

نقش لیکورایز و یک دوره تمرین ورزشی بر تغییرات هیستوپاتولوژیک و آنزیم های کبدی موش های صحرایی مدل دیابتی نوع ۲

فرح نامنی*^۱، مهسا عسگری^۲

۱. دانشیار گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ورامین، پیشوا، ورامین، ایران.

۲. کارشناسی ارشد، گروه تربیت بدنی، دانشکده علوم انسانی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران.

* نویسنده مسئول: فرح نامنی، استادیار، گروه تربیت بدنی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ورامین، پیشوا، ورامین، ایران

f.nameni@yahoo.co.uk

۰۹۱۲۵۳۵۴۰۵۳

چکیده

مقدمه: دیابت نوعی اختلال متابولیک پیچیده است که با افزایش قند خون (هیپرگلیسمی) مشخص می‌شود. این افزایش ناشی از نقص در ترشح انسولین، مقاومت به عملکرد آن، یا ترکیبی از هر دو است. در دیابت نوع ۲، اختلال در تنظیم قند خون به دلیل کاهش حساسیت سلول‌ها به انسولین یا کاهش ترشح آن از سلول‌های بتای پانکراس رخ می‌دهد. این بیماری یکی از عوامل اصلی بروز عوارضی مانند آسیب‌های کبدی است. هدف از پژوهش حاضر، بررسی اثرات عصاره گیاه لیکورایز (شیرین بیان) و تمرین شنا بر تغییرات هیستوپاتولوژیک و آنزیم‌های کبدی در موش‌های صحرایی مبتلا به دیابت نوع ۲ بود. **مواد و روش‌ها:** این مطالعه تجربی بر روی ۵۵ سر موش صحرایی نر ۸ هفته‌ای با وزن تقریبی 200 ± 30 گرم انجام شد. برای القای دیابت، از تزریق استرپتوزوتوسین (STZ) به میزان ۵۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم (mg/kg) استفاده شد. حیوانات به‌طور تصادفی به پنج گروه: گروه کنترل دیابتی، گروه تمرین شنا، گروه عصاره لیکورایز، گروه ترکیبی (تمرین شنا + عصاره لیکورایز) و گروه کنترل سالم تقسیم شدند. برنامه تمرینی شامل تمرین شنا به مدت ۸ هفته بود. دو گروه از موش‌های دیابتی عصاره لیکورایز را به‌صورت خوراکی دریافت کردند و دو گروه هم در برنامه تمرینی شرکت داشتند. پس از پایان دوره تحقیق، نمونه‌های کبدی جهت بررسی‌های هیستوپاتولوژیک و اندازه‌گیری آنزیم‌های کبدی AST، ALT و ALP جمع‌آوری شدند. از آزمون‌های میانگین و انحراف استاندارد در بخش آمار توصیفی استفاده شد و مقایسه میانگین‌ها با آزمون تحلیل واریانس دوطرفه تحلیل شدند. برای تعیین تفاوت بین گروه‌ها از آزمون تعقیبی بونفرونی استفاده شد. **نتایج:** نتایج نشان داد که تمرین شنا، مصرف عصاره لیکورایز، و ترکیب هر دو به‌طور معناداری موجب کاهش سطح آنزیم‌های AST و ALP شدند ($P < 0/05$). با این حال، بر میزان آنزیم ALT تأثیر معناداری مشاهده نشد. همچنین، گروه‌های دریافت‌کننده مکمل لیکورایز و تمرین شنا نسبت به گروه کنترل دیابتی، کاهش قابل توجهی در میزان فیبروز کبدی نشان دادند. **بحث و نتیجه‌گیری:** این پژوهش شواهدی ارائه می‌کند که نشان می‌دهد تمرین شنا و مصرف عصاره لیکورایز، چه به‌صورت مستقل و چه به‌صورت ترکیبی، می‌توانند به بهبود پارامترهای کبدی و کاهش آسیب‌های ناشی از دیابت کمک کنند. این یافته‌ها حاکی از آن است که فعالیت بدنی و مداخلات گیاهی مانند مصرف لیکورایز می‌توانند به‌عنوان راهکارهای مکمل در مدیریت دیابت و عوارض آن، به‌ویژه در بهبود عملکرد کبد، مورد توجه قرار گیرند.

کلمات کلیدی: تمرین شنا، عصاره لیکورایز، آنزیم‌های کبدی، تغییرات هیستوپاتولوژیک

مقدمه

عدم فعالیت جسمانی یکی از عوامل اصلی در گسترش چاقی، دیابت و بیماری‌های قلبی-عروقی است و تندرستی ارتباط مستقیمی با فعالیت منظم و با شدت متوسط دارد. دیابت اختلالی متابولیک است که با هیپرگلیسمی به دنبال نقص در ترشح انسولین، مقاومت به عمل آن یا هر دو مشخص می‌شود. دیابت نوع یک، ناشی از تخریب اتوایمیون سلول‌های بتای پانکراس و منجر به کمبود انسولین است، درحالی‌که دیابت نوع دو با مقاومت به انسولین و کاهش نسبی سطح انسولین خون تعریف می‌شود [۱]. اهداف درمانی در دیابت شامل کنترل تغذیه، ورزش، دارودرمانی و تحریک انسولین است. کبد نیز اندامی حیاتی در تنظیم فرآیندهای فیزیولوژیک و کنترل متابولیک بدن محسوب می‌شود. آنزیم‌های AST، ALT و ALP نشان‌دهنده عملکرد و نکرور هپاتوسیت‌ها در آسیب کبدی هستند و مطالعات نشان می‌دهند فعالیت بدنی می‌تواند سطح این آنزیم‌ها را تحت تأثیر قرار دهد [۲، ۳].

در سال‌های اخیر، توجه به ترکیبات غذایی و محصولات طبیعی به عنوان محافظ کبدی افزایش یافته است. طب سنتی از گیاهان دارویی برای درمان بیماری‌ها استفاده کرده و لیکورایز (عصاره شیرین بیان) از جمله این گیاهان است. فعالیت فارماکولوژیک این گیاه شامل اثرات آنتی‌اکسیدانت، مهار آنزیم تیروزیناز، هیپوگلیسمیک، محافظت کبدی و ضدالتهابی می‌باشد [۵، ۴]. دیابت از بیماری‌های شایع است که موجب تغییر در پروفایل آنزیم‌های کبدی می‌شود. استفاده از روش‌های غیردارویی مانند گیاهان، مکمل‌های غذایی طبیعی و فعالیت بدنی از راهکارهای موثر در کاهش عوارض این بیماری محسوب می‌شوند [۶]. مطالعات مختلف نشان داده‌اند که مداخلات مختلف می‌توانند در بهبود شرایط دیابت موثر باشند [۷]. به عنوان مثال، رضایی و همکاران کاهش معنی‌دار آنزیم‌های AST و ALP را پس از مصرف عصاره هیدروالکلی سیاه‌دانه گزارش کردند [۸]. صالحی و همکاران اثرات تمرین استقامتی و عصاره استویا بر آنزیم‌های کبدی موش‌های دیابتی را بررسی کرده و تنظیم وزن بدن و بهبود تخریبات کبدی را از نتایج مطالعه خود برشمردند [۹]. آلیاری و همکاران نیز نشان دادند که تمرینات هوازی مانند شنا می‌تواند عاملی موثر در بهبود شاخص‌های التهابی و استرس اکسیداتیو کلیه در موش‌های صحرایی دیابتی باشد [۱۰]. اما محمدی و همکاران (۱۴۰۲) اعلام کرده‌اند ایجاد مداخله دیابت به صورت کلی منجر به تغییرنتایج شده است و مداخله‌ها منجر به تعدیل در بیان برخی ژن‌ها خواهد شد ولی تفاوت بین گروه‌ها قابل بحث است که موجب هم سطح سازی بیان ژن با گروه کنترل شده است [11]. همچنین یوشینو و همکاران (۲۰۲۱) به هیپوکالمی اشاره داشته‌اند که یکی از شایع‌ترین عوارض جانبی مصرف شیرین بیان است [12]. علاوه بر این، برخی تحقیقات نشان داده‌اند که شیرین بیان ممکن است با آنزیم‌های کبدی درگیر در متابولیسم تداخل داشته باشد و در نتیجه بر توانایی کبد برای پردازش مؤثر سموم تأثیر بگذارد [13, 14]. با توجه به این که دیابت از شایع‌ترین اختلالات غدد درون‌ریز و از علل مهم مرگ و میر است، می‌تواند منجر به تغییرات در پروفایل آنزیم‌های ALP، AST و ALT شود و زمینه‌ساز بیماری‌های قلبی-عروقی، سکتو و مرگ و میر گردد. لذا هدف از این تحقیق، بررسی تغییرات هیستوپاتولوژی و آنزیم‌های کبدی ALT، ALP، AST در موش‌های صحرایی دیابتی پس از دریافت عصاره لیکورایز و یک دوره تمرین منتخب شنا بود.

روش شناسی تحقیق

ژوهش حاضر از نوع تجربی با گروه کنترل بود. جامعه آماری شامل کلیه موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار بود. نمونه پژوهش شامل ۵۵ سر موش صحرایی ۸ هفته‌ای با وزن 20 ± 20 گرم بود که از مرکز پرورش حیوانات دانشگاه آزاد اسلامی واحد مرودشت تهیه و به مدت یک هفته جهت سازگاری با محیط، در شرایط استاندارد نگهداری شدند. شرایط نگهداری شامل چرخه نور ۱۲ ساعت روشنایی (۶ صبح تا ۶ عصر) و ۱۲ ساعت تاریکی، دمای 22 ± 3 درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی حدود ۵۰ درصد بود. موش‌ها در قفس‌های پلکسی‌گلاس با دسترسی آزاد به آب و غذای پلت نگهداری شدند.

الفا دیابت

برای القای دیابت، ۴۴ سر موش صحرائی با تزریق زیرجلدی استرپتوزتوسین (محصول شرکت سیگما آلدریج) به میزان ۵۵-۶۰ میلی گرم بر کیلوگرم بین دو گوش تحت درمان قرار گرفتند. پس از ۷ روز، قند خون موش‌ها با گلوکومتر اندازه‌گیری شد و موش‌هایی با قند خون بالاتر از ۳۰۰ میلی گرم بر دسی‌لیتر به‌عنوان مبتلا به دیابت شناخته شدند و به‌طور تصادفی در گروه‌های کنترل دیابتی، تمرین شنا، مکمل لیکورایز و ترکیب تمرین شنا + لیکورایز تقسیم شدند. همچنین ۱۱ سر موش صحرائی سالم به‌عنوان گروه کنترل سالم برای بررسی اثر دیابت بر متغیرهای پژوهش مورد استفاده قرار گرفتند.

پروتکل تمرینی شنا

برای سازگاری با تمرین شنا، موش‌ها به مدت یک هفته و هر روز ۵ دقیقه در تانک شنای پلاستیکی به ابعاد ۷۰×۹۰×۱۵۰ سانتی‌متر قرار گرفتند. تمرین اصلی شامل ۳۰ دقیقه شنای منتخب، سه جلسه در هفته به مدت ۸ هفته بود [۱۵].

تهیه عصاره لیکورایز

ریشه گیاه شیرین‌بیان از مرکز جهاد کشاورزی مرودشت تهیه شد و اصلت آن مورد تأیید قرار گرفت. ۱۰۰ گرم از پودر ریشه با ۲۰۰ میلی‌لیتر متانول ترکیب و به مدت ۴ روز در دمای محیط نگهداری شد. پس از صاف کردن محلول، عصاره با دستگاه تقطیر خلا تغلیظ شد و در دمای ۳۵ درجه با روتاری خشک و به پودر تبدیل گردید. سپس ۵۰۰ میلی‌گرم از پودر با ۶ سی‌سی نرمال سالین رقیق و به‌صورت صفاقی به موش‌ها تزریق شد.

خونگیری و سنجش آنزیم‌های کبدی / نمونه‌گیری بافتی

24 ساعت پس از پایان آخرین جلسه تمرین (پس از ۱۰-۱۲ ساعت ناشتا بودن)، موش‌ها با تزریق صفاقی کتامین (۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و زایلوزین (۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بیهوش شدند و خون از قلب جمع‌آوری شد. آنزیم‌های کبدی **ALT**، **AST** و **ALP** به روش رنگ‌سنجی آنزیمی و بر حسب واحد **U/L** اندازه‌گیری شدند. کبد به دلیل نقش حیاتی در تنظیم متابولیسم گلوکز و چربی و حساسیت بالا به آسیب‌های ناشی از دیابت نوع ۲ انتخاب شده است. دیابت می‌تواند باعث بروز تغییرات پاتولوژیک مانند التهاب، فیروز و استئاتوز کبدی شود. آنزیم‌های کبدی (**ALT**، **AST** و **ALP**) به‌عنوان شاخص‌های مهمی برای ارزیابی آسیب کبدی مورد بررسی قرار می‌گیرند، زیرا افزایش سطح آن‌ها نشان‌دهنده نکرز سلولی یا اختلال عملکرد کبد است. همچنین، لیکورایز با خواص آنتی‌اکسیدانی و تمرین شنا با بهبود حساسیت به انسولین می‌تواند اثرات محافظتی بر کبد داشته باشند که اهمیت مطالعه بر این اندام را دوچندان می‌کند.

نمونه‌گیری بافت کبد و ارزیابی هیستوپاتولوژیک

پس از آن بافت کبد موش‌های صحرائی نمونه برداری و پس از شستشو در سرم فیزیولوژیک در میکروتیوب‌های **1/8** حاوی مایع **RNAlater** (نسبت ۲۰ درصد) برای انجام آزمایش‌های هیستوپاتولوژیک قرار گرفت. ارزیابی پاتولوژیک برای ارزیابی بافت کبد انجام شد. بافت‌های کبد برداشته شدند، با سالین بافر فسفات سرد (**PBS**) شسته شدند و به مدت ۲۴ ساعت در فرمول سالین ۱۰ درصد تثبیت شدند که پس از آن آب‌گیری با افزایش غلظت اتانول، پاک‌سازی با زایلن و جاسازی با پارافین انجام شد. نمونه‌هایی برای مقاطع ۴ میکرومتری از بلوک‌های پارافین تهیه شد. مقاطع با رنگ آمیزی هماتوکسیلین و اتوزین رنگ آمیزی شدند و با استفاده از

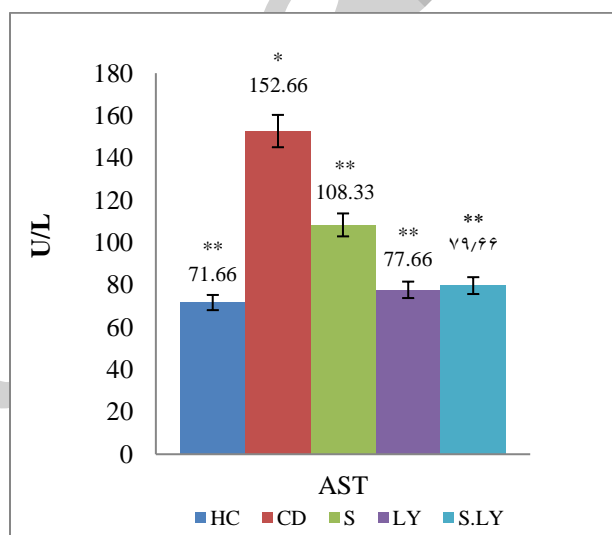
میکروسکوپ نوری Olympus با بزرگنمایی ۴۰۰ مورد بررسی قرار گرفتند. تغییرات بافت شناسی توسط پاتولوژیست ناآگاه از نوع عمل و درمان ارزیابی شد.

آنالیز آماری

اطلاعات بدست آمده بر حسب شاخص های میانگین و انحراف معیار ثبت شدند. از آزمون شاپیروویلیک برای تعیین نرمال بودن داده ها و از آزمون لوین برای تعیین تجانس واریانس ها استفاده شد. برای مقایسه داده های گروه ها از روش آماری واریانس دوراهه و در صورت تفاوت معنادار بودن از آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. کلیه بررسیهای آماری با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۲۲ انجام گرفت ($p < 0.05$).

یافته های تحقیق

میانگین و انحراف استاندارد مقادیر آنزیمهای AST، ALT و ALP در گروههای تجربی و کنترل اندازه گیری و ثبت شدند (نمودارهای ۱، ۲، ۳). با توجه به نتایج آزمون تحلیل واریانس دو طرفه آنزیم اسپاراتات ترانس آمیناز (AST) بین گروهها اختلاف معنی داری وجود دارد. نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد کاهش معنی داری در گروه های مصرف مکمل و تمرین وجود دارد ($p < 0.05$). به نظر می رسد ابتلا به دیابت افزایش معنی داری بر آنزیم اسپاراتات ترانس آمیناز (AST) داشته است. علاوه بر این هم انجام تمرینات شنا و هم مصرف عصاره لیکورایز و همچنین انجام تمرین شنا به همراه مصرف عصاره لیکورایز کاهش معنی داری بر آنزیم اسپاراتات ترانس آمیناز (AST) داشته است.



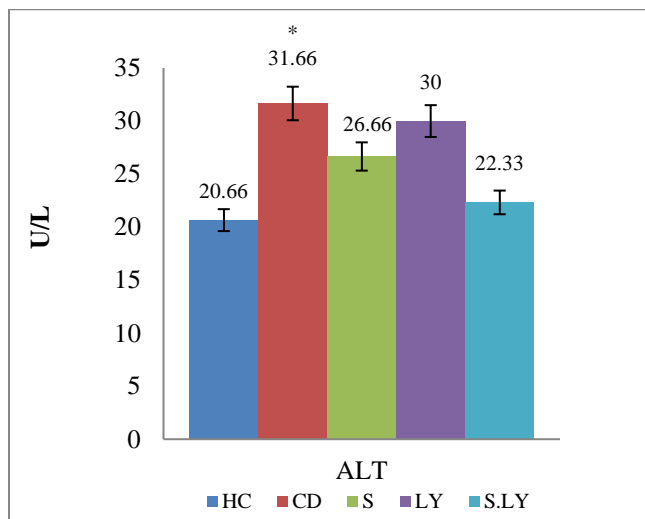
نمودار ۱. مقایسه معناداری میانگین آنزیم AST در گروههای تجربی و کنترل

*: اختلاف معنی دار بین گروه کنترل سالم و سایر گروه های دیابتی / **: اختلاف معنی دار گروه کنترل دیابتی با گروه سالم و گروه های مکمل و تمرین

: اختلاف معنی دار گروه لیکورایز دیابتی با سایر گروه ها / ## : اختلاف معنی دار گروه شنا+لیکورایز دیابتی با سایر گروه ها

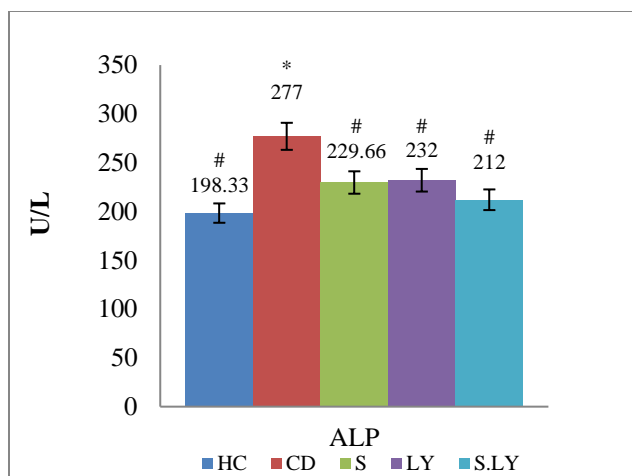
نتایج آزمون تحلیل واریانس دو طرفه اختلاف معنادار آنزیم آلانین آمینوترانسفراز ALT را بین گروه ها نشان داد اما آزمون تعقیبی توکی نشان داد که بین گروه کنترل سالم با گروه کنترل دیابتی کاهش معنادار است. اما بین سایر گروه ها اختلاف معنی داری

مشاهده نشد ($p < 0.05$). به نظر می رسد که ابتلا به دیابت تاثیر معنی داری بر آنزیم آلانین آمینوترانسفراز **ALT** داشته است. اما تمرین شنا، عصاره لیکورایز و همینطور تمرین شنا با مصرف عصاره لیکورایز تاثیر معنی داری بر آنزیم آلانین آمینوترانسفراز **ALT** نداشته است.



نمودار ۲. مقایسه معناداری میانگین آنزیم **ALT** در گروههای تجربی و کنترل
*: اختلاف معنی دار بین گروه کنترل سالم و گروه کنترل دیابتی

آزمون تحلیل واریانس دو طرفه آنزیم آلانین آمینوترانسفراز (**ALT**) بین گروهها اختلاف معنی دار را نشان داد. آزمون تعقیبی توکی نشان داد که بین گروه کنترل سالم با گروه کنترل دیابتی کاهش معنی داری وجود دارد ($p < 0.05$). بین سایر گروه های مکمل و تمرین اختلاف معنی داری مشاهده نشد ($p > 0.05$). به نظر می رسد ابتلا به دیابت افزایش معنی داری بر آنزیم آلکانین فسفاتاز **ALP** را نشان داده است. علاوه بر این هم انجام تمرینات شنا و هم مصرف عصاره لیکورایز و همچنین انجام تمرین شنا به همراه مصرف عصاره لیکورایز کاهش معنی داری بر آنزیم آلکانین فسفاتاز (**ALP**) نشان می دهد.



نمودار ۳. مقایسه معناداری میانگین آنزیم ALP در گروه‌های تجربی و کنترل

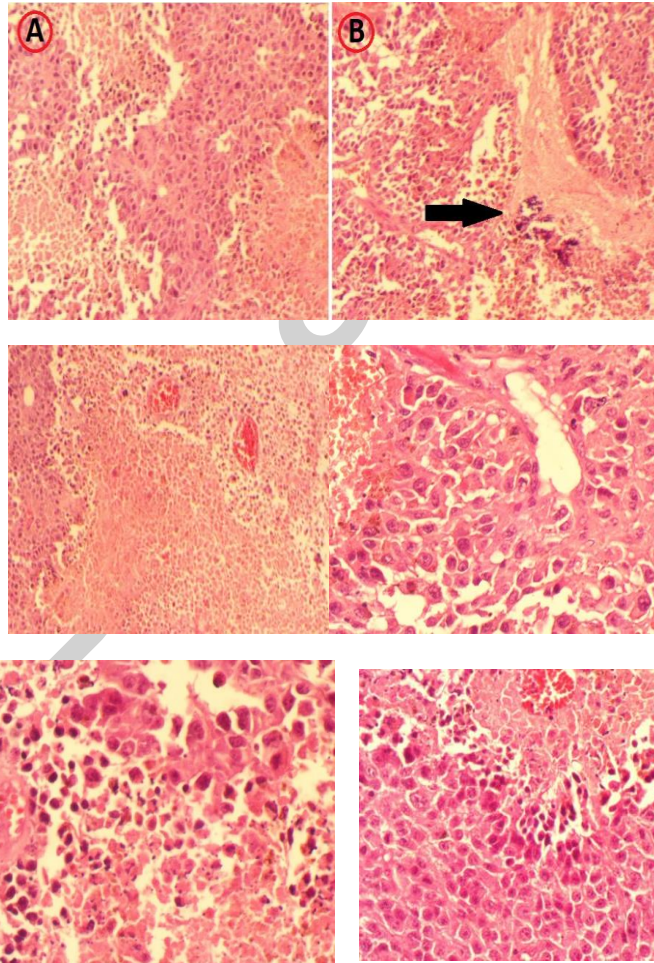
*: اختلاف معنی دار بین گروه کنترل سالم و سایر گروه های دیابتی/

: اختلاف معنی دار گروه کنترل دیابتی با گروه سالم و گروه های مکمل و تمرین

نتایج تغییرات هیستوپاتولوژیک بافت کبد نشان می دهد: سطح کلارک از IV تا V متغیر بود که نشان دهنده عمق تهاجم تومور است. زیرگروه هیستوپاتولوژیک ندولار و وجود فیبروز نشان دهنده آسیب مزمن کبد و فرآیندهای ترمیم در این موش های دیابتی است. درصد سطح فیبروز ۵-۳۵ درصد، با فیبروز بیشتر در موش های کنترل سالم، شنا دیابتی و لیکورایز بود. به طور قابل توجهی فیبروز بیشتری را نسبت به بقیه نشان دادند. این نشان دهنده تنوع در شدت بیماری کبد در بین موش ها است. نرخ میتوز بیش از (۲۰/۱۰) (میدان توان بالا) در همه موش ها بود که نشان دهنده تکثیر سلولی بالا است که به معنی افزایش تکثیر و بازسازی سلول های کبدی است که اغلب با آسیب مزمن کبدی اتفاق می افتد. مناطق نکروز با انفیلتراسیون نوتروفیل نشان دهنده مرگ و التهاب مداوم سلول های کبدی در این حیوانات است. این تایید می کند که آسیب کبدی به طور فعال رخ می دهد. فیبروز پسروده، تهاجم عروقی، میکروسلولهای ماهوارهای یا نوروتروپیسیم در هیچ یک از موش ها مشاهده نشد. فقدان فیبروز پسروده، تهاجم عروقی، متاستازها و تهاجم عصبی اطمینان بخش است که هیچ گونه عارضه اواخر مرحله بیماری مزمن کبدی وجود ندارد. این نشان می دهد که تغییرات کبدی هنوز در مرحله اولیه یا متوسط هستند. موش های گروه شنا+لیکورایز دیابتی به نسبت گروه های دیگر به میزان کمتری (به طور میانگین حدود ۵ تا ۱۰ درصد) دچار فیبروز شده اند. به نظر می رسد گروه های مکمل درصد کمتری از سطح فیبروز (۱۵-۲۰٪) را در مقایسه با موش های کنترل دیابتی (در ۳۰-۳۵٪) نشان دادند. بنابراین مصرف عصاره لیکورایز بر تغییرات هیستوپاتولوژیک رت های نر دیابتی شده اثرگذار است. همچنین گروه شنای دیابتی درصد سطح فیبروز متوسطی را در مقایسه با گروه کنترل و مکمل داشتند و تمرین منتخب شنا بر تغییرات هیستوپاتولوژیک رت های نر دیابتی شده اثرگذار بوده است. همچنین گروه شنا+لیکورایز دیابتی درصد سطح فیبروز کمتری را در مقایسه با سایر گروه ها داشت و یک دوره مصرف عصاره لیکورایز و تمرین منتخب شنا بر تغییرات هیستوپاتولوژیک رت های نر دیابتی شده موثر بوده است.

جدول ۱. نتایج تغییرات هیستوپاتولوژیک بافت کبد

Case Number	Histopathologic Subtype	Clark's Level	Fibrosis area (%)	Mitotic rate	Regressive fibrosis present	Tumor infiltrating lymphocytes	Vascular invasion	Microsatellites	Neurotropism
HC 1	Nodular Type	IV	About 8%	>20/10 HPF	Not seen	Not seen	Not seen	Not seen	Not seen
HC 2	Nodular Type	IV	About 4%	>20/10 HPF	Not seen	Not seen	Not seen	Not seen	Not seen
CD 1	Nodular Type	V	About 35%	>20/10 HPF	Not seen	Not seen	Not seen	Not seen	Not seen
CD 2	Nodular Type	V	About 30%	>20/10 HPF	Not seen	Not seen	Not seen	Not seen	Not seen
S 1	Nodular Type	IV	About 20%	>20/10 HPF	Not seen	Not seen	Not seen	Not seen	Not seen
S2	Nodular Type	V	About 30%	>20/10 HPF	Not seen	Not seen	Not seen	Not seen	Not seen
LY 1	Nodular Type	V	About 20%	>20/10 HPF	Not seen	Not seen	Not seen	Not seen	Not seen
LY 2	Nodular Type	IV	About 15%	>20/10 HPF	Not seen	Not seen	Not seen	Not seen	Not seen
S+LY 1	Nodular Type	V	About 10%	>20/10 HPF	Not seen	Not seen	Not seen	Not seen	Not seen
S+LY 2	Nodular Type	IV	About 5%	>20/10 HPF	Not seen	Not seen	Not seen	Not seen	Not seen



شکل ۱. تغییرات هیستوپاتولوژیک در کبد موش های صحرایی مدل دیابتی

A. کبدی که سلول های کبدی را طبیعی نشان می دهد/B. کبد که چندین نواحی کانونی نکروز سلولی کبد را با نوتروفیل ها (فلش) نشان می دهد (H&E (۴۰۰X) رنگ آمیزی H&E (هماتوکسیلین و ائوزین)

نتایج تحقیق نشان داد که تمرین و تمرین با عصاره لیکورایز موجب کاهش معناداری در آنزیم‌های **AST** و **ALP** شد، اما بر آنزیم‌های **ALT** اثر معنی داری مشاهده نشد. ورزش شنا با کاهش تجمع چربی و التهاب سلول های کبدی، افزایش اکسیداسیون چربی و کاهش مقاومت به انسولین باعث کاهش **AST** و استئاتوز کبدی شده است. یافته های مرینو و همکاران (۲۰۰۵) نیز این نتایج را تأیید کرده است. همچنین ورزش باعث بهبود بازسازی و رشد سلول های کبدی، ایجاد بیوژنز میتوکندری و چرخش در بافت کبد شده است [۱۶،۱۷] . عملکرد تقویت شده میتوکندری به سلول های کبد کمک می کند تا استرس و آسیب متابولیک را بهتر تحمل کنند در همین راستا به طور مستقیم غشاهای سلولی از طریق اثرات آنتی اکسیدانی تثبیت شده اند و آزادسازی **AST** سیتوزولی در خون کمتر می شود. به نظر می رسد که تمرین شنا باعث تحریک بازسازی بافت کبد از طریق میوکین های آزاد شده در طول ورزش شده باشد و تعدیل فاکتورهای رشد مانند **HGF** باعث بازسازی سلول های کبدی و کاهش فیبروز در پی دارد [۱۸] . اما لی و همکاران (۲۰۱۲) نتایج متفاوتی داشته اند و در تحقیق آنان تمرین مقاومتی باعث کاهش حساسیت به انسولین نشد و سطح سرمی آنزیم کبدی **AST** نیز در گروه ها بدون تغییر باقی ماند [۱۹] . اکبرپور و همکاران (۱۴۰۱) هم نشان دادند که تفاوت معناداری در میزان سرمی آنزیمهای **AST** و **ALT** پس از تمرین مقاومتی و تمرین تی آر ایکس وجود نداشت [۲۰] . اما تمرین هوازی سطوح پلاسمایی **ALP** را در تمرین هوازی نسبت به گروه کنترل به طور معنی داری کاهش داده است [۲۱] . همچنین تمرینات استقامتی و غیر استقامتی در زنان چاق، تأثیر کمی بر سطوح پلاسمایی آلکالین فسفاتاز داشته است [۲۲] . یوکان (۲۰۱۷) پس از بازی فوتبال نوجوانان افزایش سطح سرمی آلکالین فسفاتاز را مشاهده کرد. لذا تمرین توانسته بود سطوح سرمی **ALP** را تغییر دهد و بهبود بخشد ولی سطوح آنزیم آلانین آمینوترانسفراز (**ALT**) تغییر معناداری نداشت . دلیل احتمالی ناهماهنگی نتایج ممکن است به شدت و مدت تمرین مربوط باشد [۲۳] . یافته های برخی مطالعات در مورد آنزیم **AST** با نتایج تحقیق حاضر همسو و در رابطه با آنزیم **ALT** ناهمسو است [۲۴-۲۵] . گزارشات نشان می دهد تیمار خوراکی عصاره گیاه شیرین بیان به صورت معنی داری فعالیت **ALT** و **AST** را در سرم موش های دیابتی کاهش داد ولی در موش های سالم تغییر معناداری ایجاد نکرد [۷] . مقدم نیا و همکاران (۲۰۱۷) نیز با بررسی مقایسه اثرات حفاظتی مکمل امگا ۳ روغن ماهی و عصاره آبی ریشه شیرین بیان بر سطوح آنزیم های کبدی القا شده توسط تیواستامید در موش صحرایی نر اعلام کردند سطوح سرمی **AST** و **ALP** در تمام گروه های تجربی در مقایسه با گروه دریافت کننده تیواستامید تغییر معنی داری نداشته است [۲۶] . بررسی ۶۰ بیمار دیابتی، هم نشان داد، مصرف روزانه گلیسیریزین خوراکی به مدت ۳ ماه به طور قابل توجهی سطوح سرمی آلانین آمینوترانسفراز ، آسپارات آمینوترانسفراز و آلکالین فسفاتاز را در مقایسه با گروه شاهد پلاسیبو کاهش داد. در رابطه با آنزیم **AST** و **ALP** نتایج مشابه بود و در رابطه با آنزیم **ALT** نتایج متفاوت گزارش شد [۲۷] . تناقض در نتایج می تواند به نوع نمونه ها ی تحقیق ارتباط داشته باشد (نمونه های حیوانی در مقابل انسان). نوع پروتکل تمرینی نیز از دلایل اصلی اختلاف نتایج است. هم عدم اثربخشی تمرینات ورزشی بر آنزیم **ALT** را هم در برخی مطالعات دیگر مشاهده شده است [۲۰،۲۸،۲۹] . البته خواص ضد التهابی، آنتی اکسیدانی و تعدیل کننده ایمنی گلیسیریزین با کاهش استرس اکسیداتیو و تثبیت غشاهای کبدی، آزادسازی آنزیم های کبدی را ممکن است سرکوب کرده باشد [۳۰] . همچنین حساسیت به انسولین و کنترل قند خون را بهبود می بخشد، که به تسکین آسیب کبدی ناشی از سمیت گلوکوت در دیابت کمک کرده است [۲۷] . مکانیسم احتمالی دیگر مهار سیگنالینگ **NF-kB** توسط گلیسیریزین و سرکوب تنظیم مثبت مسیرهای آنتی اکسیدانی **۲Nrf** است که نشأت آنزیم ها و بازسازی را تسهیل کرده است [۳۰] . همچنین گلیسیریزین موجود در لیکورایز با فعال

کردن **AMPK**، اتوفاژی را تحریک می کند، که پاکسازی میتوکندری های ناکارآمد و پروتئین های ناسالم در سلول های کبدی تحت فشار را افزایش می دهد [۳۰] . گلیسیریزین حساسیت انسولین و کنترل گلیسمی را از طریق فعال سازی مسیر **PI3K/Akt** بهبود می بخشد و آسیب های ناشی از سمیت گلوکوتوکسیک را کاهش می دهد. گلیسیریزین همچنین ممکن است اثرات تثبیت کننده مستقیم غشاء را با ادغام در دو لایه لیپیدی داشته باشد [۲۷] . لیکورایز **AMPK** را فعال کرده است که اکسیداسیون اسیدهای چرب را بهبود و تجمع چربی کبد و مقاومت به انسولین را کاهش داده و فعالیت **PPAR-γ** و دفاع آنتی اکسیدانی در سلول های کبدی تعدیل و تنظیم شده است [۳۱] . تغییرات هیستوپاتولوژیک بافت کبد نشان داد، گروه های مکمل درصد کمتری از سطح فیروز (۱۵-۲۰٪) را در مقایسه با موش های کنترل دیابتی (در ۳۰-۳۵٪) نشان دادند. همچنین گروه شنای دیابتی درصد سطح فیروز متوسطی را در مقایسه با گروه کنترل و مکمل داشتند. قنبری نیاکی و همکاران (۲۰۱۹) تاثیر شنای استقامتی بر هیستوپاتولوژی کبد در موش های دیابتی را بررسی کردند و دریافتند شنا نفوذ سلول های التهابی، نکروز و ناهنجاری های ساختاری را در مقایسه با گروه کنترل دیابتی کم تحرک کاهش می دهد. همچنین کاهش رسوب کلاژن و فیروز و آسیب ساختاری کبد از دیگر آثار تمرین ورزشی است [۳۲] . کاهش فیروز کبدی پیشرفته و تجمع فیبر کلاژن از طریق اثرات ضد التهابی، آنتی اکسیدانی و متابولیک ایجاد شده است [۳۳] . تئومان و همکاران (۲۰۱۹) هم کاهش معنی داری استئاتوز (کبد چرب) را در مقایسه با گروه شاهد بی تحرک بر اساس رنگ آمیزی بافت کبد نشان دادند [۳۴] . شنا همچنین نفوذ سلول های التهابی را کاهش داد. محققان به این نتیجه رسیدند که ورزش منظم شنا می تواند از ابتلا به بیماری کبد چرب غیر الکلی مرتبط با دیابت محافظت کند و التهاب و استرس اکسیداتیو را بهبود می بخشد [۳۲] . بهبود هموستاز گلوکز و حساسیت به انسولین، کاهش سمیت گلوکوتوکسیسیته و لیپوتوکسیسیته، حفظ کنترل قند خون، کاهش تشکیل محصول نهایی گلیکوزیشن پیشرفته (**AGE**) هم گزارش شده است [۳۵] . تقویت اتوفاژی کبدی و تجزیه و بازیافت پروتئین ها و اندامک های آسیب دیده، کاهش آپوپتوز نیز مشاهده شده است [۳۶] . امیرشاهری و خلیلی (۲۰۲۱) هم گزارش داده اند لیکورایز رسوب کلاژن را کاهش و از پیشرفت فیروز کبدی جلوگیری می کند [۳۷] . البته شواهدی وجود دارد که لیکورایز از طریق تنظیم مسیره های فاکتور رشد مانند **HGF/c-Met**، تکثیر سلول های کبد و بازسازی بافت را به دنبال آسیب افزایش می دهد [۳۸] .

نتیجه گیری

این مطالعه شواهدی را ارائه می کند که نشان می دهد ورزش شنا و مکمل عصاره لیکورایز، هم به صورت جداگانه و هم با هم ، می تواند پارامترهای کبدی و آسیب شناسی مرتبط با دیابت را در موش ها بهبود بخشد. مکانیسم ها احتمالاً شامل اقدامات آنتی اکسیدانی، ضد التهابی و متابولیک هستند. توصیه می شود افراد مبتلا به دیابت با رعایت موارد پزشکی به انجام تمرینات و مصرف عصاره لیکورایز با دوز مناسب بپردازند. تحقیقات بیشتر برای ایجاد پروتکل های بهینه برای ورزش و لیکورایز برای محافظت در برابر توسعه و پیشرفت بیماری کبدی دیابتی در محیط های بالینی ضروری است.

تعارض منافع

در این پژوهش هیچگونه تضاد منافی برای نویسندگان وجود ندارد.

1. Sarlak Z, Eidi A, Ghorbanzadeh, et al. The effect of sodium butyrate and aerobic exercise with treadmill, alone or in combination, on body weight and weight and glycemic parameters in diabetic rats with high-fat streptozotocin diet. *Studies in Medical Sciences* 2023; 34(6):338-352. URL: <http://umj.umsu.ac.ir/article-1-5941-fa.html>.
2. Moslemi S, Parsai Mehr M, Ahmadi H, et al. The effect of probiotic *Lactobacillus plant arum* Ktbs2 strain on total serum oxidant and antioxidant capacity, oxidative stress index and some biochemical parameters in diabetic rats. *Iranian Veterinary Journal (Shahid Chamran University of Ahvaz)* 2019; 16(3): 105-94. SID. <https://sid.ir/paper/383774/fa>.
3. Kazemi Nasab F, Shujaei M, Khalafi M. The effect of exercise training on liver enzymes and liver fat content in adults with non-alcoholic fatty liver disease: a systematic review and meta-analysis. *Iranian Journal of Diabetes and Metabolism (Iranian Journal of Diabetes and Lipid)* ۲۰۲۲; 22(6): 342-360. SID. <https://sid.ir/paper/1081143/fa>.
4. Bagheri L, Faramarzi M, Hemati farsani Z, et al. Comparison of the Effect of a Course of Resistance and Endurance Training with Ursolic Acid Consumption on the Levels of Fetoin-A and B in the Liver Tissue of Elderly Male Diabetic Rats. *ijdlld* 2024;23(6): 398-408.URL: <http://ijdlld.tums.ac.ir/article-1-6275-fa.html>.
5. Kalvandi R, Rajabi M, Kahramfar Z, et al. Investigation of the Effect of Artichoke (*Cynara Scolymus L.*) on Characteristics of the Fatty Liver. *cmja* 2020;10(2): 134-147.URL: <http://cmja.arakmu.ac.ir/article-1-654-fa.html>.
6. Rezaian Garagozlou N, Sadat Shandiz SA, Baghbani Arani F. Anticancer effects of aqueous and alcoholic extracts of licorice root on liver cancer cell line (HepG2). *Medical Journal of Tabriz University of Medical Sciences and Healthcare Services* 2016; 40(2):40-49.
7. Sharifi Soltani M, Eidi A, Haeri Rouhani SA. Anti-Inflammatory Effect of *Glycyrrhiza glabra* Ethanolic Extract in Adult Male NMRI Mice. *Animal Physiology and Development Quarterly Serial* 2016; 42 (11):97, 15-25.
8. Rezaei S, Taghilou A, Aftabi H, et al. Investigating the effect of St. John's wort and borage plants and their combination on non-alcoholic fatty liver of rats. *Research in medicine* 2022; 46(2):57-67. <https://sid.ir/paper/1009246/fa>.
9. Salehi M, Shahanipour K, Monajemi R, et al. Comparative effects of ginseng extract and green tea with pomeol bruler on C-reactive protein and liver enzymes of rats fed a high-fat diet. *J Gorgan Univ Med Sci* 2022; 24 (2): 19-23.URL: <http://goums.ac.ir/journal/article-1-4026>.
10. Aliari N, Vahdatpour T, Karimi Benari A. The effects of swimming training on inflammatory factors and oxidative stress of kidneys in female diabetic and ovariectomized rats. *Applied Sports Physiology Research Journal* 2019; 16(31): 89-103.doi:10.22080/ jaep.2020.18101. 1928.
11. Mohammadi J, Ebadi Ghahremani M, Nameni F. Investigation of the effects of a period of exercise and licorice extract supplementation on ERK of the heart of diabetic male rats.1402.

Second International Conference on Sports Sciences, Physical Education and Strategic Management in Sports. Number of pages: 6.

12. Yoshino T, Shimada S, Homma M, Makino T, Mimura M and Watanabe K. Clinical Risk Factors of Licorice-Induced Pseudo aldosteronism Based on Glycyrrhizin-Metabolite Concentrations: A Narrative Review. *Front.Nutr.*8:719197. Doi: 10.3389/fnut. 2021; 719197.
13. Huo HZ, Wang B, Liang YK, Bao YY, Gu Y. Hepatoprotective and Antioxidant Effects of Licorice Extract against CCl4-Induced Oxidative Damage in Rats. *International Journal of Molecular Sciences.* 2011; 12(10):6529-6543. <https://doi.org/10.3390/ijms12106529>.
14. Popoviciu MS, Paduraru L, Nutas RM, et al. Diabetes Mellitus Secondary to Endocrine Diseases: An Update of Diagnostic and Treatment Particularities. *Int J Mol Sci.* 2023; 24(16): 12676.doi:10. 3390/ ijms241612676. PMID: 37628857; PMCID: PMC10454882.
15. Asi Shirazi I, Hosseini Seyed A, Ki Khosravi F. Interactive hypoglycemic effects of aqueous saffron extract and swimming exercise in streptozotocin-treated diabetic rats. *Sabzevar University of Medical Sciences.*2016; 24(4):273-279.Available from: <https://sid.ir/paper/2433/fa>.
16. Merino DG, Drogou C, Chennaoui M, et al. Effects of combined stress during intense training on cellular immunity, hormones and respiratory infections. *Neuroimmunomodulation* 2005; 12(3); 164-172. <https://doi.org/10.1159/000084851>.
17. Banfi G, Colombini A, Lombardi G, et al. Metabolic markers in sports medicine. *Advances in Clinical Chemistry* 2012; (56):1-54. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-394317-0.00001-1>
18. Oliveira C A M, Paiva MQ, Mota CAA, et al. Aerobic exercise training and pharmacological therapies for skeletal myopathy in rats with diabetic neuropathy. *Experimental Diabetes Research* 2013;<https://doi.org/10.1155/2013/653415>.
19. Lee S, Bacha F, Hannon T, et al. Effects of aerobic versus resistance exercise without caloric restriction on abdominal fat, intrahepatic lipid, and insulin sensitivity in obese adolescent boys: a randomized, controlled trial. *Diabetes* 2012; 61(11):2787-95.
20. Akbarpour M, Aghajani Z. Comparison of the effect of TRX and traditional resistance training on serum levels of some liver enzymes in inactive women. *Journal of Sport and Exercise Physiology* 2022; 15(2):20-8.
21. Tartibian B, Motabsaee N, Tolouei-Azar J. The influence of nine-week intensive aerobic exercises, calcium and vitamin D supplementation on the metabolic response of bone formation biomarkers. *Zahedan Journal of Research in Medical Sciences* 2013; 15(2).
22. Skrypnik D, Ratajczak M, Karolkiewicz J, et al. Effects of endurance and endurance–strength exercise on biochemical parameters of liver function in women with abdominal obesity. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 2016; 80: 1-7.
23. Ekun OA, Emiabata AF, Abiodun OC, et al. Effects of football sporting activity on renal and liver functions among young undergraduate students of a Nigerian tertiary institution. *BMJ open sport & exercise medicine* 2017; 3(1): e000223.

24. Hajiaghamohammadi AA, Ziaee A, Samimi R. The efficacy of licorice root extract in decreasing transaminase activities in non-alcoholic fatty liver disease: A randomized controlled clinical trial. *Phytotherapy research* 2012; 26(9):1381-4.
25. Rostamizadeh P, Mazloom Z. The effect of licorice and probiotics on nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD): A systematic review. *International Journal of Nutrition Sciences* 2019; 4(4):163-9.
26. Moghadamnia D, moghadamnia D, Mokhtari M, et al. Protective effects of fish oil omega3 supplements and aqueous extract of *Glycyrrhiza glabra* root against changes of liver enzymes levels induced by thioacetamide in male rats. *Medical science* 2017; 27(3):171-177.
27. Fu M, Liu W, Liu J, et al. Glycyrrhizin ameliorates insulin resistance and hyperandrogenism in a rat model of polycystic ovary syndrome. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 2018;107: 792-797. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.08.096>.
28. Jowhari A, Daryanoosh F, Koushkie Jahromi M, et al. Effect of High-intensity Intermittent Swimming Training on peroxisome proliferator-activated receptors- α and Liver Enzymes in Non-alcoholic Steatohepatitis Male Rats. *JSSU* 2023; 30 (10) :6034-6051
29. Batatinha HA, Lima EA, Teixeira AA, et al. Association between aerobic exercise and rosiglitazone avoided the NAFLD and liver inflammation exacerbated in PPAR- α knockout mice. *Journal of cellular physiology* 2017; 232(5):1008-19.
30. Wang J, Qiao X, Li R, et al. Glycyrrhizic acid pretreatment prevents sepsis-induced liver injury by enhancing autophagy. *Bioscience Reports* 2018; 38(6).<https://doi.org/10.1042/BSR20181720>.
31. Honda M, Orii M, Kobayashi M, et al. Glabridin, an isoflavan from licorice root, improves insulin resistance and inflammation in obesity and nonalcoholic fatty liver disease. *IUBMB Life* 2017; 69(4):263-270. <https://doi.org/10.1002/iub.1629>.
32. Ghanbari-Niaki A, Rahmati-Ahmadabadi M, Hedayati M. Swim training ameliorates liver damage associated with type 2 diabetes mellitus in rats. *Biochemistry and Cell Biology* 2019; 97(1):95–99. <https://doi.org/10.1139/bcb-2018-0056>.
33. Mucha P, Skoczynska A, Małeczka M, et al. Overview of the Antioxidant and Anti-Inflammatory Activities of Selected Plant Compounds and Their Metal Ions Complexes. *Molecules* 2021 Aug 12; 26(16):4886. doi: 10.3390/molecules26164886. PMID: 34443474; PMCID: PMC8398118.
34. Teoman N, Özdemir A, Taşdemir E. The effect of exercise on fatty liver in diabetic obese rats: Biochemical and histopathological evaluation. *The Journal of Sports Medicine and Physical Fitness* 2019; 59(12), 2077–2084. <https://doi.org/10.23736/S0022-4707.19.09437-6>.
35. Pereira SS, Alves GP, Pereira RS, et al. Aerobic exercise protects the liver from fibrosis in mice fed a high-fat diet. *Lipids in Health and Disease* 2015; 14:90.<https://doi.org/10.1186/s12944-015-0088-0>.
36. Ding WX, Zhang W, Li M, et al. Autophagy reduces acute ethanol-induced hepatotoxicity and steatosis in mice. *Gastroenterology* 2010; 139(5):1740–1752.<https://doi.org/10.1053/j.gastro.2010.07.041>.

37. Amirshahrokhi K, Khalili AR. Glycyrrhiza glabra extract ameliorates liver injury in diabetic rats through suppression of inflammation and oxidative stress. *Pharmaceutical Sciences* 2021; 27(2), 104-110. <https://doi.org/10.34172/PS.2021.17>
38. Wang G, Wang J, Xie H, et al. Glycyrrhizin protects against concanavalin A-induced liver injury through a hepatoprotective and immunomodulatory dual effect. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 2020; 128:110342. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2020.110342>.

پژوهش‌های
پایدارانه

The role of licorice and a period of exercise training on histopathological changes and liver enzymes in type 2 diabetic model rats

Farah Nameni^{*1}, Mahsa Aasgari²

1. Associate Professor, Department of Exercise Physiology, Faculty of Basic Sciences, Varamin Pishva Branch, Islamic Azad University, Varamin, Iran
2. Master's degree, Department of Exercise Physiology, Faculty of Humanities, Islamic Azad University, Science and Research Branch, Tehran, Iran.

* Corresponding author: Farah Namani, Associate Professor, Department of Exercise Physiology, Faculty of Basic Sciences, Varamin Pishva Branch, Islamic Azad University, Varamin, Iran.
email: f.nameni@yahoo.co.uk
Contact number: 09125354053

Introduction: Diabetes is a complex metabolic disorder characterized by increased blood sugar (hyperglycemia). This increase results from a defect in insulin secretion, resistance to its function, or a combination of both. In type 2 diabetes, blood sugar regulation is disrupted due to decreased cell sensitivity to insulin or reduced secretion from pancreatic beta cells. This disease is a major cause of complications such as liver damage. The purpose of this study was to investigate the effects of licorice plant extract and swimming exercises on histopathological changes and liver enzymes in rats with type 2 diabetes. **Materials and Methods:** This experimental study was conducted on 55 male Wistar rats, 8 weeks old, with an approximate weight of 200 ± 30 grams. Diabetes was induced by injecting streptozotocin (STZ) at a dose of 55 mg/kg. The animals were randomly divided into five groups: diabetic control, swimming exercise, licorice extract, combined group (swimming exercise + licorice extract), and healthy control. The exercise program included swimming for 8 weeks. Two groups of diabetic rats received licorice extract orally, and two groups participated in the exercise program. After the research period, liver samples were collected for histopathological examinations and measurement of liver enzymes AST, ALT, and ALP. Descriptive statistics used mean and standard deviation, and mean comparisons were analyzed using two-way ANOVA. The Bonferroni post-hoc test was used to determine differences between groups. **Results:** The results showed that swimming exercise, licorice extract consumption, and their combination significantly reduced the levels of AST and ALP enzymes ($P < 0.05$). However, no significant effect was observed on ALT enzyme levels.

Additionally, groups receiving licorice supplements and swimming exercises showed a notable reduction in liver fibrosis compared to the diabetic control group. **Discussion and Conclusion:** This research provides evidence that both independently and in combination, swimming exercise and licorice extract consumption can help improve liver parameters and reduce diabetes-related damage. These findings suggest that physical activity and herbal interventions like licorice consumption can be considered complementary strategies in diabetes management and its complications, particularly in improving liver function.

Keywords: swimming exercise, licorice extract, liver enzymes, histopathological changes