

Effect of Moderate Endurance Training and Consumption of Rosa Canina L. Extract on Liver Enzyme Profile in Male Rats

Soroosh Ali Asghari Gelodar¹,
Abbass Ghanbari-Niaki²,
Khadijeh Nasiri³

¹ MSc Student in Exercise Biochemistry, Faculty of Sport Sciences, University of Mazandaran, Babolsar, Iran

² Professor, Department of Exercise Biochemistry, Faculty of Sport Sciences, University of Mazandaran, Babolsar, Iran

³ Assistant Professor, Department of Exercise Physiology, Faculty of Sport Sciences, University of Mazandaran, Babolsar, Iran

(Received July 22, 2020 ; Accepted September 22, 2020)

Abstract

Background and purpose: Inactivity due to the mechanization of work is a growing health concern in many countries. It increases the risk of many diseases such as fatty liver, obesity and diabetes. There are evidences on the effect of exercise on levels of liver enzymatic parameters. Herbal products appear to be useful in managing some diseases, such as fatty liver.

Materials and methods: This experimental study investigated the response of liver enzyme indices, including aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), alkaline phosphatase (ALP), gamma glutamyl transpeptidase (GGT), and lipid profile (total triglyceride and total cholesterol) in rat liver after eight weeks of endurance training and consumption of *Rosa canina L.* extract. Thirty-six rats were randomly divided into four groups: control-saline, training-saline, control-*Rosa canina L.* and *Rosa canina L.*+training. Liver enzyme levels, triglycerides and total cholesterol levels were measured.

Results: ANOVA test showed that AST and ALT levels decreased significantly in training-saline (P=0.024 and P=0.002, respectively) and control-*Rosa canina L.* (P=0.004 and P=0.001, respectively) groups compared to control-saline group. The interaction effect of training and *Rosa canina L.* caused a significant decrease in AST and ALT levels compared to other groups (P=0.001). ALP levels reduced in training-saline (P=0.008), control-*Rosa canina L.* (P=0.002), and *Rosa canina L.*+ training (P=0.001) compared with control-saline. Analysis of GGT showed no significant difference between the groups (P=0.172). Endurance training and the extract of *Rosa canina L.* improved the levels of triglycerides and total cholesterol.

Conclusion: Endurance training in combination with *Rosa canina L.* extract can have a significant effect on reducing liver enzyme indicators, triglycerides, and total cholesterol.

Keywords: endurance training, *Rosa canina-L.*, liver enzymes, triglyceride, total cholesterol

J Mazandaran Univ Med Sci 2020; 30 (190): 11-23 (Persian).

* Corresponding Author: Abbass Ghanbari-Niaki - Faculty of Sport Sciences, University of Mazandaran, Babolsar, Iran
(E-mail: ghanbara@umz.ac.ir)

اثر تمرین استقامتی با شدت متوسط و مصرف عصاره گل نسترن بر شاخص های آنزیمی کبد موش های صحرایی نر

سروش علی اصغری جلودار¹

عباس قنبری نیاکی²

خدیدجه نصیری³

چکیده

سابقه و هدف: امروزه به علت ماشینی شدن کارها، افزایش بی تحرکی از مشکلات در حال گسترش در جوامع مختلف است که خطر بروز بیماری هایی مانند کبد چرب، چاقی و دیابت را در افراد افزایش می دهد. مطالعات تأثیر تمرینات ورزشی را بر سطوح شاخص های آنزیمی کبد گزارش کرده اند. به نظر می رسد محصولات گیاهی در مدیریت انواع بیماری ها نظیر کبد چرب مفید باشند.

مواد و روش ها: پژوهش تجربی با نمونه حیوانی و گروه بندی تصادفی حاضر به بررسی پاسخ شاخص های آنزیمی آسپارات آمینو ترانسفراز (AST)، آلانین آمینو ترانسفراز (ALT)، آلکالین فسفاتاز (ALP) و گاما گلو تامیل ترانس پپتیداز (GGT) و نیم رخ لیپید (تری گلیسرید و کلسترول تام) کبد موش های صحرایی پیرو 8 هفته تمرین استقامتی و مصرف عصاره گل نسترن پرداخته است. تعداد 36 سر موش به چهار گروه: کنترل -سالمین، تمرین -سالمین، کنترل -نسترن و تمرین -نسترن تقسیم شدند. در پایان دوره سطوح آنزیم های کبدی، تری گلیسرید و کلسترول اندازه گیری شد.

یافته ها: تحلیل سطوح آنزیم های AST و ALT با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه نشان داد که سطوح این دو آنزیم در گروه های تمرین -سالمین ($P=0/024$) ($P=0/002$) و کنترل -نسترن ($P=0/004$) ($P=0/001$) نسبت به کنترل -سالمین کاهش یافته بود. اثر تعاملی تمرین و عصاره نسترن توانست کاهش معنی داری را در آنزیم های AST و ALT نسبت به تمامی گروه ها ایجاد کند ($P=0/001$). سطوح ALP در گروه های تمرین -سالمین ($P=0/008$)، کنترل -نسترن ($P=0/002$) و تمرین -نسترن ($P=0/001$) نسبت به گروه کنترل -سالمین کاهش یافت. تحلیل سطوح GGT عدم اختلاف معنی دار را بین گروه ها نشان داد ($P=0/172$). تمرین استقامتی و عصاره گل نسترن موجب بهبود مقادیر تری گلیسرید و کلسترول تام کبدی شدند.

استنتاج: اجرای تمرین استقامتی همراه با مصرف عصاره گل نسترن می تواند تأثیر بسزایی بر کاهش شاخص های آنزیمی، تری گلیسرید و کلسترول تام کبدی داشته باشد.

واژه های کلیدی: تمرین استقامتی، گل نسترن، آنزیم های کبدی، تری گلیسرید، کلسترول تام

مقدمه

امروزه به علت ماشینی شدن کارها، افزایش بی تحرکی از مشکلات در حال گسترش در جوامع مختلف است که به طور پنهان، خطر بروز بیماری هایی مانند کبد چرب، چاقی و دیابت را در افراد افزایش می دهد (1). چاقی

امروزه به علت ماشینی شدن کارها، افزایش بی تحرکی از مشکلات در حال گسترش در جوامع مختلف است که به طور پنهان، خطر بروز بیماری هایی مانند کبد چرب، چاقی و دیابت را در افراد افزایش می دهد (1). چاقی

E-mail: ghanbara@umz.ac.ir

مؤلف مسئول: عباس قنبری نیاکی - بابلسر: دانشگاه مازندران، دانشکده علوم ورزشی

1. دانشجوی کارشناسی ارشد بیوشیمی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران

2. استاد، گروه بیوشیمی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران

3. استادیار، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران

تاریخ دریافت: 1399/5/1 تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: 1399/5/4 تاریخ تصویب: 1399/7/1

موجب شده که تمایل به درمان‌های جایگزین و سنتی همراه با فعالیت بدنی افزایش یابد. مصرف گیاهان دارویی و میوه‌جات از طریق تولید متابولیت‌های ثانویه مانند پروتئین، آلکالوئید، استروئیدها و ترکیبات فنلی علاوه بر کاهش هزینه‌های درمان، در بسیاری از جوامع نتایج رضایت‌بخشی داشته است (9). فعالیت بدنی، به عنوان نقطه اتصال لیپوژنز و بتا اکسیداسیون در کبد، از اصلی‌ترین مصادیق تغییر سبک زندگی به‌شمار می‌رود. ورزش همزمان با بتا اکسایش و کاهش لیپوژنز، یکی از تنظیم‌کننده‌های اصلی متابولیسم کبد محسوب می‌شود و با کاهش تنظیمی برخی از پروتئین‌های مرتبط با لیپازهای کبدی موجب کاهش ذخایر تری‌گلیسرید و افزایش بتا اکسیداسیون به صورت مستقل از تغییر بیان ژن‌های کبدی می‌شود (10). غالب پروتکل‌های تمرینی که برای افزایش لیپولیز طراحی شده‌اند شامل پیاده‌روی و نرم دوی بوده است که به تمرین در حالت پایدار یا تمرین استقامتی با شدت کم شهرت دارد. این گونه تمرین‌ها با افزایش بتا اکسیداسیون و کاهش وزن چربی و همچنین افزایش حساسیت انسولینی باعث ایجاد آبخاری از رویدادهای تنظیمی موثر در کاهش ذخایر چربی کبدی می‌شوند (11). ورزش هوازی باعث بهبود آنزیم‌ها و متابولیسم لیپیدهای کبدی می‌شود که کاهش میزان آلانین آمینو ترانسفراز و تجمع چربی‌های کبدی را در پی دارد و بر لیپوپروتئین با چگالی کم اثر می‌گذارد، که این اثرات در تمرینات استقامتی بیش‌تر از تمرینات مقاومتی گزارش شده است (12).

برخی از پژوهش‌های پیشین استفاده از محصولات گیاهی مانند زرشک سیاه که در تمامی قسمت‌های این گیاه آلکالوئیدهای بربرین، اکسیاکانتین و برامین وجود دارد را در درمان کبد چرب مفید گزارش کرده‌اند (12). همچنین به منظور پیشگیری و درمان کبد چرب از مکمل‌های گیاهی مانند دارچین به علت خاصیت آنتی-اکسیدانی ترکیبات فنولیک آن (13)، گیاه عناب به علت خواص آنتی‌اکسیدانی ترکیبات فلاونوئیدی و پرتوگلیکان

و کبد چرب عامل خطری برای بروز دیابت و بیماری قلبی عروقی گزارش شده‌اند (2). سلول‌های کبدی به عنوان سلول‌های پیچیده متابولیکی حاوی مقادیر بالایی از آنزیم‌ها می‌باشند. افزایش سطوح آنزیم‌های سیتوپلاسمی آسپارات آمینو ترانسفراز (AST) و آلانین آمینو ترانسفراز (ALT) نشانگرهای اصلی آسیب کبدی می‌باشند (3). آلکالین فسفاتازها (ALP) به عنوان ایزوآنزیم‌هایی شناخته می‌شوند که هیدرولیز استرهای فسفات را در غلظت کم پیش ماده به خصوص در PH قلیایی کاتالیز می‌کنند و از کبد، استخوان، روده، طحال، کلیه و جفت در غلظت‌های کم ترشح می‌شوند. افزایش سطوح ALP یک ریسک فاکتور غیر وابسته بیماری کبد چرب و پیشگو کننده سندروم متابولیک شناخته شده است. گاما گلو تامیل ترانسفراز (GGT) نیز از دیگر آنزیم‌هایی می‌باشند که معمولاً در مبتلایان به بیماری کبد چرب افزایش می‌یابد؛ این آنزیم همراه با ALT پیش‌بینی کننده دیابت نیز می‌باشد (4). افزایش سطوح آنزیم‌های کبدی با بیماری کبد چرب ارتباط دارد (2). بیماری کبد چرب غیر الکلی (Non-Alcoholic Fatty Liver) یکی از شایع‌ترین بیماری‌های مزمن کبدی در جهان (5) و یکی از علل اصلی مراجعه به کلینیک‌های هیپاتولوژی در بزرگسالان محسوب می‌شود (6). بیماران مبتلا به کبد چرب غیر الکلی در معرض خطر ابتلا به چندین بیماری از جمله بیماری قلبی عروقی قرار دارند (7). بنابراین نظارت بر این بیماری برای جلوگیری از پیشرفت آن از اهمیت بالایی برخوردار است. با ترکیب کاهش وزن ایجاد شده به وسیله یک رژیم غذایی کم کالری و افزایش فعالیت فیزیکی، سطوح آنزیم‌های کبدی در بیماران مبتلا به کبد چرب غیر الکلی به میزان زیادی به حالت طبیعی بر می‌گردد (8).

در سال‌های اخیر توجه محققین بخاطر عواملی مانند عدم رضایت بیماران در مصرف داروهای شیمیایی، بروز عوارض جانبی ناشی از مصرف طولانی مدت و بیش از حد این داروها و همچنین هزینه‌های تحمیلی بر بیماران

آن(14)، گیاه کنگرفرنگی به علت اینولین موجود در آن (باعث کاهش سطوح لیپیدها و کلسترول می شود)(14)، گیاه کاسنی (با محافظت از کبد در مقابل کربن تتراکلرید و گالاکتوزامین می تواند از آسیب حاد کبدی جلوگیری نماید)(14) و کورکومین که ماده موثر زردچوبه است (عملکرد کبد را به وسیله کاهش تولید سوپراکساید و سرکوب واسطه های پیش التهابی و فعال نمودن راه های سیگنالینگ ضدالتهابی)(15) استفاده شده است.

نسترن کوهی یا *Rosa Canina L (Dog Rose)* گیاه دارویی ارزشمندی از تیره رزاسه است و به طور گسترده ای در اروپا، آسیا، خاورمیانه و آمریکای شمالی پخش شده است. میوه های نسترن کوهی از نظر عناصر معدنی، ویتامین ها، قندها، ترکیبات فنولی، کاروتنوئیدها، توکوفرول ها، فلاونوئیدهای زیستی، تانن ها، اسیدهای آلی، روغن های فرار و پکتین غنی می باشند. اثرات ضد اکسایشی و ضد میکروبی آن نیز قابل توجه می باشد. از میوه نسترن کوهی در بسیاری از دارو نامه ها به عنوان دارو یاد شده است. میوه آن برای درمان اختلالات آرتروز، روماتیسم، نقرس، سیاتیک، سرماخوردگی و بیماری های عفونی از جمله آنفلوآنزا، پیشگیری از التهاب مخاط معده و زخم معده مناسب است. مطابق تعریف سازمان غذایی، نسترن کوهی می تواند به عنوان یک ترکیب غذایی فراسودمند به حساب آید. همچنین دانه های نسترن کوهی حاوی اسیدهای چرب غیر اشباع مفید می باشد(16). با توجه به نقش مهم چاقی در پاتوفیزیولوژی کبد چرب غیر الکلی و نبود درمان دارویی موثر برای کاهش چربی کبدی، مداخلات سبک زندگی هدفمند شامل تمرین ورزشی منظم و اصلاح رژیم غذایی به عنوان نخستین خط درمانی در این بیماری توصیه شده است(17). نشان داده شده که تمرینات ورزشی اثر ضدالتهابی دارند(18) و باعث بهبود متابولیسم چربی ها، افزایش ویژگی ضدالتهابی و کاهش میزان عوامل خطر قلبی - عروقی می شوند(19). از طرفی براساس مطالعات انجام شده گل نسترن یک آنتی اکسیدان

قوی است و دارای مقدار قابل ملاحظه ای از ویتامین C می باشد(20). نظر به این که، عصاره گل نسترن به همراه انجام تمرین استقامتی که بر دستگاه هوایی تکیه دارد احتمالاً می تواند به عنوان یک مکمل طبیعی اثر تمرین را مضاعف و بر سطوح منتخب آنزیم های کبدی تأثیر گذار باشد؛ پژوهش حاضر قصد دارد تا اثر یک دوره فعالیت ورزشی و مصرف عصاره گل نسترن کوهی را بر سطوح آنزیم های کبدی (AST، ALT، ALP، و GGT) و شاخص های بیوشیمیایی شامل تری گلیسرید و کلسترول تام در بافت کبد موش های صحرایی مورد بررسی قرار دهد.

مواد و روش ها

حیوانات

در پژوهش تجربی با گروه بندی تصادفی حاضر 36 سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با میانگین وزنی 167 ± 6 گرم از شرکت چاووش تدبیر زاگرس تهران، خریداری شد. حیوانات پس از انتقال به آزمایشگاه جانوری دانشگاه مازندران، در محیطی با دمای 22 ± 1 درجه سلسیوس، رطوبت 45 تا 55 درصد و چرخه تاریکی - روشنایی 12:12 ساعت نگهداری شدند. آزمودنی ها پس از یک هفته آشنایی با محیط نگهداری جدید و نحوه فعالیت روی نوارگردان به طور تصادفی به 4 گروه کنترل - سالی، تمرین - سالی، کنترل - نسترن، تمرین - نسترن تقسیم شدند. گروه های غیر از سالی از رژیم غذایی مخصوص خود (عصاره گل نسترن) نیز گاوژ می شدند. در طی دوره پژوهش حیوانات دسترسی آزاد به مصرف آب و غذای مخصوص موش (ساخت شرکت بهرور - ایران) داشتند. پژوهش حاضر با توجه به اصول راهنمای اخلاقی برای مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی (IACUC: Institutional Animal Care and Use Committee) انجام شد. تمام آزمایش ها توسط کمیته اخلاق در دانشگاه علوم پزشکی مازندران (با کد اخلاق IR.MAZUMS.REC.1398.1244) مورد تأیید قرار گرفت. گونه خاص حیوانی برای آزمایش

مناسب با مطالعه انتخاب شد. حداقل حیوان مورد نیاز برای صحت آماری و حقیقی پژوهش استفاده شد. استفاده شایسته از حیوانات از جمله اجتناب یا کاهش فشار، استرس، رنج و درد وارده به حیوان اعمال شد.

روش تهیه و مصرف عصاره گل نسترن کوهی

جام‌های گل نسترن رسیده پس از اینکه از بوته‌های گل نسترن واقع در ارتفاعات رشته کوه‌های البرز منطقه لاریجان، بیلاق نوسر، شهرستان آمل جمع‌آوری شده بودند، در دمای طبیعی اتاق دور از نور خورشید خشک شدند. پس از جداسازی پوسته و گوشت از هسته به وسیله دستگاه آسیاب خانگی مدل مولینکس فرانسه پودر شد. در ادامه 25 گرم از پودر گل نسترن در 200 میلی‌لیتر آب مقطر با دمای 60 درجه سانتی‌گراد مخلوط شد و با همین درجه حرارت به مدت 24 ساعت بر روی دستگاه هیتر در دمای 60 درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. بعد از 24 ساعت عصاره از تفاله ته‌نشین شده توسط صافی جدا شد. عصاره در یخچال نگهداری و تفاله به‌دست آمده مجدداً با 200 میلی‌لیتر آب مقطر با دمای 60 درجه سانتی‌گراد مخلوط شد و بر روی هیتر در دمای 60 درجه سانتی‌گراد به مدت 24 ساعت دیگر نگهداری شد. سپس توسط صافی تفاله و عصاره از هم جدا شدند. به ترتیب مجموع دو عصاره (400 میلی‌لیتر) با هم توسط هیتر مگنت مخلوط و تغلیظ شد. در مجموع 15 گرم ماده جامد به‌دست آمد و به ازای هر 100 گرم وزن، 350 میلی‌گرم (معادل 1/75 میلی‌لیتر) از ترکیب حاصل به گروه‌های کنترل-نسترن و تمرین-نسترن از طریق گاوآژ (گیج 16، استیل، ساخت شرکت Kent Scientific، امریکا) خوراندند. گروه‌های کنترل-سالمین و تمرین-سالمین نیز از طریق گاوآژ و به همین مقدار سالمین را مصرف نمودند (21).

اندازه‌گیری ترکیبات گل نسترن کوهی با استفاده از دستگاه GC-MS

در این روش از پودر خشک گل نسترن کوهی استفاده شد. بدین صورت که مقدار مشخصی از پودر

نسترن و مقادیر معینی از متانول و اتانول در حالت‌های مجزا، در دستگاه سوکسله قرار داده شده و استخراج ماده مورد نظر در زمان تعیین شده، انجام شد. سپس ماده حاصل با استفاده از دستگاه روتاری حلال پرانی شده و اجزای شیمیایی نسترن کوهی با استفاده از دستگاه (Gas chromatography-mass spectrometry) GC-MS در دانشکده شیمی دانشگاه مازندران تعیین و شناسایی گردید (21).

پروتکل تمرینی

آزمودنی‌های گروه تمرین به مدت 8 هفته، 5 روز متوالی در هفته و هر روز یک جلسه به مدت 90 دقیقه با شدت 25 متر بر دقیقه که تقریباً معادل با 65 درصد حداکثر اکسیژن مصرفی (vo2max) است (22) به تمرین پرداختند. آزمودنی‌های گروه کنترل نیز به مدت 8 هفته، هفته‌ای 2 جلسه به مدت 10 دقیقه با شدت 10 متر بر دقیقه بر روی نوارگردان دویندند (22). به‌طور کلی، فرایند تمرین از 3 مرحله تشکیل شده بود. مرحله اول: آشنایی یا خوگیری با شرایط آزمایشگاه، نوارگردان، دستکاری، گاوآژ. در همین راستا موش‌ها یک هفته، هر روز به مدت 15-10 دقیقه با سرعت 10 متر بر دقیقه بر روی نوارگردان راه رفتند. مرحله دوم: افزایش تدریجی شدت تمرین بود که بدین‌منظور در هفته اول موش‌ها هر روز با شدت 15 متر بر دقیقه به مدت 30-20 دقیقه که در طول هفته به تدریج به زمان آن اضافه شد بر روی نوارگردان دویندند. در هفته دوم موش‌ها با شدت 20 متر بر دقیقه به مدت 60-30 دقیقه که در طول هفته به تدریج به زمان آن اضافه شد بر روی نوارگردان دویندند. مرحله سوم: رسیدن به شدت نهایی تمرین (حفظ و تثبیت زمان تمرین) بود. بدین منظور موش‌ها تا پایان دوره با شدت 25 متر بر دقیقه به مدت 90 دقیقه روی نوارگردان دویندند (22). در ضمن از کل زمان فعالیت، 20 دقیقه جهت گرم و سرد کردن (هر کدام 10 دقیقه) اختصاص داشت که با سرعت 10 متر بر دقیقه انجام شد (جدول شماره 1).

جدول شماره 1: سرعت (متر بر دقیقه) در کل برنامه تمرینی

روزهای هفته	شنبه	یکشنبه	دوشنبه	سه شنبه	چهارشنبه	پنج شنبه	جمعه	مدت تمرین
آشنایی	*	*	10	10	10	*	*	10-15
تمرین استقامتی فراینده								
اول	15	15	15	15	15	*	*	20-30
دوم	20	20	20	20	20	*	*	30-60
سوم	25	25	25	25	25	*	*	60-90
چهارم	25	25	25	25	25	*	*	60-90
پنجم	25	25	25	25	25	*	*	60-90
ششم	25	25	25	25	25	*	*	60-90
هفتم	25	25	25	25	25	*	*	60-90
هشتم	25	25	25	25	25	*	*	60-90

نمونه برداری بافت، تجزیه و تحلیل آزمایشگاهی

نمونه گیری از بافت موش ها در پایان دوره تمرین استقامتی و مصرف عصاره (72 ساعت پس از قطع تمرین و 4 ساعت پس از ناشتایی) انجام شد. برای این منظور موش ها با تزریق 3 واحد محلول کتامین (30-50 mg/kg) و زایلازین (3-5 mg/kg) بیهوش شدند و بافت کبد از بدن موش ها خارج گردید و پس از انتقال به تیوب ها به وسیله نیتروژن مایع انجماد شدند و تا زمان اندازه گیری در یخچال در دمای 80 درجه سانتی گراد نگهداری شدند تا در ادامه متغیرهای وابسته پژوهش که شامل تغییرات شاخص های آنزیمی منتخب در کبد بودند به روش فتومتریک مورد تجزیه تحلیل قرار گرفتند. به منظور اندازه گیری تغییرات شاخص های آنزیمی منتخب در بافت کبد، 100 میلی گرم از بافت کبد به روش هاون کوبی در نیتروژن مایع پودر و به آن یک میلی لیتر بافر فسفات سالین (PBS) اضافه شد و به مدت 15 دقیقه در دور 6000 سانتریفیوژ شد و در نهایت محلول رویی جهت انجام آنالیز برداشته شد. در ادامه، کیت های تشخیص کمی ALT (GPT)، AST (GOT)، ALP و GGT در بافت کبد مورد استفاده قرار گرفتند (شرکت بیونیک، تهران، ایران) و شاخص های منتخب به روش اسپکتوفوتومتری و با دامنه حساسیت حداقل مقدار قابل اندازه گیری 1 واحد بین المللی در لیتر اندازه گیری شدند. همچنین جهت اندازه گیری شاخص های بیوشیمیایی تری گلیسرید و کلسترول تام در بافت کبد از روش Folch و همکاران (1957) استفاده شد (23).

تحلیل آماری داده ها

در بخش آمار استنباطی جهت تعیین طبیعی بودن توزیع داده ها از آزمون Shapiro-Wilk استفاده شد. همسان بودن واریانس ها با آزمون Levens-Snjcده شد. برای بررسی تغییرات گروهی از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه و از آزمون تعقیبی Bonferoni برای مقایسه بین گروه های مختلف استفاده شد. محاسبات با استفاده از نرم افزار آماری SPSS23 و سطح معنی داری $P < 0/05$ در نظر گرفته شد.

یافته ها

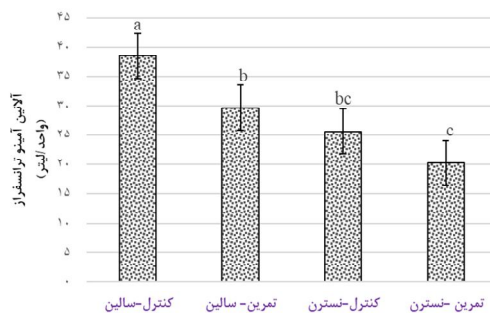
نتایج حاصل از اندازه گیری ترکیبات گل نسترن کوهی با استفاده از GC-MS نشان داد که عمده ترین ترکیبات موجود در این گیاه شامل شامل آسکوربیک اسید، α -توکوفرول، اسید لینولئیک، α -لینولئیک اسید، استناریک اسید، اولئیک اسید، پالمیتیک اسید و بتا کاروتن می باشد (جدول شماره 2).

جدول شماره 2: عمده ترکیبات تشکیل دهنده حاصل از عصاره گل نسترن با استفاده از GC-MS

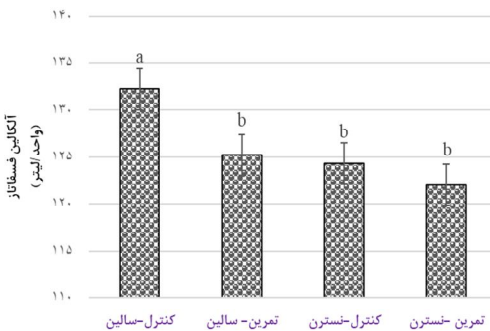
تراکیبات	فراوانی
لینولئیک اسید (درصد)	48
α -لینولئیک اسید (درصد)	10
پالمیتیک اسید (درصد)	5
اولئیک اسید (درصد)	20
استناریک اسید (درصد)	3
آسکوربیک اسید (میلی گرم / 100 گرم)	147/9
α -توکوفرول (میکروگرم / گرم)	30
بتا کاروتن (میکروگرم / گرم)	2/5

تحلیل داده های سطوح آنزیمی AST کبدی نشان داد که بین گروه های آزمودنی اختلاف معنی دار وجود دارد ($P=0/001$). بررسی نتایج آزمون تعقیبی Bonferoni نشان داد که سطوح آنزیم های کبدی AST در گروه های تمرینی سالی (P=0/024) و کنترل نسترن (P=0/004) نسبت به گروه کنترل - سالی کاهش معنی داری را نشان داد. اثر تعاملی تمرین و مصرف عصاره نسترن نیز توانست کاهش معنی داری را نسبت به تمامی گروه های کنترل -

تعیینی Bonferoni سطح این آنزیم در گروه‌های تمرینی سالیین ($P=0/008$)، کنترل - نسترن ($P=0/002$) و تمرینی نسترن ($P=0/001$) نسبت به گروه کنترل کاهش یافته بودند. سطح آنزیم فوق در گروه کنترل نسترن نسبت به گروه تمرین - سالیین کاهش یافت اما این کاهش معنی‌دار نبود ($P=1$). همچنین سطح آنزیمی فوق در گروه تمرینی نسترن نسبت به گروه‌های تمرین - سالیین ($P=0/682$) و کنترل - نسترن ($P=1$) کاهش یافته بود، اما از لحاظ آماری معنی‌دار نبود (نمودار شماره 3).



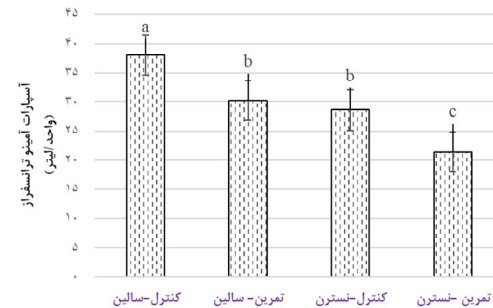
نمودار شماره 2: میانگین تغییرات سطح آنزیم کبدی ALT گروه‌های مختلف پژوهش



نمودار شماره 3: میانگین تغییرات سطح آنزیم کبدی ALP گروه‌های مختلف پژوهش

تحلیل داده‌های کمی آنزیم GGT کبدی نشان داد که بین گروه‌های آزمودنی اختلاف معنی‌دار وجود ندارد ($P=0/172$). براساس نتایج آزمون تعقیبی Bonferoni سطح آنزیم فوق در گروه تمرینی سالیین ($P=1$)، کنترل - نسترن ($P=1$) و تمرینی نسترن ($P=0/199$) نسبت به گروه

سالیین ($P=0/001$)، تمرین - سالیین ($P=0/008$) و کنترل - نسترن ($P=0/047$) ایجاد کند. بین سطوح آنزیمی AST گروه‌های تمرین - سالیین و کنترل - نسترن تفاوت معنی‌داری وجود نداشت ($P=1$) (نمودار شماره 1).

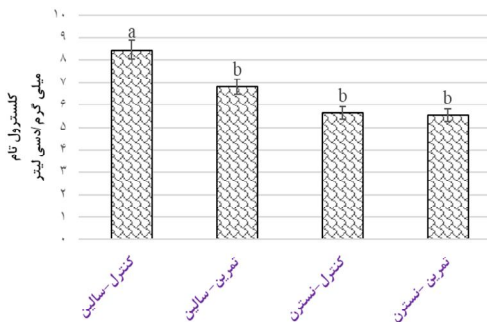
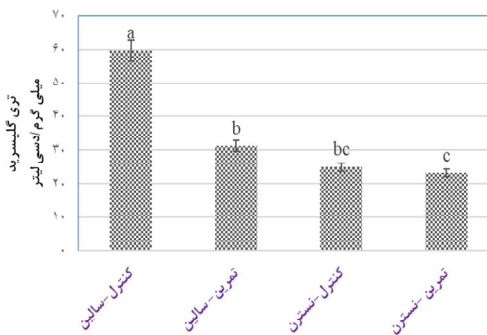


نمودار شماره 1: میانگین تغییرات سطح آنزیم کبدی AST گروه‌های مختلف پژوهش (حروف نامشابه نشان دهنده اختلاف معنی‌داری در بین گروه‌های مورد مطالعه است)

تحلیل داده‌های آنزیم ALT کبدی نشان داد که بین گروه‌های آزمودنی اختلاف معنی‌داری وجود دارد ($P=0/001$). تغییرات سطوح آنزیم کبدی در گروه تمرین - سالیین ($P=0/002$) و کنترل - نسترن ($P=0/001$) نسبت به گروه کنترل - سالیین کاهش معنی‌داری را نشان داد. گروه تعاملی تمرین - نسترن نیز کاهش معنی‌داری را نسبت به گروه‌های کنترل - سالیین ($P=0/001$)، تمرین - سالیین ($P=0/001$) نشان داد. اگرچه گروه تمرین - سالیین کاهش معنی‌دار نسبت به گروه کنترل - سالیین بیان کرد، اما با گروه کنترل - نسترن تفاوت معنی‌داری را نشان نداد ($P=0/432$). سطح آنزیمی ALT در گروه‌های تمرینی نسترن با وجود کاهش نسبت به گروه کنترل - نسترن، تغییرات معنی‌داری را نشان نداد ($P=0/099$). در کل تمرین باعث کاهش سطوح آنزیم‌های AST و ALT کبدی شدند و نسترن میزان شیب این کاهش آنزیمی را بیش‌تر نمود (نمودار شماره 2).

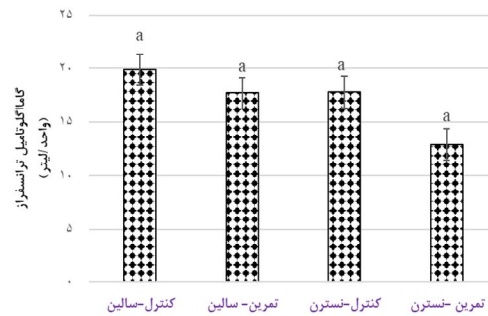
از طرفی تحلیل داده‌های سطوح آنزیمی ALP کبدی نشان داد که بین گروه‌های آزمودنی اختلاف معنی‌دار وجود دارد ($P=0/001$). بر اساس نتایج آزمون

مختلف در نمودار شماره 5 بیان شده است. همان‌طور که در نمودار شماره 5 نشان داده شده است 2 ماه تمرین استقامتی با شدت متوسط و مصرف عصاره گل نسترن میزان تری گلیسرید را در موش‌های گروه‌های تمرین - سالیین و کنترل - نسترن در مقایسه با گروه کنترل - سالیین به‌طور معنی‌داری کاهش داده بود ($P=0/0001$). همچنین اثر تعاملی تمرین و مصرف عصاره نسترن سبب بهبود سطوح تری گلیسرید در موش‌های گروه تمرین - نسترن در مقایسه با گروه کنترل - سالیین شد ($P=0/0001$). نتایج نشان داد که سطوح تری گلیسرید در گروه تمرین - نسترن نسبت به گروه تمرین - سالیین کاهش یافته بود ($P<0/05$). با توجه به نمودار نمودار شماره 2 مشخص شد که سطوح کلسترول تام در موش‌های گروه تمرین استقامتی ($P=0/01$)، عصاره گل نسترن ($P=0/001$) و اثر تعاملی آن‌ها ($P=0/001$) در مقایسه با گروه کنترل کاهش یافته بود (نمودار شماره 5).



نمودار شماره 5: میانگین تغییرات سطوح تری گلیسرید و کلسترول تام در بافت کبد گروه‌های مختلف مورد مطالعه

کنترل - سالیین کاهش غیرمعنی‌دار را نشان دادند. همچنین بین سایر گروه‌ها نیز تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ($P\geq 0/05$) (نمودار شماره 4).



نمودار شماره 4: میانگین تغییرات سطح آنزیم کبدی GGT گروه‌های مختلف پژوهش

نتایج حاصل از آزمون همبستگی سطوح آنزیمی منتخب در این پژوهش در جدول شماره 2 بیان شده است. با استناد بر یافته‌های پژوهش حاضر همبستگی مثبت و بالایی بین آنزیم‌های ALT و AST (ضریب همبستگی برابر با 0/79) وجود دارد. از سوی دیگر، همبستگی مثبت معتبر و معنی‌داری (+0/56) بین ALT با ALP و همبستگی مثبت متوسط/نسبتاً خوب (0/21 تا ±0/5) بین شاخص‌ها (AST با ALP)، (ALT با GGT)، (ALP با GGT) و وجود دارد (جدول شماره 3).

جدول شماره 3: نتایج آزمون همبستگی پیرسون بین آنزیم‌های کبدی

	GGT	ALP	ALT	AST	
AST	0/162	0/406	0/790	1	همبستگی پیرسون
	0/346	0/014	0/0	-	معنی‌داری
ALT	0/345	0/565	1	0/790	همبستگی پیرسون
	0/04	0/0	-	0/0	معنی‌داری
ALP	0/421	1	0/565	0/406	همبستگی پیرسون
	0/01	-	0/0	0/04	معنی‌داری
GGT	1	0/42	0/34	0/16	همبستگی پیرسون
	-	0/01	0/04	0/34	معنی‌داری

نتایج تغییرات شاخص‌های بیوشیمیایی شامل تری گلیسرید و کلسترول تام بافت کبد گروه‌های

بحث

در این پژوهش به بررسی پاسخ شاخص‌های آنزیمی کبدی موش‌های صحرایی نر پیرو 8 هفته تمرین استقامتی و مصرف عصاره گل نسترن پرداختیم. نتایج حاصل از پژوهش حاضر تغییرات معنی‌داری را در میزان سطوح آنزیم‌های منتخب در بافت کبد موش‌های نر با تمرین استقامتی، مصرف عصاره گل نسترن و تعامل آن‌ها را نشان دادند.

نتایج پژوهش حاضر هم‌راستا با نتایج حاصل از مطالعه محمودی و همکاران (2018) همچنین شمس‌الدینی و همکاران (2015) پیرو 8 هفته تمرین استقامتی بر کاهش سطوح مقادیر ALT و AST گزارش شد (24، 25). در حالی که برخی مطالعات افزایش مقادیر سرمی این آنزیم‌ها را بر اثر تمرین و امانده‌ساز (23) و تمرین با شیب منفی گزارش کردند (26). از طرفی در پژوهش فرزانیکی و همکاران (2014) تأثیر مثبت تمرین هوازی بر مقادیر ALT کبدی گزارش شد. در پژوهش مذکور شدت کم تمرین به دلیل ایجاد استرس کم‌تر به بهبود مقادیر آنزیم‌های کبدی منجر شد (27)، زیرا فعالیت آنزیم‌های کبدی تحت تأثیر مدت، شدت و نوع تمرین تغییر می‌کند (28). Haus و همکاران (2013) نیز گزارش کردند تمرین استقامتی با هدف قرار دادن چربی کبد، خطر پیشرفت به بیماری کبد چرب غیرالکلی را کاهش می‌دهد و بهبود چربی کبد احتمالاً ناشی از افزایش آدیپونکتین، اکسیداسیون چربی و افزایش حساسیت انسولینی باشد (29). Hallsworth و همکارانش (2016) نیز مکانیسم‌های اساسی تغییر در چربی کبد بر اثر فعالیت ورزشی را بازتاب تغییرات در حساسیت انسولینی، چربی‌های گردش خون و تعادل انرژی بیان کردند (30). عامل توجیه‌کننده دیگر کاهش ALT را می‌توان بهبود نیم‌رخ لیپیدی دانست، زیرا بر اساس مطالعات پیشین افزایش ALT با افزایش عوامل خطرزای بیماری‌های قلبی-عروقی مرتبط است، همچنین کاهش غلظت تری‌گلیسیرید پلاسما با کاهش غلظت پلاسمایی آنزیم‌های کبدی مرتبط

است (31، 32). از طرفی مصرف عصاره نسترن موجب کاهش غلظت سرمی کلسترول تام، تری‌گلیسیرید، LDL، افزایش HDL و باعث بهبود وضعیت پروفایل لیپیدی می‌شود (33). به نظر می‌رسد تأثیر آنتی‌اکسیدان‌ها به‌خصوص ترکیبات مرتبط با فلاونوئیدها و پلی‌فنول‌ها و اسیدآسکوربیک موجود در نسترن مانع افزایش این آنزیم‌ها در سلول‌های کبدی شده و این عصاره می‌تواند نقش تنظیمی برای آنزیم‌های کبدی ایجاد کند و باعث درمان آسیب‌های کبدی شود (33). براساس پژوهش Ninomiya و همکاران (2007) عصاره گل نسترن حاوی یک ترکیب فلاونوئید فعال گلیکوزیدی به نام ترانس تریلویزید است (34) که اثر مہاری مهمی بر افزایش وزن دارد (35) و وزن مناسب می‌تواند در پیشگیری و درمان کبدچرب موثر باشد.

Stajner و همکاران (2014)، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و پاک‌کنندگی رادیکال‌های آزاد را در میوه نسترن که کاهش فعالیت آنزیم AST و ALT را در پی داشت گزارش کردند که همسو با پژوهش حاضر است (36). مطالعاتی هم بر مصرف عصاره نسترن بر روی هیپوکامپ مغز انجام شده است که نتیجه پژوهش‌ها کاهش اثرات رادیکال‌های آزاد به‌واسطه ویتامین C را بیان کردند، همچنین مطالعاتی کاهش آنزیم‌های شاخص آسیب کبدی را گزارش کردند که همسو با نتایج پژوهش حاضر است (37، 38). گزارش شده است که درمان با عصاره گل نسترن در دوزهای 500 و 750 میلی‌گرم بر کیلوگرم، سطح آنزیم‌های نشانگر کبدی مانند AST و ALT را کاهش می‌دهد که با پژوهش حاضر در گروه‌های تیمار با نسترن همسو است (38). تصور می‌شود که مکانیسم عملکرد گل نسترن در بیماری‌های کبدی مبتنی بر محتوای آن در آنتی‌اکسیدان‌ها و ترکیبات فنولی است که می‌تواند باعث کاهش پراکسیداسیون اسیدهای چرب اشباع نشده شود و از آسیب غشاهای سلولی جلوگیری کند (38).

نتایج پژوهش حاضر حاکی از نقش تأثیرگذار گل نسترن بر سطح آنزیم ALP کبدی موش‌های نر شد. به

Johnson و همکاران بود(42). عدم معنی دار بودن این کاهش، هم راستا با مطالعه باسچی و همکاران (2013) بود که به بررسی تأثیر تمرینات مقاومتی و استقامتی بر مقدار چربی کبد در بیماران کبد چرب و دیابت نوع 2 پرداخته بودند(43). یافته‌های پژوهش حاضر نشان می‌دهد که در نظر گرفتن مدت و شدت تمرین، جنسیت و وزن مناسب در کاهش آنزیم GGT بسیار مهم می‌باشد و احتمالاً دوز بالاتر مکمل نسترن و شدت بالاتر تمرین می‌تواند در کاهش این آنزیم تأثیر بیش تری داشته باشد. بر اساس یافته‌های پژوهش حاضر، مصرف عصاره گل نسترن می‌تواند سبب بهبود شاخص‌های آنزیمی و تری-گلیسرید و کلسترول تام کبدی گردد. همچنین اجرای تمرین استقامتی همراه با مصرف عصاره گل نسترن تأثیر بسزایی بر کاهش شاخص‌های آنزیمی کبدی دارد. لذا در راستای کاهش عوامل خطر وابسته به بیماری‌هایی نظیر کبد چرب غیرالکلی، تمرینات استقامتی با شدت متوسط به همراه مصرف عصاره گل نسترن به عنوان یک مداخله درمانی مفید پیشنهاد می‌شود.

سپاسگزاری

مطالعه حاضر حاصل پایان‌نامه کارشناسی ارشد فیزیولوژی ورزشی مصوب دانشگاه مازندران بود.

نحوی که مصرف عصاره در گروه کنترل - نسترن منجر به کاهش معنی دار سطح آنزیم ALP در مقایسه با گروه کنترل - سالیین گردید که این یافته با پژوهش کاوگانی و همکاران(2015) همسو است(39). از طرفی فعالیت استقامتی توأم با مصرف عصاره نسترن منجر به کاهش سطح آنزیم ALP در مقایسه با گروه تمرین - سالیین شد که به لحاظ آماری معنی دار نبود. این یافته حاکی از نقش برجسته گل نسترن در کاهش سطح آنزیم ALP نسبت به تمرین استقامتی است. گل نسترن حاوی ترکیبات مختلفی مانند فنول‌ها و فلاونوئیدها است که احتمالاً عامل کاهش این آنزیم می‌باشد. پژوهش‌ها نشان داده که ترکیبات فنولی در گیاهان دارویی مانند گل نسترن می‌تواند از آثار سمی داروها روی کبد جلوگیری کند و باعث کاهش آزاد شدن آنزیم‌های گلوتامیک پیروویک ترانس آمیناز و ALP شود(40). صادقی و همکاران (2016) نیز در پژوهشی به این نتیجه رسیدند که عصاره گل نسترن باعث بهبود عملکرد کبد و یک اثر محافظتی در برابر آسیب‌های کبدی می‌باشد(41).

در پژوهش حاضر علی‌رغم کاهش در در سطوح آنزیم GGT پیرو مصرف عصاره گل نسترن و اجرای تمرین استقامتی نسبت به گروه کنترل تغییرات معنی‌داری مشاهده نشد. این کاهش سطح GGT همسو با مطالعه

References

- Oh S, Tanaka K, Tsujimoto T, So R, Shida T, Shoda J. Regular exercise coupled to diet regimen accelerates reduction of hepatic steatosis and associated pathological conditions in nonalcoholic fatty liver disease. *Metab Syndr Relat Disord* 2014; 12(5): 290-298.
- Smart NA, King N, McFarlane JR, Graham PL, Dieberg G. Effect of exercise training on liver function in adults who are overweight or exhibit fatty liver disease: a systematic review and meta-analysis. *Brit J Sport Med* 2018; 52(13): 834-843.
- Ajami Nezhad M, Sabet jahromi MJ. The effects of a single bout of aerobic exercise at different intensities on markers of liver function and blood hemoglobin in healthy untrained male. *Horizon Med Sci* 2014; 19(4): 184-191.
- Fraser A, Harris R, Sattar N, Ebrahim S, Smith GD, Lawlor DA. Alanine aminotransferase, γ -glutamyltransferase, and incident diabetes: The British Women's Heart and Health Study and meta-analysis. *Diabetes care* 2009; 32(4): 741-750.

5. Rinella ME. Nonalcoholic fatty liver disease: a systematic review. *JAMA* 2015; 313(22): 2263-2273.
6. Krasnoff JB, Painter PL, Wallace JP, Bass NM, Merriman RB. Health related fitness and physical activity in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *J Hepatol* 2008; 47(4): 1158-1166.
7. Torres DM, Williams CD, Harrison SA. *J Clin Gastroenterol* 2012; 10(8): 837-858.
8. Amirhamidi Z, Ejtahed H-S, Bahadoran Z, Mirmiran P, Azizi F. Association between food intakes and non-alcoholic fatty liver disease: a systematic review. *Iranian Journal of Diabetes and Metabolism* 2015; 14(4): 235-246 (Persian).
9. Zarei A, Changizi Ashtiyani S, Taheri S. The effects of hydroalcoholic extract of *Portulaca oleracea* on the serum concentration of hepatic enzymes in rats. *Iran South Med J* 2014; 17(5): 889-899.
10. Bagheri M, Azamian Nazari A, Bani Talebi E, Nasr Esfahani MH. A comparison between the effects of eight weeks of high intensity interval training and low intensity endurance training on expression of *hig2* and intrahepatic lipid content in rats with non-alcoholic fatty liver diseases. *Armaghane Danesh* 2019; 23(6): 666-682.
11. Yao J, Meng M, Yang S, Li F, Anderson RM, Liu C, et al. Effect of aerobic and resistance exercise on liver enzyme and blood lipids in Chinese patients with nonalcoholic fatty liver disease: a randomized controlled trial. *Int J Clin Exp Med* 2018; 11(5): 4867-4874.
12. Mohammadadi SM, Mosavi SA. Effect of Aqueous *Berberis integerrima* Extract on Fatty Liver and Triglyceridemia. *J Shaheed Sadoughi Univ Med Sci* 2019; 27(1): 1141-1149 (Persian).
13. Torabi S, Asad MR, Tabrizi A. The effect of endurance training with cinnamon supplementation on plasma concentrations of liver enzymes (ALT, AST) in women with type II diabetes. *Tehran Uni Med J* 2016; 74(6): 433-441.
14. Eslahi M, Mohammadifar M, Taghizadeh M, Khamechian T, Mehran M, Talaei SA. Effects of *Ziziphus jujube* Mill., *Cynara scolymus* L. and *Cichorium intybus* L. combination extract on nonalcoholic fatty liver disease in rats. *Koomesh* 2018; 20(4): 741-747.
15. Gorzi A, Ekradi S. The effect of intake duration of curcumin supplementation during strenuous endurance training on GPX activity and MDA levels of liver, heart and skeletal muscle in male Wistar rats. *Sport Physiology* 2020; 12(46): 139-156.
16. Saberian H. Comprison of the quality properties of the rose Hip fruit powder from three regions of Iran with commercial sample. *Food Sci Tech* 2018; 15(82): 139-149.
17. Hannah WN, Harrison SA. Lifestyle and dietary interventions in the management of nonalcoholic fatty liver disease. *Digest Dis Sci* 2016; 61(5): 1365-1374.
18. Marcelino-Rodríguez I, Almeida Gonzalez D, Alemán-Sánchez JJ, Brito Díaz B, Rodríguez Pérez MD, Gannar F, et al. Inverse association of resistin with physical activity in the general population. *Plos one* 2017; 12(8): e0182493.
19. Fan C, Pacier C, Martirosyan DM. Rose hip (*Rosa canina* L): A functional food perspective. *Funct Food Health Dis* 2014; 4(12): 493-509.
20. Orhan DD, Hartevioğlu A, Küpeli E, Yesilada E. In vivo anti-inflammatory and antinociceptive activity of the crude extract

- and fractions from *Rosa canina* L. fruits. *J Ethnopharmacol* 2007; 112(2): 394-400.
21. Anwar S, Ahmed N, Speciale A, Cimino F, Saija A. Essential oils in food preservation, flavor and safety. *Essential Oils in Food Preservation. Flavor and Safety* 2016: 259-268.
 22. Ghanbari-Niaki A, Khabazian BM, Hossaini-Kakhak SA, Rahbarizadeh F, Hedayati M. Treadmill exercise enhances ABCA1 expression in rat liver. *Biochem Bioph Res Co* 2007; 361(4): 841-846.
 23. Folch J, Lees M, Stanley GS. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *J Biol Chem* 1957; 226(1): 497-509.
 24. Mahmoudi A, Siahkohian M, Iranparvar M, Seifi-Skishahr F, Anari H. Effect of endurance training on serum levels of alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase, and resistin in men with non-alcoholic fatty liver disease. *Sci J Rehabil Med* 2018; 7(3): 125-132.
 25. Shamsoddini A, Sobhani V, Chehreh ME, Alavian SM, Zaree A. Effect of aerobic and resistance exercise training on liver enzymes and hepatic fat in Iranian men with nonalcoholic fatty liver disease. *Hepat Mon* 2015; 15(10): e31434.
 26. Rezaei M, Rahimi E, Bordbar S, Namdar S. The effects of three sessions of running on a negative slope on serum levels of liver enzymes in adult male rats. *Zahedan J Res Med Sci* 2000; 15(5): 47-49 (Persian).
 27. Farzanegi P, Pour Amin Z, Habibian M. Changes of liver trans-aminases after a period of selected aerobic training in postmenopausal women. *Med Lab J* 2014; 8(1): 22-28 (Persian).
 28. Mikami T, Sumida S, Ishibashi Y, Ohta S. Endurance exercise training inhibits activity of plasma GOT and liver caspase-3 of rats exposed to stress by induction of heat shock protein 70. *J Appl Physiol* 2004; 96(5): 1776-1781.
 29. Haus JM, Solomon TP, Kelly KR, Fealy CE, Kullman EL, Scelsi AR, et al. Improved hepatic lipid composition following short-term exercise in nonalcoholic fatty liver disease. *J Clin Endocrinol Metab* 2013; 98(7): E1181-1188.
 30. Hallsworth K, Avery L, Trenell MI. Targeting lifestyle behavior change in adults with NAFLD during a 20-min consultation: summary of the dietary and exercise literature. *Curr Gastroenterol Rep* 2016; 18(3): 11.
 31. Slentz CA, Bateman LA, Willis LH, Shields AT, Tanner CJ, Piner LW, et al. Effects of aerobic vs. resistance training on visceral and liver fat stores, liver enzymes, and insulin resistance by HOMA in overweight adults from STRRIDE AT/RT. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2011; 301(5): E1033-1039.
 32. Kaki A, Galedari M. The effect of 12 weeks high intensity interval training and resistance training on liver fat, liver enzymes and insulin resistance in men with nonalcoholic fatty liver. *Jundishapur J Health Sci* 2017; 16(5): 493-505.
 33. Sadigh-Eteghad S, Rahimi F, Mahmoudi J, Baradaran L. Effects of *Rosa canina* fruit hydroalcoholic extract on lipid profile and liver enzymes level in diabetic mice. *Cell & Tissue Journal* 2019; 10(1): 34-41.
 34. Ninomiya K, Matsuda H, Kubo M, Morikawa T, Nishida N, Yoshikawa M. Potent anti-obese principle from *Rosa canina*: structural requirements and mode of action of trans-tiliroside. *Bioorg Med Chem Lett* 2007; 17(11): 3059-3064.

35. Selahvarzian A, Alizadeh A, Baharvand PA, Eldahshan OA, Rasoulia B. Medicinal properties of *Rosa canina* L. *Herb Med J* 2018; 3(2): 77-84.
36. Štajner D, Popović B, Čanadanović-Brunet J, Dilas S, Četković G. Nutritive composition and free radical scavenger activity of honey enriched with of *Rosa* spp. *LWT-Food Sci Technol* 2014; 55(1): 408-413.
37. Amintaheri N, Tehranipour M, Balanezhad SZ. The Effects of aqueous extracts of *Rosa canina* L fruit on hippocampus neuronal density in male mouse. *Reserch in Medicine* 2017; 41(4): 251-257.
38. Mármol I, Sánchez-de-Diego C, Jiménez-Moreno N, Ancín-Azpilicueta C, Rodríguez-Yoldi MJ. Therapeutic applications of rose hips from different *Rosa* species. *Int J Mol Sci* 2017; 18(6): 1137.
39. Ilchizadeh Kavgani A, Eidi M, Ghahramani R, Sasaninejad Z, Ahmarinezhad Z. Antidiabetic Effect of *Rosa canina* l. fruit in alloxan induced diabetic male rats. *Qom Univ Med Sci J* 2015; 9(5): 23-34.
40. Hyun YJ, Koh SJ, Chae JS, Kim JY, Kim OY, Lim HH, et al. Atherogenicity of LDL and unfavorable adipokine profile in metabolically obese, normal weight woman. *Obesity* 2008; 16(4): 784-789.
41. Sadeghi H, Hosseinzadeh S, Touri MA, Ghavamzadeh M, Barmak MJ, et al. Hepatoprotective effect of *Rosa canina* fruit extract against carbon tetrachloride induced hepatotoxicity in rat. *Avicenna J Phytomed* 2016; 6(2): 181-188.
42. Johnson NA, Sachinwalla T, Walton DW, Smith K, Armstrong A, Thompson MW, et al. Aerobic exercise training reduces hepatic and visceral lipids in obese individuals without weight loss. *J Hepatol* 2009; 50(4): 1105-1112.
43. Bacchi E, Negri C, Targher G, Faccioli N, Lanza M, Zoppini G, et al. Both resistance training and aerobic training reduce hepatic fat content in type 2 diabetic subjects with nonalcoholic fatty liver disease (the RAED2 Randomized Trial). *Hepatology* 2013; 58(4): 1287-1295.