

Research Paper

Response of Liver Tissue Bax and Bcl-2 Gene Expression to Aerobic Training with L-Carnitine Supplementation in Rats Toxicated by Boldenone



Mozhgan Ahmadi¹ , *Asieh Abbassi Dalooi² , Samira Salehi Kiasari²

1. Department of Physical Education and Sport Science Yadegar-e-Imam Khomeini (RAH) Shahre-rey Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
2. Department of Physical Education and Sport Science, Ayatollah Amoli Branch, Islamic Azad University, Amol, Iran.



Citation: Ahmadi M, Abbassi Dalooi A, Salehi Kiasari S. [Response of Liver Tissue Bax and Bcl-2 Gene Expression to Aerobic Training with L-Carnitine Supplementation in Rats Toxicated by Boldenone (Persian)]. Complementary Medicine Journal. 2019; 9(3):3890-3901. <https://doi.org/10.32598/cmja.9.3.896.1>

<https://doi.org/10.32598/cmja.9.3.896.1>



Article Info:

Received: 31 Mar 2019

Accepted: 08 Jun 2019

Available Online: 01 Jan 2020

Key words:

Aerobic training,
Boldenone, L-
carnitine, Apoptosis,
Wistar rats

ABSTRACT

Objective This study aimed to compare the response of liver tissue BAX and BCL-2 gene expression to aerobic training with L-carnitine supplementation in rats intoxicated by Boldenone.

Methods In this experimental study, 30 male Wistar rats, aged 12 weeks (weight 195±7.94 g) were randomly divided into five groups: Control, no-treatment, boldenone (5 mg/kg), L-carnitine (100 mg/kg) and aerobic training- L-carnitine. The moderate endurance intensity training program (50%-55% of maximal oxygen consumption) performed for 6 weeks and 5 times a week. Injection once a week in the quadriceps and hamstring was conducted in-depth. After anesthesia, an autopsy was performed, and the liver isolated. The hepatic apoptosis gene expression in the samples was measured by Real-Time PCR. Data were analyzed by 1-way ANOVA and post hoc Scheffe at the significant level P<0.05.

Results Significant difference was observed between the mean expression of BAX and BCL-2 in the liver tissue of male Wistar rats in different groups (P=0.001). The BAX gene expression of the liver tissue in L-carnitine -aerobic training and L-carnitine groups was significantly lower than the Boldenon group (P=0.001). Also, The BCL-2 gene expression in L-carnitine- aerobic exercise and L-carnitine groups was significantly higher than the Boldenon group (P=0.001).

Conclusion According to the findings of this study, supplementation of L-carnitine with regular aerobic training can have a protective effect against apoptosis induced by anabolic-androgenic steroids.

Extended Abstract

1. Introduction

Long-term administration of high doses of anabolic androgenic steroids reduces the mechanism of liver protection. Side effects of anabolic steroids have been reported on various organs of the body, including hepatic apoptosis [17]. Evidence suggests that exercise

activities is associated with the regulation of programmed cell death (apoptosis) in hepatocytes [7]. On the other hand, studies have shown that L-Carnitine has protective effects against drugs that induce damage to body tissues in addition to its known metabolic effects and has an effect on the regulation of gene expression by apoptotic and anti-apoptotic factors [8]. Although the precise mechanisms of the effect of exercise activity and supplementation on the regulation of apoptotic pathway in liver tissue are unclear, however, exercise and supplementation may possibly improve apop-

* Corresponding Author:

Asieh Abbassi Dalooi, PhD.

Address: Department of Physical Education and Sport Science, Ayatollah Amoli Branch, Islamic Azad University, Amol, Iran.

Tel: +98 (911) 1274366

E-mail: abbasi.dalooi@gmail.com

tosis through decreasing Bax and increasing Bcl-2; Accordingly, the present study attempts to investigate the effect of a course of endurance training and consumption of L-Carnitine on the expression of BCL-2 and Bax gene of liver tissue in boldenone-poisoned mice.

2. Materials and Methods

In this experimental study, 30 male Wistar rats (12 weeks old with a mean weight of 195 ± 7.94 g) were randomly divided into 5 groups of 6, including: control, untreated, boldenone, L-Carnitine, and L-Carnitine + aerobic exercise". Boldenone group received 5 mg Boldenone per kg body weight and L-Carnitine group received 100 mg L-Carnitine per kg body weight. A five-times-a-week endurance training program with an average intensity of 50 to 55% of maximal oxygen consumption was performed over six weeks [18]. The drug was injected deeply into the hamstring muscles once a week. In this study, ethical principles regarding how to work with laboratory animals such as water and food availability, proper keeping conditions, and non-coercion to do the exercises were observed. After anesthesia, the rats were dissected and their liver tissue removed. Liver apoptosis expression was measured by Real Time PCR. Data were analyzed by one-way ANOVA and Scheffe post hoc test at the significant level $P < 5\%$.

3. Results

The data showed that the mean expression of BCL-2 gene in liver tissue of male Wistar rats was different in each group ($P = 0.001$). Results of Scheffe's post hoc test showed that BCL-2 and Bax gene expression in liver tissue was significantly lower in Boldenone group than in control group ($P = 0.001$). Changes of liver tissue BCL-2 gene expression were significantly higher in L-Carnitine and L + -carnitine groups than in Boldenone group ($P = 0.001$) (Figure 1).

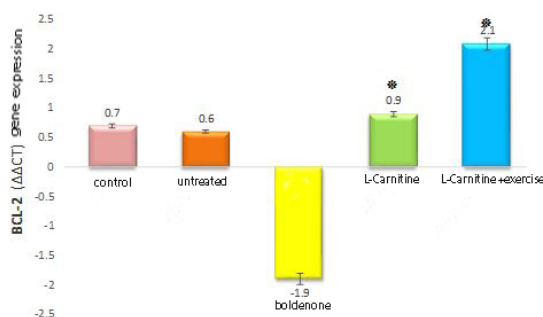


Figure 1. mean changes of BCL-2 gene expression in liver tissue of male Wistar rats in different groups

* significant increase compared to Boldenone group

Also, the results of Scheffe's post hoc test showed that the Bax gene expression in liver tissue was significantly increased in Boldenone group compared to the control group ($P = 0.001$). Liver tissue changes of Bax gene expression in the L-Carnitine and L-Carnitine + groups were significantly lower than the Boldenone group ($P = 0.001$) (Figure 2).

4. Discussion

In the present study, L-Carnitine supplementation with regular aerobic exercise increased the anti-apoptotic factor of BCL-2 in liver tissue after using Boldenone [19]. One of the beneficial mechanisms of L-Carnitine on hepatotoxicity is the ability to stabilize the cell membrane fluidity by regulating sphingomyelin levels. In addition, L-Carnitine has been shown to have antioxidant properties with protective effects against free radical damage [20]. The results of the present study also showed that L-Carnitine, by enhancing tissue anti-apoptotic factor BCL-2, has protective effects against apoptosis induced by boldenone administration. According to some recent studies, exercise results in increased levels of BCL-2 [21, 22], which is consistent with the findings of the present study [23, 24].

The precise mechanisms of exercise activity in regulating the apoptotic pathway of liver tissue are not well understood, but according to previous research, exercise activity can inhibit caspase-9 activation and also eventually can positively regulate apoptosis process by reducing pro-apoptotic Bax protein and increasing anti-apoptotic Bcl-2 protein, thereby inhibiting cytochrome c release. [13, 25]. However, the results of the present study are not consistent with some previous studies [7, 26, 27]. The inconsistency in these results may be due to factors such as short duration of exercise in each session or training period or abnormal levels of apoptotic regulators in the subjects. According to the results of the present study, supplementation of L-

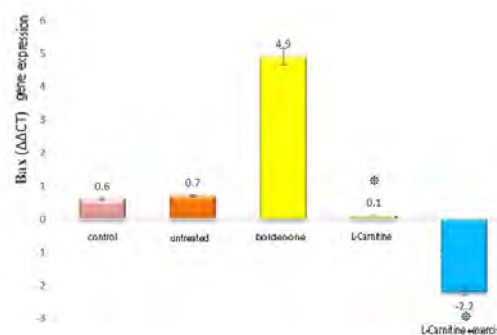


Figure 2. changes of mean BAX gene expression in liver tissue of male Wistar rats in different groups after intervention

* significant decrease compared to Boldenone group

Carnitine with regular aerobic exercise reduced the expression of apoptosis factor Bax gene in liver tissue following Boldenone administration [26, 28]. This increase appears to be one of the mechanisms of Bax suppression [28-31].

5. Conclusion

Briefly, L-Carnitine supplementation with regular aerobic exercise reduced apoptotic factor and increased anti-apoptotic factor of liver tissue following Boldenone administration; therefore, it appears that L-Carnitine supplementation combined with regular aerobic exercise may have a protective effect against apoptosis induced by androgenic anabolic steroids.

Ethical Considerations

Compliance with ethical guidelines

All experiments were conducted in accordance with the Declaration of Helsinki: Statement of Ethical Principles for Medical Research. This plan was reviewed by the Ethics Committee of Ferdowsi University and approved under No. 3/19753.

Funding

The present paper was extracted from the MSc thesis of the third author, Department of Physical Education and Sport Science, Ayatollah Amoli Branch, Islamic Azad University.

Authors' contributions

Conceptualization: Asieh Abbassi Dalooi; Investigation: Samira Salehi Kiasari; Writing – review & editing: Mozhgan Ahmadi

Conflicts of interest

There was no conflict of interest in conducting this study.

پاسخ بیان ژن Bax و Bcl-2 بافت کبد به یک دوره تمرین هوازی به همراه مکمل ال کارنیتین در موش‌های مسموم‌شده با بولدنون

مژگان احمدی^۱، آسیه عباسی دلویی^۲، سمیرا صالحی کیاسری^۲

۱. گروه تربیت‌بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد یادگار امام خمینی (ره) شهر ری، تهران، ایران.
۲. گروه تربیت‌بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد آیت‌الله آملی، آمل، ایران.

چکیده

اطلاعات مقاله:

تاریخ دریافت: ۱۱ فروردین ۱۳۹۸

تاریخ پذیرش: ۱۸ خرداد ۱۳۹۸

تاریخ انتشار: ۱۱ دی ۱۳۹۸

مقدمه: هدف این پژوهش، مقایسه پاسخ بیان ژن‌های Bax و Bcl-2 بافت کبد به یک دوره تمرین هوازی همراه با مکمل ال کارنیتین در موش‌های مسموم‌شده با بولدنون بود.

مواد و روش‌ها: در این تحقیق تجربی، ۳۰ سر موش نر ویستار با سن ۱۲ هفته و میانگین وزن $195 \pm 7/94$ گرم به طور تصادفی به پنج گروه شش‌تایی (کنترل، بدون درمان، بولدنون، ال کارنیتین، ال کارنیتین + تمرین هوازی) تقسیم شدند. گروه بولدنون پنج میلی‌گرم بولدنون را به ازای هر کیلوگرم وزن بدن و گروه ال کارنیتین ۱۰۰ میلی‌گرم ال کارنیتین را به ازای هر کیلوگرم وزن بدن دریافت کردند. برنامه تمرین استقامتی هفته‌ای پنج جلسه با شدت متوسط ۵۰ تا ۵۵ درصد اکسیژن مصرفی بیشینه، طی شش هفته اجرا شد. دارو هفته‌ای یک‌بار به صورت عمیق در عضلات همسترینگ نمونه‌ها تزریق شد. پس از بیهوشی، موش‌ها کالبدشکافی شدند و بافت کبد آن‌ها برداشته شد و میزان بیان آپوپتوز کبد به روش Real Time PCR اندازه‌گیری شد. داده‌ها به روش تحلیل واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی شفه در سطح معنی‌داری ۵ درصد $P <$ تجزیه و تحلیل شد.

یافته‌ها: میانگین بیان ژن Bax و Bcl-2 در بافت کبد موش‌های نر ویستار در گروه‌ها با یکدیگر متفاوت بود ($P=0/001$). بیان ژن Bax بافت کبد در گروه‌های ال کارنیتین و تمرین + ال کارنیتین نسبت به گروه بولدنون به‌طور معنی‌داری کمتر بود ($P=0/001$). بیان ژن Bcl-2 بافت کبد در گروه‌های ال کارنیتین و تمرین + ال کارنیتین نسبت به گروه بولدنون به‌طور معنی‌داری بیشتر بود ($P=0/001$).

نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد مکمل ال کارنیتین همراه با تمرینات هوازی منظم، می‌تواند اثر محافظتی در مقابل آپوپتوز ناشی از استروئیدهای آنابولیک آندروژنی داشته باشد.

کلیدواژه‌ها:

تمرین هوازی، بولدنون، ال کارنیتین، آپوپتوز، موش‌های ویستار

مقدمه

آندروژنی آنابولیک بسته به مدت تجویز و دُز مصرفی عوارض جانبی بسیاری دارند؛ به طوری که استفاده از دُزهای فیزیولوژیکی بالای آن‌ها باعث سمیت و اختلال عملکرد کبد می‌شود [۴]. کبد بزرگ‌ترین غده بدن است و در بسیاری از اعمال متابولیسمی از جمله پروتئین‌سازی و سم‌زدایی شرکت دارد [۵]. توسون و همکاران نشان دادند مصرف بولدنون سبب تخریب کبد خرگوش‌ها شد [۶].

در مطالعات اخیر، شناسایی مکانیسم‌های مولکولی نیم‌رخ حفاظت از آسیب کبدی در پی فعالیت ورزشی مورد توجه قرار گرفته است. شواهد نشان می‌دهد فعالیت ورزشی با تنظیم مرگ سلولی برنامه‌ریزی‌شده (آپوپتوز) سلول‌های کبدی مرتبط است [۷]. آپوپتوز نوعی مرگ سلولی است که سلول‌های غیرعملکردی، غیرطبیعی یا آسیب‌دیده و سلول‌های مضر را از بین می‌برد؛ با

استروئیدهای آندروژنی آنابولیک^۱ مشتقات تولیدشده از هورمون تستوسترون مردانه هستند که برای افزایش وزن و توده بدن و افزایش عملکرد استفاده می‌شوند [۱]. بولدنون^۲، استروئید مشتق‌شده از تستوسترون است که آثار آنابولیکی قوی دارد و باعث بهبود رشد می‌شود [۲]. سوءاستفاده از استروئیدهای آندروژنی می‌تواند به آسیب بافت‌های حیاتی بدن بینجامد [۳]. با این حال اطلاعات اندکی در مورد آثار سوء آن‌ها بر بافت‌های مختلف از جمله کبد وجود دارد. مطالعات نشان داد استروئیدهای

1. Anabolic Androgenic Steroids
2. Boldenone

* نویسنده مسئول:

دکتر آسیه عباسی دلویی

نشانی: آمل، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد آیت‌الله آملی، گروه تربیت‌بدنی و علوم ورزشی.

تلفن: ۱۲۷۴۳۶۶ (۹۱۱) ۰۹۸+

پست الکترونیکی: abbasi.dalooi@gmail.com

از جمله آپوپتوز کبدی گزارش شده که ممکن است زندگی هپاتوسیت‌های کبدی را به خطر اندازد [۱۷]. بنابراین با توجه به آثار منفی و کنترل نشده استروئیدهای آندروژنی آنابولیک برای بدن و به‌ویژه تأثیر آن‌ها بر کبد می‌توان از طریق مکمل‌های مؤثر از قبیل ال‌کارنیتین به تنظیم سطوح عوامل آپوپتوزی و ضدآپوپتوزی کمک کرد. نتایج تحقیقات در مورد اثر تمرین بر آپوپتوز بافت‌های مختلف بدن ضدونقیض است. از طرفی، بر اساس جست‌وجوهای نویسندگان، در مورد آثار مضر بولدنون بر کبد و مکانیسم‌های دفاعی در برابر آپوپتوز کبدی ناشی از بولدنون مطالعات اندکی وجود دارد. همچنین تأثیر استفاده از ال‌کارنیتین بر آپوپتوز کبدی ناشی از استروئیدهای آنابولیک آندروژنی به دنبال فعالیت ورزشی مشخص نیست.

اگرچه سازوکارهای دقیق تأثیر فعالیت ورزشی و مکمل‌یاری بر تنظیم مسیر آپوپتوزی بافت کبد به‌درستی مشخص نیست، با این حال فعالیت ورزشی و مکمل‌یاری احتمالاً از طریق کاهش پروتئین پروآپوپتیک Bax و افزایش پروتئین ضدآپوپتیک Bcl-2 می‌تواند آپوپتوز بافت‌های بدن را بهبود دهد؛ بنابراین، سنجش تعامل بین عوامل دخیل در فرایند آپوپتوز و مهار آن در شرایط متفاوت می‌تواند به یافتن روشی مؤثر در بهبود آپوپتوز بافت کبد کمک کند. بر این اساس، تحقیق حاضر سعی دارد تأثیر یک دوره تمرین استقامتی و مصرف ال‌کارنیتین بر بیان ژن Bax و Bcl-2 بافت کبد در موش‌های مسموم‌شده با بولدنون را بررسی کند.

مواد و روش‌ها

این تحقیق تجربی در پژوهشکده علمی کاربردی دامغان انجام شد و جامعه آماری آن ۳۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با سن ۸ تا ۱۲ هفته و وزن اولیه $195 \pm 7/94$ گرم بود. نمونه‌ها با توجه به شرایط وزنی و سنی به روش هدف‌دار انتخاب و به صورت تصادفی به پنج گروه تقسیم شدند. ابتدا نمونه‌های تمام گروه‌ها به مدت هفت هفته مصرف استروئید با دُز بالا (پنج میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) را شروع کردند. سپس آزمودنی‌های گروه کنترل بعد از مصرف استروئید کشته شدند. آزمودنی‌های گروه بدون درمان بعد از مصرف اولیه، هیچ ماده‌ای را مصرف نکردند و فعالیتی را نیز انجام ندادند. آزمودنی‌های گروه بولدنون مصرف استروئید را ادامه دادند. آزمودنی‌های گروه ال‌کارنیتین ۱۰۰ میلی‌گرم کارنیتین را به ازای هر کیلوگرم وزن بدن مصرف کردند. گروه کارنیتین + تمرین هوازی، کارنیتین را مصرف کردند و تمرین استقامتی را نیز انجام دادند.

آزمودنی‌ها در قفسه‌های PVC مخصوص جوندگان که درپوش توری فلزی داشت و کف آن‌ها با تراشه‌های تمیز چوب پوشانده شده بود قرار گرفتند. دمای اتاق $22 \pm 1/4$ درجه سانتی‌گراد و رطوبت آن معادل ۶۵ تا ۷۵ درصد بود. نمونه‌ها طبق چرخه ۱۲ ساعت خواب و بیداری نگهداری و با غذای فشرده و آماده مخصوص

این حال، هنگامی که بیش از حد زیاد باشد (مثلاً در بیماری‌های پاتولوژیک و در زمان استفاده از تستوسترون و مشتقات آن) می‌تواند تغییرات غیرطبیعی در ساختار و عملکرد کبد ایجاد کند [۸].

پروتئین‌های خانواده Bcl-2 از جمله پروتئین‌های کلیدی هستند که نقش حیاتی در تنظیم آپوپتوز ایفا می‌کنند. خانواده Bcl-2 به پروتئین‌های ضدآپوپتوز (Bcl-2) و پروتئین‌های پروآپوپتیک خانواده Bax طبقه‌بندی می‌شود. این پروتئین‌ها در تنظیم مسیر آپوپتوزی میتوکندری نقش حیاتی ایفا می‌کنند. Bcl-2 یک پروتئین ضدآپوپتوزی است که در مسیر داخلی آپوپتوز نقش دارد و مانع فعالیت کاسپازها می‌شود. Bax نیز پروتئینی است که با خنثی کردن عمل Bcl-2، آپوپتوز را فعال می‌کند و تغییرات بافت‌شناختی معینی از جمله کاهش یا عدم چسبندگی سلول آپوپتوزی به سلول‌های دیگر، قطعه‌قطعه شدن DNA ژنومی، آزادسازی ریبوزوم‌ها و تجزیه سلول به اجسام آپوپتوزی و سلول در حال مرگ را ایجاد می‌کند. افزایش مقادیر Bax باعث افزایش میزان آپوپتوز و کاهش آن باعث بقای سلول و ترمیم آن می‌شود [۹]. همچنین افزایش مقادیر Bcl-2 در جهت بقا و ترمیم سلول است و آپوپتوز را مهار می‌کند؛ بنابراین تعادل بین Bax / Bcl-2 یک عامل مهم در تعیین میزان آپوپتوز به شمار می‌رود.

آثار استروئیدهای آندروژنی آنابولیک به دنبال تمرین تعدیل می‌شوند. فعالیت ورزشی با کاهش عوامل خطرزا آثار سودمندی روی اندام‌های مختلف بدن به‌ویژه کبد دارد [۱۰]. نتایج مطالعات در مورد تأثیر تمرین بر آپوپتوز، متناقض است؛ به طوری که پس از تمرین، افزایش [۱۱] و کاهش [۱۲، ۱۳] و عدم تغییر معنی‌دار [۷] آپوپتوز گزارش شده است.

از طرفی، ال‌کارنیتین^۳ به عنوان شکل فعال زیستی کارنیتین، یک اسیدآمینه آندوژن شاخه‌دار غیرضروری است که به‌طور طبیعی در عضله اسکلتی و بافت‌های قلب، کبد، کلیه و پلازما وجود دارد [۱۴]. ال‌کارنیتین نقش مهمی در تولید انرژی دارد به طوری که اسیدهای چرب آزاد را به داخل میتوکندری منتقل می‌کند و در نتیجه سوبسترای ترجیحی برای اکسایش سوخت‌وساز را افزایش می‌دهد [۱۵]. از این جهت، ورزشکاران برای افزایش انتقال اسید چرب آزاد به درون میتوکندری از ال‌کارنیتین به عنوان یک ماده نیروزا در فعالیت‌های استقامتی بهره می‌گیرند [۱۶]. تحقیقات نشان داده ال‌کارنیتین علاوه بر آثار متابولیک شناخته‌شده، دارای خواص محافظتی در برابر داروهای القاکنده آسیب به بافت‌های بدن است و بر فعالیت و تنظیم بیان ژن عوامل آپوپتوزی و ضدآپوپتوز نیز اثر دارد [۸].

تجویز طولانی‌مدت دُز بالای استروئیدهای آندروژنی آنابولیک باعث کاهش مکانیسم محافظت از کبد می‌شود. عوارض جانبی استروئیدهای آنابولیک بر روی دستگاه‌های اندام‌های مختلف

3. 3-hydroxy-4-N-trimethylaminobutyrate

مراحل نمونه‌گیری بافت و اندازه‌گیری تغییرات بیان ژن آنزیم‌ها در بافت کبد

در پایان مطالعه، حیوانات به مدت ۱۲ ساعت ناشتا نگه داشته شدند. سپس وزن شدند و برای نمونه‌گیری با محفظه شیشه‌ای دردار (دسیکاتور) حاوی پنبه آغشته به کلروفرم، محصول شرکت مرک آلمان، بیهوش شدند. پس از گذشت ۴۰ تا ۵۰ ثانیه حیوان در بیهوشی مناسب قرار گرفت و بعد از ثابت کردن او روی تخته جراحی جوندگان، کالبدشکافی شد و بلافاصله بعد از آن بافت کبدش برداشته شد. پس از مداخله متغیرهای مستقل، از بافت کبد کلیه آزمودنی‌ها (پنج گروه) نمونه‌گیری شد. سپس نمونه‌ها با هم مقایسه شدند.

در این تحقیق، اصول اخلاقی در مورد نحوه کار با حیوانات آزمایشگاهی از جمله در دسترس بودن آب و غذا، شرایط نگهداری مناسب و عدم اجبار در تمرینات رعایت شد. همه آزمایش‌ها بر اساس خط‌مشی‌های قرارداد هلسینکی اجرا شد. بیان ژن عوامل مدنظر از بافت کبد با تکنیک Real time – PCR اندازه‌گیری و پس از کمی‌سازی مقادیر بیان ژن با فرمول $2^{-\Delta\Delta Ct}$ تجزیه و تحلیل شد. واکنش PCR با استفاده از Applied Biosystems (Applied Biosystems) master mix و SYBR Green در دستگاه Applied Biosystems, Sequence Detection Systems. Foster City, CA) ABI Step One طبق پروتکل شرکت سازنده انجام گرفت. توالی پرایمرهای مورد استفاده در جدول شماره ۱ ذکر شده است.

تجزیه و تحلیل آماری

برای اطمینان از طبیعی بودن توزیع متغیرها، از آزمون شاپیرو ویلک استفاده شد. بعد از اینکه طبیعی بودن توزیع داده‌ها مشخص شد، جهت مقایسه میانگین تغییرات سطح بیان ژن گروه‌ها، از آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه و برای بررسی تفاوت بین گروه‌ها از آزمون تعقیبی شفه استفاده شد. تمام عملیات آماری پژوهش با نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۳ در سطح معنی‌داری $P < 0.05$ انجام شد.

یافته‌ها

در جدول شماره ۲ میانگین و انحراف معیار متغیرها در گروه‌های مختلف نشان داده شده است. تجزیه و تحلیل داده‌ها نشان داد میانگین بیان ژن Bcl-2 بافت کبد موش‌های نر و بیستار در گروه‌های مختلف، با یکدیگر متفاوت بود ($P=0/001$). نتایج آزمون تعقیبی شفه نشان داد تغییرات بیان ژن Bcl-2 بافت کبد در گروه بولدنون نسبت به گروه کنترل به طور معنی‌داری کمتر بود ($P=0/001$). تغییرات بیان ژن Bcl-2 بافت کبد در گروه‌های ال کارنیتین و تمرین + ال کارنیتین نسبت به گروه کنترل به طور معنی‌داری بیشتر بود ($P=0/001$). تغییرات بیان ژن Bcl-2 بافت کبد در گروه‌های ال کارنیتین و تمرین + ال کارنیتین

موش (ساخت کارخانه خوراک گرگان) و آب تصفیه‌شده شهری در ظرف PVC آب‌خوری تغذیه شدند.

داروی بولدنون (با نام تجاری مدتیچ آلمان) با سرنگ انسولین مدرج و در زمان معین به نمونه‌ها تزریق شد؛ بدین‌صورت که ۰/۵ میلی‌گرم بولدنون به ازای هر ۱۰۰ گرم وزن بدن هفته‌ای یک‌بار در یک روز مشخص رأس ساعت ۱۱ صبح به عضله خلف ران موش به‌صورت عمیق تزریق شد. گروه کنترل نیز محلول فیزیولوژیک نرمال سالین یا محلول سدیم کلراید ۹ درصد دریافت کردند. گروه‌های مکمل ال کارنیتین و تمرین + ال کارنیتین نیز ۱۰۰ میلی‌گرم ال کارنیتین را به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به صورت گاواژ دریافت کردند.

پروتکل تمرین هوازی

در پژوهش حاضر از شدت تمرینی متوسط (۵۰ تا ۵۵ درصد اکسیژن مصرفی بیشینه) و در عین حال کارآمد از لحاظ فیزیولوژیک استفاده شد. بعد از پنج دقیقه گرم‌کردن با سرعت ۰/۳ متر در ثانیه (۱/۸ متر در دقیقه) سرعت نوارگردان هر سه دقیقه یک‌بار به میزان ۱/۸ متر در دقیقه افزایش یافت. حداکثر سرعت بیشینه زمانی بود که موش‌ها حداقل ۹۰ ثانیه نتوانند با یک سرعت ثابت بدون؛ شیب ترمیدل صفر درجه بود. رسیدن به سرعت بیشینه با غلظت لاکتات بالاتر از شش میلی‌مول در لیتر و نسبت تنفسی VO_2 / VCO_2 معادل ۱/۵ بود و ارتباط بالایی بین سرعت نوارگردان و $VO_2 \max$ موش‌ها وجود داشت. از این رو می‌توان با توجه به سرعت بیشینه دویدن، میزان $VO_2 \max$ موش‌ها را به دست آورد. برنامه تمرین، پنج جلسه در هفته با شدت متوسط ۵۰ تا ۵۵ درصد اکسیژن مصرفی بیشینه طی شش هفته اجرا شد. سرعت و مدت تمرین نوارگردان به تدریج افزایش یافت و از ۱۰ متر در دقیقه برای ۱۰ دقیقه در هفته اول، به ۱۰ متر در دقیقه برای ۲۰ دقیقه در هفته دوم، به ۱۴ تا ۱۵ متر در دقیقه برای ۲۰ دقیقه در هفته سوم، به ۱۴ تا ۱۵ متر در دقیقه برای ۳۰ دقیقه در هفته چهارم و به ۱۷ تا ۱۸ متر در دقیقه برای ۳۰ دقیقه در هفته پنجم افزایش یافت [۱۸].

جهت رسیدن سازگاری به حالت یکنواخت، تمام متغیرهای تمرین در هفته پایانی ثابت نگه داشته شد. به منظور تحریک موش‌ها برای دویدن، از محرک صوتی ضربه به دیواره نوارگردان استفاده شد؛ بدین‌صورت که در جلسات اول از محرک الکتریکی با ولتاژ کم همراه با محرک صوتی استفاده شد و پس از شرطی‌کردن موش‌ها به اینکه دو محرک همراه با هم وجود داشته باشند، در سایر جلسات به منظور رعایت نکات اخلاقی کار با حیوان آزمایشگاهی، فقط از محرک صوتی استفاده شد [۱۸].



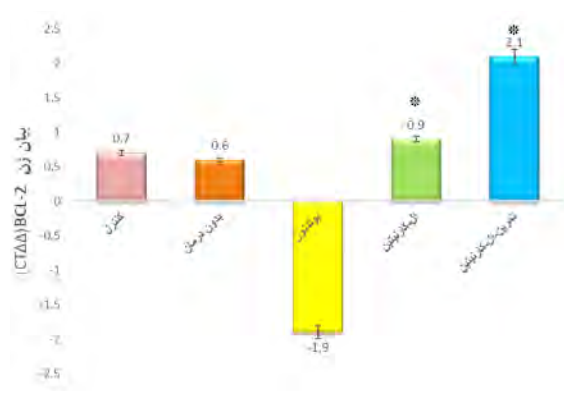
مجله طب مکمل
دانشگاه علوم پزشکی اراک

تصویر ۲. تغییرات میانگین بیان ژن Bax بافت کبد موش‌های نر ویستار در گروه‌های مختلف پس از دوره مداخله
* کاهش معنی‌دار نسبت به گروه بولدنون

بحث

در تحقیق حاضر مکمل ال کارنیتین همراه با تمرینات هوازی منظم موجب افزایش عامل ضد آپوپتوزی Bcl-2 بافت کبد به دنبال مصرف بولدنون شد. این یافته نشان داد سوءمصرف بولدنون ممکن است به آسیب کبدی منجر شود. مکانیسم‌های مولکولی آثار نامطلوب استروئیدهای آنابولیک اندروژنیک بر آپوپتوز کبدی به خوبی بررسی نشده است. گزارش شده است ال کارنیتین تجمع چربی در کبد را کاهش می‌دهد. عملکرد اصلی ال کارنیتین تسهیل اکسیداسیون چربی با حمل اسیدهای چرب زنجیره طولانی به میتوکندری هاست؛ یعنی جایی که در آن‌ها بتا اکسیداسیون انجام می‌شود. از این رو، بیشتر لیپیدهای رژیمی بدن می‌توانند با استفاده از کارنیتین به عنوان یک منبع انرژی استفاده شوند [۱۹].

یکی از مکانیسم‌های سودمند ال کارنیتین بر سمیت کبدی توانایی تثبیت سیال بودن غشای سلولی با تنظیم مقادیر



مجله طب مکمل
دانشگاه علوم پزشکی اراک

تصویر ۱. تغییرات میانگین بیان ژن Bcl-2 بافت کبد موش‌های نر ویستار در گروه‌های مختلف
* افزایش معنی‌دار نسبت به گروه بولدنون

نسبت به گروه بولدنون به طور معنی‌داری بیشتر بود ($P=0/001$). همچنین تغییرات بیان ژن Bcl-2 بافت کبد در گروه تمرین + ال کارنیتین نسبت به گروه ال کارنیتین به طور معنی‌داری بیشتر بود ($P=0/001$) (تصویر شماره ۱).

تجزیه و تحلیل داده‌ها نشان داد میانگین بیان ژن Bax بافت کبد موش‌های نر ویستار در گروه‌های مختلف متفاوت بود ($P=0/001$). نتایج آزمون تعقیبی شفه نشان داد تغییرات بیان ژن Bax بافت کبد در گروه بولدنون نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌دار یافت ($P=0/001$). تغییرات بیان ژن Bax بافت کبد در گروه تمرین + ال کارنیتین و ال کارنیتین نسبت به گروه کنترل به طور معنی‌داری کمتر بود ($P=0/001$). تغییرات بیان ژن Bax بافت کبد در گروه‌های ال کارنیتین و تمرین + ال کارنیتین نسبت به گروه بولدنون به طور معنی‌داری کمتر بود ($P=0/001$). در نهایت، تغییرات بیان ژن Bax بافت کبد در گروه تمرین + ال کارنیتین نسبت به گروه ال کارنیتین به طور معنی‌داری کمتر بود ($P=0/001$) (تصویر شماره ۲).

جدول ۱. توالی پرایمرهای مورد استفاده

نام ژن	پرایمرها	توالی	طول amplicon
bax	Forward Reverse	۵'-AGGGTGGCTGGGAAGGC-۳' ۵'-TGAGCGAGCGGTGAGG-۳'	۹۲ bp
Bcl-۲	Forward Reverse	۵'-ATCGTCTGTGGATGACTGAGTAC-۳' ۵'-AGAGACAGCCAGGAGAAATCAAAC-۳'	۹۵ bp
GAPDH	Forward Reverse	۵'-AAGTTCAACGGCACAGTCAAGG-۳' ۵'-CATACTCAGCACCAGCATCACC-۳'	۹۴ bp

مجله طب مکمل
دانشگاه علوم پزشکی اراک

جدول ۲. میانگین و انحراف معیار متغیرها در گروه‌های مختلف

معداری	میانگین \pm انحراف معیار					گروه
	تمرین - ال کارنیتین	ال کارنیتین	مکمل بولدنون	بدون درمان	کنترل	
۰/۵۸۹	۲۲۸/۳ \pm ۲۵/۸	۲۳۲/۱ \pm ۲۶/۸	۲۲۸/۶ \pm ۳۲/۰	۲۴۴/۰ \pm ۴/۰	۲۴۴/۰ \pm ۱۹/۵	هفته اول
۰/۰۰۰	۳۲۵/۳ \pm ۲۸/۹	۳۴۱/۶ \pm ۳۷/۰	۳۰۸/۲ \pm ۲۶/۲	۲۹۳/۸ \pm ۲۵/۳	۳۱۷/۲ \pm ۳۱/۵	هفته ششم
۰/۰۰۰	۱۰/۱ \pm ۰/۷۱	۱۱/۵ \pm ۱/۲	۹/۳ \pm ۱/۰	۸/۴ \pm ۱/۲	۱۱/۰ \pm ۰/۸	وزن یافت کبد (کیلوگرم)
	۲/۰ \pm ۱۰/۰۷	۰/۹ \pm ۰/۰۰	-۱/۹ \pm ۰/۰۷	۰/۶ \pm ۰/۰۰	۰/۷ \pm ۰/۰۰	بیان ژن Bcl-2 ($\Delta\Delta CT$)
	-۲/۲ \pm ۰/۰۸	۰/۱ \pm ۰/۰۰	۴/۹ \pm ۰/۱۴	۰/۷ \pm ۰/۰۰	۰/۰۶ \pm ۰/۰	بیان ژن Bax ($\Delta\Delta CT$)



[۲۵]. بیان بالای عامل ضد آپوپتوزی Bcl-2 در کاهش آسیب بافت کبد و بهبود عملکرد کبد مؤثر است. با وجود این، نتایج تحقیق حاضر با برخی مطالعات قبلی همخوان نیست [۲۶، ۲۷].

سئو و همکاران تأثیر فعالیت اختیاری (چرخ دوآر) بر عوامل درگیر در آپوپتوز و کاهش استرس را بررسی کردند. در تحقیق آنان تفاوت معنی‌داری در سطح بیان کبدی پروتئین شوک گرمایی ۷۰، Bcl-2 و P53 مشاهده نشد [۷]. تناقض در این نتایج ممکن است به عواملی مانند کمبود مدت تمرین در هر جلسه و یا دوره تمرینی و یا سطوح غیر نرمال عوامل تنظیم‌کننده آپوپتوز در آزمودنی‌ها مربوط باشد. علاوه بر این، نوع آزمودنی و نوع پروتکل تمرین نیز می‌تواند تناقض موجود در تحقیقات را توجیه کند. در بیشتر تحقیقات یادشده از پروتکل مقاومتی در طرح تحقیق استفاده شده بود.

بر اساس نتایج تحقیق حاضر، مکمل ال کارنیتین همراه با تمرینات هوازی منظم موجب کاهش بیان ژن عامل آپوپتوزی Bax بافت کبد به دنبال مصرف بولدنون می‌شود. کاهش Bax بافت کبد متعاقب تمرینات هوازی منظم، احتمالاً به دلیل کاهش میزان آسیب سلول‌های کبدی به دنبال مصرف استروئید است. همچنین تمرینات ورزشی هوازی منظم ظرفیت ضد اکسایشی بدن را تقویت می‌کند که بدین طریق ممکن است آسیب سلولی در سطح سلول‌های کبدی را کاهش دهد. برخی مطالعات اخیر نشان دادند تمرین منجر به کاهش معنادار سطوح Bax می‌شود. این نتیجه با یافته‌های لی و همکاران همخوان است [۲۸].

اگرچه مکانیسم فرایند تغییرات Bax به طور واضح مشخص نیست، اما با توجه به اینکه Bcl-2 مانع افزایش Bax می‌شود [۲۶]. در این مطالعه نیز Bcl-2 در گروه‌های تجربی افزایش یافت؛ بنابراین به نظر می‌رسد این افزایش یکی از مکانیسم‌های سرکوب Bax بوده باشد. افزایش Bcl-2 با تحکیم دیواره میتوکندری،

اسپینوگومیلین است. ال کارنیتین دارای آثار محافظتی در برابر داروهای القاکننده آسیب به میتوکندری‌هاست. علاوه بر این، نشان داده شده که ال کارنیتین دارای خواص آنتی‌اکسیدانی با آثار محافظتی در برابر آسیب رادیکال‌های آزاد است [۲۰]. نتایج تحقیق حاضر نیز نشان داد ال کارنیتین دارای آثار محافظتی در برابر آپوپتوز ناشی از مصرف بولدنون از طریق افزایش عامل ضد آپوپتوزی Bcl-2 بافت است.

بر اساس برخی مطالعات اخیر، تمرین منجر به افزایش سطوح Bcl-2 می‌شود [۲۱، ۲۲] که با یافته‌های تحقیق حاضر همخوان است. پروتئین‌های خانواده Bcl-2 مهم‌ترین نوع پروتئین‌ها در تنظیم آپوپتوزیس هستند که در تحقیق حاضر در بافت کبد بررسی شدند. حساسیت سلول به آپوپتوز به تعادل و نسبت عوامل 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 [۲۳]. تمرین ورزشی سبب القای آپوپتوز می‌شود که یک روند طبیعی برای از بین بردن سلول‌های آسیب‌دیده است که در آن‌ها واکنش‌های التهابی چشمگیری رخ نمی‌دهد. این روند باعث حصول اطمینان از عملکرد طبیعی بدن می‌شود [۲۴].

سازوکارهای دقیق فعالیت ورزشی بر تنظیم مسیر آپوپتوزی بافت کبد به درستی مشخص نیست، ولی طبق تحقیقات قبلی 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 و در نهایت تنظیم مثبت روند آپوپتوز شود [۱۳]. همچنین مکانیسم‌های حفاظت در برابر آپوپتوز به علت پیشگیری ممکن است به وسیله NF-kB متأثر شوند که این امر مانع از حساسیت به آپوپتوز می‌شود و می‌تواند تنظیم افزایشی سلول‌های ضد آپوپتوتیک Bcl-2 را تقویت کند

نتیجه‌گیری

به طور خلاصه، مکمل ال کارنیتین همراه با تمرینات هوازی منظم موجب کاهش عامل آپوپتوز و افزایش عامل ضدآپوپتوزی بافت کبد به دنبال مصرف بولدنون می‌شود؛ بنابراین، به نظر می‌رسد مکمل ال کارنیتین همراه با تمرینات هوازی منظم احتمالاً می‌تواند اثر محافظتی در مقابل آپوپتوز ناشی از استروئیدهای آنابولیک آندروژنی داشته باشد.

ملاحظات اخلاقی

پیروی از اصول اخلاق پژوهش

این مقاله در کمیته اخلاق دانشگاه فردوسی با شماره ۳/۱۹۷۵۳ تأیید و در دانشگاه آزاد اسلامی واحد آیت‌الله آملی اجرا شد.

حامی مالی

این مقاله برگرفته از پایان‌نامه دوره کارشناسی ارشد خانم سمیرا صالحی کیاسری در گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد آیت‌الله آملی است.

مشارکت نویسندگان

مفهوم‌سازی: آسیه عباسی دلویی؛ تحقیق و بررسی: سمیرا صالحی کیاسری؛ ویراستاری و نهایی‌سازی نوشته: مژگان احمدی.

تعارض منافع

بنابر اظهار نویسندگان این مقاله تعارض منافی ندارد.

سرکوب Bax، جلوگیری از رهاسازی سیتوکروم C، تنظیم کلسیم رهاشده از سارکوپلاسمیک و کاهش اثر گونه‌های اکسیژن فعال^۴ ناشی از فعالیت ورزشی، ایمنی سلول را بالا می‌برد و از آپوپتوز ناشی از استرس جلوگیری می‌کند. با توجه به اینکه در پژوهش حاضر از پروتکل شش‌هفته‌ای استفاده شد، احتمال دارد سازگاری‌های ناشی از تمرین سبب فعال‌سازی مسیرهای ضدآپوپتوزی شده باشد.

نتایج تحقیق حاضر نشان داد بین نسبت Bax / Bcl2 در دوره پس از تمرینات استقامتی تفاوت معنادار وجود دارد. این نتیجه با یافته‌های لی و همکاران همخوانی دارد. نشان داده شده است نسبت Bax / Bcl-2 به‌طور معنی‌داری پس از تمرینات ورزشی به شکل مثبتی تنظیم می‌شود [۲۸]. در واقع، تعادل بین Bax / Bcl-2 به عنوان یک عامل مهم در تعیین افزایش آپوپتوز به شمار می‌رود. نسبت Bax / Bcl2 نزدیک‌ترین ارتباط مربوط به تعیین ادامه حیات یا مرگ آپوپتوزی سلول‌ها را دارد [۲۹].

در این مطالعه نسبت Bax / Bcl2 آزمودنی‌ها در دوره پس از مداخله تفاوت معناداری یافت. این نتیجه به این موضوع اشاره دارد که ورزش احتمالاً با تعدیل عوامل القای آپوپتوز داخلی Bax / P53، و جلوگیری از رهاسازی سیتوکروم C و همچنین سرکوب عوامل خارجی مثل TNF- α و ROS، نسبت Bax / Bcl2 را به نفع حیات سلول‌ها بالا برده است [۳۰] و می‌تواند اثر محافظتی در ایجاد آپوپتوز داشته باشد. با وجود این، نتایج تحقیق حاضر با یافته‌های کولوکمب و همکاران همخوان نیست [۳۱].

همان‌طور که ملاحظه می‌شود مطالعات بسیار اندکی در خصوص اثر فعالیت ورزشی روی Bax انجام شده که با توجه به تفاوت اندازه‌گیری‌ها از بافت‌های مختلف و تفاوت در نوع و شدت فعالیت و آزمودنی‌ها و زمان اندازه‌گیری نتایج ناهم‌سویی در مورد آن گزارش شده است. تمرین هوازی منظم با شدت متوسط از نقاط قوت تحقیق حاضر بود؛ چراکه این نوع تمرین می‌تواند پاسخ‌ها و سازگاری‌های متفاوتی نسبت به برنامه‌های تمرینی دیگر به همراه داشته باشد. محدودیت‌هایی نیز در تحقیق حاضر وجود داشت که از جمله آن‌ها می‌توان به مطالعه بر روی نمونه‌های حیوانی اشاره کرد. از دیگر محدودیت‌های تحقیق حاضر می‌توان به عدم اندازه‌گیری دیگر عوامل مرتبط با آپوپتوز اشاره کرد. اندازه‌گیری عوامل استرس اکسایشی نیز می‌تواند در تبیین و تفسیر بهتر نتایج به‌ویژه در بافت کبد کمک کند که پیشنهاد می‌شود در مطالعات آینده بررسی شود.

4. Reactive Oxygen Species (ROS)

References

- [1] Lumia AR, McGinnis MY. Impact of anabolic androgenic steroids on adolescent males. *Physiology & Behavior*. 2010; 100(3):199-204. [DOI:10.1016/j.physbeh.2010.01.007] [PMID]
- [2] Guan F, Uboh CE, Soma LR, You Y, Liu Y, Li X. High-throughput UH-PLC-MS/MS method for the detection, quantification and identification of fifty-five anabolic and androgenic steroids in equine plasma. *Journal of Mass Spectrometry*. 2010; 45(11):1270-9. [DOI:10.1002/jms.1816] [PMID]
- [3] Velazquez I, Alter BP. Androgens and liver tumors: Fanconi's anemia and non-Fanconi's conditions. *American Journal of Hematology*. 2004; 77(3):257-67. [DOI:10.1002/ajh.20183] [PMID]
- [4] van Amsterdam J, Opperhuizen A, Hartgens F. Adverse health effects of anabolic-androgenic steroids. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. 2010; 57(1):117-23. [DOI:10.1016/j.yrtph.2010.02.001] [PMID]
- [5] Paul D, Paul K. Liver injury and hepatocellular carcinoma: A review. *International Journal of Research in Pharmacy and Chemistry*. 2012; 2(1):188-96. [http://www.ijrpc.com/files/v2i1%20\(26\).pdf](http://www.ijrpc.com/files/v2i1%20(26).pdf)
- [6] Tousson E, El-Gerbed MSA, Shleby S. Effects of maturity on histopathological alteration after a growth promoter boldenone injection in rabbits. *Journal of American Science*. 2011; 7(12):1074-80. <https://www.researchgate.net/publication/288901364>
- [7] Seo H, Park CH, Choi S, Kim W, Jeon BD, Ryu S. Effects of voluntary exercise on apoptosis and cortisol after chronic restraint stress in mice. *Journal of Exercise Nutrition & Biochemistry*. 2016; 20(3):16-23. [DOI:10.20463/jenb.2016.09.20.3.3] [PMID] [PMCID]
- [8] Mutomba MC, Yuan H, Konyavko M, Adachi S, Yokoyama CB, Esser V, et al. Regulation of the activity of caspases by L-carnitine and palmitoylcarnitine. *FEBS Letters*. 2000; 478(1-2):19-25. [DOI:10.1016/S0014-5793(00)01817-2]
- [9] Phaneuf SC, Leewenburgh. Apoptosis and exercise. *Medicine & Science in Sports & Exercise*. 2001; 33(3):393-6. [DOI:10.1097/00005768-200103000-00010] [PMID]
- [10] Ranjbar K, Matinhomae H, Azarbayjani MA, Peeri M. [Effect of zizyphus jujube extract and resistance exercise on liver damaging biomarkers in male toxicated by anabolic steroid (Persian)]. *Metabolism and Exercise A Bioannual Journal*. 2015; 5(1):35-44. https://jme.guilan.ac.ir/article_1693.html
- [11] Siagian M, Lousiana, M, Santoso DIS, Endardjo S. Effects of anaerobic exercise and detraining on the caspase-3 expression of rat ventricular cardiomyocyte. *Medical Journal of Indonesia*. 2015; 24(2):84-90. [DOI:10.13181/mji.v24i2.1220]
- [12] Fernandes T, de Castro Magalhães F, do Carmo EC, de Oliveira EM. Aerobic exercise training inhibits skeletal muscular apoptotic signaling mediated by VEGF-VEGR2 in spontaneously hypertensive rats. *Revista Brasileira de Medicina do Esporte (Exercise and Sports Sciences)*. 2012; 18(6):412-8. [DOI:10.1590/S1517-86922012000600014]
- [13] 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. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2013; 2013:368450. [DOI:10.1155/2013/368450] [PMID] [PMCID]
- [14] Benvenga S. Effects of L-carnitine on thyroid hormone metabolism and on physical exercise tolerance. *Hormone and Metabolic Research*. 2005; 37(9):566-71. [DOI:10.1055/s-2005-870424] [PMID]
- [15] Rebouche CJ, Paulson DJ. Carnitine metabolism and function in humans. *Annual Review of Nutrition*. 1986; 6:41-66. [DOI:10.1146/annurev.nu.06.070186.000353] [PMID]
- [16] Stephens FB, Constantin-Teodosiu D, Greenhaff PL. New insights concerning the role of carnitine in the regulation of fuel metabolism in skeletal muscle. *The Journal of Physiology*. 2007; 581(2):431-44. [DOI:10.1113/jphysiol.2006.125799] [PMID] [PMCID]
- [17] Tousson E, El-Moghazy M, Massoud A, El-Atrash A, Sweef O, Akel A. Physiological and biochemical changes after boldenone injection in adult rabbits. *Toxicology and Industrial Health*. 2016; 32(1):177-82. [DOI:10.1177/0748233713501365] [PMID]
- [18] Habibpoor Karimabadi F, Abbassi Dalooi A, Abdi A, Ziaolhagh SJ. [Evaluation of zizyphus jujube extract effect during endurance training on cardiac tissue in wistar male rats toxicated by boldenone (Persian)]. *Journal of Knowledge & Health in Basic Medical Sciences*. 2018; 13(2):42-9. <http://knh.shmu.ac.ir/index.php/site/article/view/1936>
- [19] Cha YS. Effects of L-carnitine on obesity, diabetes, and as an ergogenic aid. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*. 2008; 17 Suppl 1(1):306-8. [PMID]
- [20] Kart A, Yapar K, Karapehivan M, Citil M. The possible protective effect of L-carnitine on tilmicosin-induced cardiotoxicity in mice. *Journal of Veterinary Medicine Series A*. 2007; 54(3):144-6. [DOI:10.1111/j.1439-0442.2007.00897.x] [PMID]
- [21] Siu PM, Bryner RW, Martyn JK, Alway SE. Apoptotic adaptations from exercise training in skeletal and cardiac muscles. *The FASEB Journal*. 2004; 18(10):1150-2. [DOI:10.1096/fj.03-1291fje] [PMID]
- [22] Habibi P, Alihemmati AR, Nour Azar AR, 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. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*. 2016; 19(4):381-7. [PMID] [PMCID]
- [23] Elmore S. Apoptosis: A review of programmed cell death. *Toxicologic Pathology*. 2007; 35(4):495-516. [DOI:10.1080/01926230701320337] [PMID] [PMCID]
- [24] Mooren FC, Blöming D, Lechtermann A, Lerch MM, Völker K. Lymphocyte apoptosis after exhaustive and moderate exercise. *Journal of Applied Physiology*. 2002; 93(1):147-53. [DOI:10.1152/jappphysiol.01262.2001] [PMID]
- [25] Maulik N, Sasaki H, Addya S, Das DK. Regulation of cardiomyocyte apoptosis by redox-sensitive transcription factors. *FEBS Letters*. 2000; 485(1):7-12. [DOI:10.1016/S0014-5793(00)02174-8]
- [26] 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 and Tissue*. 2015; 2(4):e60174. [DOI:10.17795/gct-32833]
- [27] Santana ET, Serra AJ, Silva Junior JA, Bocalini DS, Barauna VG, Krieger JE, et al. Aerobic exercise training induces an anti-apoptotic milieu in myocardial tissue. *Motriz: Revista de Educação Física*. 2014; 20(2):233-8. [DOI:10.1590/S1980-65742014000200015]
- [28] Lee SD, Shyu WC, Cheng IS, Kuo CH, Chan YS, Lin YM, et al. Effects of exercise training on cardiac apoptosis in obese rats. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*. 2013; 23(6):566-73. [DOI:10.1016/j.numecd.2011.11.002] [PMID]
- [29] Krüger K, Mooren FC. Exercise-induced leukocyte apoptosis. *Exercise Immunology Review*. 2014; 20:117-34. [PMID]
- [30] Deminice R, Rosa FT, Franco GS, Jordao AA, de Freitas EC. Effects of creatine supplementation on oxidative stress and inflammatory

markers after repeated-sprint exercise in humans. *Nutrition*. 2013; 29(9):1127-32. [DOI:10.1016/j.nut.2013.03.003] [PMID]

- [31] Colombo R, Siqueira R, Conzatti A, Fernandes TRG, Tavares AMV, da Rosa Araújo AS, et al. Aerobic exercise promotes a decrease in right ventricle apoptotic proteins in experimental cor pulmonale. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*. 2015; 66(3):246-53. [DOI:10.1097/FJC.0000000000000272] [PMID]

This Page Intentionally Left Blank