

The effect of a period of aerobic exercises and supplementation with piperine on liver enzymes in rats induced with paraquat

Samaneh Baradaran Salmani¹, Keyvan Hejazi^{1*}, Vahid Reza Askari²,
Roya Askari¹

1. Faculty of Sport Sciences, Hakim Sabzevari University, Sabzevar, Iran
2. International UNESCO Center for Health-Related Basic Sciences and Human Nutrition, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran

* Corresponding author e-mail: k.hejazi@hsu.ac.ir

Abstract

Background and Objective: Chronic exposure to paraquat can lead to lung and liver damage, kidney failure, and Parkinsonian lesions in addition to fibrosis. Paraquat toxicity occurs through excessive production of free radicals which results in oxidative stress and damage. The aim of the current study was to evaluate the effect of a period of aerobic exercises and supplementation with piperine on liver enzymes in rats induced with paraquat.

Materials and Methods: 48 adult rats were divided into six groups: 1) Sham, 2) negative control paraquat 3) paraquat + training, 4) paraquat + training + piperine, 5) paraquat + piperine and 6) positive control paraquat + vitamin E. Aerobic exercise training included: seven weeks of walking on treadmill for 5 sessions per week 30-40 min per session at a speed of 10 to 18 m/min. The paraquat poison was prepared at dose of 5 mg/kg of rat body weight and was injected intraperitoneally. Daily gavage of piperine supplement was provided at dose of 10 mg/kg of rat body weight. ANOVA statistical test was used to determine the mean difference between groups.

Results: There were significant differences in Alanine Transaminase (ALT) and Aspartate Transaminase (AST) levels between the sham, paraquat+exercise, paraquat+piperine, paraquat+exercise+piperine, and positive control paraquat+vitamin E groups compared to the negative control paraquat-group. Furthermore, significant increase in ALT and AST levels was observed in the negative control group compared to the sham, paraquat+exercise, paraquat+piperine and paraquat+exercise+piperine and positive control paraquat+vitamin E groups ($p < 0.001$).

Conclusion: The results showed that in rats belonging to exercise training, only exercise training with piperine and piperine decreased the ALT and AST levels compared to the negative control group. However, more research is needed to support these findings.

Keywords: Paraquat, Aerobic exercise, Alanine aminotransferase, Aspartate aminotransferase, Piperine

Received: Dec 14, 2020

Revised: 27 Jan, 2023

Accepted: Apr 08, 2023

How to cite this article: Baradaran Salmani S, Hejazi K, Askari VR, Askari R. The effect of a period of aerobic exercises and supplementation with piperine on liver enzymes in rats induced with paraquat. Daneshvar Medicine 2023; 31(1):67-77. doi: 10.22070/DANESHMED.2023.17208.1314

This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-Non Commercial License 4.0 (CCBYNC), where it is permissible to download, share, remix, transform, and buildup the work provided it is properly cited. The work cannot be used commercially without permission from the journal.

تأثیر یک دوره تمرین هوازی و مکمل یاری با پیرین بر سطوح آنزیم های کبدی موش بزرگ مبتلا به پاراکوات

سمانه برادران سلمانی^۱، کیوان حجازی^{۱*}، وحیدرضا عسگری^۲، رویا عسگری^۱

۱. گروه فیزیولوژی ورزش، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه حکیم سبزواری، سبزوار، ایران
۲. مرکز بین المللی یونسکو علوم پایه پزشکی و تغذیه انسانی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران

Email: k.hejazi@hsu.ac.ir

*نویسنده مسئول: کیوان حجازی

چکیده

مقدمه و هدف: قرار گرفتن در معرض مزمن پاراکوات علاوه بر فیروز می تواند منجر به آسیب ریه و کبد، نارسایی کلیه و ضایعات پارکینسونی شود. سمیت پاراکوات از طریق تولید بیش از حد رادیکال های آزاد رخ می دهد که منجر به استرس اکسیداتیو و آسیب می شود هدف از پژوهش حاضر بررسی تأثیر یک دوره تمرین هوازی و مکمل یاری با پیرین بر سطوح آنزیم های کبدی موش بزرگ مبتلا به پاراکوات بود.

مواد و روش ها: تعداد ۴۸ سر موش بزرگ به شش گروه مساوی (۱ شم، ۲ پاراکوات (کنترل منفی)، ۳ پاراکوات+تمرین، ۴ پاراکوات+تمرین+پیرین، ۵ پاراکوات+مکمل پیرین، ۶ کنترل مثبت پاراکوات+ویتامین E تقسیم شدند. تمرین هوازی، به مدت هفت هفته، هر هفته پنج جلسه و هر جلسه به مدت ۳۰ الی ۴۰ دقیقه در روز با سرعت (۱۰ تا ۱۸ متردقیقه) بود. میزان القای سم پاراکوات به میزان ۵ میلی گرم/کیلوگرم وزن بدن تهیه و بصورت داخل صفاقی به موش های بزرگ تزریق شد. مکمل پیرین با دوز ۱۰ میلی گرم/کیلوگرم وزن بدن روزانه-گاوژ شد. از آزمون تحلیل واریانس یکطرفه جهت بررسی تفاوت میانگین های بین گروهی استفاده شد.

نتایج: بین گروه های شم، پاراکوات+تمرین، پاراکوات+پیرین و پاراکوات+تمرین+پیرین و کنترل مثبت پاراکوات+ویتامین E، در مقایسه با گروه کنترل منفی-پاراکوات تفاوت معنی داری در سطوح آنزیم های آلانین آمینوترانسفراز (ALT) و آسپاراتات آمینوترانسفراز (AST) وجود دارد. سطوح ALT و AST در گروه کنترل منفی نسبت به گروه های شم، پاراکوات+تمرین، پاراکوات+پیرین و پاراکوات+تمرین+پیرین و کنترل مثبت پاراکوات+ویتامین E، افزایش معنی داری دیده شد ($P < 0.01$).

نتیجه گیری: نتایج نشان داد در گروه های تمرین، تمرین همراه با پیرین و پیرین به تنهایی منجر به کاهش سطوح آنزیم های ALT و AST در موش های بزرگ نسبت به گروه کنترل منفی شد. با این وجود با توجه به مطالعات اندک صورت گرفته در این زمینه، نیاز به پژوهش های بیشتری است.

واژه های کلیدی: پاراکوات، تمرین هوازی، آلانین آمینوترانسفراز، آسپاراتات آمینوترانسفراز، پیرین

وصول مقاله: ۱۴۰۱/۰۹/۲۳

اصلاحیه نهایی: ۱۴۰۱/۱۱/۰۷

پذیرش: ۱۴۰۲/۰۱/۱۹

مقدمه

پاراکوات (PQ, 1,1'-dimethyl-4-4'-bipyridinium dichloride) یک علف کش بسیار سمی است که به طور گسترده در کشاورزی در سراسر جهان استفاده می شود و بیش از ۵۰ سال است که به بازار عرضه شده است. میزان مرگ و میر ناشی از مسمویت با پاراکوات بین ۵۰٪ تا ۹۰٪ متغیر است (۱). با بررسی نتایج مطالعات صورت گرفته، مکانیسم مسمومیت با PQ ناشی از تولید گونه های فعال اکسیژن (ROS) توسط PQ در بدن است که باعث آسیب به اندام ها از طریق ماکروفاژها می شود (۲). یکی از اندام هایی که پاراکوات بر آن تاثیر می گذارد کبد می باشد، کبد منبع اصلی آنتی اکسیدان های ذاتی است که نقش مهمی در متابولیسم آنزیمی و سم زدایی دارد؛ بنابراین، کبد در برابر آسیب ناشی از ROS آسیب پذیرتر است (۳-۵). از آنجایی که مکانیسم اصلی مسمومیت سم پاراکوات، تغییر در شاخص های استرس اکسیداتیو است، یکی از روش های کاهش آسیب های استرس اکسیداتیو، استفاده از آنتی اکسیدان ها به عنوان درمانی برای کاهش سمیت پاراکوات می باشد (۶-۸). یکی از این آنتی اکسیدان ها، مکمل پیپرین است. پیپرین یک آلکالوئید نیتروژنی، با فرمول شیمیایی $C_{17}H_{19}NO_3$ است و دارای سه نوع ایزوفورم می باشد (۹) که در میوه فلفل سیاه و سایر گونه های فلفل یافت می شود (۱۰، ۱۱). بررسی های اخیر نشان می دهد پیپرین دارای فعالیت های شیمیایی، پیشگیری کننده و آنتی اکسیدانی است. این ماده همچنین دارای فعالیت های ضد میکروبی و ضد التهابی است (۱۰). براساس نتایج مطالعات صورت گرفته مصرف پیپرین می تواند سطوح AST و ALT را در مدل های سمیت کبدی ناشی از سیانوتوکسین (۱۲)، استئاتوز کبدی ناشی از رژیم غذایی پرچرب (۱۳) و آسیب کبدی ناشی از ایسکمی خون مجدد ناشی از خون را کاهش بدهد (۱۴). علاوه بر مصرف پیپرین انجام دادن فعالیت های بدنی منظم می تواند منجر به کاهش اثرات التهابی استرس اکسیداتیو ها و بهبود آنزیم های کبدی شود. چنانچه، انجام دادن برخی فعالیت های بدنی و ورزشی یکی از مؤثرترین روش های درمانی برای کنترل و مراقبت از التهابات کبدی باشد (۱۵). در این زمینه، فتحی و همکاران (۲۰۱۷)، گزارش کردند

هشت هفته تمرین هوازی، سه جلسه با شدت ۶۵ تا ۷۵ درصد ضربان قلب ذخیره به مدت ۴۵ تا ۶۰ دقیقه به فعالیت پرداختند، منجر به کاهش معنی دار سطوح آنزیم های ALT و AST شد (۱۶). در مقابل، حسینی کاخک و همکاران (۲۰۱۵)، با بررسی تاثیر تمرین ترکیبی هوازی-مقاومتی به مدت هشت هفته، با تواتر سه جلسه ۹۰ دقیقه ای در هفته بر پروفایل های آنزیم های کبدی تحت رژیم غذایی به این نتیجه رسیدند که تغییر معنی داری در سطوح آنزیم های ALT و AST در هر دو گروه در پایان دوره وجود ندارد (۱۷).

بطور خلاصه، استفاده از آنتی اکسیدان ها و همچنین فعالیت منظم ورزشی از مهم ترین فاکتورهایی است که امروزه نظر پژوهشگران زیادی را به منظور کنترل و درمان بیماری های کبدی و سایر بیماری های مرتبط با آن به خود جلب کرده است. از نظر بالینی، مشکل فزاینده جدی از مسمومیت با PQ کانون تحقیقات مستمر بوده است و مطالعه پاتوژنز و پیشگیری درباره درمان PQ ادامه دارد، اما هنوز پیشرفت قابل توجهی در این زمینه حاصل نشده است. از آنجاکه افزایش سطح استرس اکسیداتیو و التهاب هم اکنون به عنوان فاکتورهای مهم در پیشرفت بیماری کبد و همچنین سایر بیماری های مرتبط با آن محسوب می شود، به نظر می رسد مصرف آنتی اکسیدان ها همراه با فعالیت ورزشی منظم با بهبود این بیماری ها، کمک زیادی به درمان و کاهش شدت اثرات آن می کند. از آنجاکه پاراکوات اثرات سمی خود را از طریق افزایش سطح استرس اکسیداتیو و التهاب در کبد ایجاد می کند، هم اکنون به عنوان فاکتور مهم در پیشرفت بیماری کبد و همچنین سایر بیماری های مرتبط با آن محسوب می شود. با وجود این بررسی ها، پژوهشی در مورد تاثیر تمرین هوازی به همراه مصرف مکمل پیپرین و اثر تعاملی این دو بر سطوح آنزیم های کبدی در موش های بزرگ مبتلا شده به سم پاراکوات مشاهده نشده است. از این رو، هدف از پژوهش حاضر بررسی تاثیر یک دوره تمرینات هوازی و مکمل یاری با پیپرین بر سطوح آنزیم های کبدی موش های بزرگ مبتلا شده با پاراکوات بود.

مواد و روش‌ها

حیوانات

در این پژوهش تجربی تعداد ۴۸ سر موش‌های بزرگ نژاد ویستار (هشت هفته با میانگین وزنی ۲۰۰-۲۵۰ گرم) از دانشکده علوم پزشکی مشهد مورد استفاده قرار گرفت و به آزمایشگاه حیوانات دانشکده علوم پزشکی دانشگاه فردوسی مشهد منتقل شدند. تعداد ۴ سر موش بزرگ به مدت یک هفته در قفس های پلکسی گلاس و در شرایط کنترل شده در محیطی با میانگین دما و رطوبت به ترتیب (۲۲ تا ۲۴ درجه سانتی گراد)، رطوبت (۴۷ تا ۵۳ درصد) و نور (چرخه ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی) با دسترسی آزاد به آب و غذای مخصوص جوندگان آزمایشگاهی نگهداری شدند. همچنین آب به وسیله بطری شیشه ای مخصوص در اختیار آن‌ها قرار گرفت. حیوانات پس از یک هفته آشنایی با محیط آزمایشگاه به طور تصادفی به شش گروه مساوی تقسیم شدند: (۱) گروه شم (۸ سر)، (۲) گروه کنترل منفی-پاراکوات (۸ سر)، (۳) گروه پاراکوات+تمرین هوازی (۸ سر)، (۴) گروه پاراکوات+تمرین+پیپرین (۸ سر)، (۵) گروه پاراکوات+مکمل پیپرین (۸ سر) و (۶) کنترل مثبت پاراکوات+ویتامین E (۸ سر). گروه شم در طول تمرین هیچ گونه فعالیت خاصی نداشتند و تنها به منظور یکسان نمودن شوک حاصل از گاوآژ، معادل حجم عصاره تزریقی پیپرین، سرم فیزیولوژی را به مدت هفت هفته، پنج روز در هفته بصورت گاوآژ دریافت کردند. لازم به ذکر است در کلیه مراحل تحقیق، اصول بیانیه هلسینکی و نظرات کمیته اخلاق در پژوهش رعایت شد. همچنین مراحل مربوط به آزمایشات در کمیته اخلاق در پژوهش های پزشکی در دانشکده علوم پزشکی سبزوار با کد IR.HSU.REC.1400.014 تصویب گردید. در این پژوهش القای پاراکوات به میزان ۵ میلی گرم/کیلوگرم (وزن بدن) به صورت روز درمیان (سه روز در هفته) داخل صفاقی به موش ها تزریق شد (۱۸،۱۹). همچنین، مکمل پیپرین با دوز ۱۰ میلی گرم/کیلوگرم (وزن بدن) و ویتامین E با دوز ۲۰ میلی گرم/کیلوگرم (وزن بدن) روزانه به صورت خوراکی به موش‌های بزرگ گاوآژ شد. پیپرین و ویتامین E در روغن ذرت حل می شد و حیواناتی که از

دارونما استفاده می کردند همان حجم از روغن ذرت را دریافت کردند (۲۰). جهت استفاده از نوارگردان برای تمرین هوازی ابتدا حیوانات در مرحله آشنایی به مدت (۵ روز در هفته، ۵ دقیقه در روز با سرعت ۱۰ متر در دقیقه) به دویدن روی تردمیل پرداختند. زمان شروع تمرین بین ساعت های ۸ تا ۱۲ صبح در هر روز اجرا شد. برای مدت هفت هفته، هر هفته پنج جلسه با افزایش فزاینده در مدت زمان و مسافت طی شده به تمرین هوازی با شیب دستگاه صفر درجه پرداختند. در این پژوهش تمرین هوازی شامل هفت هفته هر هفته پنج جلسه، هر جلسه ۳۰ الی ۴۰ دقیقه با سرعت ۱۰ تا ۱۸ متر بر دقیقه انجام شد. موش‌های بزرگ گروه تمرین هوازی در طول مدت جلسات تمرینی پایش شدن و با استفاده از یک روش الکتریکی ضعیف (شدت ۰/۵ میلی آمپر) که در حیوان ایجاد استرس زیادی نمی کرد و یا دستکاری با یک اسفنج، به ادامه دویدن تشویق شدند. جهت رسیدن به سازگاری های بدست آمده به حالت یکنواخت، تمامی متغیرهای تمرینی در هفته پایانی (هفته هفتم) ثابت نگه داشته شد. پس از اتمام برنامه تمرینی، به منظور اجرای سردکردن، سرعت دستگاه بطور معکوس کاهش یافت تا سرعت دستگاه به صفر برسد. لازم به ذکر است که تمام شرایط زیستی برای گروه کنترل به جز پروتکل های اصلی تمرین در روز آزمایش، شبیه گروه های تمرین بود (۲۱). : در انتها برای از بین بردن آثار حاد تمرین و متغیرهای کنترل نشدنی و استرس حاصل از اجرای برنامه ورزشی در موش‌های بزرگ بعد از ۴۸ ساعت از آخرین جلسه تمرین و ۱۰ تا ۱۲ ساعت ناشتا، موش های تمام گروه‌ها پس از انتقال به آزمایشگاه دانشکده علوم پزشکی دانشگاه فردوسی مشهد تشریح شدند. در وهله نخست، حیوانات با ترکیبی از کلرال هیدرات (۱۴ گرم به ازای هرکیلوگرم از وزن بدن) در ۱۱ سی سی سرم فیزیولوژیک حل شد، و بصورت درن صفاقی به رت ها تزریق گردید. پس از تایید بیهوشی توسط عدم عقب کشیدن پا، با شروع کردن جراحی برشی به طول ۵ تا ۶ سانتی متر، در ناحیه شکمی بدن موش بزرگ ایجاد شد؛ مقدار ۵ میلی لیتر خون از بطن راست هر موش، توسط سرنگ گرفته شد و بلافاصله درون لوله های آزمایش فاقد ماده ضدانعقاد ریخته شد (۲۲). نمونه ها به

آماري تحليل واريانس يکطرفه در جدول يک نشان داد، که تغييرات بين گروهی در سطوح آنزيم های آلانين آمينوترانسفراز ($F=165/31$ و $p=0/001$) و اسپاراتات آمينوترانسفراز ($P=0/001$ و $F=179/88$) به لحاظ آماری معنی دار است (جدول ۱ و ۲).

نتایج آزمون تعقیبی بونفرونی نشان داد، تفاوت معنی داری بين گروه کنترل منفی-پاراکوات در مقایسه با گروه کنترل مثبت پاراکوات + ویتامین E ($p=0/001$)، پاراکوات + مکمل پيپرین ($p=0/001$)، پاراکوات + تمرین + پيپرین ($p=0/001$)، پاراکوات + تمرین ($p=0/001$) و شم ($p=0/001$) در مقادير آنزيم های آلانين آمينوترانسفراز وجود دارد (جدول ۳). همچنین، بين سطوح آنزيم اسپاراتات آمينوترانسفراز در بين گروه کنترل منفی-پاراکوات در مقایسه با گروه کنترل مثبت پاراکوات + ویتامین E ($p=0/001$)، پاراکوات + مکمل پيپرین ($p=0/001$)، پاراکوات + تمرین + پيپرین ($p=0/001$)، پاراکوات + تمرین ($p=0/001$) و شم ($p=0/001$) تفاوت معنی داری وجود دارد (جدول ۴).

مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتیگراد با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ و تا زمان سنجش در دمای منفی ۸۰ درجه سانتی گراد نگهداری شد. برای اندازه گیری مقدار آنزيم های کبدی (ALT و AST) از کیت های شرکت پارس آزمون (ساخت کشور ایران) اندازه گیری شدند. داده های جمع آوری شده با کمک نرم افزار SPSS ویرایش ۲۰ تجزیه و تحلیل شدند. پس از تأیید نرمال بودن توزیع نظری داده ها با استفاده از آزمون آماری شاپیروویلیک و همگنی واریانس ها توسط آزمون لون، از آزمون آنالیز واریانس یکطرفه (ANOVA) برای مقایسه تغییرات واریانس بين گروهی و همچنین آزمون تعقیبی بونفرونی برای تفاوت میانگین های بين گروهی استفاده شد. برای آزمون نتایج سطح معنی داری $P<0/05$ در نظر گرفته شد.

نتایج

نتایج حاصل از مقایسه ی میانگین ها بين گروه های مختلف (کنترل مثبت پاراکوات + ویتامین E، پاراکوات + مکمل پيپرین، پاراکوات + تمرین + پيپرین، پاراکوات + تمرین، کنترل منفی-پاراکوات و شم)، با استفاده از آزمون

جدول ۱. مقایسه تغییرات آلانين آمينوترانسفراز بافت کبد بين گروه ها

گروه ها	آلانين آمينوترانسفراز (واحدبرلیتر)	مقایسه بين گروه ها
	انحراف معيار ± میانگین	مقدار F
		سطح معنی داری †
کنترل مثبت پاراکوات + ویتامین E	۵۱/۱۳±۴/۶۵	
پاراکوات + مکمل پيپرین	۶۰/۱۵±۲/۶۵	
پاراکوات + تمرین + پيپرین	۴۹/۴۰±۳/۱۴	۱۶۵/۳۱
پاراکوات + تمرین	۶۱/۴۷±۳/۸۱	۰/۰۰۱†
کنترل منفی-پاراکوات	۹۲/۸۰±۳/۶۹	
شم	۴۱/۴۴±۱/۸۴	

†: سطح معنی داری پذیرفته شده $P<0/05$

جدول ۲. مقایسه تغییرات آسپاراتات آمینوترانسفراز بافت کبد بین گروه ها

گروه ها	آسپاراتات آمینوترانسفراز (واحد بر لیتر)	مقایسه بین گروه ها
کنترل مثبت پاراکوات + ویتامین E	انحراف معیار ± میانگین	مقدار F
پاراکوات + مکمل پپیرین	۱۰۵/۲۸ ± ۱۰/۲۴	۱۷۹/۸۸
پاراکوات + تمرین + پپیرین	۱۲۵/۱۳ ± ۵/۸۳	
پاراکوات + تمرین	۱۰۱/۴۸ ± ۶/۹۲	
پاراکوات + تمرین	۱۲۸/۰۲ ± ۸/۳۸	
کنترل منفی - پاراکوات	۱۹۶/۹۶ ± ۸/۱۲	
شم	۷۷/۱۵ ± ۳/۴۵	

سطح معنی داری پذیرفته شده $P < 0.05$

جدول ۳. مقایسه تغییرات آلانین آمینوترانسفراز بین جفت گروه ها

گروه ها	شم	کنترل منفی - پاراکوات	پاراکوات + تمرین هوازی	پاراکوات + تمرین هوازی + پپیرین	پاراکوات + پپیرین	کنترل مثبت پاراکوات + ویتامین E
شم	-----	۰/۰۰۱*	۰/۰۰۱*	۰/۰۰۱*	۰/۰۰۱*	۰/۰۰۱*
کنترل منفی - پاراکوات	۰/۰۰۱*	-----	۰/۰۰۱*	۰/۰۰۱*	۰/۰۰۱*	۰/۰۰۱*
پاراکوات + تمرین هوازی	۰/۰۰۱*	۰/۰۰۱*	-----	۰/۰۰۱*	۱/۰۰	۰/۰۰۱*
پاراکوات + تمرین هوازی + پپیرین	۰/۰۰۱*	۰/۰۰۱*	۰/۰۰۱*	-----	۰/۰۰۱*	۱/۰۰
پاراکوات + پپیرین	۰/۰۰۱*	۰/۰۰۱*	۱/۰۰	۰/۰۰۱*	-----	۰/۰۰۱*
کنترل مثبت پاراکوات + ویتامین E	۰/۰۰۱*	۰/۰۰۱*	۰/۰۰۱*	۱/۰۰	۰/۰۰۱*	-----

* سطح معنی داری پذیرفته شده $P < 0.05$

جدول ۴. مقایسه تغییرات آسپاراتات آمینوترانسفراز بین جفت گروه ها

گروه ها	شم	کنترل منفی - پاراکوات	پاراکوات + تمرین هوازی	پاراکوات + تمرین هوازی + پپیرین	پاراکوات + پپیرین	کنترل مثبت پاراکوات + ویتامین E
شم	-----	۰/۰۰۱*	۰/۰۰۱*	۰/۰۰۱*	۰/۰۰۱*	۰/۰۰۱*
کنترل منفی - پاراکوات	۰/۰۰۱*	-----	۰/۰۰۱*	۰/۰۰۱*	۰/۰۰۱*	۰/۰۰۱*
پاراکوات + تمرین هوازی	۰/۰۰۱*	۰/۰۰۱*	-----	۰/۰۰۱*	۱/۰۰	۰/۰۰۱*
پاراکوات + تمرین هوازی + پپیرین	۰/۰۰۱*	۰/۰۰۱*	۰/۰۰۱*	-----	۰/۰۰۱*	۱/۰۰
پاراکوات + پپیرین	۰/۰۰۱*	۰/۰۰۱*	۱/۰۰	۰/۰۰۱*	-----	۰/۰۰۱*
کنترل مثبت پاراکوات + ویتامین E	۰/۰۰۱*	۰/۰۰۱*	۰/۰۰۱*	۱/۰۰	۰/۰۰۱*	-----

* سطح معنی داری پذیرفته شده $P < 0.05$

بحث

بر اساس نتایج بدست آمده از پژوهش حاضر کاهش معنی داری در سطوح آنزیم آسپاراتات آمینوترانسفراز و آلانین آمینوترانسفراز در گروه های پاراکوات + مکمل پپیرین، پاراکوات + تمرین هوازی، پاراکوات + تمرین +

هدف از مطالعه حاضر بررسی مقایسه تأثیر یک دوره تمرین هوازی و مکمل یاری با پپیرین بر سطوح آنزیم های کبدی موش های بزرگ مبتلابه پاراکوات بود.

دادند آسیب های شدید در پارانشیم کبد، سلول های کبدی و کلیه ها به عنوان دلیل اصلی افزایش در فعالیت آنزیم های **AST** و **ALT** و سطح کراتینین در نتیجه تجویز حاد پاراکوات در یک دوز ۲۴ میلی گرم بر کیلوگرم ایجاد شده است (۳۰). مکانیسم زمینه ای مسمومیت با **PQ** به طور کامل تشخیص داده نشده است، اما ممکن است چند عاملی باشد. مطالعات نشان داده است که یکی از علل مهم مسمومیت با **PQ** تولید بیش از حد گونه های فعال اکسیژن است. تولید بیش از حد گونه های فعال اکسیژن می تواند باعث استرس اکسیداتیو بیش از حد و آسیب اکسیدان در سلول ها شود. **ALT** و **AST** آنزیم های موجود در سلول های کبدی هستند. زمانی که پراکسیداسیون لیپیدی غشای سلولی کبد رخ می دهد، دو آنزیم به راحتی در خون آزاد می شوند. افزایش سطح **AST** و **ALT** در کبد و سرم ممکن است نشان دهنده آسیب حاد کبدی ناشی از **PQ** باشد (۳۱). کاهش معنی دار سطح **ALT**، **AST**، در گروه های تحت درمان با پاراکوات+تمرین+پیپرین نشان داد که تمرین+پیپرین می تواند اثر محافظتی در برابر آسیب کبدی با واسطه پاراکوات به صورت وابسته به دوز داشته باشد. اثر آنتی اکسیدانی پیپرین می تواند به دلیل وجود فلاونوئیدها و سایر آلکالوئیدهای موجود در فلفل سیاه همراه با پیپرین شامل پیپرین، پیپرین، پیپرین، پیپرین و پیپرولین هستند (۳۲،۳۳). پیپرین فعالیت آنزیم های نشانگر کبدی (آسپاراتات ترانس آمیناز (**AST**))، آلانین، ترانس آمیناز (**ALT**) و آلکالین فسفاتاز (**ALP**) را در موش ها کاهش می دهد که نشان دهنده اثرات محافظ کبدی و آنتی اکسیدانی آن است (۳۴). علاوه بر این پیپرین از طریق رادیکال خود به عنوان یک آنتی اکسیدان عمل می کند و اثر خاموش کنندگی و جلوگیری از تخلیه سطح گلوکوتایون را دارد (۳۵). گلوکوتایون، یک آنتی اکسیدان غیر آنزیمی خوب است که در برابر سمیت ناشی از مواد شیمیایی واکنش نشان می دهد؛ و می تواند در حذف واسطه های

پیپرین، پاراکوات+شم و کنترل مثبت پاراکوات+ویتامین E در مقایسه با گروه پاراکوات (کنترل منفی) شد. در این راستا، نتایج نشان می دهند میزان کاهش آنزیم های کبدی در گروه تمرین هوازی همراه با مکمل پیپرین نسبت به دیگر گروه ها بیشتر بوده و این نشان از اثرات مضاعف ضدالتهابی تمرین هوازی و مصرف مکمل پیپرین دارد. تمرین هوازی همراه با مکمل پیپرین با مهار فرایند التهابی می تواند نقش مناسبی برای پیشگیری از اثرات التهابی سم پاراکوات داشته باشد. نتایج تحقیقات نشان می دهد که استفاده توأم از تمرین هوازی و مکمل پیپرین نقش محافظتی در برابر افزایش سطح آنزیم های کبدی در برابر اثرات التهابی سم پاراکوات بازی می کند (۲۳،۲۴). به نظر می رسد تمرین هوازی با شدت متوسط به همراه پیپرین سطح سیستم دفاعی آنتی اکسیدان آنزیماتیک آندوژن را ارتقاء می دهد و بدن را در مقابله با عوامل التهابی مقاوم نماید (۲۵).

این نتایج با مطالعات قبلی در مورد ارزیابی سمیت کبدی ناشی از پاراکوات که افزایش سطح سرمی آنزیم های کبدی را نشان می داد، مطابقت دارد (۲۶،۲۷). آنور و همکاران (۲۰۲۲) گزارش کردند سطوح **AST**، **ALT**، **BUN** و کراتینین به طور قابل معنی داری در تمام سطوح القاء پاراکوات با دوزهای متفاوت افزایش یافت (۲۸). لالروتفلا و همکاران (۲۰۱۴) افزایش معناداری را در سطوح **AST**، **ALT** و کراتینین در موش های ماده نژاد ویستار که در معرض سم پاراکوات در دوزهای ۱۰، ۱۵، ۲۵ میلی گرم بر کیلوگرم به مدت ۲۸ روز قرار گرفتند، گزارش کردند (۲۹). از جمله علائم مسمومیت با پاراکوات، تغییرات گرانولی و واکنشی در ریه ها و کبد، احتقان، آمفیژم، احتقان و ادم در ریه ها، و آتروفی و هیپرترافی در کلیه ها موش های ماده ویستار است، همچنین پاراکوات باعث تغییرات هیستوپاتولوژیک در کبد و کلیه موش ها می شود، که منجر به اثرات هپاتوتوکسیک و نفروتوکسیک می گردد (۲۹). به همین ترتیب، هارپریا و همکاران (۲۰۱۷) نشان

سیتوزولیک را در میتوکندری کنترل می‌کند، اکسیداسیون لیپیدها را در کبد تحریک می‌کند (۴۰، ۳۹).

نتیجه‌گیری

به طور خلاصه، براساس نتایج به دست آمده از پژوهش حاضر سطوح آنزیم های ALT و AST کبد در موش‌های بزرگ نر مبتلا شده با پاراکوات در گروه تمرین به تنهایی، تمرین همراه با پیپرین و پیپرین به تنهایی نسبت به گروه کنترل منفی کاهش معنی‌داری یافت؛ بنابراین، به نظر می‌رسد مصرف یک دوره مکمل پیپرین به همراه تمرین هوازی اثرپذیری بیشتری در کاهش آنزیم های کبدی موش‌های بزرگ مبتلا شده به سم پاراکوات نسبت به گروه های تمرین هوازی به تنهایی و مصرف مکمل به تنهایی دارد و این نتیجه از این جهت حائز اهمیت است که می‌توان از مکمل آنتی اکسیدانی همچون پیپرین به همراه تمرین هوازی جهت کاهش آنزیم های کبدی (ALT و AST) استفاده کرد.

تشکر و قدردانی

نتایج ارائه شده در این پژوهش برگرفته از پایان نامه کارشناسی ارشد است. این مطالعه با حمایت مالی شورای تحقیقات دانشگاه علوم پزشکی مشهد، موسسه ملی تحقیقات و توسعه پزشکی، ایران انجام شد. بدینوسیله از آن معاونت که حمایت مالی این طرح را به عهده داشته است، تشکر و قدردانی به عمل می‌آید.

واکنشی توسط کونژوگاسیون، کاهش هیدروپراکسید یا با خاموش کردن مستقیم رادیکال های آزاد مشارکت داشته باشد (۳۶). اثرات مثبت پیپرین بر سلامت کبد بر اساس بیومارکرهای سلامت کبد گزارش شده است. پیپرین سطوح ALT، AST و ALP را در سرم موش‌های آلبینو تغذیه شده با کلسترول کاهش می‌دهد (۳۷). براساس نتایج بدست آمده از تحقیق حاضر در گروه پاراکوات+تمرین+پیپرین و گروه تمرین همراه با مصرف مکمل پیپرین نسبت به گروه کنترل منفی کاهش معنی‌داری در سطوح آنزیم‌های کبدی مشاهده شد؛ این نتایج حاکی از آن است که اجرای فعالیت ورزشی می‌تواند اکسیداسیون لیپیدها را تحریک و سنتز لیپیدها را در درون کبد مهار کند (۳۸، ۳۹) این اعمال به واسطه‌ی فعال‌سازی مسیر AMPK انجام می‌شود. این آنزیم با افزایش نسبت AMP به ATP در بافت‌ها تحریک و فعال می‌شود که این افزایش نسبت نتیجه‌ای از محرک فیزیولوژیکی فعالیت ورزشی می‌باشد. محققان بیان کردند، شرط اصلی و لازمی فعال‌سازی مسیر AMPK هنگام فعالیت ورزشی، کاهش و فقدان فعالیت Stearoyl-CoA desaturase-1 (SCD-1) کبدی می‌باشد (۳۹). اخیراً مطالعات نشان دادند که فعالیت SCD-1 در کبد موش‌ها بعد از فعالیت ورزشی به طور چشمگیری کاهش یافته است. هنگام فعالیت ورزشی AMPK فعال می‌شود و فعالیت آن بعد از اتمام فعالیت ورزشی در عضله، کبد و بافت چربی باقی می‌ماند (۳۹). در کبد، فعال شدن AMPK باعث مهار سنتز لیپیدها می‌شود که این عمل را از طریق، غیرفعال کردن آنزیم استیل-کوآ کربوکسیلاز، فعال کردن آنزیم مانوایل-کوآ دکربوکسیلاز و مهار بیان ژن آنزیم‌های لیپوژنیک: استیل کو آ کربوکسیلاز و اسید چرب سنتتاز (۳۹) انجام می‌دهد و اساساً از طریق کاهش در میزان مالونیل-کوآ که یک مهار کننده آلوستریک Carnitine palmitoyl transferase-1 (CPT-1)، آنزیمی که انتقال زنجیره‌های بلند اسیدهای چرب

ملاحظات اخلاقی

مقاله فوق دارای تاییدیه کمیته اخلاق در پژوهش های پزشکی در دانشکده علوم پزشکی سبزوار با کد IR.HSU.REC.1400.014 تصویب گردید.

تعارض و منافع

نویسندگان مقاله اعلام می دارند که هیچ گونه تضادی در منافع وجود ندارد.

منابع

- Asaduzzaman M, Chando MR, Ahmed N, Rezwanul Islam KM, Alam MMJ, Roy S. Paraquat-induced acute kidney and liver injury: Case report of a survivor from Bangladesh. *Clinical Case Reports* 2021;9(11):e05020.
- Huang J, Ning N, Zhang W. Effects of paraquat on IL-6 and TNF- α in macrophages. *Experimental and Therapeutic Medicine* 2019;17(3):1783-1789.
- Gawarammana IB, Buckley NA. Medical management of paraquat ingestion. *British Journal of Clinical Pharmacology* 2011;72(5):745-757.
- Han J, Zhang Z, Yang S, Wang J, Yang X, Tan D. Betanin attenuates paraquat-induced liver toxicity through a mitochondrial pathway. *Food and Chemical Toxicology* 2014;70:100-106.
- Costa MD, de Freitas ML, Dalmolin L, Oliveira LP, Fleck MA, Pagliarini P, et al. Diphenyl diselenide prevents hepatic alterations induced by paraquat in rats. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 2013;36(3):750-758.
- Hu S, Qiao C, Yuan Z, Li M, Ye J, Ma H, et al. Therapy with high-dose long-term antioxidant free radicals for severe paraquat poisoning: A pilot study. *Experimental and Therapeutic Medicine* 2018;16(6):5149-5155.
- Zeinvand-Lorestani H, Nili-Ahmadabadi A, Balak F, Hasanzadeh G, Sabzevari O. Protective role of thymoquinone against paraquat-induced hepatotoxicity in mice. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 2018;148:16-21.
- Wang J, Yu W, Wu N, Gitonga EN, Shen H. Efficacy of high-dose ambroxol for paraquat poisoning: A meta-analysis of randomized controlled trials. *Journal of Research in Medical Sciences: The Official Journal of Isfahan University of Medical Sciences* 2020;25:67.
- Aguiar CP, Lopes DC, Borges RS. Influence of piperidine ring on stability and reactivity of piperine. *Chemical Data Collections* 2018;17:138-142.
- Gorgani L, Mohammadi M, Najafpour GD, Nikzad M. Piperine—the bioactive compound of black pepper: from isolation to medicinal formulations. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 2017;16(1):124-140.
- Quijia CR, Chorilli M. Characteristics, biological properties and analytical methods of piperine: A review. *Critical Reviews in Analytical Chemistry* 2020;50(1):62-77.
- Abdel-Daim MM, Sayed AA, Abdeen A, Aleya L, Ali D, Alkahtane AA, et al. Piperine enhances the antioxidant and anti-inflammatory activities of thymoquinone against microcystin-LR-induced hepatotoxicity and neurotoxicity in mice. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2019. Article ID 1309175 | <https://doi.org/10.1155/2019/1309175>.
- Choi S, Jung HJ, Kim MW, Kang J-H, Shin D, Jang Y-S, et al. A novel STAT3 inhibitor, STX-0119, attenuates liver fibrosis by inactivating hepatic stellate cells in mice. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 2019;513(1):49-55.
- Mohammadi M, Najafi H, Yarijani ZM, Vaezi G, Hojati V. Piperine pretreatment attenuates renal ischemia-reperfusion induced liver injury. *Heliyon* 2019;5(8):e02180.
- Nikroo H, Nematy M, Sima H, AttarzadeHosseini S, Pezeshki M, Esmaeilzadeh A, et al. Therapeutic effects of aerobic exercise and low-calorie diet on nonalcoholic steatohepatitis. *Govareh* 2013;17(4):245-253.
- Fathei M, Khairabadi S, Hejazi k. Changes in insulin resistance markers and some liver enzymes and cardiovascular risk factors to aerobic training and green tea supplement consumption. *complementary*

- Medicine Journal 2017;6(4):1703-1716.
17. Hosseini kakhk A, Khalegh zadeh H, Nematy M, Hamedini M. The effect of combined aerobic-resistance training on lipid profile and liver enzymes in patients with non-alcoholic fatty liver under nutrition diet. *Sport Physiology* 2015;7(27):65-84.
 18. Ranjbar A, Asl SS, Firozian F, Dartoti HH, Seyedabadi S, Azandariani MT, et al. Role of cerium oxide nanoparticles in a paraquat-induced model of oxidative stress: emergence of neuroprotective results in the brain. *Journal of Molecular Neuroscience* 2018;66(3):420-427.
 19. Zhang X-f, Thompson M, Xu Y-h. Multifactorial theory applied to the neurotoxicity of paraquat and paraquat-induced mechanisms of developing Parkinson's disease. *Laboratory Investigation* 2016;96(5):496-507.
 20. Roshanbakhsh H, Elahdadi Salmani M, Namvar Ashdash S, Ahmadian sR, Pourabdolhossein F. Piperine pre-treatment has immunomodulatory effects in hippocampal local model of demyelination. *Koomesh Journal* 2021;23(1):155-165.
 21. Afzalpour ME, Chadorneshin HT, Foadoddini M, Eivari HA. Comparing interval and continuous exercise training regimens on neurotrophic factors in rat brain. *Physiology & Behavior* 2015;147:78-83.
 22. Lee S, Farrar RP. Resistance training induces muscle-specific changes in muscle mass and function in rat. *The Journal of Exercise Physiologyonline* 2003;6(2):80-87.
 23. Ye Y, Lin H, Wan M, Qiu P, Xia R, He J, et al. The effects of aerobic exercise on oxidative stress in older adults: A systematic review and meta-analysis. *Frontiers in Physiology* 2021;12:701151.
 24. Rauscher FM, Sanders RA, Watkins III JB. Effects of piperine on antioxidant pathways in tissues from normal and streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology* 2000;14(6):329-334.
 25. Kawamura T, Muraoka I. Exercise-induced oxidative stress and the effects of antioxidant intake from a physiological viewpoint. *Antioxidants* 2018;7(9):119.
 26. Ahmad I, Shukla S, Kumar A, Singh BK, Kumar V, Chauhan AK, et al. Biochemical and molecular mechanisms of N-acetyl cysteine and silymarin-mediated protection against maneb-and paraquat-induced hepatotoxicity in rats. *Chemico-Biological Interactions* 2013;201(1-3):9-18.
 27. Hong S-Y, Yang D-H, Hwang K-Y. Associations between laboratory parameters and outcome of paraquat poisoning. *Toxicology Letters* 2000;118(1-2):53-59.
 28. Onur B, Çavuşoğlu K, Yalçın E, Acar A. Paraquat toxicity in different cell types of Swiss albino mice. *Scientific Reports* 2022;12(1):4818.
 29. Lalruatfela P, Saminathan M, Ingle R, Dhama K, Joshi M. Toxicopathology of paraquat herbicide in female Wistar rats. *Asian Journal of Animal and Veterinary* 2014;9(9):523-542.
 30. HariPriya B, Lakshman M, Sudha V. Influence of Paraquat induced acute toxicity on body weights and haemato-biochemical parameters in experimental. *International Journal of Scientific Research* 2017;6(7):396-398.
 31. Zhang Z-D, Yang Y-J, Liu X-W, Qin Z, Li S-H, Li J-Y. The protective effect of aspirin eugenol ester on paraquat-induced acute liver injury rats. *Frontiers in Medicine* 2020;7:589011.
 32. Hirasa K, Takemasa M. *Spice science and technology*: CRC Press 1998.
 33. Meghwal M, Devu S, Singh H, Goswami TK. *Piperine and curcumin. A Centum of Valuable Plant Bioactives*: Elsevier 2021: 589-612.
 34. Sabina EP, Souriyani ADH, Jackline D, Rasool MK. Piperine, an active ingredient of black pepper attenuates acetaminophen-induced hepatotoxicity in mice. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine* 2010;3(12):971-976.
 35. Mittal R, Gupta R. In vitro antioxidant activity of piperine. *Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology* 2000;22(5):271-274.
 36. Dhanasekaran JJ, Ganapathy M. Hepatoprotective effect of Cassia auriculata L. leaf extract on carbon tetrachloride intoxicated liver damage in Wistar albino rats. *Asian Journal of Biochemistry* 2011;6(1):104-112.
 37. Haq IU, Imran M, Nadeem M, Tufail T, Gondal TA, Mubarak MS.

- Piperine: A review of its biological effects. *Phytotherapy Research* 2021;35(2):680-700.
38. Perseghin G, Lattuada G, De Cobelli F, Ragogna F, Ntali G, Esposito A, et al. Habitual physical activity is associated with intrahepatic fat content in humans. *Diabetes Care* 2007;30(3):683-688.
39. Lavoie J-M, Gauthier M-S. Regulation of fat metabolism in the liver: link to non-alcoholic hepatic steatosis and impact of physical exercise. *Cellular and Molecular Life Sciences* 2006;63(12):1393-1409.
40. Ruderman N, Park H, Kaushik V, Dean D, Constant S, Prentki M, et al. AMPK as a metabolic switch in rat muscle, liver and adipose tissue after exercise. *Acta Physiologica* 2003;178(4):435-442.