



## تأثیر تمرین هوازی و مکمل یاری ال-کارنیتین بر برخی فاکتورهای آپوپتوز کبد موش صحرایی دیابتی

سید اسماعیل جباری: دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزشی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

ماندانا غلامی: استادیار، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشکده ادبیات، علوم انسانی و اجتماعی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران (\*نویسنده مسئول)

m.gholami@srbiau.ac.ir

حجت الله نیک بخت: دانشیار، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشکده ادبیات، علوم انسانی و اجتماعی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

نادر شاکری: استادیار، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشکده ادبیات، علوم انسانی و اجتماعی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

فرشاد غزالیان: استادیار، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشکده ادبیات، علوم انسانی و اجتماعی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

### چکیده

#### کلیدواژه‌ها

تمرین هوازی،

ال کارنیتین، دیابت،

Bcl2،

BAX،

آپوپتوز

تاریخ دریافت: ۹۸/۰۲/۲۰

تاریخ پذیرش: ۹۸/۰۵/۲۱

**زمینه و هدف:** یکی از راه‌های کاهش آپوپتوز در بدن، مصرف آنتی اکسیدان‌های غیرآنزیمی و دیگری ورزش مناسب می باشد.

هدف از این پژوهش تأثیر تمرین هوازی و مصرف ال کارنیتین بر برخی از فاکتورهای آپوپتوز کبد موش صحرایی دیابتی بود.

**روش کار:** در این مطالعه تجربی، تعداد ۴۵ سر موش نر نژاد ویستار در محدوده وزنی ۲۰۰ تا ۳۰۰ گرم، به طور تصادفی به

شش گروه شش، ۲) گروه کنترل سالم، ۳) گروه کنترل دیابتی، ۴) گروه دیابتی دریافت کننده ال کارنیتین، ۵) گروه دیابتی تمرین

هوازی ۶) گروه دیابتی تمرین هوازی و دریافت کننده ال کارنیتین تقسیم شدند. رت‌ها با تزریق نیکوتین آمید و تک دوز STZ به

مقدار ۵۵ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن دیابتی شدند. رت‌های دریافت کننده ال کارنیتین روزانه ۱۰۰ میلی گرم ال

کارنیتین را به صورت خوراکی دریافت کردند. پروتکل تمرینی هوازی بر روی تردمیل انجام شد.

**یافته‌ها:** نتایج نشان داد مداخله ترکیبی تمرین هوازی و مکمل ال کارنیتین بر فاکتور Bcl2 بافت کبد موش‌های مبتلا به

دیابت تأثیر معنی داری دارند، اما تمرین هوازی و مکمل ال کارنیتین به تنهایی تأثیر معنی داری ندارند. همچنین نتایج نشان داد

شش هفته تمرین هوازی و مداخله ترکیبی تمرین هوازی و مکمل ال کارنیتین بر فاکتور BAX بافت کبد موش‌های مبتلا به

دیابت تأثیر معنی داری دارند، اما استفاده از مکمل به تنهایی تأثیر معنی داری ندارد.

**نتیجه گیری:** مصرف مکمل ال-کارنیتین همراه با فعالیت ورزشی منظم، می تواند اثرات سودمندی بر بهبود آپوپتوز بافت کبد در

آزمودنی‌های دیابتی نوع ۲ داشته باشد.

**تعارض منافع:** گزارش نشده است.

**منبع حمایت کننده:** حامی مالی نداشته است.

شیوه استناد به این مقاله:

Jabbari SE, Gholami M, Nikbakht H, Shakeri N, Ghazalian F. Effect of aerobic training and L-carnitine supplementation on some apoptotic factors in diabetic rat liver. Razi J Med Sci. 2019;26(7):131-140.

\*انتشار این مقاله به صورت دسترسی آزاد مطابق با [CC BY-NC-SA 3.0](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/3.0/) صورت گرفته است.

## Effect of aerobic training and L-carnitine supplementation on some apoptotic factors in diabetic rat liver

**Seyyed Esmail Jabbari**, PhD Student in Exercise Physiology, Department of Physical Education and Sport Sciences, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

**Mandana Gholami**, Assistant Professor, Department of Physical Education and Sport Sciences, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran (\*Correspondance author) [m.gholami@srbiau.ac.ir](mailto:m.gholami@srbiau.ac.ir)

**Hojjatollah Nikbakht**, Department of Physical Education and Sport Sciences, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

**Nader Shakeri**, PhD, Department of Physical Education and Sport Sciences, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

**Farshad Ghazalian**, Assistant Professor, Department of Physical Education and Sport Sciences, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

### Abstract

**Background:** The use of non-enzymatic antioxidants and proper exercise can have a positive effect on decreasing apoptotic side effect. The purpose of this study was to investigate the effect of aerobic training and consumption of l-carnitine on some of the apoptosis factors in the liver of diabetic rats.

**Methods:** In this experimental study, 45 male Wistar rats (200-300 gr) were randomly divided into six groups: 1) sham group, 2) healthy control group 3) diabetic control group, 4) diabetic group receiving l-carnitine, 5) diabetic group of aerobic training, 6) diabetic group of aerobic training and receiving l-carnitine. Rats were diabetic with nicotinic amide and a single dose of STZ of 55 mg / kg body weight. Rats in the L-carnitine group received daily 100 mg of l-carnitine orally. The aerobic exercise protocol done on the treadmill.

**Results:** Combined intervention of aerobic exercise and supplementation of l-carnitine had a significant effect on Bcl2 factor in liver tissue in diabetic rats. However, six weeks of aerobic exercise and supplementation alone do not have a significant effect, six weeks of aerobic training and combined intervention had significant effect on BAX factor in liver tissue in diabetic rats but supplementation of l-carnitine alone had no significant effect.

**Conclusion:** L-carnitine supplementation intake with regular exercise can have beneficial effects on apoptotic improvement in rats with type 2 diabetes.

**Conflicts of interest:** None

**Funding:** None

### Keywords

Aerobic training,

L-carnitine,

Diabetes,

Bcl2,

BAX,

Apoptose

Received: 10/05/2019

Accepted: 12/08/2019

### Cite this article as:

Jabbari SE, Gholami M, Nikbakht H, Shakeri N, Ghazalian F. Effect of aerobic training and L-carnitine supplementation on some apoptotic factors in diabetic rat liver. Razi J Med Sci. 2019;26(7):131-140.

\*This work is published under [CC BY-NC-SA 3.0 licence](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/3.0/).

هنوز مورد تردید است. یکی از راه‌های درمانی و پیشگیری، فعالیت بدنی به شکل منظم برای بیماران می‌باشد. اما اینکه چه ورزشی و با چه نوع پروتکلی، سوالی است که محققین همیشه در پی کشف آن هستند.

با توجه به تولید رادیکال‌های آزاد توسط دیابت و فعالیت ورزشی و نهایتاً ایجاد آپوپتوز یکی از مواردی که توجه محققین را به خود جلب کرده است یافتن راه کارهایی برای کاهش عواقب منفی ناشی از دیابت و تولید رادیکال‌های آزاد است. در همین زمینه، مصرف عوامل آنتی‌اکسیدانی می‌تواند موثر باشد.

یکی از موادی که خاصیت آنتی‌اکسیدانی دارد ال کارنیتین می‌باشد. ال کارنیتین آمینو اسید غیر پروتئینی است که از آمینو اسیدهای لیزین و متیونین تولید می‌شود (۸). ال کارنیتین اثر آنتی‌اکسیدانی، ضد التهاب و ضد تکثیر داشته، بتا‌اکسیداسیون اسیدهای چرب زنجیره بلند را تسهیل کرده و غشاء سلولی را تثبیت می‌کند (۹). تحقیقات مختلفی در زمینه تأثیر ال کارنیتین بر فاکتورهای آپوپتوزی انجام شده است و نتایج ضد و نقیضی هم به دست آمده است (۱۰ و ۱۱).

حال با توجه به لزوم کاهش آثار منفی دیابت و عدم وجود اطلاعات مکفی در زمینه تأثیر تمرین هوازی و مصرف ال کارنیتین بر این فاکتورها، محقق در پی کشف این سوال است که آیا فعالیت هوازی و مصرف ال کارنیتین بر فاکتورهای آپوپتوزی کبد موش صحرایی، تأثیری دارد یا خیر؟

### روش کار

در تحقیق تجربی حاضر، اصول اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی بر مبنای دستورالعمل کمیته اخلاق پژوهشگاه علوم ورزشی، از جمله در دسترس بودن آب و غذا، و شرایط نگهداری مناسب مد نظر قرار گرفت و چگونگی قربانی کردن موش‌ها رعایت شد. در پژوهش حاضر ۴۵ سر موش در محدوده وزنی ۲۰۰ تا ۳۰۰ گرم که در مرکز پرورش حیوانات آزمایشگاهی سرم‌سازی رازی تهیه و به مرکز تحقیقات منتقل شدند. حیوانات

دیابت یک مشکل جدی پزشکی است که شیوع آن در سراسر جهان به طور چشمگیری در حال افزایش است. افزایش قند خون مشخصه اصلی این بیماری بوده و در طولانی مدت سبب آسیب به بافت‌های مختلف بدن می‌شود؛ هرچند سازو کار آن در بافت‌های مختلف متفاوت است (۱).

یکی از این اندام‌ها کبد می‌باشد که در متابولیسم، حفظ و برقراری سطح گلوکز خون در محدوده طبیعی نقش موثری دارد بطوریکه افزایش قند خون از طریق افزایش تولید محصولات نهایی گلیکوزیله پیشرفته باعث تسهیل در تولید رادیکال‌های آزاد، از طریق اختلال در تولید زداينده‌های درون‌زاد رادیکال‌های آزاد مثل سوپر اکسید دیسموتاز و کاتالاز می‌گردد که به آسیب سلول منجر می‌شود (۲).

به نظر می‌رسد که برای درمان این بیماری که اکنون به صورت یک اپیدمی نهفته محسوب می‌شود، باید راه‌های دیگری را جستجو نمود. سه نوع ضایعه مهم در هیپاتوپاتی دیابتی مد نظر می‌باشد: ۱- ضایعات سلولی ۲- هیپاتواسکلروز ۳- نکروز هیالینی اسکروز (۳).

دیابت همچنین می‌تواند باعث صدمه بافتی و مرگ سلولی یا آپوپتوز شود. آپوپتوز مرگ برنامه‌ریزی و به طور کامل حفاظت شده سلولی می‌باشد که نقش مهمی را در رشد و نمو اندام‌ها، هومئوستاز و انهدام سلول‌های فرسوده ایفا می‌کند (۴). تحقیقات نشان می‌دهند که نقص در این مسیر می‌تواند باعث تجمع سلول‌های جهش یافته و در نهایت مرگ بیمار شود (۵). تحقیقات نشان دهنده افزایش شیوع آپوپتوز در کبد نمونه‌های دیابتی القا شده بوسیله آلوکسان (ALX) در مدل حیوانی هستند (۶).

برخی پژوهش‌ها گزارش کرده‌اند فعالیت ورزشی شدید موجب آپوپتوز لنفوسیت روده‌ای موش آزمایشگاهی می‌شود اما دویدن اختیاری بر روی تردمیل آپوپتوز را کاهش می‌دهد، در حالی که تمرین ورزشی اجباری سطوح اکسیدان‌ها را افزایش می‌دهد (۷). بنابراین تأثیر فعالیت ورزشی بر القا یا مهار آپوپتوز

جدول ۱- پروتکل تمرین هوازی

هفته	سرعت (متر بر دقیقه)	زمان (دقیقه)	شیب (درجه)
اول	۱۰	۲۰	صفر
دوم	۱۰	۲۰	۵
سوم	۲۰	۳۰	۵
چهارم	۲۰	۴۰	۵
پنجم	۲۰	۴۰	۵
ششم	۲۰	۴۰	۵

دقیقه، زمان ۴۰ دقیقه و شیب ۵ درجه رسید. در منابع، این شدت تمرین برای موش‌های دیابتی، معادل شدت در آستانه لاکتات (۱۴ و ۱۵) و معادل تقریباً ۷۵ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی (۱۶) در نظر گرفته شده است، که شدت نسبتاً بالایی برای موش‌های دیابتی می‌باشد (۱۷). جهت تحریک موش‌ها برای دویدن، از محرک صوتی (ضربه به دیواره تردمیل) استفاده شد، در طول پروتکل، موش‌های گروه کنترل نیز برای آشنایی با تردمیل، یک جلسه در هفته، به مدت ۵ دقیقه، با سرعت ۱۰ متر در دقیقه و با شیب صفر، روی تردمیل راه رفتند. بعد از ۶ هفته، تمام رت‌ها با محلول کلروفورم از طریق تنفس بیهوش شدند و پس از بیهوشی با ثابت کردن حیوان روی تخته جراحی جوندگان، کالبد شکافی انجام شد و بلافاصله بافت کبد برداشته شد.

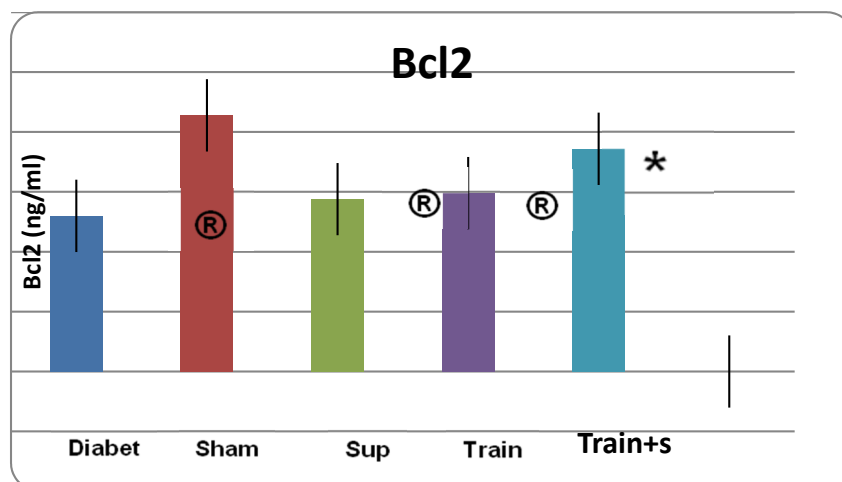
در نهایت برای تعیین غلظت پروتئین های BCL-2 و bax از روش برادفورد استفاده گردید. برای توصیف داده‌ها از شاخص‌های گرایش مرکزی، بررسی نرمال بودن توزیع داده‌ها از آزمون شاپیرو ویلک و جهت تجزیه و تحلیل استنباطی داده‌ها از آزمون تحلیل واریانس دو طرفه و آزمون تعقیبی توکی با استفاده از نرم‌افزار SPSS21 و سطح معنی‌داری  $p \leq 0.05$  در نظر گرفته شد. در نهایت برای رسم نمودارها نیز از نرم‌افزار Excel استفاده شد.

### یافته‌ها

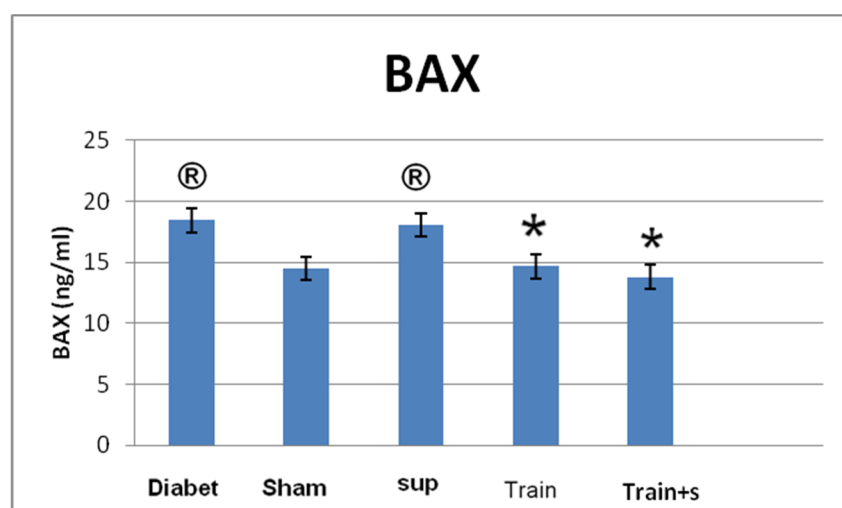
نتایج نشان داد مداخله ترکیبی تمرین هوازی و مکمل ال کارنیتین بر فاکتور Bcl2 بافت کبد موش های مبتلا به دیابت تأثیر معنی‌داری دارند ( $P=0.013$ ). اما تمرین هوازی و مکمل ال کارنیتین به تنهایی بر فاکتور Bcl2 بافت کبد موش‌های مبتلا به دیابت تأثیر

پس از ورود به محیط پژوهش و آشنایی یک هفته‌ای با محیط جدید، به صورت تصادفی به شش گروه (۱ گروه شم (۵ سر رت)، ۲ گروه کنترل سالم (۸ سر رت)، ۳ گروه کنترل دیابتی (۸ سر رت)، ۴ گروه دیابتی دریافت کننده ال کارنیتین (۸ سر رت)، ۵ گروه دیابتی تمرین هوازی (۸ سر رت) ۶ گروه دیابتی تمرین هوازی و دریافت کننده ال کارنیتین (۸ سر رت) تقسیم شدند. در طول دوره پژوهش حیوانات در قفس‌های پلی کربنات شفاف با ابعاد  $15 \times 15 \times 30$  سانتی‌متر ساخت شرکت رازی راد در دمای محیطی با ۲۰ تا ۲۲ درجه سانتی‌گراد، چرخه روشنایی به تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت و رطوبت هوا ۵۵ تا ۶۵ درصد نگهداری شده و با غذاهای تولید مراکز تولید خوراک دام به صورت پلت تغذیه شدند. ۳۲ سر از رت‌ها با تزریق نیکوتین آمید (رقیق شده در محلول سالین) به مقدار  $95 \text{ mg/kg}$  و تک دوز STZ به مقدار ۵۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن (تهیه شده در بافر سیترات سدیم با  $\text{PH}=7.4$ ) به صورت زیر صفاقی دیابتی شدند. رت‌های گروه‌های کنترل به همان میزان بافر دریافت کردند. ۴۸ ساعت بعد از تزریق STZ هیپرگلیسمی به وسیله سنجش قند خون به روش گلوکز اکسیداز با کیت بیوسیستم تایید شد. رت‌هایی که گلوکز سرم آنها بین ۳۶۰-۳۰۰ میلی‌گرم/دسی‌لیتر باشد به عنوان دیابتی در نظر گرفته شدند. رت‌های دریافت کننده ال کارنیتین روزانه ۱۰۰ میلی‌گرم ال کارنیتین (۱۲ و ۱۳) را به صورت خوراکی دریافت کردند. گروه‌های تمرین هوازی نیز برنامه تمرینی شامل تمرین هوازی روی نوارگردان را (۱۴)

پنج جلسه در هفته انجام دادند (جدول ۱). تمرین با سرعت ۱۰ متر بر دقیقه، زمان ۱۰ دقیقه و شیب صفر درجه شروع شده و در طول تحقیق بطور تدریجی و با رعایت اصل اضافه بار در هفته آخر به سرعت ۲۰ متر بر



شکل ۱- مقایسه تغییرات Bcl2 بین گروه‌های مختلف بعد از ۶ هفته مداخله



شکل ۲- مقایسه تغییرات BAX بین گروه‌های مختلف بعد از ۶ هفته مداخله  
\* = تفاوت با گروه کنترل دیابتی    ® = تفاوت با گروه شم

### بحث و نتیجه‌گیری

یافته‌های تحقیق حاضر نشان داد که تمرین هوازی و مکمل ال کارنیتین به تنهایی بر فاکتور Bcl2 بافت کبد موش‌های مبتلا به دیابت تأثیر معنی‌داری نداشت اما مداخله ترکیبی تمرین هوازی و مکمل ال کارنیتین موجب افزایش Bcl2 بافت کبد موش‌های مبتلا به دیابت شد. پروتئین‌های خانواده Bcl-2 مهم‌ترین این نوع پروتئین‌ها در تنظیم آپوپتوزیس هستند که در تحقیق حاضر در بافت کبد مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج تحقیق حاضر با یافته‌های جعفری و همکاران (۱۸)، احمدی اصل و همکاران (۱۹)، سان و همکاران (۲۰)، میجاس پنا و همکاران (Mejías-Peña et al)

معنی‌داری ندارند (شکل ۱). همچنین مشخص شد اندازه اثر مداخله ترکیبی (۰/۱۵۸) بیشتر از تمرین (۰/۰۱۵) و آن هم بیشتر از مکمل (۰/۰۰۴) بوده است. نتایج نشان داد شش هفته تمرین هوازی (P=۰/۰۰۰) و مداخله ترکیبی تمرین هوازی و مکمل ال کارنیتین (P=۰/۰۱۵) بر فاکتور BAX بافت کبد موش‌های مبتلا به دیابت تأثیر معنی‌داری دارند. اما استفاده از مکمل به تنهایی تأثیر معنی‌داری ندارد (شکل ۲). نتایج نشان می‌دهد که میزان اثر تمرین هوازی (۰/۵۵۲) بر فاکتور BAX بافت کبد بیشتر از اثر تعاملی (۰/۱۵۲) و مکمل (۰/۰۱۴) بوده است.

تنظیم افزایشی سلول‌های ضد آپوپتوتیک Bcl-2 را تقویت کند (۲۹). بیان بالای عامل ضد آپوپتوزی Bcl-2 در کاهش آسیب بافت کبد و بهبود عملکرد کبد مؤثر می‌باشد.

سازوکارهای دقیق فعالیت ورزشی بر تنظیم مسیر آپوپتوزی بافت کبد به درستی مشخص نیست، ولی در تحقیقات قبلی مشاهده شده است که فعالیت ورزشی می‌تواند از طریق کاهش پروتئین پروآپوپتیک Bax و افزایش پروتئین ضد آپوپتیک Bcl-2 و در نتیجه مهار آزادسازی سیتوکروم c مانع فعال شدن کاسپاز ۹ شود. کاسپاز ۹ نیز با فعال سازی کاسپاز ۳ می‌تواند منجر به تنظیم مثبت روند آپوپتوز شود (۳۰). اگرچه در تحقیق حاضر سطوح کاسپازهای ۹ و ۳ تعیین نشد که می‌تواند از محدودیت‌های تحقیق حاضر نیز محسوب گردد، ولی در تحقیقات دیگر مشاهده شد که فعالیت ورزشی با کاهش فعالیت کاسپاز آغاز گر ۹ و کاسپاز اجرایی ۳ می‌تواند از دو مسیر داخلی و خارجی مانع آپوپتوز و قطعه قطعه شدن DNA شود (۳۱). استرس اکسایشی به عنوان یک آغازگر مهم آپوپتوز در سلول‌ها می‌باشد (۳۲). سطوح پایه استرس اکسایشی نیز با افزایش سن افزایش می‌یابد و ممکن است به افزایش سیگنال دهی آپوپتوز در حیوانات سالم کمک کند. همانطور که اشاره شد مکانیسم ورزش در مقابله با آپوپتوز به طور کامل روشن نشده است، با این وجود، تحقیق اخیر انجام شده توسط فرنچ و همکاران (۳۳)، نشان می‌دهد که حداقل در بخشی ممکن است بهبود عملکرد آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان از جمله فعالیت MnSOD در تعدیل آپوپتوز نقش داشته باشد (۳۲). این یک دیدگاه مهم است که اهمیت ورزش درمانی را برای بهبود سیگنال دهی آنتی‌اکسیدان به عنوان وسیله ای برای جلوگیری از آپوپتوز برجسته می‌کند.

برخی مطالعات اخیر نشان داده اند که تمرین منجر به افزایش سطوح BCL-2 می‌شود. این نتیجه با یافته‌های حبیبی و همکاران (۳۴)، کای و همکاران (۳۵)، لاجویی و همکاران (۳۶)، دلچف و همکاران (۳۷) و سیو و همکاران (۳۸) همخوان نمی‌باشد. در همین راستا، کای و همکاران (۳۵) به مقایسه دو روش تمرینی اینتروال با شدت بالا و تمرینات تداومی با شدت متوسط بر فرایند آپوپتوز موش‌های مبتلا به انفارکتوس

سانتانا و همکاران (۲۲) و مارش و همکاران (۲۳) مبنی بر عدم تغییر Bcl-2 به دنبال فعالیت ورزشی، همخوان می‌باشد. سو و همکاران (۲۱-۲۴) در مطالعه‌ای به بررسی تأثیر فعالیت اختیاری (چرخ دوار) بر عوامل درگیر در آپوپتوز و کاهش استرس پرداختند. تفاوت معنی‌داری در سطح بیان کبدی پروتئین شوک گرمایی ۷۰، BCL-2 و P53 مشاهده نشد. جعفری و همکاران (۱۸) نیز نشان دادند که پس از ۱۲ هفته تمرینات استقامتی با شدت متوسط تا شدید میزان پروتئین Bcl-2 بین گروه تمرینی و گروه کنترل در قلب موش‌های ویستار تفاوت معناداری نداشت. همچنین احمدی اصل و همکاران (۱۹) نشان دادند که ۱۲ هفته تمرین هوازی با شدت متوسط تأثیری بر میزان آپوپتوز میوکارد موش‌های ویستار ندارد، اما ۲۴ و ۳۶ هفته تمرین استقامتی میزان آپوپتوز را به طور معناداری کاهش می‌دهد. در نهایت مارش و همکاران (۲۳) نشان دادند که تمرینات هوازی بلند مدت (۱۴ هفته) تأثیری بر میزان BAX/Bcl-2، Bcl-2 و BAX/Bcl-2 سلول‌های اندوتلیال موش‌های نر ویستار ندارند. اگرچه مکانیسم دقیق آپوپتوز هنوز مشخص نیست؛ اما ممکن است با توجه به نوع سلول و نوع تحریکات متفاوت باشد (۲۵). نشان داده شده است که تمرین ورزشی سبب القا آپوپتوز می‌شود که یک روند طبیعی برای از بین بردن سلول‌های آسیب دیده است که در آن واکنش‌های التهابی چشمگیری رخ نمی‌دهد. این روند باعث حصول اطمینان از عملکرد طبیعی بدن می‌شود (۲۶). مسیرهای پیام‌رسانی مختلفی سلول را به سوی مرگ برنامه‌ریزی شده یا آپوپتوز می‌برند که در این فرآیند پروتئین‌های ویژه‌ای به عنوان فاکتورهای آپوپتوزی نقش دارند. این پروتئین‌ها عاملی هستند که در نهایت ترکیبات کلیدی سلول همچون پروتئین‌های ساختاری اسکلت سلولی و پروتئین‌های هسته‌ای را تخریب می‌کنند (۲۷). حساسیت سلول به آپوپتوز به تعادل و نسبت فاکتورهای پیش‌آپوپتوزی (Bid و Bax) و ضد آپوپتوزی (Bcl-2 و Bcl-XL) بستگی دارد و در حقیقت نسبت متوسط این پروتئین‌ها سرنوشت سلول را تعیین می‌کند (۲۸). مکانیسم‌های حفاظت در برابر آپوپتوز به علت پیشگیری ممکن است توسط NF-kB متأثر شود، که مانع از حساسیت به آپوپتوز می‌شود و می‌تواند



قلبی پرداختند. در این پژوهش نشان داده شد که هر دو روش تمرینی موجب افزایش معنادار Bcl-2 میوکارد در مقایسه با گروه کنترل شد. علت تناقض تحقیق حاضر با یافته فوق احتمالاً بافت محل اندازه گیری، نوع آزمودنی‌ها، شرایط آزمودنی‌ها و نوع پروتکل تمرینی می باشد. حبیبی و همکاران (۳۴) نیز نشان دادند که برداشتن تخمدان در موش‌های ویستار موجب کاهش Bcl-2 میوکارد می‌شود و در مقابل ۸ هفته تمرینات شنا موجب افزایش معنادار Bcl-2 می‌شود. علت تناقض تحقیق حاضر با یافته فوق نیز احتمالاً بافت محل اندازه گیری، نوع آزمودنی‌ها، شرایط آزمودنی‌ها و نوع پروتکل تمرینی می‌باشد. سیو و همکاران (۳۸) نشان دادند که ۸ هفته تمرینات هوازی با شدت متوسط میزان Bcl-2 در میوکارد را افزایش می‌دهد. همچنین این میزان تمرینات بیان ژن Bcl-2 را نیز به طور معناداری افزایش داد، این تغییرات در راستای کاهش معنادار میزان آپوپتوز بطن چپ بود. لاجویی و همکاران (۳۶) نیز به ارزیابی تأثیر تمرینات هوازی با شدت متوسط بر فاکتورهای آپوپتیک و آنتی آپوپتیک در بافت قلب موش‌های مبتلا به پرفشار خونی پرداختند. نتایج نشان داد که تمرینات هوازی موجب افزایش Bcl-2 میوکارد گردید. دلچف و همکاران (۳۷) به ارزیابی نقش تمرینات هوازی با شدت پایین بر بیان پروتئین Bcl-2 قلب موش‌های ویستار پرداختند. نتایج نشان داد که تمرینات ورزشی موجب افزایش Bcl-2 شد. گزارش شده است که اختلالات بافتی با آسیب DNA میتوکندری مرتبط است و منجر به نقص در زنجیره انتقال الکترون و تنظیم افزایشی ROS و در نتیجه آپوپتوز می‌شود (۳۹). سان و همکاران (۲۰) نیز نشان دادند که یک جلسه فعالیت وامانده ساز شنا موجب کاهش چشمگیر بیان ژن Bcl-2 در ۶ ساعت پس از ورزش می‌شود. همچنین پنا و همکاران (۲۱) نشان دادند که ۸ هفته تمرینات مقاومتی در افراد سالمند موجب کاهش معنادار نسبت کاسپاز-۱ به پروکاسپاز و همچنین کاهش میزان Bcl-2 و کاسپاز-۳ می‌شود. این محققین نشان دادند که تمرینات مقاومتی به طور کلی موجب کاهش فرایند آپوپتوز در افراد سالمند می‌شود. سانتانا و همکاران (۲۲) نیز نشان دادند که ۱۳ هفته فعالیت استقامتی موجب افزایش بیان ژن پروموتور مرگ یا Death

Promotor (Bad) در بافت میوکارد شد، اما تأثیری بر میزان پروتئین این شاخص پروآپوپتیک نداشت. میزان بیان ژن و مقدار پروتئین Bcl-2 پس از دوره تمرینات به طور معناداری کاهش یافت. در مجموع تناقض در نتایج ممکن است به عواملی مانند کم بودن مدت تمرین در هر جلسه و یا دوره تمرینی و یا سطوح غیر نرمال فاکتورهای تنظیم کننده آپوپتوز در آزمودنی‌ها مربوط باشد. علاوه بر این با توجه به نوع آزمودنی و نوع پروتکل تمرین نیز می‌تواند تناقض با تحقیقات فوق را توجیه نمود. در اکثر تحقیقات فوق از پروتکل مقاومتی و همچنین بافت قلب در طرح تحقیق استفاده شده است. از طرفی یافته‌های تحقیق حاضر نشان داد که مکمل ال کارنیتین به تنهایی بر فاکتور Bcl2 بافت کبد موش‌های مبتلا به دیابت تأثیر معنی‌داری نداشت. تاکنون تأثیر ال کارنیتین بر آپوپتوز بافت کبد در آزمودنی‌های دیابتی مورد بررسی قرار نگرفته است. گزارش شده است که ال-کارنیتین تجمع چربی در کبد را کاهش می‌دهد. همچنین، ال-کارنیتین چاقی ایجاد شده به علت رژیم غذایی با چربی بالا را کاهش می‌دهد و کارنیتین اضافی؛ افزایش تری گلیسیرید و لیپید تام را مهار می‌کند (۴۰). عملکرد اصلی ال-کارنیتین تسهیل اکسیداسیون چربی توسط حمل اسیدهای چرب زنجیره طولانی به میتوکندری‌ها یعنی جایی است که در آنها بتا اکسیداسیون انجام می‌شود. از این رو، اکثر لیپیدهای رژیمی با استفاده از کارنیتین در بدن می‌تواند به عنوان یک منبع انرژی استفاده شود (۴۰). یکی از مکانیسم‌های سودمند ال-کارنیتین بر روی سمیت کبدی توانایی تثبیت سیال بودن غشای سلولی با تنظیم مقادیر اسپینوگومیلین است. ال-کارنیتین دارای خواص محافظتی در برابر داروهای القا کننده آسیب به میتوکندری است. به طوری که ال-کارنیتین را می‌توان با خیال راحت در دوزهای درمانی حتی با تجویز طولانی مدت بدون عوارض جانبی قابل توجه استفاده کرد. بنابراین احتمالاً بتوان با تغییر میزان دوز مصرفی ال کارنیتین به نتایج روشن تری دست یافت.

با وجود این، مداخله ترکیبی تمرین هوازی و مکمل ال کارنیتین موجب افزایش Bcl2 بافت کبد موش‌های مبتلا به دیابت شد. نشان داده شده است که عامل نکروز تومور آلفا (TNF- $\alpha$ ) آپوپتوز را از طریق بیان اسید

نیتریک اکسید سنتاز (iNOS) و نیتریک اکسید (NO) افزایش می دهد (۴۱). ممکن است تمرین به همراه مکمل ال-کارنیتین از طریق کاهش عامل نکروز تومور آلفا و سیگنال دهی مرتبط با آن به کاهش آپوپتوز در تحقیق حاضر کمک کرده باشد. با این حال در تحقیق حاضر سطوح عامل نکروز تومور آلفا اندازه گیری نشد که از جمله محدودیت های تحقیق حاضر به شمار می رود. به هر حال افزایش معنادار Bcl-2 بافت کبد در تحقیق حاضر مطابق با مطالعات قبلی افزایش یافت. بنابراین، افزایش عامل ضد آپوپتوزی BCL-2 بافت کبد با تمرین به همراه مکمل ال-کارنیتین ممکن است مربوط به اثرات تعاملی آنتی اکسیدانی و کاهنده چربی ال-کارنیتین و تمرین باشد.

همچنین نتایج تحقیق حاضر نشان داد شش هفته تمرین هوازی و مداخله ترکیبی تمرین هوازی و مکمل موجب کاهش فاکتور BAX بافت کبد موش های مبتلا به دیابت شد. اما استفاده از مکمل به تنهایی تأثیر معنی داری بر میزان فاکتور BAX بافت کبد نداشت. برخی مطالعات اخیر نشان داده اند که تمرین منجر به کاهش معنادار سطوح Bax می شود. نتایج تحقیق مبنی بر کاهش BAX پس از تمرینات ورزشی با یافته های لی و همکاران (۸) و کای و همکاران (۳۵) همخوان می باشد. در همین راستا، کای و همکاران (۳۵) نشان دادند تمرین اینتروال با شدت بالا و تمرینات تناوبی با شدت متوسط هر دو موجب کاهش بیان ژن BAX در مقایسه با گروه کنترل شد. لی و همکاران (۸) نیز نشان دادند که میزان لیگاند و گیرنده Fas، فعالیت کاسپاز-۳، و کاسپاز-۸، میزان پروتئین Bax و نسبت Bax به Bcl-2 در موش های چاق تمرین کرده در مقایسه با موش های چاق کم تحرک به طور چشمگیری کمتر است. پژوهش ها نشان داده اند که تمرینات ورزشی هوازی میزان چربی احشائی را به طور معنی داری کاهش و مقاومت به انسولین را بهبود می بخشند. همچنین تمرین ورزشی هوازی ممکن است میزان چربی کبدی را کاهش دهد (۴۲). علاوه بر این، تمرین هوازی منظم باعث کاهش سطوح تری گلیسرید، کلسترول و LDL می شود و همچنین سطوح HDL را افزایش می دهد. این تغییرات متابولیک مثبت ناشی از تمرین هوازی در نهایت ممکن است بهبودی وضعیت

کبد را به دنبال داشته باشد که این بهبودی می تواند با کاهش سطح آپوپتوز کبدی مشخص شود. همانطور که در تحقیق حاضر نیز نشان داده شد که پس از دوره تمرینات، سطح BAX بافت کبد موش های مبتلا به دیابت کاهش یافت. همچنین تمرینات ورزشی منظم هوازی باعث تقویت ظرفیت ضد اکسایشی بدن می شود که بدین طریق ممکن است باعث کاهش آسیب سلولی در سطح سلول های کبدی شود. همچنین نتایج تحقیق حاضر نشان داد مداخله ترکیبی تمرین هوازی و مکمل موجب کاهش فاکتور BAX بافت کبد موش های مبتلا به دیابت شد. اگرچه مکانیسم فرآیند تغییرات Bax بطور واضحی مشخص نیست اما با توجه به اینکه Bcl-2 مانع افزایش Bax می شود (۴۳)، در این مطالعه نیز شاهد افزایش Bcl-2 در گروه ترکیبی بودیم. لذا به نظر می رسد این افزایش یکی از مکانسیم های سرکوب Bax بوده باشد. افزایش Bcl-2 با تحکیم دیواره میتوکندری، سرکوب Bax، جلوگیری از رها سازی سیتوکروم c، تنظیم کلسیم رها شده از سارکوپلاسمیک و کاهش اثر ROS ناشی از فعالیت ورزشی، ایمنی سلول را بالا می برد و از آپوپتوز ناشی از استرس جلوگیری می کند. Bcl-2 یک پروتئین ضد آپوپتوزی است که در مسیر داخلی آپوپتوز نقش دارد و مانع فعالیت کاسپاز-۳ می شود. با توجه به اینکه در پژوهش حاضر از پروتکل شش هفته ای استفاده شد، احتمال دارد سازگاری های ناشی از تمرین سبب فعال سازی مسیرهای ضد آپوپتوزی شده باشد.

با این وجود، نتایج تحقیق حاضر با یافته های لاجویی و همکاران (۳۶)، سیو و همکاران (۳۸)، مارش و همکاران (۲۳) همخوان نمی باشد. لاجویی و همکاران (۳۶) به ارزیابی تأثیر تمرینات هوازی با شدت متوسط بر فاکتورهای آپوپتیک و آنتی آپوپتیک در بافت قلب موش های مبتلا به پرفشار خونی پرداخت. نتایج نشان داد که تمرینات هوازی موجب افزایش HSP-72، BAX و Bcl-2 میوکارد گردید. سیو و همکاران (۳۸) نشان دادند که ۸ هفته تمرینات هوازی با شدت متوسط میزان Bcl-2 و HSP-70 را در میوکارد افزایش می دهد. همچنین این میزان تمرینات بیان ژن Bcl-2 را نیز به طور معناداری افزایش داد، اما تأثیری بر میزان BAX نداشت. مارش و همکاران (۲۳) نشان دادند که تمرینات



14:87-106.

4. Doustar, Y. Mohajeri, D. Rezaei, A. Effects of grape seed extract on heart cells apoptosis in streptozotocin induced diabetic rats. *Med sci j Islam azad uni*; 2012. 21(3): 168-74.

5. Frustaci A, Kajstura J, Chimenti C, Jakoniuk I, Leri A, Maseri A. Myocardial cell death in human diabetes. *Circ Res*; 2000. 87: 1123-32.

6. Jaeschke H. Reactive oxygen and mechanisms of inflammatory liver injury. *J.Gastroen. Hepatol*; 2000. 15: 718-24.

7. Mirdar Harijani Sh, Musavi N, Hamidian Gh. Effect of endurance swimming training during pregnancy on histology and apoptotic index of rats' liver. *ISMJ*; 2015. 18(1): 54-63.

8. Lee B.J, Lin J.S, Lin Y.C, Lin P.T. Effects of L-carnitine supplementation on oxidative stress and antioxidant enzymes activities in patients with coronary artery disease: a randomized, placebo-controlled trial. *Nut J*; 2014. 13:79.

9. Flanagan JL, Simmons PA, Vehige J, Willcox MD, Garrett Q. (). Role of carnitine in disease. *Nutr Metab*; 2010. 16: 7:30.

10. Shokrzadeh M, Ahangar N, Zargari M, et al. Investigating the protective effect of L-Carnitine on the Malone De Aldehyd level on lipid peroxidation of cell membrane in Diazinon-induced Rats. *Med J Mazandaran Uni*; 2012. 22(97): 198-206.

11. Tousson E, Hafez E, Zaki S, Gad A. The cardioprotective effects of L-carnitine on rat cardiac injury, apoptosis, and oxidative stress caused by amethopterin. *Environ Sci Pollut Res*; 2016:1-9.

12. Mansour H. (). Protective role of carnitine ester against radiation-induced oxidative stress in rats. *Pharmacol Res*; 2006. 54: 165-171.

13. Bodea F, Bocea A, Decea N. L-carnitine decreases oxidative stress induced by experimental hypobaric hypoxia. *Pediatr Endocrinol Diabetes Metab*; 2010. 16(2): 78-81.

14. Kim HJ, Park JY, Lyul Oh S, Kim YA, So B, Seong JK. Effect of treadmill exercise on interleukin-15 expression and glucose tolerance in Zucker diabetic fatty rats. *Diabetes Metab J*; 2013. 37: 358-364.

15. E Nico ETM, de Oliveira PR, de Souza LP, Pereira FDC, Delbin MA, Zanesco A. (). The action of aminoguanidine on the liver of trained diabetic rats. *J Diabetes Metab Disord*; 2013. 12(40): 1-9.

16. Rodrigues B, Figueroa D, Mostarda C, Heeren M, Irigoyen M, Kátia D. Maximal exercise test is a useful method for physical capacity and oxygen consumption determination in streptozotocin-diabetic rats. *Cardiovasc Dialectol*; 2007. 6(38): 125-131.

17. Falah, S. Kordi, M.R. Ahmadizadeh, S. et al. Effect of 8 weeks of Endurance Training on rest levels and responses of Visfatin and Insulin Resistance index to acute endurance exercise in diabetic Rats. *Sport Physiol Manage Invest*; 2011. 8: 83-93.

هوازی بلند مدت (۱۴ هفته) تأثیری بر میزان BAX، Bcl-2 و BAX/Bcl-2 سلول های اندوتلیال موش های نر ویستار ندارد. همانطور که ملاحظه می شود مطالعات بسیار اندکی در خصوص اثر فعالیت ورزشی روی BAX انجام شده است که با توجه به تفاوت اندازه گیری ها از بافت های مختلف و تفاوت در نوع و شدت فعالیت، آزمودنی های مختلف و زمان اندازه گیری نتایج ناهمسوایی گزارش شده است.

در مجموع، نتایج پژوهش حاضر نشان داد که مکمل ال-کارنیتین همراه با تمرینات هوازی منظم موجب بهبود آپوپتوز بافت کبد در آزمودنی های دیابتی نوع ۲ می شود. بنابراین در آزمودنی های دیابتی، مصرف مکمل ال-کارنیتین همراه با فعالیت ورزشی توصیه می گردد. با این وجود، با توجه به تازگی موضوع پژوهش حاضر، هنوز سوالات متعددی وجود دارد که شایسته توجه بیشتر در مطالعات آتی می باشد. پیشنهاد می شود، دیگر فاکتورهای درگیر در آپوپتوز همچون گلوکوکورتیکوئیدها، ROS و همچنین سایر دوزهای مکمل و اثرات آنها بر متغیرها، جهت درک بهتر تأثیر تمرین و مکمل ال-کارنیتین بر آپوپتوز در کبد، در آزمودنی های دیابتی مورد بررسی قرار گیرد.

## تقدیر و تشکر

این مقاله برگرفته از رساله دکتری و دارای مجوز اخلاق با کد IR.SSRI.REC.1397.337 از کمیته اخلاق پژوهشگاه علوم ورزشی می باشد. بدین وسیله از افرادی که در انجام این کار پژوهشی همکاری صمیمانه داشتند، تشکر و قدردانی می شود.

## References

1. Jaffrey M. The effect of an aerobic training course with oral intake of cranberry on serum IL-17, IL-18, and cortisol levels in streptozotocin induced diabetic female rats. Master's thesis, Islamic Azad University, Karaj branch. 2015. 56.
2. Mohajeri D, Mousavi Gh, Kaffashi Elahi R, Neshat Gharamaleki M. Study on protective effect of Naringenin (Citrus flavonone) on incipient diabetic hepatopathy in alloxan-induced diabetic rats. *Veter Clin Pathol*; 2016. 10(1): 39-53.
3. Hano T. Pathohistological study on the liver cirrhosis in diabetes mellitus. *Kobe J Med Sci*; 1968.

18. Jafari A, Pourrazi H, Nikookheslat S, Baradaran B. (). Effect of Exercise Training on Bcl-2 and Bax Gene Expression in the Rat Heart. *Gene Cell Tissue*; 2015.2(4): e32833.
19. Ahmadiasl N, Ghadiri Soufi F, Alipour M, Bonyadi M, Sheikhzadeh F, Vatankhah A, Salehi I, Mesgari M. Effects of age increment and 36-week exercise training on antioxidant enzymes and apoptosis in rat heart tissue. *Jour Sports Sci Med*; 2007. 6:243-249.
20. Sun Y, Cui D, Zhang Z, Zhang T, Shi J, Jin H, et al. Attenuated Oxidative Stress following Acute Exhaustive Swimming Exercise Was Accompanied with Modified Gene Expression Profiles of Apoptosis in the Skeletal Muscle of Mice. *Oxid Med Cell Longev*; 2016. 8381242.
21. Mejías-Peña Y, Brisamar Estébanez, Paula Rodríguez-Miguel, Rodrigo Fernández-Gonzalo, Mar Almar, José A. de Paz, Javier González-Gallego, and María J. Cuevas. Impact of resistance training on the autophagy-inflammation-apoptosis crosstalk in elderly subjects. *Aging*; 2017. 9(2): 408–418.
22. Santana ED, Serra AJ, Silva Junior JA. Aerobic exercise training induces an anti-apoptotic milieu in myocardial tiss. *Motriz Rev Educ Fis*; 2014. 20(2): 233-238.
23. Marsh SA, Laursen PB, Pat BK, Gobe GC, Coombes JS. Bcl-2 in endothelial cells is increased by vitamin E and  $\alpha$ -lipoic acid supplementation but not exercise training. *J Mole Cell Cardiol*; 2005. 38(3):445-51.
24. Seo H, Chun-Hyung Park, Seokrip Choi, Woocheol Kim, Byung-Duk Jeon, and Seungpil Ryu Effects of voluntary exercise on apoptosis and cortisol after chronic restraint stress in mice. *J Exerc Nutrition Biochem*; 2016. 20(3): 16–23.
25. Childs AC, Phaneuf SL, Dirks AJ, Phillips T, Leeuwenburgh C. Doxorubicin treatment in vivo causes cytochrome c release and cardiomyocyte apoptosis, as well as increased mitochondrial efficiency, superoxide dismutase activity, and Bcl-2: Bax ratio. *Can Res*; 2002. 62:4592-98.
26. Mooren FC, Blöming D, Lechtermann A, Lerch MM, Völker K. Lymphocyte apoptosis after exhaustive and moderate exercise. *Jour Appl Physiol*; 2002. 93(1):147-53.
27. Skommer J, Wlodkowic D, Deptala A. Larger than life: mitochondria and the Bcl-2 family. *Leuk Res*; 2007. 31:277-86.
28. Elmore S. Apoptosis: a review of programmed cell death. *Toxicol Pathol*; 2007. 35:495-516.
29. Maulik N, Sasaki H, Addya S, Das DK. Regulation of cardiomyocyte apoptosis by redox-sensitive transcription factors. *FEBS Lett*; 2000. 485:7-12.
30. Chen KC, Peng CC, Hsieh CL, Peng RY. Exercise ameliorates renal cell apoptosis in chronic kidney disease by intervening in the intrinsic and the extrinsic apoptotic pathways in a rat model. *Evid-Based Complem Altern Med*; 2013: 1-13
31. Kwak HB, Song W, Lawler JM. Exercise training attenuates age-induced elevation in Bax/Bcl-2 ratio, apoptosis, and remodeling in the rat heart. *FASEB J*; 2006. 20(6): 791-3.
32. Marin-Garcia J, Goldenthal MJ. Mitochondrial centrality in heart failure. *Heart Fail Rev*; 2008. 13: 137–150
33. French JP, Hamilton KL, Quindry JC, Lee Y, Upchurch PA, Powers SK. Exercise-induced protection against myocardial apoptosis and necrosis: MnSOD, calcium-handling proteins, and calpain. *FASEB J*; 2008. 22: 2862–2871.
34. Habibi P, Alihemmati A, NourAzar A, Yousefi H, Mortazavi S, Ahmadiasl N. Expression of the Mir-133 and Bcl-2 could be affected by swimming training in the heart of ovariectomized rats. *Iran J Basic Med Sci*; 2016. 19(4):381.
35. Cai MX, Shi XC, Chen T, Tan ZN, Lin QQ, Du SJ, et al. Exercise training activates neuregulin 1/ErbB signaling and promotes cardiac repair in a rat myocardial infarction model. *Life Sci*; 2016. 149:1-9.
36. Lajoie C, Calderone A, Béliveau L. Exercise training enhanced the expression of myocardial proteins related to cell protection in spontaneously hypertensive rats. *Pflügers Archiv*; 2004. 449(1):26-32.
37. Delchev S, Georgieva K, Koeva Y, Atanassova P. Bcl-2/Bax ratio, mitochondrial membranes and aerobic enzyme activity in cardiomyocytes of rats after submaximal training. *Folia Mmed*; 2005. 48(2):50-6.
38. Siu PM, Bryner RW, Martyn JK, Alway SE. Apoptotic adaptations from exercise training in skeletal and cardiac muscles. *FASEB J*; 2004. 18(10):1150-2.
39. Anderson EJ, Rodriguez E, Anderson CA, Thayne K, Chitwood WR, Kypson AP. Increased propensity for cell death in diabetic human heart is mediated by mitochondrial-dependent pathways. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*; 2011. 300:118-124.
40. Cha, Y. S. (). Effects of L-carnitine on obesity, diabetes, and as an ergogenic aid. *Asia Pac J Clin Nutr*; 2008. 17(1): 306-308.
41. Song W, Lu X, Feng Q. Tumor necrosis factor- $\alpha$  induces apoptosis via inducible nitric oxide synthase in neonatal mouse cardiomyocytes. *Cardiovasc Res*; 2000. 45:595-602.
42. Davoodi M, Moosavi H, Nikbakht M. The effect of eight weeks selected aerobic exercise on liver parenchyma and liver enzymes (AST, ALT) of fat liver patients. *Shahrekord Univ Med Sci J*; 2012. 14(1):84-90.
43. Bagci E, Vodovotz Y, Billiar T, Ermentrout G, Bahar I. Bistability in apoptosis: roles of bax, bcl-2, and mitochondrial permeability transition pores. *Biophys J*; 2006. 90:1546-59.