

# تأثیر تمرینات هوازی بر فاکتورهای کبدی در اسب‌های تولید کننده پادزهر

فرزانه السادات رضوی<sup>۱</sup>، حسین ذوالفقاریان<sup>۲</sup>، عبدالعلی بنایی فر<sup>۱\*</sup>، رسول اسلامی<sup>۳</sup>

گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد تهران جنوب، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران، <sup>۱</sup>بخش سرم‌های درمانی مؤسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی (تات)، کرج، ایران، <sup>۲</sup>گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه علامه طباطبایی، تهران، ایران

تاریخ وصول: ۱۳۹۸/۰۳/۰۳ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۹/۱۱

## چکیده

**زمینه و هدف:** ایران از جمله تولیدکنندگان منحصر به فرد پادزهر در منطقه خاورمیانه است. تولید سرم‌های درمانی با عیار بالا و عوارض جانبی کمتر در سلامت عمومی جامعه تأثیر بسزایی دارد. به کارگیری فعالیت‌های ورزشی به عنوان روش غیر دارویی می‌تواند در حفظ و ارتقاء سلامت دام نقش مهمی ایفا کند. هدف از پژوهش حاضر تأثیر تمرینات هوازی بر فاکتورهای آنزیمی کبد اسپارتات آمینوترانسفراز (AST)، آلانین آمینوترانسفراز (ALT)، آلکالین فسفاتاز (ALP) و گاماگلوتامیل ترانسفراز (GGT) در اسب‌های تولید کننده پادزهر بود.

**روش بررسی:** در این مطالعه تجربی که در سال ۱۳۹۶ انجام شد، ۱۶ رأس اسب در چرخه تولید پادزهر به صورت تصادفی در ۲ گروه زهر و گروه زهر + تمرین به مدت ۲۲ هفته تقسیم شدند. پروتکل تمرینی شامل ۳ جلسه تمرین هوازی در هفته، با شدت متوسط صورت گرفت. نمونه‌های خونی در ۳ زمان مختلف: قبل از شروع پروتکل، پایان دوره ۱۱ هفته‌ای و پایان دوره ۲۲ هفته‌ای؛ ۴۸ ساعت بعد از آخرین جلسه تمرین از طریق سیاهرگ و داج جمع‌آوری شد و میزان فعالیت آنزیم‌های کبدی AST, ALT, ALP, GGT با استفاده از کیت‌های شرکت پارس آزمون ساخت کشور ایران و بوسیله دستگاه اتو آنالیزر مورد ارزیابی قرار گرفت. داده‌های جمع‌آوری شده به وسیله آزمون‌های آنالیز واریانس ویزه اندازه‌گیری‌های مکرر، تعقیبی LSD تجزیه و تحلیل شدند.

**یافته‌ها:** تحلیل داده‌ها کاهش معنی‌داری در فعالیت آنزیم‌های ALP و GGT در اثر ۲۲ هفته تمرین ورزشی هوازی در گروه زهر + تمرین در مقایسه با گروه کنترل دریافت کننده زهر نشان داد ( $p=0/03$ ). همچنین کاهش معنی‌داری در فعالیت آنزیم‌های AST ( $p=0/02$ ) و ALT ( $p=0/01$ ) در نتیجه دریافت تمرین نسبت به گروه کنترل مشاهده گردید.

**نتیجه‌گیری:** بر اساس نتایج پژوهش، به نظر می‌رسد تمرینات هوازی در ارتقاء سطح سلامت اسب‌ها و کاهش اثرات زهر از طریق کاهش سطوح فعالیت فاکتورهای آنزیمی کبد (AST, ALT, GGT, ALP) در اسب‌های تولید کننده پادزهر مؤثر است. پژوهش‌های بیشتری در این زمینه پیشنهاد می‌گردد.

**واژه‌های کلیدی:** تمرینات هوازی، فاکتورهای کبدی، اسب، پادزهر

\* نویسنده مسئول: عبدالعلی بنایی فر، تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران جنوب، گروه فیزیولوژی ورزشی،

## مقدمه

با زهر مار جعفری نشان داد، میزان فعالیت آنزیم‌های ALT، AST در مقایسه با سرم گروه کنترل افزایش معنی‌داری داشته است (۶). با توجه به اثرات زهر مارها بر فاکتورهای کبدی و تأثیر مستقیم آن بر سلامت اسبها و متعاقباً تأثیر بر تولید سرم‌های درمانی می‌توان با به کارگیری برنامه‌هایی صحیح از جمله استفاده از فعالیت‌های ورزشی به عنوان روش غیر دارویی در حفظ و ارتقاء سلامت دام نیز بهره گرفت (۷). در سال‌های اخیر تغییرات بافت کبد ناشی از فعالیت بدنی، به وسیله بسیاری از پژوهشگران مورد توجه قرار گرفته است. عملکرد کبدی نرمال برای متابولیسم اهمیت خاصی دارد و ممکن است از تمرینات ورزشی اثر پذیرد. شواهد علمی نشان می‌دهد فعالیت بدنی می‌تواند به طور قابل توجهی سطوح ALP، GGT، ALT و AST را در افراد فعال کاهش دهد (۷).

همچنین بررسی نتایج مطالعات در اسب‌های تمرین کرده نشان داده است به کارگیری تمرین‌های ورزشی اثر محافظتی بر عملکرد کبد دارد و موجب بهبود متابولیسم و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی آن می‌شود (۸). علاوه بر این در سایر پژوهش‌های حیوانی مشخص شده است که فعالیت بدنی طولانی مدت از افزایش فعالیت آنزیم‌های ALT و AST در موش‌های صحرایی که در معرض استرس اکسیداتیو ناشی از فعالیت هوازی بوده اند، به وسیله تولید پروتئین شوک گرمایی (HSP) ممانعت می‌کند (۹). با وجود این اکثر پژوهش‌های انجام شده در زمینه تأثیر فعالیت بدنی بر آزمودنی‌های سالم و یا تمرین کرده

بر اساس پژوهش‌های اپیدمیولوژی، ایران را می‌توان در گروه اول کشورهای قرار داد که مشکل مارگزیدگی به صورت مسئله عمده بهداشتی درآمده است (۱). مصدومین مارگزیده به همراه درمان‌های شایع از تزریق سرم ضد مار پلی والان جهت از بین بردن عوارض و درمان سود می‌برند. در این راستا سازمان بهداشت جهانی، ارزیابی و استاندارد کردن آنتی‌ونوم‌های موجود در کشورهای مختلف را به عنوان یک هدف برگزیده است (۲). از آنجایی که اسبها منبع تولید سرم‌های درمانی هستند بنابراین، شاید مهم‌ترین هدف و مأموریت واحدهای تولید کننده سرم‌های درمانی پرورش اسب‌هایی باشد که از وضعیت سلامت عمومی بالایی برخوردار باشند چرا که وضعیت سلامت عمومی دام به طور مستقیم و غیرمستقیم بر کیفیت سرم‌های درمانی تأثیر بسزایی دارد. بسیاری از بافت‌های بدن اسب‌هایی که برای تولید سرم‌های درمانی مورد تزریق آنتی‌ژن قرار دارند، تحت تأثیر قرار می‌گیرد. بر اساس نتایج پژوهش‌ها، یکی از مهم‌ترین و آشکارترین عارضه سم مار بر روی بافت کبد و تغییرات گسترده در عوامل هماتولوژیک و ایجاد هموراژی است (۳). نتایج بررسی فاکتورهای کبدی در اسب‌های تولید کننده آنتی‌ونوم پلی‌والان مار، حاکی از افزایش مقادیر ALT و GGT در دو مرحله آخر تزریق دوز زهر (۴۵ و ۵۰ میلی‌گرم) بوده است (۴ و ۵). همچنین بررسی تغییرات بیوشیمیایی و بافتی کبد گوسفندان در اثر مسمومیت

صورت گرفته است، بنابراین با توجه به اهمیت فعالیت‌های بدنی و از سوی دیگر با توجه به این که تاکنون مطالعه‌ای در زمینه اثر فعالیت بدنی در اسب‌های تولید کننده سرم‌های درمانی صورت نگرفته است، لذا مطالعه حاضر با هدف تعیین و تأثیر تمرین‌های هوازی بر فاکتورهای کبدی در اسب‌های تولید کننده پادزهر انجام شد.

### روش بررسی

در این مطالعه تجربی که در سال ۱۳۹۶ انجام گرفت، تعداد ۱۸۰ رأس اسب‌نر موجود در ایستگاه تحقیقاتی کردان وابسته به موسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی به صورت نمونه‌های در دسترس از ایستگاه مذکور انتخاب شدند. پیش از گروه‌بندی، اسب‌های مورد مطالعه به وسیله یک دامپزشک ماهر در زمینه طب اسب، تحت معاینات بالینی از جمله؛ لنگش، کاهش وزن، ریزش مو، باز کردن زخم، از دست دادن اشتها، پرخاشگری، افسردگی، تعداد ضربان قلب و تنفس بالا، عرق کردن زیاد که ناشی از ورزش و گرما نباشد، دندان‌های آسیاب، گره فک، بیقراری، عدم خوراک کافی، مورد ارزیابی قرار گرفتند تا از لحاظ آزمایش‌های کلینیکال پاتولوژی اطمینان لازم به دست آید. اسب‌ها بر اساس اصول اخلاقی نگهداری حیوانات آزمایشگاهی و دسترسی آزادانه به آب و غذا و شرایط یکسان (۱۲:۱۲) تاریکی و روشنایی، رطوبت ۵۱ درصد، دما ۲۱ تا ۲۳ درجه سانتی گراد و هر اسب در فضای جداگانه‌ای در

اصطبل) نگهداری شدند. شرایط و کار با حیوانات طبق مقررات و با توجه به توصیه‌های قوانین حمایت از حیوانات آزمایشگاهی (NIH) انجام شد.

معیار انتخاب اسب‌ها؛ تعداد ۱۶ رأس اسب در محدوده سنی ۱۰-۵ سال و با میانگین وزن ۵۰۰-۴۵۰ انتخاب شده و در ۲ گروه به صورت تصادفی تقسیم‌بندی شدند. اسب‌های منتخب از نریان و نژاد mix breed در نظر گرفته شد. مدت زمان تحت شارژ (تزریق آنتی‌ژن) ۱/۴ سال در اسب‌های تولید کننده پادزهر پلی‌والان منظور گردید و اسب‌ها از لحاظ عدم التهاب در ناحیه سم و عدم لنگش وارد مطالعه شدند.

گروه‌های مدنظر شامل گروه؛ دریافت کننده آنتی‌ژن (تعداد ۸ رأس اسب) و گروه دریافت کننده آنتی‌ژن به همراه انجام تمرین‌های هوازی (تعداد ۸ رأس اسب) بود.

به طور کلی اسب‌های مورد بررسی در مطالعه حاضر طی یک دوره ۵ هفته‌ای تحت تزریق آنتی‌ژن قرار داشتند که پس از اتمام دوره ۵ هفته‌ای به منظور جمع‌آوری سرم به وسیله مؤسسه، طی ۳ مرحله در مدت ۱۰ الی ۱۴ روز از اسب‌ها خون‌گیری به عمل آمد و پس از آن ۴ هفته به اسب‌ها ریکاوری داده شد تا مجدداً برای دوره بعدی تزریق آنتی‌ژن آماده شوند. میزان و دفعات تزریق آنتی‌ژن بر اساس پروتکل مؤسسه سرم سازی رازی مورد تأیید قرار گرفت.

Polar equine M400 GPS-ride-MIT-Bluetooth smart اندازه‌گیری شد. تعداد ضربان قلب اسب‌ها در طول مدت زمان تمرین از طریق نرم‌افزار POLAR BEAT کنترل می‌شد. علاوه بر اندازه‌گیری تعداد ضربان قلب، میزان مسافت طی شده در هر جلسه تمرین به وسیله GPS دستگاه مذکور ثبت گردید.

برنامه تمرینی با توجه به دو دوره کامل تهیه سرم در اسب‌ها طراحی شد. بر همین اساس با در نظر گرفتن شرایط اسب‌ها در هر مرحله از چرخه، جزئیات به شرح ذیل می‌باشد؛ بر اساس اصل اضافه بار، جلسه اول تمرین با شدت ۵۰ درصد ضربان قلب بیشینه به مدت ۱۵ دقیقه شروع شد. به تدریج این افزایش تا هفته پنجم که هم‌زمان با ۵ هفته تزریق آنتی‌ژن در اسب‌ها بود، به شدت ۵۵ درصد ضربان قلب بیشینه و مدت ۲۵ دقیقه رسید. در هفته ششم به دلیل جمع‌آوری سرم از اسب‌ها و کاهش حجم خون، شدت تمرین‌ها به ۵۰ درصد ضربان قلب بیشینه و مدت زمان ۲۰ دقیقه کاهش یافت. این کاهش شدت در هفته هفتم نیز ادامه داشت. بعد از اتمام مرحله جمع‌آوری سرم و شروع دوره استراحت اسب‌ها، از هفته هشتم تا پایان هفته یازدهم تمرین‌ها با شدت ۵۵ درصد ضربان قلب بیشینه و مدت ۲۵ دقیقه به تدریج به ۶۰ درصد ضربان قلب بیشینه ادامه یافت (پایان دوره اول). با شروع دوره شارژ دوم، تمرین‌ها به شدت ۶۵ درصد ضربان قلب بیشینه و مدت ۲۵ دقیقه رسید که این شدت تا پایان هفته شانزدهم همراه با افزایش در مدت زمان تمرین به ۲۹ دقیقه، پایدار ماند.

تعداد ۸ رأس اسب تحت شارژ (تزریق آنتی‌ژن) در گروه آزمایش به مدت ۲۲ هفته و هر هفته سه جلسه با شدت متوسط در محوطه لوناژ در یک برنامه هوازی شرکت کردند. در پروتکل اجرایی مدنظر، به دلیل جلوگیری از ازدحام و برخورد اسب‌ها با یکدیگر، در هر نوبت فقط ۴ اسب وارد لوناژ می‌شدند. قبل از اجرای پروتکل اصلی، برنامه تمرینی به طور آزمایشی طی سه جلسه برگزار شد. این جلسه‌های آزمایشی جهت آشنایی با نحوه عملکرد دستگاه پلار در اسب‌ها و همچنین آشنایی آنها با محیط لوناژ انجام گرفت. جهت ارزیابی شدت تمرین در اسب‌ها، از ملاک تعداد ضربان قلب استفاده شد. به همین منظور، در ابتدا تعداد ضربان قلب بیشینه اسب‌ها تعیین شد. (ضربان قلب بیشینه در اسب ۲۱۰ تا ۲۴۰ ضربه در هر دقیقه تعریف شده است (۱۰). با توجه به هوازی بودن فعالیت در برنامه طراحی شده، بر اساس منابع معتبر تعداد ضربان قلب هنگام تمرین‌های هوازی در اسب‌ها کمتر از ۱۵۰ ضربه در دقیقه در نظر گرفته شد (۱۱). سپس اسب‌های گروه آزمایش، در پروتکل تمرینی ۲۲ هفته‌ای که شامل سه جلسه تمرین در هفته بود شرکت کردند (شکل ۱)، در حالی که گروه شاهد فاقد هرگونه فعالیت بدنی منظم بودند.

در هر جلسه، ۳۰ دقیقه قبل از اجرای پروتکل (درحالت استراحت داخل اصطبل)، هنگام اجرا و ۳۰ دقیقه پس از اتمام تمرین، تعداد ضربان قلب اسب‌ها به وسیله دستگاه پلار مدل

برای سنجش فاکتورهای کبدی در سرم از لوله‌های Clot Activator- GD 0100 CA 10ml ساخت کشور چین استفاده شد، در هر مرحله از خون‌گیری نمونه‌ها بلافاصله جهت جداسازی سرم به آزمایشگاه منتقل شدند.

سرم هر نمونه بلافاصله از طریق دستگاه سانتریفیوژ SIGMA 6K15 ساخت کشور آلمان و با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه جدا و در میکروتیوب‌های جداگانه ۲ میلی‌لیتر، در فریزر ۵۰ - درجه سانتی‌گراد نگهداری می‌شدند.

دستگاه لونژ دارای دو قسمت سخت افزاری و نرم‌افزاری بود که هر بخش ساخت شرکت DELTA مدل VFD-B و شرکت KINCO مدل MT4434T ساخت کشور چین می‌باشد و از طریق آن پروتکل تمرینی در اسب‌ها اجرا می‌شد. اندازه‌گیری تعداد ضربان قلب به وسیله دستگاه پلار مدل Polar equine M400 GPS-ride-MIT-Bluetooth smart اندازه‌گیری شد. اندازه‌گیری وزن اسب‌ها با استفاده از ترازوی دیجیتال شرکت OHASUS مدل EP241C ساخت کشور سوئد انجام گرفت.

داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم‌افزار SPSS و آزمون‌های آماری آنالیز واریانس ویژه اندازه‌گیری‌های مکرر (Repeated measure)، آزمون تعقیبی LSD تجزیه و تحلیل شدند.

مجدداً در هفته‌های هفدهم و هجدهم شدت تمرین به ۵۵ درصد ضربان قلب بیشینه و مدت آن به ۲۵ دقیقه کاهش یافت. با شروع هفته نوزدهم تا پایان هفته بیست و دوم میزان شدت همان ۶۵ درصد ضربان قلب بیشینه باقی ماند، اما بر مدت زمان برنامه تمرینی افزوده شد به طوری که در پایان هفته بیست و دوم مدت زمان تمرین به ۳۰ دقیقه رسید.

هر جلسه تمرین شامل ۳ دقیقه گرم کردن و ۳ دقیقه سرد کردن بود که با راه رفتن شروع شد و پروتکل اصلی شامل یورتمه رفتن بر اساس شدت و مدت تعیین شده در هر جلسه بود.

با توجه به هدف مطالعه حاضر، زمان‌های خون‌گیری از آزمودنی‌ها به ترتیب شامل مراحل ذیل می‌باشد؛ زمان ۰ (a): خون‌گیری پایه (۴۸ ساعت قبل از اولین نوبت تزریق آنتی ژن)، زمان ۱ (b): ۴۸ ساعت بعد از تمرین (هفته یازدهم - ریکاوری دوره اول) و زمان ۲ (c): ۴۸ ساعت بعد از تمرین (هفته بیست و دوم - ریکاوری دوره دوم) (شکل ۲).

نمونه‌های خونی از طریق سیاهرگ و داج در اسب‌ها صورت گرفت و بلافاصله داخل ونوجکت‌های Clot activator به صورت جداگانه جمع‌آوری شد. اسب‌ها هنگام خون‌گیری از لحاظ تغذیه‌ای خوراک خورده بودند (فاصله بین آخرین وعده غذایی و خون‌گیری ۲ ساعت در نظر گرفته شد) و از لحاظ هیجانی در وضعیت آرام قرار داشتند.



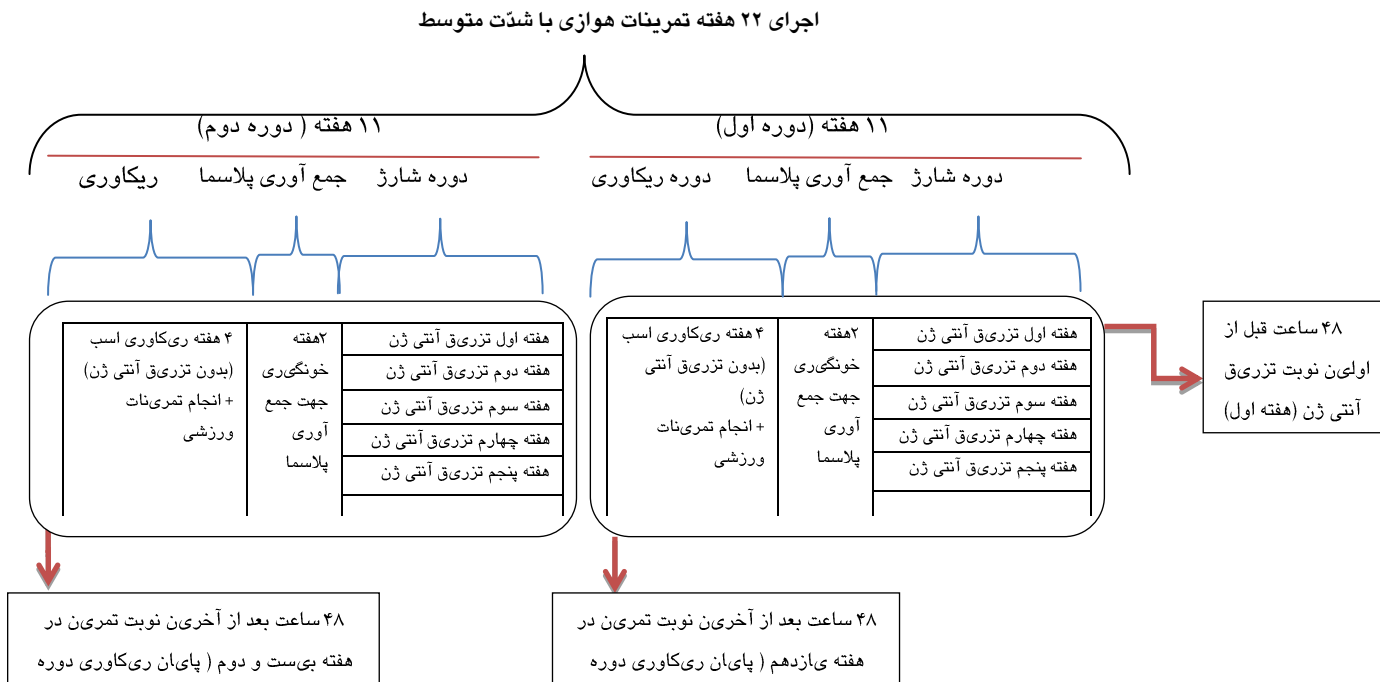
۱۵ دقیقه	۲۰ دقیقه	۲۰ دقیقه	۲۰ دقیقه	۲۵ دقیقه	۲۰ دقیقه	۲۰ دقیقه	۲۵ دقیقه	۲۵ دقیقه	۲۵ دقیقه
۵۰ درصد حداکثر ضربان قلب	۵۰ درصد حداکثر ضربان قلب	۵۵ درصد حداکثر ضربان قلب	۵۵ درصد حداکثر ضربان قلب	۵۵ درصد حداکثر ضربان قلب	۵۰ درصد حداکثر ضربان قلب	۵۰ درصد حداکثر ضربان قلب	۵۵ درصد حداکثر ضربان قلب	۶۰ درصد حداکثر ضربان قلب	۶۰ درصد حداکثر ضربان قلب
هفته اول	هفته دوم	هفته سوم	هفته چهارم	هفته پنجم	هفته ششم	هفته هفتم	هفته هشتم	هفته نهم	هفته دهم

برنامه تمرینی دوره شارژ اول

۲۵ دقیقه	۲۶ دقیقه	۲۷ دقیقه	۲۸ دقیقه	۲۹ دقیقه	۲۵ دقیقه	۲۵ دقیقه	۲۶ دقیقه	۲۰ دقیقه	۲۰ دقیقه	۲۰ دقیقه
۶۵ درصد حداکثر ضربان قلب	۶۵ درصد حداکثر ضربان قلب	۶۵ درصد حداکثر ضربان قلب	۶۵ درصد حداکثر ضربان قلب	۶۵ درصد حداکثر ضربان قلب	۵۵ درصد حداکثر ضربان قلب	۵۵ درصد حداکثر ضربان قلب	۶۵ درصد حداکثر ضربان قلب	۶۵ درصد حداکثر ضربان قلب	۶۵ درصد حداکثر ضربان قلب	۶۵ درصد حداکثر ضربان قلب
هفته دوازدهم	هفته سیزدهم	هفته چهاردهم	هفته پانزدهم	هفته شانزدهم	هفته هجدهم	هفته نوزدهم	هفته بیستم	هفته بیست و یکم	هفته بیست و دوم	هفته بیست و سوم

برنامه تمرینی دوره شارژ دوم

شکل ۱: اجرای دو دوره تمرینات ورزشی با شدت متوسط بر اساس تعداد ضربان قلب و رعایت اصل اضافه بار تمرینی در اسب های تولید کننده آنتی ونوم پلی والان



شکل ۲: جمع آوری نمونه های خونی در گروه دریافت کننده تمرینات ورزشی با در نظر گرفتن دوره های تزریق آنتی ژن در اسب های تولیدکننده آنتی ونوم پلی والان

### یافته‌ها

جدول ۱ میانگین و خطاهای استاندارد میانگین فاکتورهای کبدی ارزیابی شده را در اسب‌های مورد بررسی به تفکیک گروه‌های مورد مطالعه، در زمان صفر (قبل از شروع پروتکل)، زمان یک (پایان دوره اول ۱۱ هفته ای)، زمان دو (پایان دوره ۲۲ هفته‌ای) نشان می‌دهد. با مطالعه این جدول مشخص می‌گردد که فعالیت آنزیم AST در زمان یک در مقایسه با زمان صفر کاهش و در زمان دو افزایش یافته است. انجام آزمون‌های آماری دلالت بر آن دارد که اختلاف در بین مراحل اندازه‌گیری از نظر آماری معنی‌دار می‌باشد ( $p < 0.05$ ). همچنین مقایسه نتایج بین دو گروه زهر و گروه زهر+تمرین معنی‌دار می‌باشد و به این معنا می‌باشد که پس از خارج کردن تأثیر پیش‌آزمون

اختلاف معنی‌داری بین میانگین دو گروه در زمان یک و دو وجود دارد ( $p < 0.05$ ). بررسی نتایج تغییرات فعالیت آنزیم ALT نشان می‌دهد اختلاف بین فعالیت این آنزیم در بین مراحل اندازه‌گیری از نظر آماری معنی‌دار نمی‌باشد ( $p > 0.05$ ). علاوه بر این، مقایسه نتایج بین دو گروه زهر و گروه زهر+تمرین معنادار می‌باشد ( $p < 0.05$ ). بر اساس نتایج به دست آمده در (جدول ۱) روند تغییرات AST در هر دو گروه افزایشی بوده و افزایش بیشتر در گروه زهر+تمرین مشاهده گردید ( $p < 0.05$ ), اما این میزان از دامنه طبیعی فراتر نرفت (میزان طبیعی AST اسب به طور میانگین ۴۱۲-۱۶۰ U/L)؛ در حالی که افزایش قابل توجه ALT در گروه زهر ( $p < 0.05$ ) و کاهش معنی‌دار آن در گروه

جدول ۱ میانگین و خطاهای استاندارد میانگین فاکتورهای کبدی ارزیابی شده را در اسب‌های مورد بررسی به تفکیک گروه‌های مورد مطالعه، در زمان صفر (قبل از شروع پروتکل)، زمان یک (پایان دوره اول ۱۱ هفته ای)، زمان دو (پایان دوره ۲۲ هفته‌ای) نشان می‌دهد. با مطالعه این جدول مشخص می‌گردد که فعالیت آنزیم AST در زمان یک در مقایسه با زمان صفر کاهش و در زمان دو افزایش یافته است. انجام آزمون‌های آماری دلالت بر آن دارد که اختلاف در بین مراحل اندازه‌گیری از نظر آماری معنی‌دار می‌باشد ( $p < 0.05$ ). همچنین مقایسه نتایج بین دو گروه زهر و گروه زهر+تمرین معنی‌دار می‌باشد و به این معنا می‌باشد که پس از خارج کردن تأثیر پیش‌آزمون



افزایش چشمگیری داشته است ولیکن در گروه زهر+تمرین میزان فعالیت آنزیم GGT به مقادیر پایه نزدیک گردیده است.

### بحث

با توجه به اثرات زهر مارها بر فاکتورهای کبدی و تأثیر مستقیم آن بر سلامت اسبها و متعاقباً تأثیر بر تولید سرم‌های درمانی می‌توان با به کارگیری برنامه‌هایی صحیح از جمله؛ استفاده از فعالیت‌های ورزشی به عنوان روش غیر دارویی در حفظ و ارتقا سلامت دام بهره گرفت (۷). لذا هدف از پژوهش حاضر تعیین و تأثیر تمرینات هوازی بر فاکتورهای آنزیمی کبد آسپارات آمینوترانسفراز (AST)، آلانین آمینوترانسفراز (ALT)، آلکالین فسفاتاز (ALP) و گاماگلوتامیل ترانسفراز (GGT) در اسب‌های تولید کننده پادزهر بود.

زهر+تمرین ( $p < 0/05$ ) در مقایسه با مقادیر پایه بوده است. بررسی‌های آماری نشان می‌دهد اختلاف بین فعالیت آنزیم ALP در بین مراحل اندازه‌گیری تنها در زمان یک معنی‌دار ( $p < 0/05$ ) و در سایر مراحل از نظر آماری معنی‌دار نمی‌باشد ( $p > 0/05$ ). علاوه بر این، مقایسه نتایج بین دو گروه زهر و گروه زهر+تمرین معنی‌دار می‌باشد ( $p < 0/05$ ). علاوه بر این، تغییرات فعالیت آنزیم ALP در دو گروه دارای روند صعودی - نزولی است که در پایان زمان دوم کاهش فعالیت این آنزیم در گروه زهر نسبت به گروه زهر+تمرین چشم‌گیرتر است ( $p < 0/05$ ) و میزان فعالیت این آنزیم در پایان مرحله دوم به مقادیر قبل از فعالیت در گروه زهر+تمرین نزدیک شده است. همچنین بررسی تغییرات فعالیت آنزیم GGT در مراحل مختلف حاکی از اختلاف معنی‌دار ( $p < 0/05$ )، در دو گروه است، به طوری که در پایان مرحله دوم میزان فعالیت آنزیم GGT در گروه زهر نسبت به مقادیر پایه

جدول ۱: میانگین و خطای استاندارد میانگین فاکتورهای کبدی در زمان‌های مختلف در اسب‌های تحت بررسی

فاکتور هماتولوژیک به تفکیک گروه‌های مورد مطالعه	قبل از اجرا پروتکل (زمان صفر) a	پایان دوره اول (زمان یک) b	پایان دوره دوم (زمان دو) c
میانگین ± انحراف معیار	میانگین ± انحراف معیار	میانگین ± انحراف معیار	میانگین ± انحراف معیار
آسپارات آمینوترانسفراز	۲۹۹/۱۷±۷۵/۱۸ <sup>bcC</sup>	۲۹۳/۰۰±۴۰/۲۵ <sup>bcC</sup>	۳۳۱/۵۰±۴۶/۲۷ <sup>abAB</sup>
گروه زهر+تمرین			
گروه زهر	۲۸۱/۸۳±۴۵/۴۶ <sup>C</sup>	۲۸۹/۶۷±۵۵/۹۸ <sup>C</sup>	۲۹۲/۰±۴۴/۸۶ <sup>AB</sup>
آلانین آمینوترانسفراز	۱۳/۱۷±۳/۰۶ <sup>C</sup>	۱۰/۵۰±۱/۸۷ <sup>C</sup>	۱۱/۱۷±۱/۱۶ <sup>AB</sup>
گروه زهر+تمرین			
گروه زهر	۱۲/۸۳±۲/۹۹ <sup>C</sup>	۱۱/۳۳±۲/۲۵ <sup>C</sup>	۱۳/۳۳±۱/۶۳ <sup>AB</sup>
آلکالین فسفاتاز	۳۹۸/۶۷±۷۷/۵ <sup>bC</sup>	۴۷۴/۰±۱۰۵/۲۱ <sup>aC</sup>	۳۹۹/۰±۷۲/۲۸ <sup>AB</sup>
گروه زهر+تمرین			
گروه زهر	۳۷۷/۰±۵۲/۶۰ <sup>C</sup>	۴۲۹/۵±۸۳/۷۳ <sup>C</sup>	۳۱۱/۱۷±۳۵/۶۵ <sup>AB</sup>
گاماگلوتامیل ترانسفراز	۱۲/۹۳±۰/۸۰ <sup>C</sup>	۱۳/۴۵±۱/۳۷ <sup>C</sup>	۱۳/۰۵±۱/۱۶ <sup>abAB</sup>
گروه زهر+تمرین			
گروه زهر	۱۲/۵۸±۰/۳۷ <sup>C</sup>	۱۲/۵۵±۱/۴۹ <sup>C</sup>	۱۴/۲۶±۰/۹۹ <sup>AB</sup>

حروف کوچک غیریکسان در هر ردیف نمایانگر اختلاف آماری معنی‌دار در زمان‌های نمونه‌گیری در فاکتورهای مختلف است. حروف بزرگ یکسان در هر ستون نمایانگر اختلاف آماری معنی‌دار بین دو گروه در زمان‌های نمونه‌گیری در فاکتورهای مختلف است.

معنی‌داری در سطح احتمال ۹۵ درصد بررسی شده است ( $p < 0/05$ )

آنزیم‌های ALT, AST به طور معنی‌داری افزایش یافته است. افزایش فعالیت آنزیم‌های AST می‌تواند ناشی از ورود این آنزیم‌ها به سرم در اثر آسیب در سلول‌های عضلانی باشد (۱۲). از طرفی بررسی نتایج تعدادی از پژوهش‌ها در ارتباط با اثر فعالیت بدنی بر آنزیم‌های ALT, AST نتایج مشابهی با پژوهش حاضر داشته است. در مطالعه دمیرتاس نتایج حاکی از افزایش مقادیر AST بلافاصله پس از رقابت بود که در ۶۰ دقیقه ریکواری بعد از فعالیت به مقادیر پایه بازنگشت، اما تغییرات در محدوده نرمال گزارش شده است (۱۴).

همچنین ارزیابی فاکتورهای بیوشیمیایی در اسب‌های تمرین کرده، افزایش معنی‌داری در آنزیم‌های درگیر در عملکرد کبد، مانند AST و ALT بلافاصله پس از فعالیت نشان داده است (۸). افزایش متوسط در فعالیت آنزیم AST سرم پس از فعالیت استقامتی باعث هیچ‌گونه تغییر دایمی در وضعیت سلول‌های عضلانی نشده است. برخلاف آنزیم‌های عضلانی، تنها اثرات جزئی از تمرین‌های شدید یا زیر بیشینه بر روی آنزیم‌های کبدی مشاهده گردیده است، در واقع هر چند که فعالیت آنزیم‌های ALT و AST بلافاصله پس از تمرین افزایش یافته، اما این افزایش از لحاظ بالینی حایز اهمیت نبوده است (۱۴).

با توجه به این که آنزیم ALT در سلول‌های ارگان‌های مختلف از جمله میوکارد و سلول‌های عضلانی وجود دارد، ولیکن بیشترین میزان آن در

پژوهش‌های مختلفی به صورت جداگانه اثر فعالیت ورزشی و زهر را بر عوامل کبدی مورد بررسی قرار دادند. در مطالعه حاضر به دنبال فعالیت هوازی در اسب‌های تولید کننده پادزهر، تغییرات متفاوتی در فاکتورهای کبدی مشاهده گردید. بر اساس نتایج به دست آمده در پژوهش حاضر میزان AST در هر دو گروه افزایش یافت که افزایش بیشتر در گروه زهر + تمرین مشاهده گردید، اما این میزان از دامنه طبیعی فراتر نرفت (میزان طبیعی AST اسب به طور میانگین ۴۱۲-۱۶۰ واحد در لیتر)، در حالی که افزایش قابل توجه ALT در گروه زهر و کاهش معنی‌دار آن در گروه زهر+تمرین در مقایسه با مقادیر پایه مشاهده شد. در چندین مطالعه صورت گرفته بر اسب‌های تولید کننده پادزهر، نتایج یکسانی با تحقیق حاضر، گزارش شده است. در مطالعه یامیلث بررسی تغییرات فعالیت آنزیم‌های ALT و AST سرم در اسب‌های تولید کننده پادزهر، افزایش معنی‌دار و قابل توجهی نسبت به مقادیر پایه نشان داده است (۴). در همین راستا، افزایش معنی‌دار سطوح ALT, AST سرم پس از تزریق زهر در مطالعه امران گزارش شده است (۵). همچنین میزان فعالیت آنزیم‌های ALT, AST در اثر مسمومیت با زهر مار جعفری در مقایسه با سرم گروه کنترل افزایش معنی‌داری نشان داده است (۶). بر اساس نتایج به دست آمده در سرم آزمودنی‌های مارگزیده نسبت به گروه کنترل فعالیت

بازگشته است. در همین رابطه، نتایج مطالعه یامیلث(۴) نشان داد، فعالیت آنزیم GGT در طول مراحل ایمنی‌سازی در اسب‌های تولید کننده آنتی‌وونوم پلی‌والان، بعد از دو مرحله آخر تزریق زهر(۴۵ و ۵۰ میلی‌گرم) افزایش یافته است که با نتایج مطالعه حاضر هم‌خوانی دارد. علاوه بر این در مطالعه دیگری تغییرات آنزیم ALP در اسب‌های تولید کننده پادزهر ضد مارگزیدگی نشان داد، میزان ALP سرم صرف نظر از ادجوانت مورد استفاده در همه اسب‌ها ثابت بوده و مقادیر آن در محدوده نرمال گزارش شده است که با نتایج مطالعه حاضر هم‌سو بود(۱۶).

از طرفی بسیاری از پژوهش‌ها اثرات محافظتی فعالیت منظم در افزایش سلامت دام نشان دادند. افزایش فعالیت آنزیم ALP در اسب‌های تروبرد استقامتی(۱۴) و تمرین‌ها با شدت متوسط تا زیاد گزارش شده است(۱۷). افزایش فعالیت آنزیم ALP سرم به دنبال فعالیت بدنی می‌تواند نشانه استرس ناشی از فشار استخوانی بالا در اثر تمرین‌ها با شدت زیاد و یا منعکس کننده فعالیت استئوپلاستی در استخوان باشد که چنین افزایش قابل توجهی احتمالاً تنها در تمرین‌های شدید و پرفشار رخ می‌دهد(۱۸). بنابراین با توجه به این که در پژوهش حاضر، مقادیر ALP در پایان مرحله دوم به مقادیر قبل از فعالیت نزدیک شده است می‌توان گفت برنامه تمرینی مورد

سلول‌های کبد موجود می‌باشد و در بیشتر موارد آسیب‌های کبدی افزایش آنزیم ALT بیشتر از افزایش آنزیم AST خود را نشان می‌دهد(AST<ALT)(۱۵) بنابراین، شاخص حساس‌تری برای تعیین آسیب دیدگی سلول‌های کبدی به شمار می‌رود و با توجه به روند تغییرات فعالیت آنزیم ALT در پژوهش حاضر می‌توان ادعان داشت برنامه تمرینی مورد استفاده گونه فشار مازادی بر اسب‌ها نداشته و در واقع کاهش فعالیت آنزیم ALT نسبت به سطوح پایه، احتمالاً در اثر تمرین رخ داده است. علاوه بر این در راستای بررسی غلظت سرمی آنزیم‌های GGT, ALP در تشخیص و پیش‌بینی آسیب‌های کبدی در اسب‌های تحت بررسی، نتایج مطالعه حاضر نشان داد سطح آنزیم ALP در دو گروه دارای روند صعودی - نزولی است که در پایان مرحله دوم کاهش فعالیت آنزیم ALP در گروه زهر نسبت به گروه زهر + تمرین چشمگیرتر می‌باشد و میزان فعالیت این آنزیم در پایان مرحله دوم به مقادیر قبل از فعالیت در گروه زهر + تمرین نزدیک شده است.

بررسی تغییرات فعالیت آنزیم GGT در مراحل مختلف اندازه‌گیری، حاکی از اختلاف معنی‌دار در دو گروه است، به طوری که در پایان مرحله دوم میزان فعالیت آنزیم GGT در گروه زهر نسبت به مقادیر پایه افزایش چشم‌گیری داشته است، ولیکن در گروه زهر + تمرین میزان فعالیت آنزیم GGT به مقادیر پایه

استفاده در این پژوهش استرس مازادی بر اسبها نداشته است.

بر اساس یافته‌های این پژوهش تمرین باعث افزایش معنی‌داری در فعالیت آنزیم GGT گردید، که این نتیجه با نتایج گیوسپه و آدام هم‌سو می‌باشد (۲۰ و ۱۹). پارامترهای درگیر در عملکرد کبد، مانند آنزیم GGT بلافاصله پس از فعالیت افزایش و در دوره ریکاوری کاهش می‌یابد که نشان دهنده افزایش کار کبد است. با این حال، جالب توجه است که در اسب‌های تحت بررسی با مقادیر بالای GGT سرمی، هم زمان با کاهش شدت تمرین، میزان فعالیت آنزیم GGT به طور قابل توجهی کاهش یافته است (۲۱). با توجه به این که در مطالعه حاضر، در پایان مرحله دوم میزان فعالیت آنزیم GGT در گروه زهر نسبت به مقادیر پایه افزایش چشمگیری یافته، اما در گروه زهر + تمرین میزان فعالیت آنزیم GGT به مقادیر پایه نزدیک شده است. می‌توان گفت احتمالاً تمرین بدنی مورد استفاده در گروه زهر + تمرین عامل تعدیل کننده اثرات زهر در این گروه است، چرا که در بررسی نمونه‌های انسانی نیز کاهش در فعالیت آنزیم GGT در اثر تمرین‌های منظم گزارش شده است (۲۲).

از محدودیت‌های مطالعه حاضر عدم کنترل حالات خلقی و هیجانی اسبها در زمان خون‌گیری و زمان تغذیه در طول دوره تحقیق بود که می‌تواند بر مقادیر فاکتورهای مورد ارزیابی اثرگذار باشد. لیکن

با توجه به تازگی موضوع پژوهش، پیشنهاد می‌گردد دوره تمرینی در مدت زمان طولانی‌تر و با شدت بالاتری در اسب‌های تولید کننده پادزهر صورت گیرد.

### نتیجه‌گیری

با توجه به یافته‌های پژوهش حاضر می‌توان نتیجه‌گیری کرد که احتمالاً تمرین بدنی مورد استفاده در گروه زهر + تمرین عامل تعدیل کننده اثرات زهر در این گروه بوده است. علاوه بر این، احتمالاً مدت و تعداد روزهای تمرینی بیشتری برای ایجاد سازگاری مناسب جهت تعدیل اثرات زهر بر فاکتورهای کبدی مورد نیاز است. بنابراین مدت زمان، شدت و نوع تمرین می‌تواند بر نتایج پژوهش حاضر تأثیرگذار بوده باشد.

### تقدیر و تشکر

این مقاله بخشی از پایان نامه دکتری فیزیولوژی ورزشی با کد ۲۳۰۱۳ دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران جنوب می‌باشد، که با حمایت این دانشگاه انجام شد، نویسندگان از تمامی کارکنان ایستگاه تحقیقاتی کردان و بخش سروتراپی مؤسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی با مجوز شماره ۱۲۹۳/۲۵۰ که در انجام این مطالعه همکاری نمودند، کمال تشکر و قدردانی را دارد.

## REFERENCES:

1. Babaei A, Zamani Alavije F, Dehdari T. Investigation of temporal pattern of scorpion sting and snakebite incidence in patients referred to masjedsoleiman's main hospital, during 24 months from 21 march 2008 to 20 march 2009. *Improving Safety and Preventing Injuries* 2013;1(4):190-7.
2. Seyedian R, Hoseini M, Seyedian S. Neutralization effects of Iranian *Vipera lebetina* biological properties by Razi institute antivenom. *South Medical* 2013; 16(3): 215-24.
3. GHarezi A, Nazari A, Abasi M. Deleterious Effects of *Echis carinatus* Venom on Liver and Lung Tissues of a Bird Species 2013; 5(3):55-63.
4. Ricardo E. Clinical and laboratory alterations in horses during immunization with snake venoms for the production of polyvalent(Crotalinae)antivenom. *JToxicon*1997; 35(1): 81-90.
5. Omran M. Serum biochemical and hormonal parameters as biomarkers for the toxic effects of Egyptian cobra (*Naja haje*) envenomation. *Journal of Natural Toxins* 1997; 6(1): 69-84.
6. Jarrar M. Histological alterations and biochemical changes in the liver of sheep following *Echis coloratus* envenomation. *King Saud University Saudi Journal of Biological Sciences* 2011; 18: 169-74.
7. Slentz C, Bateman L. Effects of aerobic vs resistance training on visceral and liver fat stores, liver enzymes, and insulin resistance by HOMA in overweight adults from stride at/rt. *American Journal of Physiology Endocrinology and Metabolism* 2011; 301(5): 033-9.
8. Fazio F, Casella S, Assenza A. Blood biochemical changes in show jumpers during a simulated show jumping test. *Veterinarski Arhiv* 2014; 84(2): 143-52.
9. Lambertucci R, Levada A. Effects of aerobic exercise training on antioxidant enzyme activities and mRNA levels in soleus muscle from young and aged rats. *Mech Ageing Dev* 2006;128: 267-75.
10. Evans D. *Training and Fitness in Athletic Horses*. Australia :Sydney; 2000;46-50.
11. Gibbsa PG, Potterb GD, Nielsenc BD, Moyere W. Scientific principle for conditioning race and performance horses . *The Professional Animal Scientist J* 1995; 11(4): 195-203.
12. Emam S, Nikzamir A. Evaluation of hematological and biochemical parameters in snakebite patients referred to razi hospital, Ahwaz, Iran. *Pak J Med Sci* 2008; 24(5): 712-18.
13. Demirtas B. Physical, haematological and biochemical responses of Arabian horses to Jereed (Javelin Swarm) competition. *Kafkas Univ Vet Fak Derg* 2018; 24(2): 219-26.
14. Jagric M. Plasma malondialdehyde, biochemical and haematological parameters in standardbred horses during a selected field exercise test. *Acta Veterinaria* 2012; 62(1): 53-65.
15. Mellati M. *Enzyme biology and clinical aspects*. Tehran: Hayyan; 1996; 145-148.
16. Waghmare AB, Salvi NC, Deopurkar RL. Evaluation of health status of horses immunized with snake venom and montanide adjuvants, IMS 3012 (nanoparticle), ISA 206 and ISA 35 (emulsion based) during polyvalent snake antivenom production: Hematological and biochemical assessment. *J Toxicon* 2014; 82(2): 83-92.
17. Padalino B, Rubino G, Centoducati P, Petazzi F. Training versus overtraining: evaluation of Two Protocols. *Journal of Equine Veterinary Science* 2007; 27(1): 28-31.
18. Rose RJ, Hodgson DR. Haematological and plasma biochemical parameters in endurance horses during training. *J Equine Vet* 1982; 14: 144-8.
19. Giuseppe P, Casella S, Giannetto C. Haematological and haematochemical responses to training and competition in standardbred horses. *J Comparative Clinical Pathology* 2010; 19: 101-95.
20. Adamu L, Adzahan N. Responses of serum biochemical parameters, electrolytes and heart rate in an 80km endurance race. *J Vet Adv* 2014; 4(1): 329-37.
21. Snow DH, Harris P. Enzymes as markers of physical fitness and training of racing horses. *Adv Clin Enzymol* 1988; 6: 251-5.
22. Zelbersagi SD, Nitzan KR. Role of leisure time physical activity in nonalcoholic fatty liver disease: A population -based study. *Hepatology* 2008; 48(6): 1791-8.

# The Effect of Aerobic Exercise on liver Factors in Antidote Producing Horses

Razavi F<sup>1</sup>, Zolfagharian H<sup>2</sup>, Banaeifar AA<sup>1\*</sup>, Eslami R<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Department of Exercise Physiology, South Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran, <sup>2</sup>Department of Human Serum Razi Vaccine and Serum Research Institute, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran, <sup>3</sup>Department of Exercise Physiology, Allameh Tabataba'i University, Tehran, Iran.

Received: 24 May 2019 Accepted: 02 Dec 2019

## Abstract

**Background & aim:** Iran is one of the unique producers of antidote in the Middle East. The production of high-grade therapeutic serums and fewer side effects have a major impact on public health. Using sports activities as a non-pharmaceutical method can play an important role in maintaining and promoting animal health. The aim of the present study was to determine the effect of aerobic training on liver enzymatic factors aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), alkaline phosphatase (ALP) and gamma glutamyl transferase (GGT) in horse breeding horses.

**Methods:** In the present experimental study conducted in 2016, 16 horses in the antidote production cycle were randomly divided into two groups of venom and venom+training group for 22 weeks. The training protocol consisted of 3 sessions of aerobic exercise per week with moderate intensity. Blood samples were taken from weed vein at 3 different times: before the start of the protocol, at the end of the 11-week period, and at the end of the 22-week period. The activity of liver enzymes of AST, ALT, ALP, GGT was evaluated using Pars test kits manufactured using auto analyzer. Data were analyzed by Repeated Measure ANOVA with LSD test and SPSS 21 for data analysis at alpha level less than 0.05.

**Results:** The data analysis indicated a significant decrease in the activity of ALP and GGT enzymes after 22 weeks of aerobic exercise training in the venom + training group ( $p=0.03$ ). There was also a significant decrease in the activity of AST ( $p=0.02$ ) and ALT ( $p=0.001$ ) enzymes as a result of exercise training compared to the control group.

**Conclusion:** According to the results of this study, aerobic training seems to be effective in promoting horse health and reducing the effects of venom by reducing the levels of liver enzymatic activity (AST, ALT, GGT, ALP) in antidote producing horses. Further research in this area is recommended.

**Keywords:** Aerobic exercise, Hepatic factors, Horse, Antidote

---

**Corresponding author:** Banaeifar AA, Department of Exercise Physiology, South Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

**Email:** alibanaeifar@yahoo.com

**Please cite this article as follows:**

Razavi F, Zolfagharian H, Banaeifar AA, Eslami R. The Effect of Aerobic Exercise on liver Factors in Antidote Producing Horses. Armaghane-danesh 2020; 24(5)(2): 922-934.