

## تأثیر شش هفته تمرین هوازی فزاینده و مکمل سازی عصاره پوست انار بر آنزیم‌های کبدی پلاسمای موش‌های ماده چاق شده با روغن پالم

پویا شوکتی\*، حسین فتح‌اللهی

گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد تهران مرکزی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

### چکیده

هدف مطالعه حاضر بررسی تأثیر شش هفته تمرین هوازی و مکمل عصاره پوست انار بر میزان فعالیت آنزیم‌های کبدی رت‌های چاق شده بود. بدین منظور ۳۰ سر رت ماده ویستار تصادفی در ۵ گروه کنترل، چاق، چاق+ تمرین هوازی، چاق+ عصاره پوست انار، چاق+ تمرین هوازی+ عصاره پوست انار تقسیم شدند. القای چاقی با گاوژ 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 درصد  $Vo_{2max}$ ) روی تردمیل انجام شد. عصاره پوست انار نیز با دوز ۶۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم به روش گاوژ 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 نشان داد که القای چاقی موجب افزایش معنادار میزان فعالیت آنزیم‌های ALT، AST و ALP کبد شد ( $P < 0/05$ ). اثر اصلی تمرین هوازی، اثر اصلی مکمل پوست انار و اثر تعاملی تمرین هوازی × مکمل پوست انار بر هر سه آنزیم کبدی رت‌های ماده چاق معنی‌دار بود ( $P < 0/05$ ). بیشترین کاهش معنادار در آنزیم‌های ALT و ALT هنگام ترکیب تمرین هوازی و عصاره پوست انار مشاهده شد. با اینحال، بین سه گروه تجربی تفاوت معناداری در میزان کاهش آنزیم کبدی ALP مشاهده نشد ( $P > 0/05$ ). به نظر می‌رسد 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.

واژه‌های کلیدی: تمرین، عصاره انار، آنزیم‌های کبد، چاقی

## ۱- 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 اضافه وزن در جهان وجود دارد. تحقیقات نشان می‌دهد بی‌حرکت‌تری و چاقی بدلیل 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<sup>۱</sup> توجه محققان زیادی 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 بیش از اندازه تری‌گلیسیرید در سیتوپلاسم سلول‌های کبدی در غیاب مصرف الکل مشخص شده است (۲). از آنجا که سطوح سرمی آنزیم‌های کبدی شامل آسپاراتات آمینوترانسفراز<sup>۲</sup> (AST)، آلانین آمینوترانسفراز<sup>۳</sup> (ALT) و آلکالین فسفاتاز<sup>۴</sup> (ALP) بطور شایعی در افراد مبتلا به چاقی بالاست، پژوهشگران عواملی همچون سندرم متابولیک، کمبود منابع آنتی‌اکسیدانی، ژنتیک، سبک زندگی ناسالم، بی‌حرکتی 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 آنجا که داروی قطعی برای درمان بیماری کبد چرب غیرالکلی وجود ندارد؛ رویکرد درمان 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. به طور 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 ALT و GGT پیدا کردند (۵). همچنین مطالعات زیادی به اثرات فعالیت‌های ورزشی در کاهش چربی کبدی، چربی احشایی، مقاومت به انسولین، IL6، TNF- $\alpha$ ، آنزیم‌های ALT، ALP، AST و افزایش آدیپونکتین، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و کاهش غلظت مالون دی‌آلدئید اشاره کرده‌اند (۶). پژوهشگران معتقدند تمرینات ورزشی با افزایش بتا اکسایش و کاهش لیپوژنز، یکی از تنظیم‌کننده‌های اصلی متابولیسم کبد محسوب می‌شوند. با اینحال تاکنون اثرات نوع، شدت و حجم تمرینات ورزشی در بیماران مبتلا به کبد چرب غیرالکلی مشخص نیست. 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 (۷). در این زمینه برخی مطالعات، تمرینات هوازی و برخی دیگر تمرینات مقاومتی را در بهبود کبد چرب مؤثر دانسته‌اند. به علاوه، از آنجاییکه 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 جنسیت مشخص نشده است (۸). از آنجاییکه 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 زیادی به استفاده از طب گیاهی با هدف افزایش شرایط ضداکسایشی و پاک‌سازی رادیکال‌های آزاد ناشی از چاقی معطوف شده است. در این راستا، محققان تجویز برخی از مکمل‌های گیاهی را جهت افزایش اثربخشی تمرینات ورزشی مدنظر قرار داده‌اند (۹). یکی از این مکمل‌ها با خواص ضد اکسایشی و سلامت‌زایی، مکمل انار (*granatum Punica*) از تیره Punicaceae است که به طور 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-کاتین دارد

1 Non-alcoholic fatty liver disease

2 Aspartate transaminase

3 Alanine transaminase

4 Alkaline Phosphatase

(۱۰). از طرفی آب انار حاوی تانن ها، الاجیتانن ها، آنتوسیانین ها، کاتچین ها، گالیک اسید و الاژیک اسید و ویتامین های C و E است. کاتچین ها 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. پلی فنل‌ها (الاجیتانن‌ها و اسید الاژیک)، پلی فنل اکسیداز و فعالیت پرکسیداز از فراوان‌ترین ترکیبات آنتی‌اکسیدانی انار است که از DNA سلولی در برابر استرس‌های اکسیداتیو و فعالیت رادیکال آزاد محافظت می‌کنند (۱۱). استرس اکسیداتیو زمانی ایجاد می‌شود که تعادل بین گونه‌های واکنشگر اکسیژن (ROS) و آنتی‌اکسیدان‌ها مختل شود. به علاوه 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 ویتامین های E، A و C است. از این‌رو، انار ضمن مقابله با اثرات نامطلوب استرس اکسایشی ناشی از چاقی، باعث کاهش شاخص آسیب‌های غشای سلولی مانند مالون دی‌آلدئید (MDA) و افزایش ظرفیت ضد اکسایشی سرم می‌شود (۱۲).

روغن پالم نوعی روغن گیاهی است که مقدار اسید چرب اشباع آن حداقل ۵۰ درصد است. دانشمندان حد مجاز مصرفی این روغن را ۳۰٪ روغن مصرفی فرد در طول روز تعیین کرده‌اند و نسبت به افزایش چربی خون، کلسترول و در نهایت انسداد عروق ناشی از آن هشدار داده‌اند (۱۳). 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 (۱۴). بنابراین، مطالعه حاضر قصد دارد تا با بررسی تأثیر مکمل سازی عصاره پوست انار همراه با ۶ هفته تمرین هوازی بر آنزیم‌های کبدی موش‌های چاق ماده، به برخی از ابهامات و تناقضات پاسخ دهد.

## ۲- روش پژوهش

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 کلیه اصول اخلاقی مربوط به کار با حیوانات آزمایشگاهی با کد اخلاق IR.IAU.M.REC.1398.032 انجام شد. بدین منظور با مراجعه به انستیتو پاستور ایران ۳۰ سر موش صحرایی ماده با سن ۱۲ هفته و وزن بین ۱۸۰ تا ۲۲۰ گرم انتخاب و پس از انتقال به آزمایشگاه دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکزی به‌صورت تصادفی در ۵ گروه کنترل، چاق، چاق-تمرین هوازی، چاق-مکمل انار، چاق-تمرین هوازی و مکمل انار تقسیم شدند. این آزمودنی‌ها به‌منظور سازگاری و کنترل عوامل مخدوش کننده به مدت یک هفته در قفسه‌های استاندارد (پلی کربنات شفاف با ابعاد ۱۵\*۲۶/۵\*۴۲) با دمای ۲۳±۳، رطوبت نسبی ۱۰±۵٪، سیکل روشنایی ۱۲ ساعت و با دسترسی آزاد به تغذیه مخصوص موش‌های آزمایشگاهی نگهداری شدند (۱۵).

### پروتکل چاقی

در فاز چاقی از روش تغذیه با روغن سرخ‌کردنی پالم به مدت ۴ هفته با دوز ۰.۵ میلی‌لیتر به ازای هر ۱۰۰ گرم وزن بدن به‌صورت خوراکی و به روش گاوژ در ۵ روز در هفته استفاده شد. براساس پیشینه پژوهش این روش منجر به بیشترین افزایش وزن بدن و افزایش بیومارکرهای نشانگر چاقی در نمونه‌های حیوانی می‌شود. براساس شاخص لی رسیدن وزن نمونه‌های حیوانی به ۳۱۹ گرم چاقی محسوب می‌شد (۱۶).

### 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 (MET) 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 (۱۷).

### مکمل سازی

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 به منظور جداسازی ذرات درشت فیلتر شد. بعد از عصاره گیری، محلول با استفاده از روتاری اوپریاتور (تحت شرایط خلاء و ۳۰ درجه سانتی گراد) تغلیظ و در شرایط انجماد نگهداری شد (۱۸). در نهایت دوز ۶۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم عصاره با بیشترین اثربخشی و حداقل اثرات منفی جانبی انتخاب و به روش گاواژ در طول ۶ هفته ۳۰ دقیقه قبل از غذای نوبت صبح تجویز شد.

### سنجش های آزمایشگاهی

متغیرهای مورد سنجش این مطالعه مربوط به داده‌های یک مگا پروژه بوده که بخشی از آن در مطالعه حاضر استفاده شده است. عموماً در مطالعات سلولی و مولکولی جهت قربانی کردن و تهیه نمونه‌های سرمی از روش فرس استفاده می‌شود. براساس این روش، جهت رعایت موازین اخلاقی رت‌ها 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 CC خون‌گیری به عمل آمد. خون جمع‌آوری شده داخل لوله‌های ساده ۱۲×۱۰۰ EDTA سانتریفیوژ یخچال دار به منظور برداشت سرم و پلاسما قرار داده شد. پس از عمل سانتریفیوژ با سرعت ۳۰۰۰ 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 شناسگر ردیاب بر روی دستگاه تحلیل‌گر خودکار Olympus AU 800 (High Density Lipopr) بکار رفت (۱۹).

### روش‌های آماری

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. بدین منظور جهت آزمون فرضیه‌های پژوهش از آزمون آماری تحلیل واریانس دو راهه و سپس از تست تعقیبی توکی جهت شناسایی محل تفاوت‌ها استفاده گردید. 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.

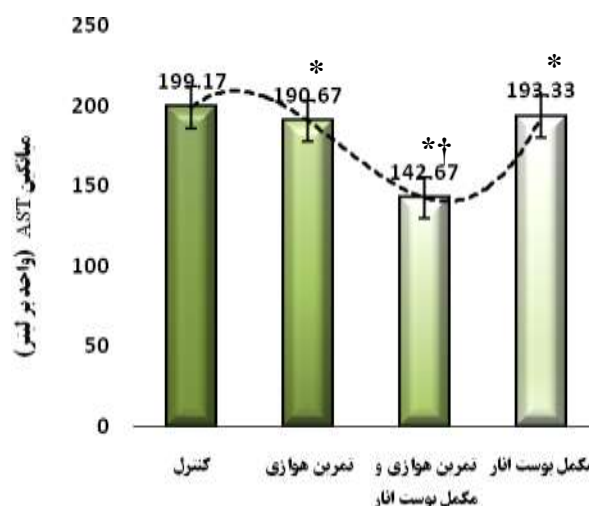
### ۳- نتایج

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).

جدول ۱- تغییرات شاخص‌های کبدی ناشی از القای چاقی با روغن سرخ‌کردنی پالم به صورت میانگین  $\pm$  SD

متغیر	گروه کنترل	گروه چاق	اختلاف میانگین‌ها	t	p
AST	۱۲۹,۰۰ $\pm$ ۲۴,۷۲	۱۹۹,۱۷ $\pm$ ۲۴,۳۴	۷۰,۱۶	۴,۹۵	۰,۰۰۱
ALT	۳۱,۵۰ $\pm$ ۴,۵۹	۸۵,۶۶ $\pm$ ۶,۴۰	۵۴,۱۶	۱۶,۸۲	۰,۰۰۱
ALP	۳۲۲,۵۰ $\pm$ ۲۳,۴۳	۴۱۰,۰۰ $\pm$ ۲۲,۷۸	۸,۵۰	۶,۵۵	۰,۰۰۱

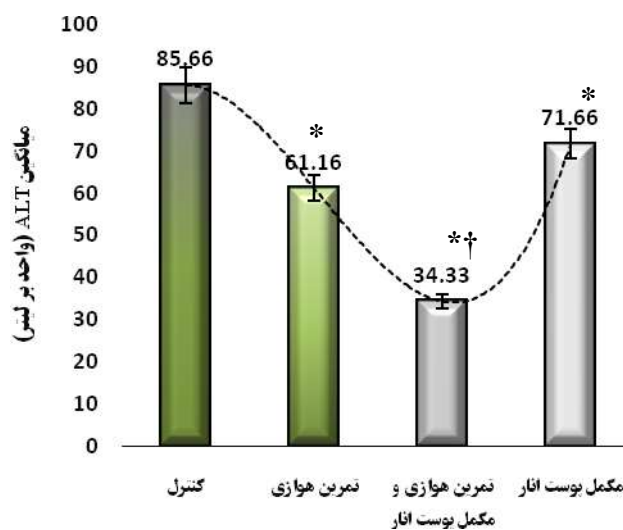
نتایج تحلیل واریانس دو راهه نشان داد که اثر اصلی تمرین هوازی ( $F=۸/۸۳$ ,  $sig=۰/۰۰۸$ ,  $\eta^2=۰/۳۰۶$ )، اثر اصلی مکمل پوست انار ( $F=۷/۳۱$ ,  $sig=۰/۰۱۴$ ,  $\eta^2=۰/۲۶۸$ ) و اثر تعاملی تمرین هوازی  $\times$  مکمل پوست انار ( $F=۱۴/۴۸$ ,  $sig=۰/۰۰۵$ ,  $\eta^2=۰/۶۸۳$ ) بر آنزیم کبدی AST رت‌های ماده چاق معنی‌دار بود. با اینحال تفاوت معناداری بین میزان کاهش ناشی از تمرین هوازی و مکمل پوست انار در این آنزیم کبدی مشاهده نشد ( $P=۰/۵۱۳$ ) (شکل ۱).



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

†\* نشانه کاهش معنادار نسبت به سایر گروه‌ها

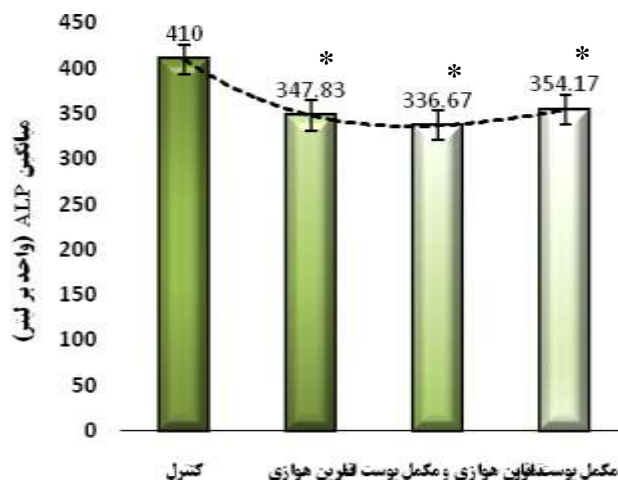
همان‌طور که در شکل ۲ مشاهده می‌شود اثر اصلی تمرین هوازی ( $F=۱۰۲/۸۰$ ,  $sig=۰/۰۰۱$ ,  $\eta^2=۰/۷۴۹$ )، اثر اصلی مکمل پوست انار ( $F=۶۹/۱۹$ ,  $sig=۰/۰۰۳$ ,  $\eta^2=۰/۷۰۱$ ) و اثر تعاملی تمرین هوازی  $\times$  مکمل پوست انار ( $F=۱۴۰/۸۵$ ,  $sig=۰/۰۰۰$ ,  $\eta^2=۰/۹۹۵$ ) بر آنزیم کبدی ALT معنی‌دار بود. بیشترین کاهش معنادار آنزیم در رت‌های گروه تمرین هوازی و عصاره پوست انار یافت شد ( $P=۰/۰۰۱$ ).



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

† \* نشانه کاهش معنادار نسبت به سایر گروه‌ها

در رابطه با آنزیم کبدی ALP، اصلی تمرین هوازی ( $F=15/25$ ,  $sig=0/003$ ,  $\eta^2=0/433$ )، اثر اصلی مکمل پوست انار ( $F=17/79$ ,  $sig=0/001$ ,  $\eta^2=0/503$ ) و اثر تعاملی تمرین هوازی × مکمل پوست انار ( $F=11/78$ ,  $sig=0/004$ ,  $\eta^2=0/350$ ) معنی‌دار می‌باشد. در این زمینه بین سه گروه تجربی تفاوت معناداری در میزان کاهش آنزیم کبدی ALP مشاهده نشد ( $P=0/271$ ) (شکل ۳).



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

† \* نشانه کاهش معنادار نسبت به سایر گروه‌ها

## ۴- بحث و نتیجه گیری

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 (۲۰۱۸)، دهکردی و همکاران (۲۰۱۹) اصغری و همکاران (۲۰۲۰) کاهش مقادیر ALT و AST و ALP پس از ۶ و ۸ هفته تمرین هوازی نشان داده‌اند (۲۰-۲۲). از طرفی برخی مطالعات به افزایش مقادیر سرمی این آنزیم‌ها بر اثر تمرین وامانده ساز و تمرین با شیب منفی و چندین پژوهش به عدم تغییر سطح آنزیم‌های ALT و AST اشاره کرده‌اند (۲۲). همچنین احتمال دارد که تمرین هوازی منجر به تغییر معنادار مقادیر ALT و AST کبدی زنان چاق مبتلا به دیابت نوع دو نشود (۲۳). 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 رت‌های اوریکتومی‌شده، بیشترین تأثیر را تمرینات ترکیبی دارند (۲۳، ۲۴). بهرام و همکاران (۲۰۲۱) نیز در جدیدترین یافته پی بردند که تمرینات تناوبی با شدت بالا منجر به کاهش آنزیم‌های کبدی در بیماران مبتلا به کبد چرب غیرالکلی می‌شود (۶). 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. با اینحال نتایج ما نشان داد شش هفته فعالیت از طریق سیستم هوازی بر میزان فعالیت آنزیم‌های ALT، AST و ALP و ALT 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 (۲۵). از این رو فعال شدن مسیرهای گلوکونئوز و پراکسیداسیون لیپیدها دلیل منطقی برای کاهش آنزیم‌های کبدی در این مطالعه محسوب می‌شود. ماچادو و همکاران (۲۰۲۱) 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 (۲۶). بنابراین مکانیسم اصلی تغییر در چربی کبد بر اثر فعالیت ورزشی بازتاب تغییرات در حساسیت انسولینی، چربی‌های گردش خون و تعادل انرژی است.

از طرفی به نظر می‌رسد تأثیر آنتی‌اکسیدان‌ها به‌خصوص ترکیبات مرتبط با فلاونوئیدها، پلی فنول‌ها و اسید آسکوربیک موجود در عصاره انار مانع افزایش آنزیم‌های سلول‌های کبدی شده 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 (۲۷). هم‌راستا با نتایج ما راپا و همکاران (۲۰۲۱) 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 (۲۸). با توجه به ارتباط دیابت و سندروم کبد چرب، فضل‌الدین و همکاران (۲۰۱۹) در مطالعه بیوشیمیایی و هیستوپاتولوژی اثرات عصاره انار دریافتند که آنزیم‌های کبدی ALT و AST بعد از استفاده از این عصاره به مقادیر اولیه بر می‌گردد (۲۹). به علاوه پژوهشگران معتقدند که عصاره انار حاوی یک فلاونوئید فعال گلیکوزیدی به نام ترانس ترلیوزید است که اثر مهمی بر افزایش وزن دارد. پنی کالائین اسید الایک و اسیدهای لینوئیک موجود در این عصاره دارای قابلیت مهار فعالیت آنزیم اسید چرب سینتاز 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 توسط مهار فعالیت آنزیم لیپاز پانکراس و سرکوب دریافت انرژی (اشتها) بروز می‌کند (۱۸). همچنین مصرف روزانه ۵۴۴ میلی‌گرم از عصاره گل انار سبب اصلاح متابولیسم چربی‌های قلبی از طریق

فعال‌سازی PPAR- $\alpha$ ، کاهش چربی‌های گردش خون و مهار برداشت چربی‌ها می‌شود. احتمالاً عناصر شیمیایی و مواد ضد اکسایشی این عصاره تأثیر مثبتی بر بازسازی سلول‌های جزایر پانکراسی و تحریک سلول‌های بتا برای تولید انسولین دارند (۳۰). بنابراین عصاره پوست انار می‌تواند یک سرکوب‌کننده نوین برای اشتها باشد که فقط در شرایط مصرف رژیم پرچرب بر چاقی اثر می‌کند.

مهم‌ترین یافته ما نشان داد که ترکیب تمرین هوازی با مصرف عصاره پوست انار منجر به کاهش بیشتر سطح آنزیم‌های ALT و AST 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 (۲۰۱۷) مبنی بر کاهش ۵۰ درصدی وزن بدن و حساسیت انسولینی پس از ترکیب تمرین هوازی و عصاره پوست انار است (۱۸). عبدی و همکاران (۲۰۱۸) نتیجه گرفتند ترکیب تمرینات ورزشی و مصرف عصاره 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 (۳۱). پژوهش حاضر در توجیه اینکه چرا با وجود کاهش سطح آنزیم‌های ALT و AST در گروه تمرین و مصرف عصاره پوست انار، کاهش مشابهی در مقادیر ALP کبدی مشاهده نشد، ناتوان است. با اینحال، 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. براساس نظر محققان ترکیب هم‌زمان مکمل‌های گیاهی با مداخلات ورزشی جهت خنثی‌سازی استرس اکسایشی ناشی از فعالیت بدنی منطقی است (۳۲). بر این اساس ویژگی‌های ضد التهابی و آنتی‌اکسیدانی عصاره پوست انار در کنار افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی و غیر آنزیمی تمرینات هوازی موجب کاهش آنزیم‌های کبدی ALT و AST می‌شود. از این رو، ترکیب این مداخلات از طریق مکانیسم نرمال کردن سطوح نشانگرهای زیستی یا جبران اختلال در فعالیت‌های آنزیمی عمل می‌کند.

براساس یافته‌های پژوهش و در راستای کاهش عوامل خطر وابسته به بیماری‌های نظیر کبد چرب غیر الکلی، تمرینات هوازی با شدت متوسط 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 (۳۳)؛ اما کاهش چاقی شکمی، تغییر سطوح لیپوپروتئین‌های پلاسما، افزایش قابلیت‌های جسمانی همراه با آنزیم‌های کبدی می‌تواند از فایده‌های مهم مداخلات باشد. در این پژوهش استفاده از نمونه‌های حیوانی، کنترل پروتکل‌ها و حذف تأثیر متغیرهای مزاحم از نکات قوت پژوهش بودند. از طرفی عدم توجه به دوز مصرفی عصاره پوست انار، شامل نشدن آزمودنی‌ها، عدم اندازه‌گیری ترکیب بدن در طول مداخلات و عدم بررسی سایر آنزیم‌های اکسیدانی و آنتی‌اکسیدانی از محدودیت‌های اصلی پژوهش حاضر بودند. از این رو، جهت تفسیر منطقی و تعمیم این نتایج به سایر زمینه‌ها نیازمند تحقیقات بیشتری در خصوص نقش کمکی دوزهای عصاره انار و تأثیر انجام فعالیت‌های مقاومتی، هوازی و ترکیبی بر آنزیم‌های کبدی مرتبط با چاقی و سایر مسیرهای مولکولی و سلولی هستیم.

## منابع

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*. 2018;38(S1):47-51.
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. Fan J, Luo S, Ye Y, Ju J, Zhang Z, Liu L, et al. Prevalence and risk factors of metabolic associated fatty liver disease in the contemporary South China population. *Nutrition & Metabolism.* 2021;18(1):82.
6. 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.
7. 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.
8. Charatcharoenwittaya P, Kuljiratitikal K, Aksornchanya O, Chaiyasoot K, Bandidniyamanon W, Charatcharoenwittaya 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.
9. Atashak S. A review of the effects of herbal and natural supplement on exercise performance and exercise-induced muscle damage. *Razi Journal of Medical Sciences.* 2022;28(11):0-
10. Kandylis P, Kokkinomagoulos E. Food Applications and Potential Health Benefits of Pomegranate and its Derivatives. *Foods (Basel, Switzerland).* 2020;9(2):122.
11. 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.
12. 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.
13. 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.
14. 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.
15. 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.
16. 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.

17. 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.
18. 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.
19. Ghasemnian A, Iddehloei Z, Rahmani A, Usefpour M. Effects of ginger along with exercise training on serum levels of ALT and AST liver enzymes and malondialdehyde and the activity of liver tissue superoxide dismutase in male Wistar rats. *J Shahrekord Univ Med Sci*. 2020;22(2):67-73.
20. 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.
21. 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.
22. Zeinvand lorestani 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 yafte*. 2018;20(2):53-61.
23. 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).
24. 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.
25. 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).
26. 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.
27. 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.
28. 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.
29. 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.

30. 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.
31. 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.
32. 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 Nrf- $\gamma$ Keap1 axis in AGE rich diet-induced type 2 diabetic mice. *Nutrition & Metabolism*. 2021;18(1):14.
33. 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 increasing aerobic exercise and supplementation of pomegranate peel extract on liver enzymes in plasma of obese female rats with palm oil

Pooya Shoukti<sup>\*</sup>, Hossein Fathollahi

*Department of Sports Physiology, Central Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran*

---

### Abstract

The aim of this study was to investigate the effect of six weeks of aerobic exercise and supplementation of pomegranate peel extract on the activity of liver enzymes in obese rats. For this purpose, 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. Induction of obesity by gavage of 0.5 ml per 100 g body weight of palm frying oil during 4 weeks (5 days a week) and aerobic exercise program for six weeks (five 30-minute sessions per week with an intensity of 50-60%  $Vo_{2max}$ ) was done on a treadmill. Pomegranate peel extract at a dose of 60 mg per kg was administered by gavage in the morning for 6 weeks. To prepare serum samples and determine the levels of ALT, AST and ALP in liver tissue, the Feresh method was used and the data were analyzed by two-way analysis of variance at a significance level of 0.05. The results showed that 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 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 ( $P > 0.05$ ). It seems that 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 of obese female subjects after six weeks of intervention.

**Keywords:** Exercise, Pomegranate Extract, Liver Enzymes, Obesity.

---