تایید شده است.

### منابع مالی

حمایت مالی از این طرح تحقیقاتی تحت شماره گرنت ۱۵۶۶۴-۱۶۶۳۷۴ از طرف دانشگاه آیت الله العظمی بروجردی (ره) صورت گرفته است.

### منافع متقابل

مؤلف اظهار می دارد که منافع متقابلی از تالیف و یا انتشار این مقاله ندارد.

### مشارکت مؤلفان

ا. خ طراحی، اجرا و تحلیل نتایج مطالعه را عهده داشت. همچنین مقاله را تالیف نموده و نسخه نهایی آن را خوانده و تایید کرده است.

آنتی اکسیدانی به دلیل محدودیت های مالی اندازه گیری نشد. پیشنهاد می شود در تحقیقات آینده در مورد عصاره میوه نسترن کوهی اثرات مصرف این میوه بر سیستم دفاع آنتی اکسیدانی آنزیمی و غیر آنزیمی نیز اندازه گیری شود. از سویی عصاره میوه نسترن کوهی در گروه مکمل به تنهایی منجر به جلوگیری از استرس اکسایش ناشی از یک وهله فعالیت هوازی و امانده ساز نشد که کسب چنین نتیجه ای می تواند ناشی از دوز پایین مصرفی در آزمودنی ها (اثرات آنتی اکسیدانی میوه نسترن کوهی به مقدار دوز مصرفی وابسته است) و یا ناشی از طول مدت مصرف عصاره میوه نسترن کوهی مربوط باشد، چراکه مصرف عصاره میوه نسترن کوهی در مدت طولانی تر احتمالاً در تنظیم مثبت آنزیم های آنتی اکسیدانی و تقویت دفاع آنتی اکسیدانی غیر آنزیمی موثرتر عمل می کند. بنابراین توصیه می شود که اولاً تحقیقی با دوره مصرف عصاره میوه نسترن کوهی طولانی تر و در ثانی در دوزهای مصرفی بیش تر از تحقیق جاری جهت مشخص کردن بهترین دوز و مدت مصرف عصاره میوه نسترن پیش از امانده سازی جهت جلوگیری از اثرات مخرب تمرینات و امانده ساز هوازی انجام شود.

### نتیجه گیری

گرچه فعالیت های هوازی با شدت بالا می توانند منجر به بروز استرس اکسایش در سلول های کبدی شوند اما تمرینات هوازی احتمالاً با افزایش کارایی سیستم دفاع آنتی اکسیدان آنزیمی و غیر آنزیمی و سایر سازگاری های ناشی از اینگونه تمرینات، صدمات ناشی از استرس اکسایش بر کبد را کاهش می دهند. از سویی مصرف عصاره میوه نسترن کوهی توام با تمرینات هوازی احتمالاً به دلیل هم افزایی ناشی از تمرینات هوازی و مصرف عصاره میوه نسترن کوهی در تقویت سیستم دفاع آنتی اکسیدان کبد موش ها، از وقوع استرس اکسایش در این اندام حیاتی

### References

- Pillon Barcelos R, Freire Royes LF, Gonzalez-Gallego J, Bresciani G. Oxidative stress and inflammation: liver responses and adaptations to acute and regular exercise. *Free Radic Res.* 2017 Feb;51(2):222-36. doi: 10.1080/10715762.2017.1291942. Epub 2017 Feb 28. PMID: 28166653.
- Slattery K, Bentley D, Coutts AJ. The role of oxidative, inflammatory and neuroendocrinological systems during exercise stress in athletes: implications of antioxidant supplementation on physiological adaptation during intensified physical training. *Sports Med.* 2015 Apr;45(4):453-71. doi: 10.1007/s40279-014-0282-7. PMID: 25398224.
- Ramos D, Martins EG, Viana-Gomes D, Casimiro-Lopes G, Salerno VP. Biomarkers of oxidative stress and tissue damage released by muscle and liver after a single bout of swimming exercise. *Appl Physiol Nutr Metab.* 2013 May;38(5):507-11. doi: 10.1139/apnm-2012-0302. Epub 2013 Apr 20. PMID: 23668757.
- Korivi M, Hou CW, Huang CY, Lee SD, Hsu MF, Yu SH, et al. Ginsenoside-Rg1 Protects the Liver against Exhaustive Exercise-Induced Oxidative Stress in Rats. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2012;2012:932165. doi: 10.1155/2012/932165. Epub 2011 Sep 20. PMID: 21941591; PMCID: PMC3176525.
- Heidari B, Siahkoghian M, Vakili J, Zarghami Khameneh A. The effects of a short term hydro-alcoholic extract of milk Thistle (Silymarin) supplementation on aerobic exercise induced changes. *Complementary Medicine*

- Journal of faculty of Nursing & Midwifery. 2015;5(3):1258-70. doi: 10.3390/toxins6102962
6. Stewart AF, Kim ED. Harmful effects of antioxidant therapy. In *Male Infertility 2012* (pp. 499-506). Springer, New York, NY.
  7. Armenteros M, Morcuende D, Ventanas S, Estévez M. Application of natural antioxidants from strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) and dog rose (*Rosa canina* L.) to frankfurters subjected to refrigerated storage. *Journal of Integrative Agriculture*. 2013 Nov 1;12(11):1972-81.
  8. Sadeghi H, Hosseinzadeh S, Touri MA, Ghavamzadeh M, Barmak MJ. Hepatoprotective effect of *Rosa canina* fruit extract against carbon tetrachloride induced hepatotoxicity in rat. *Avicenna journal of phytomedicine*. 2016 Mar;6(2):181.
  9. Banan Khojasteh S, Basirat E, Sheikhzadeh F, Hatami H. Effect of Alcoholic Extract of *Rosa canina* on Hepatic Tissue and Hepatic Enzymes Activity in Diabetic Rats. *Journal of Ardabil University of Medical Sciences*. 2017;17(1):81-190. (Persian).
  10. Taghizadeh M, Rashidi AA, Taherian AA, Vakili Z, Mehran M. The protective effect of hydroalcoholic extract of *rosa canina* (Dog Rose) fruit on liver function and structure in streptozotocin-induced diabetes in rats. *Journal of dietary supplements*. 2018 Sep 3;15(5):624-35.
  11. Mirzaei B. Comparing the effects of acute exhaustive exercise on cardiac troponin T serum and malondialdehyde of heart tissue response levels of endurance trained young rats. *Journal of Sport and Biomotor Sciences*. 2013 Apr 10;5(9):16-24.
  12. Belviranlı M, Gökbel H, Okudan N, Büyükbaş S. Effects of grape seed polyphenols on oxidative damage in liver tissue of acutely and chronically exercised rats. *Phytotherapy Research*. 2013 May;27(5):672-7.
  13. Mohammad Eini A, Eshrat Khah B, Moharrami Fard M. Effects of Fruit of *Rosa Canina* L. Extract on the Level of Plasma Glucose in Male Diabet-Induced Rats. *SSU\_Journals*. 2016 Mar 10;23(12):1222-9.
  14. Ajami Nezhad M, Sabet Jahromi MJ. The effects of a single bout of aerobic exercise at different intensities on markers of liver function and blood hemoglobin in healthy untrained male. *The Horizon of Medical Sciences*. 2014 Jan 10;19(4):184-91.
  15. Niki E. Biomarkers of lipid peroxidation in clinical material. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*. 2014 Feb 1;1840(2):809-17.
  16. Ernst O, Zor T. Linearization of the Bradford protein assay. *J Vis Exp*. 2010 Apr 12;(38):1918. doi: 10.3791/1918. PMID: 20386536; PMCID: PMC3164080.
  17. Powers SK, Radak Z, Ji LL. Exercise-induced oxidative stress: past, present and future. *J Physiol*. 2016 Sep 15;594(18):5081-92. doi: 10.1113/JP270646. Epub 2016 Feb 19. PMID: 26893258; PMCID: PMC5023699.
  18. Petiz LL, Kunzler A, Bortolin RC, Gasparotto J, Matté C, Moreira JCF, et al. Role of vitamin A oral supplementation on oxidative stress and inflammatory response in the liver of trained rats. *Appl Physiol Nutr Metab*. 2017 Nov;42(11):1192-1200. doi: 10.1139/apnm-2017-0193. Epub 2017 Jun 28. PMID: 28742973.
  19. Lima FD, Stamm DN, Della-Pace ID, Dobrachinski F, de Carvalho NR, et al. Swimming training induces liver mitochondrial adaptations to oxidative stress in rats submitted to repeated exhaustive swimming bouts. *PLoS One*. 2013;8(2):e55668. doi: 10.1371/journal.pone.0055668. Epub 2013 Feb 6. PMID: 23405192; PMCID: PMC3565999.
  20. McArdle WD, Katch FI, Katch VL. *Exercise Physiology: Nutrition, Energy, and Human Performance*. Lippincott Williams & Wilkins; 2010.
  21. Lobo V, Patil A, Phatak A, Chandra N. Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacogn Rev*. 2010 Jul;4(8):118-26. doi: 10.4103/0973-7847.70902. PMID: 22228951; PMCID: PMC3249911.
  22. Farhadi J, Abdollahpour F, Ghasemi M, Kakaei Z, Karimi Z. Antioxidant and cytotoxic effects of aqueous and alcoholic extracts of *Rose Canina* fruit on the cell line U937. *Yafte*. 2015;17(3).
  23. Serteser A, Kargioğlu M, Gök V, Bağcı Y, Özcan MM, Arslan D. Determination of antioxidant effects of some plant species wild growing in Turkey. *Int J Food Sci Nutr*. 2008 Nov-Dec;59(7-8):643-51. doi: 10.1080/09637480701602530. PMID: 19382350.
  24. Hasani Moghadam E. Determination of ascorbic acid *Rose canina* plants in Lorestan. *Journal of Crop Sciences and Horticulture and Plant*. 2008;15(7):23-8. (Persian).
  25. Gopinath K, Sudhandiran G. Naringin modulates oxidative stress and inflammation in 3-nitropropionic acid-induced neurodegeneration through the activation of nuclear factor-erythroid 2-related factor-2 signalling pathway. *Neuroscience*. 2012 Dec 27;227:134-43. doi: 10.1016/j.neuroscience.2012.07.060
  26. Trembl J, Šmejkal K. Flavonoids as potent scavengers of hydroxyl radicals. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 2016 Jul;15(4):720-38. doi: 10.1111/1541-4337.12204
  27. Ashtiyani SC, Najafi H, Jalalvandi S, Hosseini F. Protective effects of *Rosa canina* L fruit extracts on renal disturbances induced by reperfusion injury in rats. *Iranian Journal of Kidney Diseases*. 2013 Jul 1;7(4):290. (Persian).
  28. Peake JM, Markworth JF, Nosaka K, Raastad T, Wadley GD, Coffey VG. Modulating exercise-induced hormesis: does less equal more?. *Journal of Applied Physiology*. 2015 Aug 1;119(3):172-89. doi: 10.1152/jappphysiol.01055.2014