



تأثیر تمرین هوایی 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 هوایی،
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 غیرآنژیمی و دیگری ورزش مناسب می‌باشد.

هدف از این پژوهش تأثیر تمرین هوایی 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 شم، (۱) گروه کنترل سالم، (۲) گروه کنترل دیابتی، (۳) گروه دیابتی دریافت کننده ال کارنیتین، (۴) گروه دیابتی تمرین هوایی، (۵) گروه دیابتی تمرین هوایی و دریافت کننده ال کارنیتین تقسیم شدند. رت‌های دریافت کننده ال کارنیتین آمید و تک دوز به مقدار ۵۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن دیابتی شدند. رت‌های دریافت کننده ال کارنیتین روزانه ۱۰۰ میلی‌گرم ال کارنیتین را به صورت خوارکی دریافت کردند. پروتکل تمرینی هوایی بر روی ترمیم انجام شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد مداخله ترکیبی تمرین هوایی و مکمل ال کارنیتین بر فاکتور Bcl2 بافت کبد موش‌های مبتلا به دیابت تأثیر معنی‌داری دارند، اما تمرین هوایی و مکمل ال کارنیتین به تنهایی تأثیر معنی‌داری ندارند. همچنین نتایج نشان داد شش هفته تمرین هوایی و مداخله ترکیبی تمرین هوایی و مکمل ال کارنیتین بر فاکتور BAX بافت کبد موش‌های مبتلا به دیابت تأثیر معنی‌داری دارند، اما استفاده از مکمل به تنهایی تأثیر معنی‌داری ندارد.

نتیجه‌گیری: مصرف مکمل ال-کارنیتین همراه با فعالیت ورزشی منظم، می‌تواند 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 صورت گرفته است.



Original Article

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

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

MD 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

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.



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 عاقب 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 آمینواسیدهای لیزین و متیونین تولید می‌شود (۸). ال کارنیتین اثر آنتی‌اکسیدانی، ضد التهاب و ضد تکثیر داشته، بتا-اکسیداسیون اسیدهای چرب زنجیره بلند را تسهیل کرده و غشاء سلولی را تثبت 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 مکفى در زمینه تاثیر تمرين 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، تاثیری 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 گلوكز 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 زداینده‌های درونزاد رادیکال‌های آزاد مثل سوبر 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 هپاتوپاتی دیابتی مذکور می‌باشد: ۱- ضایعات سلولی ۲- هپاتوسکلروز ۳- نکروز هیالینی اسکلروز (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 بوسلیله آلوکسان (ALX) در مدل حیوانی هستند (۶).

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

جدول ۱- پروتکل تمرین هوایی

همته	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

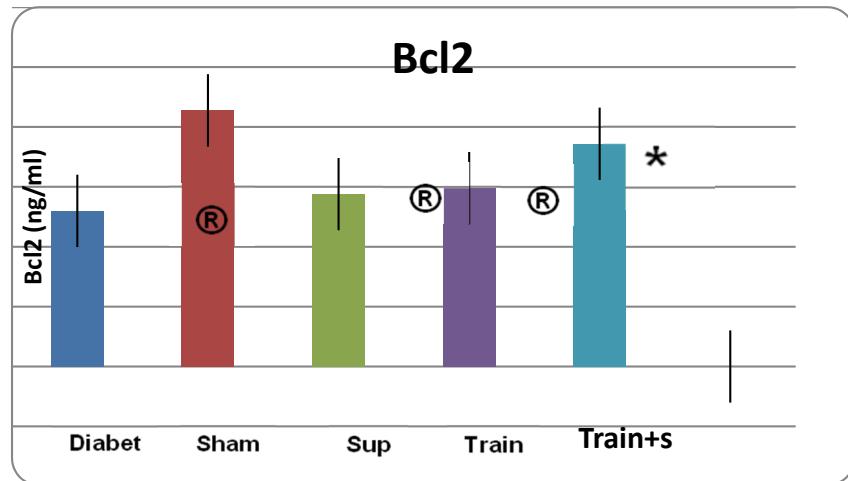
دقیقه، زمان ۴۰ دقیقه و شیب ۵ درجه رسید. در منابع، این شدت تمرین برای موش‌های دیابتی، معادل شدت در آستانه لاكتات (۱۴ و ۱۵) و معادل تقریباً ۷۵ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی (۱۶) در نظر گرفته شده است، که شدت نسبتاً بالایی برای موش‌های دیابتی می‌باشد (۱۷). جهت تحریک موش‌ها برای دویدن، از محرک صوتی (ضربه به دیواره ترمیل) استفاده شد، در طول پروتکل، موش‌های گروه کنترل نیز برای آشنایی با ترمیل، یک جلسه در هفته، به مدت ۵ دقیقه، با سرعت ۱۰ متر در دقیقه و با شیب صفر، روی ترمیل راه رفتند. بعد از ۶ هفته، تمام رت‌ها با محلول کلروفرم 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 پروتئین‌های BCL-2 و bax از روش برادرافورد 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.

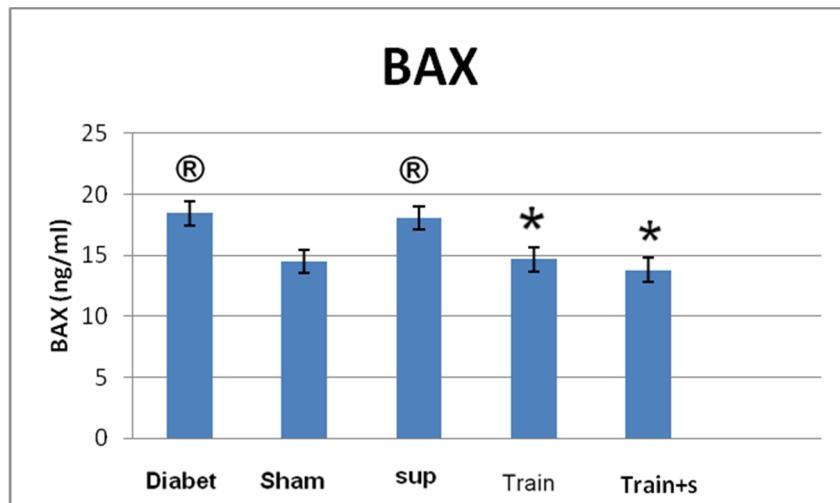
یافته‌ها

نتایج نشان داد مداخله ترکیبی تمرین هوایی و مکمل ال کارنیتین بر فاکتور Bcl2 بافت کبد موش‌های مبتلا به دیابت تأثیر معنی‌داری دارند ($P=0.013$). اما تمرین هوایی 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 هوایی (۸ سر رت) (۶) گروه دیابتی تمرین هوایی 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 محيطی با ۲۰ تا ۲۲ درجه سانتی‌گراد، چرخه روشنایی به تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت و رطوبت هوا ۵۵ تا ۶۵ درصد نگهداری شده و با غذایی 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 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 هوایی نیز برنامه تمرینی شامل تمرین هوایی روی نوار گردان 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 شام

بحث و نتیجه‌گیری

یافته‌های تحقیق حاضر نشان داد که تمرین هوازی و مکمل ال کارنیتین به تنها یکی بر فاکتور Bcl2 بافت کبد مoshهای مبتلا به دیابت تأثیر معنی‌داری نداشت اما مداخله ترکیبی تمرین هوازی و مکمل ال کارنیتین موجب افزایش Bcl2 بافت کبد moshهای 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) (۲۰۱۴)

معنی داری ندارند (شکل ۱). همچنین مشخص شد اندازه اثر مداخله ترکیبی ($P=0.158$) بیشتر از تمرین ($P=0.15$) و آن هم بیشتر از مکمل ($P=0.04$) بوده است. نتایج نشان داد شش هفته تمرین هوازی ($P=0.000$) و مداخله ترکیبی تمرین هوازی و مکمل ال کارنیتین به تنها یکی تأثیر معنی‌داری ندارد. اما استفاده از مکمل به دیابت تأثیر معنی‌داری دارد. نتایج نشان می‌دهد که میزان اثر تمرین هوازی ($P=0.052$) بر فاکتور BAX بافت کبد moshهای مبتلا به تنها یکی تأثیر معنی‌داری ندارد (شکل ۲). نتایج نشان می‌دهد که میزان اثر تمرین هوازی ($P=0.152$) و مکمل BAX بافت کبد بیشتر از اثر تعاملی ($P=0.14$) 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 پروآپوپتوتیک Bax و افزایش پروتئین ضد آپوپتوتیک 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 محاسب گردد، ولی در تحقیقات دیگر مشاهده شد که فعالیت ورزشی با کاهش فعالیت کاسپاز آغازگر 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 آنتی اکسیدان از جمله فعالیت MnSOD در تعديل آپوپتوز نقش داشته باشد (۳۲). این یک دیدگاه مهم است که اهمیت ورزش درمانی را برای بهبود سیگنال دهی آنتی اکسیدان به عنوان وسیله‌ای 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 اینترووال 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) مبني بر عدم تغییر Bcl-2 به دنبال فعالیت ورزشی، همخوان می‌باشد. سو و همکاران (۲۴-۲۱) 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، BAX و Bcl-2 سلول‌های اندوتیال موش‌های نر ویستار ندارند. اگرچه مکانیسم دقیق آپوپتوز هنوز مشخص نیست؛ اما ممکن است با توجه به نوع سلول و نوع تحрیکات 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 پیش آپوپتوزی (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

Promotor میزان پروتئین این شاخص پروآپوپتیک نداشت. میزان بیان ژن و مقدار پروتئین 2 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 تنها یکی 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 توایایی تثبیت سیال بودن غشاء 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 هوایی و مکمل ال کارنیتین موجب افزایش Bcl2 بافت کبد موش‌های مبتلا به دیابت شد. نشان داده شده است که عامل نکروز تومور آلفا (TNF- α) آپوپتوز را از طریق بیان اسید

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 می‌باشد. حبیبی و همکاران (۳۴) نیز نشان دادند که برداشت تخدمان 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 هوایی با شدت متوسط میزان ۲ در میوکارد را افزایش می‌دهد. همچنین این میزان تمرینات بیان ژن 2 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 هوایی با شدت متوسط بر فاکتورهای آپوپتیک و آنتی آپوپتیک در بافت قلب موش‌های مبتلا به پرفسار خونی پرداختند. نتایج نشان داد که تمرینات هوایی موجب افزایش Bcl-2 میوکارد گردید. دلچف و همکاران (۳۷) به ارزیابی نقش تمرینات هوایی با شدت پایین بر بیان پروتئین ۲ Bcl-2 قلب موش‌های ویستار پرداختند. نتایج نشان داد که تمرینات ورزشی موجب افزایش ۲ Bcl 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 فعلیت و امانده ساز شنا موجب کاهش چشمگیر بیان ژن 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 ۲ 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 فعلیت استقامتی موجب افزایش بیان ژن پروموتور مرگ یا Death

کبد را به دنبال داشته باشد که این بهبودی می‌تواند 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 موشهای مبتلا به دیابت کاهش یافت. همچنین تمرینات ورزشی منظم هوایی باعث تقویت ظرفیت ضد اکسایشی بدن می‌شود که بدین طریق ممکن است باعث کاهش آسیب سلولی در سطح سلول‌های کبدی شود. همچنین نتایج تحقیق حاضر نشان داد مداخله ترکیبی تمرین هوایی و مکمل موجب کاهش فاکتور BAX بافت کبد موشهای مبتلا به دیابت شد. اگرچه مکانیسم فرآیند تغییرات Bax بطور واضحی مشخص نیست اما با توجه به اینکه Bcl-2 مانع افزایش Bax می‌شود (۴۳)، در این مطالعه نیز شاهد افزایش Bcl-2 در گروه ترکیبی بودیم. لذا به نظر می‌رسد این افزایش یکی از مکانسیم‌های سرکوب Bax بوده باشد. افزایش Bcl-2 با تحکیم دیواره میتوکندری، سرکوب Bax، جلوگیری از رهاسازی سیتوکروم c، تنظیم کلسیم رهاسده از سارکوپلاسمیک و کاهش اثر ROS ناشی از فعالیت ورزشی، اینمی سلول را بالا می‌برد و از آپوپتوز ناشی از استرس جلوگیری می‌کند. Bcl-2 یک پروتئین ضد آپوپتوزی است که در مسیر داخلی آپوپتوز نقش دارد و مانع فعالیت کاسپاز-۳ می‌شود. با توجه به اینکه در پژوهش حاضر از پروتکل شش هفته‌ای استفاده شد، احتمال دارد سازگاری‌های ناشی از تمرین سبب فعل سازی مسیرهای ضد آپوپتوزی شده باشد.

با این وجود، نتایج تحقیق حاضر با یافته‌های لاجویی و همکاران (۳۶)، سیو و همکاران (۳۸)، مارش و همکاران (۲۳) همخوان نمی‌باشد. لاجویی و همکاران (۳۶) به ارزیابی تأثیر تمرینات هوایی با شدت متوسط بر فاکتورهای آپوپتیک و آنتی آپوپتیک در بافت قلب موش‌های مبتلا به پرسشار خونی پرداخت. نتایج نشان داد که تمرینات هوایی موجب افزایش BAX، HSP-72 و Bcl-2 میوکارد گردید. سیو و همکاران (۳۸) نشان دادند که ۸ هفته تمرینات هوایی با شدت متوسط میزان Bcl-2 و HSP-70 را در میوکارد افزایش می‌دهد. 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

نیتریک اکسید سنتاز (iNOS) و نیتریک اکسید (NO) افزایش می‌دهد (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 محدودیت‌های تحقیق حاضر به شمار می‌رود. 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 هوایی و مداخله ترکیبی تمرین هوایی و مکمل موجب کاهش فاکتور BAX بافت کبد موشهای مبتلا به دیابت شد. اما استفاده از مکمل به تنها یکی تأثیر معنی داری بر میزان فاکتور BAX بافت کبد نداشت. برخی مطالعات اخیر نشان داده اند که تمرین منجر به کاهش معنادار سطوح Bax می‌شود. نتایج تحقیق مبنی بر کاهش فاکتور BAX پس از تمرینات ورزشی با یافته‌های لی و همکاران (۸) و کای و همکاران (۳۵) همخوان می‌باشد. در همین راستا، کای و همکاران (۳۵) نشان دادند تمرین اینتروال با شدت بالا و تمرینات تداومی 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، میزان پروتئین Bax و نسبت Bax به Bcl-2 در موش‌های چاق تمرین کرده در مقایسه با موش‌های چاق کم تحرک به طور چشمگیری کمتر است. پژوهش‌ها نشان داده‌اند که تمرینات ورزشی هوایی میزان چربی احشائی را به طور معنی‌داری کاهش و مقاومت به انسولین را بهبود می‌بخشند. همچنین تمرین ورزشی هوایی ممکن است میزان چربی کبدی را کاهش دهد (۴۲). علاوه بر این، تمرین هوایی منظم باعث کاهش سطوح تری گلیسرید، کلسترول و LDL می‌شود و همچنین سطوح HDL را افزایش می‌دهد. این تغییرات متابولیک مثبت ناشی از تمرین هوایی در نهایت ممکن است بهبودی وضعیت

- 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 Aldehid 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. *Pediat 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, Figueira 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.
- هوایی بلند مدت (۱۴ هفته) تأثیری بر میزان BAX، BAX/Bcl-2 و Bcl-2 سلول های اندوتیال 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 ناهمسویی گزارش شده است.
- در مجموع، نتایج پژوهش حاضر نشان داد که مکمل ال-کارنیتین همراه با تمرینات هوایی 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 گلوکورتیکوئیدها، 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 Rodriguez-Miguel, Rodrigo Fernandez-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 α-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, Włodkowic 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, Bélieau 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-α 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. *Shahrekhord 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. *Biophysic J*; 2006. 90:1546-59.