



## تأثیر تمرین هوازی و مصرف ال کارنیتین بر آنزیم های Malonyl-CoA و CPT2 در بافت هیپوکامپ رت‌های

### دیابتی

مهدی انگوتی: دانشجوی دکتری فیزیولوژی عصبی عضلانی، گروه فیزیولوژی، دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران

حمید رجبی: استاد، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران (\* نویسنده مسئول) hrajabi1346@gmail.com

رضا قراخانلو: استاد، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

محمد رضا دهخدا: دانشیار، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران

### چکیده

#### کلیدواژه‌ها

تمرین هوازی،

ال کارنیتین،

Malonyl-CoA،

CPT2،

دیابت،

هیپوکامپ

تاریخ دریافت: ۹۹/۰۲/۰۱

تاریخ چاپ: ۹۹/۰۴/۱۶

**زمینه و هدف:** دیابت و آسیب به بافت‌های مختلف از جمله بافت عصبی یکی از مشکلات جوامع مختلف می‌باشد. هدف از انجام این پژوهش تعیین تاثیر تمرین هوازی و مصرف ال کارنیتین بر آنزیم‌های میتوکندریایی Malonyl-CoA و CPT2 در هیپوکامپ رت‌های دیابتی بود.

**روش کار:** برای انجام تحقیق تجربی حاضر ۴۵ سر رت نژاد ویستار ۲۵۰ تا ۳۰۰ گرمی، از مرکز انستیتو پاستور تهران تهیه و به طور تصادفی به شش گروه تقسیم شدند. گروه‌های دیابتی با تزریق ۵۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن STZ به صورت زیر صفاقی دیابتی شدند. گروه‌های مکمل نیز رت‌ها روزانه ۱۰۰ میلی‌گرم ال کارنیتین به صورت خوراکی دریافت کردند. برنامه تمرین هوازی به مدت ۶ هفته و ۵ روز در هفته انجام شد که هفته اول با سرعت ۱۰ متر بر دقیقه به مدت ۲۰ دقیقه و شیب صفر درجه شروع و در انتهای هفته ششم به سرعت ۲۰ متر بر دقیقه، مدت ۴۰ دقیقه و شیب ۵ درجه رسید. متغیرهای تحقیق ۲۴ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین به وسیله دستگاه الایزا و در بافت هیپوکامپ اندازه‌گیری شدند. از روش آماری تحلیل واریانس یک راهه و آزمون تعقیبی توکی جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها استفاده شد.

**یافته‌ها:** در تحقیق حاضر تاثیر افزایشی تمرین هوازی و مصرف ال کارنیتین بر میزان CPT2 میتوکندری بافت هیپوکامپ مشاهده شد ( $p=0/008$ ). با این حال تفاوت معنی داری در میزان Malonyl-CoA میتوکندری بافت هیپوکامپ رت‌های دیابتی در نتیجه تمرین هوازی و مصرف ال کارنیتین مشاهده نشد ( $p=0/272$ ).

**نتیجه‌گیری:** با توجه تاثیر تمرین هوازی و مکمل ال کارنیتین به تنهایی و در تعامل با هم، استفاده از آن‌ها با مشورت پزشک به افراد دیابتی توصیه می‌شود.

**تعارض منافع:** گزارش نشده است.

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

شیوه استناد به این مقاله:

Angouti M, Rajabi H, Gharakhanlou R, Dehkhoda MR. The effect of aerobic training and intake of L-Carnitine on Malonyl-CoA and CPT2 enzymes in hippocampus tissue of diabetic rats. Razi J Med Sci. 2020;27(4):122-130.

\*انتشار این مقاله به صورت دسترسی آزاد مطابق با CC BY-NC-SA 3.0 صورت گرفته است.



## Original Article

## The effect of aerobic training and intake of L-Carnitine on Malonyl-CoA and CPT2 enzymes in hippocampus tissue of diabetic rats

**Mahdi Angouti**, PhD Student in Neuromuscular Physiology, Department of Physiology, Kharazmi University, Tehran, Iran

**Hamid Rajabi**, Professor, Department of Sport Physiology, Kharazmi University, Tehran, Iran (\* Corresponding author) [hrajabi1346@gmail.com](mailto:hrajabi1346@gmail.com)

**Reza Gharakhanlou**, Professor, Department of Sport Physiology, Tarbiat-Modarres University, Tehran, Iran

**Mohammad Reza Dehkhoda**, Associate Professor, Department of Sport Physiology, Kharazmi University, Tehran, Iran

### Abstract

**Background:** Diabetes is known as one of the diseases that has imposed many health, social and economic problems on human societies and has spread widely in recent decades (1). Glucose metabolism and related disorders for the central nervous system (CNS) and astrocytes, which are the most important glial cells of the central nervous system; It is important. Therefore, disorders of the hypothalamus, cerebral cortex and hippocampus, vascular disorders of the brain, etc. are among the complications of diabetes on the central nervous system (3). Among the brain regions, the hippocampus is one of the most sensitive areas that is vulnerable to harmful factors such as ischemia, stress and especially diabetes, during which it undergoes neurophysiological, structural and molecular changes such as decreased neurogenesis and atrophy. Hippocampus (4), which leads to one of the significant changes caused by diabetes, namely neuronal death in the hippocampus (5).

Due to the fact that insulin resistance and type 2 diabetes are characterized by hyperglycemia, hyperinsulinemia, increased plasma FFA levels, decreased fat oxidation ability and fat accumulation in body cells (6). And this increase in fat content has a high relationship with insulin resistance and the main cause of this accumulation of fat is mitochondrial dysfunction (7). Two mitochondrial enzymes that are important in the fat metabolism of cells in the body are Malonyl-CoA and CPT2. Malonyl-CoA, a coenzyme derived from malonic acid, plays an essential role in the transport of fatty acids into the mitochondria and in their synthesis. Are fatty acids (8). Accordingly, some evidence suggests that reducing the amount of malonyl coenzyme A reduces insulin resistance (10). In this regard, carnitine palmitoyl transferase 2 is a mitochondrial protein that is attached to the inner part of the mitochondrial membrane and plays a key role in the transport of fatty acids into the cell for beta oxidation (11). The regulation of CPT-2 activity by Malonyl-CoA or other metabolic mediators is not directly or indirectly known (12). One of the supplements that has been shown to facilitate beta oxidation of long chain fatty acids and participate in the metabolism of branched-chain amino acids and fix cell membranes is L-carnitine (14). Due to the fact that L-carnitine is able to transport the acetate group from the mitochondria to the cytoplasm, thereby reducing the ratio of acetyl coenzyme A to coenzyme A in the mitochondria, thereby increasing the activity of the enzyme pyruvate dehydrogenase and thus glucose catabolism. Give (15). Therefore, taking this supplement may be able to improve mitochondrial disorders caused by diabetes in various tissues, including nerve tissue.

On the other hand, in addition to nutrition and various supplements, physical activity and exercise have been proposed as a way to control diabetes disorders (16). In confirmation of this, exercise activity in diabetic rats by reducing blood sugar levels, causes cell proliferation and increases the synaptic plasticity of neurons in the hippocampus of the brain (17). In fact, exercise creates endogenous neuroprotection by reducing endogenous neurons and protecting them against diabetic neuropathy, and ultimately reducing diabetic cognitive and motor disorders (18), thus increasing activity. Regular exercise can improve the malleability of the brain (19), the antioxidant system (20), and the upregulation of neurotrophins (21).

Considering the above and considering the negative effects of diabetes on various body systems on the one hand and irreparable damage to society, researchers are always looking to discover the best way to prevent and treat this dangerous complication. Various studies have been performed on the effect of increased plasma L-carnitine on FFA intake or exercise endurance capacity following oral administration or intravenous injection; In this regard, some findings suggest that L-carnitine supplementation increases fat oxidation (25) decreases carbohydrate oxidation (26) improves exercise (27) and reduces recovery time following exercise (28) Leads. Given the above and differences in research results on the effect of aerobic exercise and L-carnitine on mitochondrial disorders on the one hand and the lack of research on the subject of research on the hippocampus on the other hand and

### Keywords

Aerobic Training,  
L-Carnitine,  
Diabet,  
Mitochondrial Enzymes,  
Hippocampus

Received: 20/04/2020

Published: 06/07/2020

discovering a way to minimize the negative effects of diabetes. Specifically, the increase in cellular fat content in the hippocampus, the researcher seeks to answer the question of whether increased aerobic activity and consumption of L-carnitine have an effect on mitochondrial factors in the hippocampus of diabetic rats or not?

**Methods:** This research is of developmental type and its method is experimental. In which the ethical principles of working with laboratory animals, such as the availability of water and food, and proper storage conditions, and how to kill mice were observed.

The statistical population of the present study consisted of male Wistar rats in the weight range of 250 to 300 g and 6 to 8 weeks of age that were bred at the Razi Serum Laboratory Animal Breeding Center. From the statistical population, 45 rats were randomly selected as a statistical sample and randomly divided into 6 groups. Groups include 1) sham injection group (5 rats), 2) healthy control (8 rats), 3) diabetic control group (8 rats), 4) diabetic group receiving L-carnitine (8 rats), 5) The diabetic group was aerobic exercise (8 rats) 6) The diabetic group was aerobic exercise and received L-carnitine (8 rats). In the diabetic group, animals became diabetic by injecting streptozotocin (STZ) at 55 mg / kg body weight. 48 hours after STZ injection, hyperglycemia was confirmed by glucose oxidase assay with biosystem kit. Thus, rats with serum glucose above 300 mg / dL were considered diabetic. In the diabetic and exercise groups, the animals ran on a treadmill for six weeks after induction of diabetes. Rats receiving L-carnitine received 100 mg of L-carnitine (29, 30) orally daily for 6 weeks. Aerobic exercise groups also performed a training program including aerobic exercise on a treadmill, 5 days a week, from 9 am to 11 am, for 6 weeks (31).

**Results:** In the present study, the effect of aerobic exercise and consumption of L-carnitine on the mitochondrial CPT2 content of hippocampal tissue was observed ( $p= 0.008$ ). However, there was no significant difference in the number of Malonyl-CoA mitochondria in the hippocampal tissue of diabetic rats as a result of aerobic exercise and L-carnitine administration ( $p= 0.227$ ). The effect of aerobic exercise and L-carnitine consumption on Malonyl-CoA and CPT2 enzymes in the hippocampal tissue of diabetic rats was investigated. Based on the results of Tukey post hoc test, it was shown that diabetes is associated with a significant increase in Malonyl-CoA mitochondria of hippocampal tissue. Consistent with a study by Badiopada et al. (2006) that increased Malonyl-CoA levels and decreased fatty acid oxidation showed key abnormalities in insulin resistance in type 2 diabetic specimens (32).

In general, exercise can stimulate lipid oxidation and inhibit lipid synthesis in the liver, a process that is mediated by activation of the AMPK pathway (33). However, as the results of the present study show, the response of Malonyl-CoA to exercise is different in hippocampal tissue, so it is possible that Malonyl-CoA levels in different tissues respond differently to exercise. The lack of significant change in Malonyl-CoA levels in the hippocampal tissue of diabetic specimens and the aerobic exercise program with L-carnitine can be attributed to changes in tissue insulin sensitivity and tissue oxidation. In the present study, the interaction between aerobic exercise and L-carnitine consumption had no effect on Malonyl-CoA hippocampus in rats. Although there are several mechanisms involved in supporting the effects of exercise on diabetes, the type of exercise and the dose of L-carnitine supplementation can also affect the results. Therefore, further studies are needed to discover the mechanism of Malonyl-CoA changes in the hippocampus, especially in diabetic specimens following L-carnitine exercise and consumption.

The present study showed that diabetes was associated with a significant decrease in hippocampal tissue CPT2 index and the results showed that aerobic exercise and L-carnitine consumption had no effect on rat hippocampal CPT2. But the interaction of aerobic exercise and supplementation significantly increased CPT2 in the rat hippocampus. The palmitoyl carnitine transferase (CPT) system contains two enzymes, CPT I and CPT II, and are involved in the transport of long-chain fatty acids into the mitochondrial compartment. The enzymes are CPT I in the outer membrane and CPT II in the inner membrane of the mitochondria (11). The results of Aminizadeh et al. (2017) on the regulation of cellular energy homeostasis in the skeletal muscle of male rats after four weeks of endurance training showed that the expression of carnitine palmityl transferase 1 beta gene in the endurance training group was significantly higher than the control group (34). However, the exact mechanisms of the effect of exercise on CPT II regulation in hippocampal tissue are not well understood. Also, the physiological significance of the natural inhibition of CPT II by malonyl coa has not been determined. However, due to the high sensitivity of CPT II to Malonyl-CoA, it can be stated that changes in CPT II level are dependent on the level of Malonyl-CoA (35).

**Conclusion:** Due to the effect of aerobic exercise and L-carnitine supplement alone and in interaction, using them in consultation with a physician is recommended for diabetics.

**Conflicts of interest:** None

**Funding:** None

### Cite this article as:

Angouti M, Rajabi H, Gharakhanlou R, Dehkhoda MR. The effect of aerobic training and intake of L-Carnitine on Malonyl-CoA and CPT2 enzymes in hippocampus tissue of diabetic rats. Razi J Med Sci. 2020;27(4):122-130.

\*This work is published under CC BY-NC-SA 3.0 licence.

## مقدمه

دیابت به عنوان یکی از بیماری‌هایی شناخته می‌شود که مشکلات بهداشتی-درمانی، اجتماعی و اقتصادی بسیاری را به جوامع بشری تحمیل کرده و در دهه های اخیر گسترش زیادی یافته است (۱). و به سبب پیامدهای فراوان و ایجاد معلولیت‌های مختلف در بین مردم به عنوان بیماری ناتوان کننده نام گرفته است (۲). متابولیسم گلوکز و اختلالات مربوط به آن برای سیستم عصبی مرکزی (CNS) و آستروسیتها که مهم‌ترین سلول‌های گلیال دستگاه عصبی مرکزی می باشند؛ اهمیت دارد. از همین رو اختلالات هیپوتالاموس، قشر مخ و هیپوکامپ، اختلالات عروقی مغز و ... از جمله عوارض ناشی از دیابت بر سیستم عصبی مرکزی می‌باشد (۳).

از میان مناطق مغزی، هیپوکامپ یکی از حساس ترین نواحی است که در مقابل فاکتورهای مضر و آسیب رسان مانند ایسکمی، استرس و به ویژه دیابت آسیب پذیر بوده و در طی آن دستخوش تغییرات نورفیزیولوژیکی، ساختاری و مولکولی همچون کاهش نورونز (۳) و آتروفی هیپوکامپی (۴) می‌گردد که منجر به یکی از تغییرات قابل توجه ناشی از دیابت یعنی مرگ نورونی در هیپوکامپ می‌شود (۵).

با توجه به این نکته که مقاومت به انسولین و دیابت نوع ۲ با هیپرگلیسمی، هیپرانسولینمی، افزایش سطح FFA پلاسما، کاهش توانایی اکسیداسیون چربی و انباشت چربی در سلول‌های بدن مشخص می‌شود (۶). و این افزایش در محتوای چربی رابطه بالایی با مقاومت به انسولین دارد و اصلی ترین عامل این انباشت چربی اختلال در عملکرد میتوکندریایی می‌باشد (۷). دو آنزیم میتوکندریایی که در سوخت و ساز چربی سلول‌های بدن دارای اهمیت می باشند عبارتند از Malonyl-CoA و CPT2. Malonyl-CoA که کوآنزیم مشتق از اسید مالونیک می‌باشد، دارای یک نقش اساسی در انتقال اسیدهای چرب به داخل میتوکندری و نیز سنتز اسیدهای چرب می‌باشد (۸). ساها (Saha) و همکاران (۱۹۹۵) نشان داده‌اند که مالونیل کوآنزیم A نقش مهمی در تنظیم اکسیداسیون اسیدهای چرب توسط گلوکز دارد، بدین ترتیب که مهار اکسیداسیون اسیدهای چرب که با افزایش دسترسی به

گلوکز صورت پذیرد می‌تواند به دلیل افزایش مالونیل کوآنزیم A صورت پذیرد و افزایش اکسیداسیون اسیدهای چرب می‌تواند به دلیل کاهش دسترسی به گلوکز و کاهش غلظت مالونیل کوآنزیم A باشد، که می‌توانیم پیشنهادی آن افزایش یا کاهش مهار آلوستریکی CPT1 می‌باشد (۹). بر همین اساس برخی از شواهد نشان می‌دهد که کاهش میزان مالونیل کوآنزیم A باعث کاهش مقاومت به انسولین می‌شود (۱۰).

در همین رابطه کارنیتین پالمیتول ترانسفراز ۲ یک پروتئین میتوکندریایی می‌باشد که به قسمت داخلی غشای میتوکندری چسبیده است و در نقل و انتقال اسید چرب به داخل سلول برای بتا اکسیداسیون نقش اساسی دارد (۱۱). تنظیم فعالیت CPT-2 توسط مالونیل کوآنزیم A یا سایر واسطه‌های متابولیسم به طور مستقیم یا غیر مستقیم مشخص نیست (۱۲). روفر (Rufier) و همکارانش (۲۰۰۶) نشان دادند که کارنیتین پالمیتول ترانسفراز ۱ و ۲ ورود اسیدهای چرب با زنجیره طولانی به میتوکندری را تسهیل می‌کنند (۱۳). تحقیقات زیادی برای توسعه داروها و مکمل‌های جدید و مختلف علیه دیابت قندی در دست بررسی و توسعه می‌باشد (۱۳).

یکی از مکمل‌هایی که نشان داده شده است بتا اکسیداسیون اسیدهای چرب زنجیره بلند را تسهیل می‌کند و در متابولیسم آمینواسیدهای شاخه دار شرکت کرده و غشا سلولی را ثابت می‌نماید ال کارنیتین می‌باشد (۱۴). با توجه به اینکه ال کارنیتین قادر است گروه استات را از درون میتوکندری به درون سیتوپلاسم حمل کرده و بدین وسیله نسبت استیل کوآنزیم آ به کوآنزیم آ را در میتوکندری کاهش داده و متعاقب آن فعالیت آنزیم پیرووات دی هیدروژناز و در نتیجه کاتابولیسم گلوکز را افزایش بدهد (۱۵). بنابراین مصرف این مکمل شاید بتواند اختلالات میتوکندریایی حاصل از دیابت را در بافت‌های مختلف از جمله بافت عصبی را بهبود بخشد.

از طرفی کنار تغذیه و مکمل‌های مختلف، فعالیت بدنی و ورزش به عنوان راهکاری برای کنترل اختلالات دیابت مطرح بوده است (۱۶). در تایید این موضوع فعالیت ورزشی در رت‌های دیابتی با کاهش سطح قند

این سوال است که آیا فعالیت هوازی فزاینده و مصرف ال کارنیتین بر فاکتورهای میتوکندریایی هیپوکامپ رت‌های دیابتی تأثیری دارد یا خیر؟

### روش کار

این تحقیق از نوع توسعه‌ای و روش آن تجربی می‌باشد. که در آن اصول اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی از قبیل در دسترس بودن آب و غذا، و شرایط نگهداری مناسب مد نظر قرار گرفت و چگونگی کشتار موش‌ها رعایت شد. همچنین پروتکل پژوهش مورد تایید کمیته اخلاق پژوهشگاه تربیت بدنی وزارت علوم، تحقیقات و فناوری، قرار گرفت و کد اخلاق (IR.SSRI.REC.1397.337) نیز برای آن صادر شد. جامعه آماری پژوهش حاضر را رت‌های نر نژاد ویستار در محدوده وزنی ۲۵۰ تا ۳۰۰ گرم و سن ۶ تا ۸ هفته ای که در مرکز پرورش حیوانات آزمایشگاهی سرم‌سازی رازی تکثیر شدند، تشکیل دادند. از بین جامعه آماری ۴۵ سر رت به طور تصادفی به عنوان نمونه آماری انتخاب و به طور تصادفی به ۶ گروه تقسیم شدند. گروه‌ها شامل (۱) گروه شم تزریق (۵ سر رت)، (۲) سالم کنترل (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) بودند. در گروه دیابت، حیوانات با تزریق استرپتوزوتوسین (STZ) به مقدار ۵۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن دیابتی شدند. ۴۸ ساعت بعد از تزریق STZ هیپرگلیسمی به وسیله سنجش قند خون به روش گلوکز اکسیداز با کیت بیوسیستم تایید گردید. به این ترتیب رت‌هایی که گلوکز سرم آنها از ۳۰۰ میلی‌گرم/دسی‌لیتر بالاتر بود به عنوان دیابتی در نظر گرفته شدند. در گروه‌های دیابتی و تمرینی، حیوانات بعد از القای دیابت، به مدت شش هفته روی تردمیل دویدند. رت‌های دریافت کننده ال کارنیتین روزانه ۱۰۰ میلی‌گرم ال کارنیتین (۲۹، ۳۰) را به صورت خوراکی در طول ۶ هفته دریافت کردند. گروه‌های تمرین هوازی نیز برنامه تمرینی شامل تمرین هوازی روی نوارگردان، ۵ روز در هفته، از ۹ ساعت ۱۱ صبح، به مدت ۶ هفته (۳۱) را انجام دادند (جدول ۱).

خون، موجب تکثیر سلولی و افزایش شکل پذیری سیناپسی نورون‌های ناحیه هیپوکامپ مغز می‌شود (۱۷). در حقیقت تمرینات ورزشی با ایجاد وضعیت محافظت نورونی درون‌زا و از طریق کاهش عوامل خطر‌زا موجب زنده ماندن نورونها و حفاظت از آنها در برابر نوروپاتی دیابتی و در نهایت کاهش اختلالات شناختی و حرکتی ناشی از دیابت خواهد شد (۱۸) بنابراین فعالیت افزایش یافته به شکل تمرین ورزشی منظم می‌تواند شکل پذیری مغز (۱۹) سیستم ضد اکسایشی (۲۰) و تنظیم افزایشی نروتروفین‌ها را ارتقا بخشد (۲۱).

با در نظر گرفتن موارد فوق و با توجه به آثار منفی دیابت بر سیستم‌های مختلف بدن از یک طرف و صدمات جبران ناپذیر بر جامعه، محققین همیشه در پی کشف بهترین روش برای پیشگیری و درمان از این عارضه خطرناک هستند.

مینگورنه (Mingrone) و همکارانش (۱۹۹۹) با تزریق مداوم ال-کارنیتین در بیماران دیابتی نوع ۲ دریافتند که ال کارنیتین باعث افزایش برداشت گلوکز و حساسیت به انسولین در سلول‌ها می‌شود (۲۲). بوراد (Broad) و همکارانش در سال‌های ۲۰۰۸ و ۲۰۱۱ گزارش کردند که مکمل دهی ۲ یا ۳ گرمی ال کارنیتین برای دو هفته منجر به بهبود سطح گلوکز و آمونیاک پلازما و همچنین کاهش ضربان قلب بدون تأثیر متابولیسم چربی و کربوهیدرات می‌شود (۲۳، ۲۴).

مطالعات گوناگونی در مورد اثر افزایش ال-کارنیتین پلازما روی مصرف FFA یا ظرفیت استقامتی ورزش، متعاقب مصرف خوراکی یا تزریق وریدی آن انجام شده است؛ در این زمینه، برخی یافته‌ها نشان می‌دهند که مکمل سازی ال-کارنیتین به افزایش اکسیداسیون چربی‌ها (۲۵) کاهش اکسیداسیون کربوهیدرات‌ها (۲۶) بهبود تمرینات ورزشی (۲۷) و کاهش زمان برگشت به حالت اولیه متعاقب با ورزش (۲۸) را منجر می‌شود.

با توجه به مطالب فوق و اختلاف در نتایج تحقیقات در رابطه با تأثیر تمرین هوازی و ال کارنیتین بر اختلالات میتوکندریایی از یک طرف و عدم انجام تحقیقی در زمینه موضوع پژوهش بر روی هیپوکامپ از طرف دیگر و کشف راهی جهت به حداقل رساندن عوارض منفی دیابت به ویژه افزایش محتوای چربی سلولی و آن هم در هیپوکامپ، محقق به دنبال پاسخ



جدول ۱- برنامه تمرین گروه‌های تمرینی

شعب	تعداد جلسه در هفته	زمان	سرعت	هفته
صفر	۵ جلسه	۲۰ دقیقه	۱۰ متر بر دقیقه	اول
۵	۵ جلسه	۲۰ دقیقه	۱۰ متر بر دقیقه	دوم
۵	۵ جلسه	۳۰ دقیقه	۲۰ متر بر دقیقه	سوم
۵	۵ جلسه	۴۰ دقیقه	۲۰ متر بر دقیقه	چهارم
۵	۵ جلسه	۴۰ دقیقه	۲۰ متر بر دقیقه	پنجم و ششم

رسم نمودارها نیز از نرم‌افزار Excel استفاده شد.

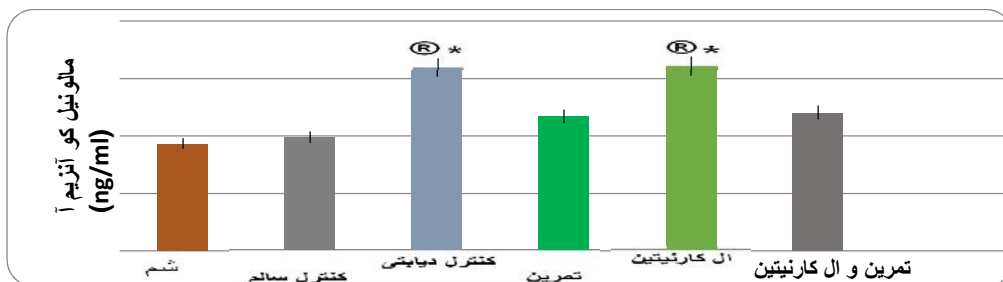
### یافته‌ها

نتایج آزمون تحلیل واریانس یک طرفه نشان داد که تمرین هوازی و مصرف ال کارنیتین باعث بوجود آمدن اختلاف معنی‌دار در میزان Malonyl-CoA میتوکندریایی بافت هیپوکامپ رت‌های صحرایی نمی‌شود ولی بر اساس آزمون تعقیبی توکی بین گروه کنترل سالم با گروه های کنترل دیابتی ( $p=0/02$ )، مکمل ال کارنیتین ( $p=0/017$ ) و گروه‌های کنترل دیابتی با شم ( $p=0/028$ )، و شم با مکمل ال کارنیتین ( $p=0/025$ ) این تفاوت معنی‌دار وجود داشت (نمودار ۱).

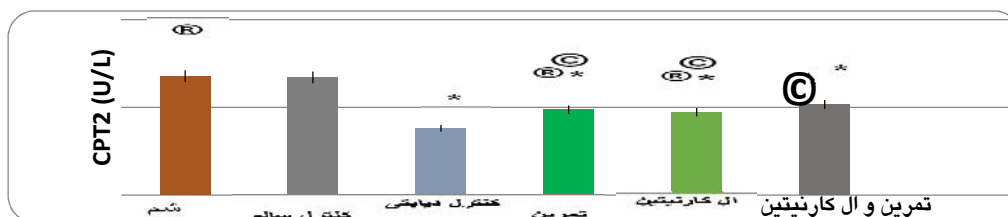
نتایج آزمون تحلیل واریانس یک طرفه نشان داد که تمرین هوازی و مصرف ال کارنیتین بر میزان

بعد از ۶ هفته، تمام رت‌ها با کلروفروم از راه تنفسی بیهوش شده و مجموعه آنها در طول خط وسط باز و مغز رت‌ها خارج شد، سپس بافت استخراج شده روی تخته برش یخ بسته قرار داده شد و پرده‌های منتر به دقت برداشته و سپس هیپوکامپ به دقت تشریح و جدا شد و به تانک ازت مایع منتقل و در دمای  $-70^{\circ}\text{C}$  سانتی‌گراد برای انجام آزمایشات ذخیره شد.

برای سنجش میزان پروتین CPT2 و Malonyl-CoA به روش الیزا از کیت Zellbio GmbH آلمان با حساسیت  $0/1$  نانوگرم بر میلی‌لیتر و برای بررسی توصیف داده‌ها از شاخص‌های گرایش مرکزی (میانگین و انحراف معیار) و از آزمون شیپرو و بلک، تحلیل واریانس یک طرفه و آزمون تعقیبی توکی با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۱ در سطح معنی‌داری  $p = 0/05$  برای تجزیه و تحلیل داده‌ها استفاده شد. در نهایت برای



نمودار ۱- میانگین و انحراف معیار Malonyl-CoA در گروه‌های مورد مطالعه (\*=تفاوت با گروه کنترل سالم، @=تفاوت با گروه شم)  $p < 0/05$  در نظر گرفته شده است.



نمودار ۲- میانگین و انحراف معیار CPT2 در گروه‌های مورد مطالعه (\*=تفاوت با گروه کنترل سالم، @=تفاوت با گروه شم)  $p < 0/05$  در نظر گرفته شده است.

CoA به تمرین در بافت هیپوکمپ متفاوت می باشد بنابراین احتمال دارد سطح Malonyl-CoA در بافت‌های مختلف به طور متفاوتی نسبت به تمرین پاسخ می‌دهد. می‌توان عدم تغییر معنی‌دار در سطح Malonyl-CoA در بافت هیپوکمپ نمونه‌های دیابتی و برنامه‌ی تمرین هوازی همراه با ال کارنیتین را به تغییرات حساسیت به انسولین بافتی و اکسیداسیون بافت نسبت داد. در تحقیق حاضر تعامل تمرین هوازی و مصرف ال کارنیتین بر Malonyl-CoA هیپوکمپ موش‌های صحرایی تاثیر نداشت. اگرچه مکانیسم‌های متعددی در مورد آثار حمایت فعالیت ورزشی در دیابت مطرح است، نوع تمرین و میزان دوز مصرفی مکمل ال کارنیتین نیز می‌تواند در نتایج حاصل اثرگذار باشد. بنابراین مطالعات بیشتری برای کشف سازوکار تغییرات Malonyl-CoA هیپوکمپ به ویژه در نمونه‌های دیابتی متعاقب تمرین و مصرف ال کارنیتین مورد نیاز است. تحقیق حاضر نشان داد که دیابت با کاهش معنی‌دار شاخص CPT2 بافت هیپوکمپ همراه بوده است و نتایج نشان داد تمرین هوازی و مصرف ال کارنیتین بر CPT2 هیپوکمپ رت‌ها تاثیر ندارد. اما تعامل تمرین هوازی و مکمل موجب افزایش معنی‌دار CPT2 هیپوکمپ موش‌های صحرایی شده بود. سیستم پالمیتویل ترانسفراز کارنیتین (CPT) شامل دو آنزیم، CPT I و CPT II است و در انتقال اسیدهای چرب زنجیره بلند در محفظه میتوکندری دخالت دارند. آنزیم‌ها CPT I در غشای بیرونی و CPT II در غشای داخلی میتوکندری قرار دارند (۱۱). نتایج تحقیق امینی زاده و همکاران (۲۰۱۷) بر تنظیم هموستاز انرژی سلولی در عضله اسکلتی رت‌های نر متعاقب چهار هفته تمرین استقامتی نشان داد بیان ژن کارنیتین پالمیتیل ترانسفراز ۱ بتا در گروه تمرین استقامتی به طور معنی‌داری از گروه کنترل بیشتر بود (۳۴). به هر حال سازوکارهای دقیق تاثیر فعالیت ورزشی بر تنظیم CPT II در بافت هیپوکمپ به درستی مشخص نیست. همچنین اهمیت فیزیولوژیکی مهار طبیعی CPT II توسط مالونیل کوآ مشخص نشده است با این حال، به علت حساسیت بالای CPT II به مالونیل کوآ می‌توان اظهار داشت که تغییرات سطح CPT II وابسته به سطح مالونیل کوآ می‌باشد (۳۵). فعالیت ورزشی هوازی با شدت و مدت کافی، اثرات

بافت هیپوکمپ رت‌های صحرایی دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشد ( $p=0/001$ ). بر اساس آزمون تعقیبی توکی نشان داده شد که در بین گروه کنترل سالم با گروه‌های کنترل دیابتی ( $p=0/001$ )، تمرین هوازی ( $p=0/001$ )، مکمل ال کارنیتین ( $p=0/001$ )، تمرین هوازی و مکمل ال کارنیتین ( $p=0/002$ )، و نیز بین گروه شم با گروه‌های کنترل دیابتی ( $p=0/001$ )، مکمل ال کارنیتین ( $p=0/001$ )، تمرین هوازی ( $p=0/001$ )، تمرین هوازی و مکمل ال کارنیتین ( $P=0/006$ ) و در نهایت کنترل دیابتی با تمرین هوازی و مکمل ال کارنیتین ( $p=0/008$ )، این اختلاف معنی‌دار وجود دارد (نمودار ۲).

### بحث و نتیجه‌گیری

در پژوهش حاضر تاثیر تمرین هوازی و مصرف ال کارنیتین بر آنزیم‌های Malonyl-CoA و CPT2 در بافت هیپوکمپ رت‌های دیابتی بررسی شد که بر اساس نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داده شد که دیابت با افزایش معنی‌دار Malonyl-CoA میتوکندریای بافت هیپوکمپ همراه است. که همسو با مطالعه بادوپادای (Bandyopadhyay) و همکارانش (۲۰۰۶) است که افزایش سطح Malonyl-CoA کاهش اکسیداسیون اسید چرب ناهنجاری‌های کلیدی در مقاومت به انسولین در نمونه‌های دیابتی نوع ۲ را نشان داده‌اند (۳۲). در تحقیق حاضر، تمرین هوازی و مصرف ال کارنیتین بر Malonyl-CoA میتوکندریایی هیپوکمپ موش‌های صحرایی تاثیر نداشت. که همخوان با نتیجه تحقیق باسامی (Bassami) و همکاران (۲۰۱۳) که به مقایسه تاثیر فعالیت مقاومتی دایره‌ای و هایپرتروفی با حجم یکسان بر متابولیسم چربی و کربوهیدرات‌ها طی فعالیت استقامتی در مردان دارای اضافه وزن پرداختند بود. نتایج آنها برای اکسیداسیون چربی، انسولین، گلوکوت ۴، Malonyl-CoA و اسیدچرب آزاد در بافت چربی تفاوت معناداری پس از دوره تمرین نشان نداد (۳۳).

در مجموع، فعالیت ورزشی می‌تواند اکسیداسیون لیپیدها را تحریک و سنتز لیپیدها را در درون کبد مهار کند که این فرایند به واسطه‌ی فعال سازی مسیر AMPK انجام می‌شود (۳۳). با این حال همانطور که نتایج تحقیق حاضر نشان می‌دهد پاسخ Malonyl-

insulin resistance. *Clin Diabetol*. 2001;4(1):255-266.

8. McGarry J. The mitochondrial carnitine palmitoyltransferase system: its broadening role in fuel homeostasis and new insights into its molecular features. Portland Press Limited, 1995.

9. Saha AK, Kurowski TG, Ruderman NB. A malonyl-CoA fuel-sensing mechanism in muscle: effects of insulin, glucose, and denervation. *Am J Physiol Endocrinol Metabol*. 1995;269(2):E283-E289.

10. Harwood HJ, Petras SF, Shelly LD, Zaccaro LM, Perry DA, Makowski MR, et al. Isozyme-nonspecific N-substituted bipiperidylcarboxamide acetyl-CoA carboxylase inhibitors reduce tissue malonyl-CoA concentrations, inhibit fatty acid synthesis, and increase fatty acid oxidation in cultured cells and in experimental animals. *J Biol Chem*. 2003;278(39):37099-37111.

11. Bonnefont JP, Djouadi F, Prip-Buus C, Gobin S, Munnich A, Bastin J. Carnitine palmitoyltransferases 1 and 2: biochemical, molecular and medical aspects. *Mol Aspects Med*. 2004;25(5-6):495-520.

12. Kumaravel G, Gandour R, Krueger M, Ramsay R. Comparison of the active sites of the purified carnitine acyltransferases from peroxisomes and mitochondria by using a reaction-intermediate analogue. *Biochem J*. 1993;294(3):645-651.

13. Rufer AC, Thoma R, Benz J, Stihle M, Gsell B, De Roo E, et al. The crystal structure of carnitine palmitoyltransferase 2 and implications for diabetes treatment. *Structure*. 2006;14(4):713-723.

14. Johansen L, Bøhmer T. Carnitine-binding related suppressed oxygen uptake by spermatozoa. *Arch Androl*. 1978;1(4):321-324.

15. Di Donto S, Garavaglia B, Rimoldi M, Carrara F. "Clinical and biomedical phenotypes of carnitine deficiencies," L-Carnitine and its role in medicine: From function to therapy. Academic Press, New York, NY, pp. 81-98, 1992.

16. Woolf-May K. Exercise prescription: the physiological foundations: Elsevier, 2006.

17. Hwang IK, Yi SS, Song W, Won MH, Yoon YS, Seong JK. Effects of age and treadmill exercise in chronic diabetic stages on neuroblast differentiation in a rat model of type 2 diabetes. *Brain Res*. 2010;1341:63-71.

18. Atalay M, Laaksonen DE. Diabetes, oxidative stress and physical exercise. *J Sports Sci Med*. 2002;1(1):1.

19. Cotman CW, Berchtold NC. Exercise: a behavioral intervention to enhance brain health and plasticity. *Trends Neurosci*. 2002;25(6):295-301.

20. Radák Z, Sasvári M, Nyakas C, Taylor AW, Ohno H, Nakamoto H, et al. Regular training modulates the accumulation of reactive carbonyl derivatives in mitochondrial and cytosolic fractions

مفیدی بر بهبود حساسیت به انسولین دارد و باعث افزایش محتوای GLUT4 mRNA می شود این خود باعث مصرف بهتر گلوکز، کاهش مقاومت به انسولین و در نتیجه باعث کاهش ورود لیپیدها به کبد می شود. افزایش CPT2 بافت هیپوکمپ در گروه ترکیبی تمرین هوازی و مکمل ال کارنیتین نشان می دهد تمرین هوازی و مداخله ترکیبی تمرین هوازی و مکمل ال کارنیتین نه تنها اثر مخرب بر بافت هیپوکمپ ندارد، که می تواند سبب بهبود عملکرد بافت هیپوکمپ شود؛ البته اثبات این فرضیه نیازمند تحقیقات بیشتر است.

بطور کلی نتایج پژوهش حاضر نشان داد شش هفته تمرین هوازی فزاینده به تنهایی، مکمل ال کارنیتین به تنهایی و مداخله ترکیبی آنها می تواند موجب بهبود اختلالات میتوکندریایی رت های دیابتی شود. لذا جهت کاهش آثار دیابت پیشنهاد می شود افراد دیابتی از تمرینات هوازی استفاده کنند. همچنین پیشنهاد می شود با مشورت پزشک و احتیاط از ال کارنیتین استفاده کنند.

## References

1. Sardar M, Gaeini A, Ramezani J. The effect of 8-weeks of regular physical activity on blood glucose, body mass index, maximal oxygen uptake (Vo<sub>2</sub>max) and risk factors cardiovascular diseases in patients with type of 1 diabetes mellitus. *Iran J Endocrinol Metabol*. 2008;10(2):91-97.

2. Kasper D, Fauci A, Hauser S, Longo D, Jameson J, Loscalzo J. Harrison's principles of internal medicine: McGraw-Hill Professional Publishing, 2015.

3. Beauquis J, Saravia F, Coulaud J, Roig P, Dardenne M, Homo-Delarche F, et al. Prominently decreased hippocampal neurogenesis in a spontaneous model of type 1 diabetes, the nonobese diabetic mouse. *Experim Neurol*. 2008;201(2):359-367.

4. den Heijer T, Vermeer S, Van Dijk E, Prins N, Koudstaal PJ, Hofman A, et al. Type 2 diabetes and atrophy of medial temporal lobe structures on brain MRI. *Diabetologia*. 2003;46(12):1604-1610.

5. Lebed YV, Orlovsky M, Lushnikova I, Skibo G. Neurodegenerative changes in the hippocampus within the early period of experimental diabetes mellitus. *Neurophysiology*. 2008;40(1):26.

6. Mandarino L, Consoli A, Kelley D. Effects of obesity and NIDDM on glucose and insulin regulation of substrate oxidation in skeletal muscle. *Am J Physiol*. 1996;270:E463-E470.

7. Kelley DE, Goodpaster BH. Skeletal muscle triglyceride. An aspect of regional adiposity and



21. of rat skeletal muscle. Arch Biochem Biophys. 2000;383(1):114-118.
22. Radak Z, Toldy A, Szabo Z, Siamilis S, Nyakas C, Silye G, et al. The effects of training and detraining on memory, neurotrophins and oxidative stress markers in rat brain. Neurochem Int. 2006;49(4):387-392.
23. Mingrone G, Greco AV, Capristo E, Benedetti G, Giancaterini A, Gaetano AD, et al. L-carnitine improves glucose disposal in type 2 diabetic patients. J Am College Nutr. 1999;18(1):77-82.
24. Broad EM, Maughan RJ, Galloway SD. Effects of exercise intensity and altered substrate availability on cardiovascular and metabolic responses to exercise after oral carnitine supplementation in athletes. Int J Sport Nutr Exerc Metabol. 2011;21(5):385-397.
25. Broad EM, Maughan RJ, Galloway SD. Carbohydrate, protein, and fat metabolism during exercise after oral carnitine supplementation in humans. Int J Sport Nutr Exerc Metabol. 2008;18(6):567-584.
26. Ibrahim WH, Bailey N, Sunvold GD, Bruckner GG. Effects of carnitine and taurine on fatty acid metabolism and lipid accumulation in the liver of cats during weight gain and weight loss. Am J Vet Res. 2003;64(10):1265-1277.
27. Stephens FB, Constantin-Teodosiu D, Laithwaite D, Simpson EJ, Greenhaff PL. An acute increase in skeletal muscle carnitine content alters fuel metabolism in resting human skeletal muscle. J Clin Endocrinol Metabol. 2006;91(12):5013-5018.
28. Guarnieri G, Biolo G, Vinci P, Massolino B, Barazzoni R. Advances in carnitine in chronic uremia. J Ren Nutr. 2007;17(1):23-29.
29. Karlic H, Lohninger A. Supplementation of L-carnitine in athletes: does it make sense? Nutrition. 2004;20(7-8):709-715.
30. Mansour HH. Protective role of carnitine ester against radiation-induced oxidative stress in rats. Pharmacol Res. 2006;54(3):165-171.
31. Bodea F, Bocea A, Decea N. L-carnitine decreases oxidative stress induced by experimental hypobaric hypoxia. Pediatr Endocrinol Diabetes Metabol. 2010;16(2):78-81.
32. Kim HJ, Park JY, Oh SL, Kim YA, So B, Seong JK, et al. Effect of treadmill exercise on interleukin-15 expression and glucose tolerance in Zucker diabetic fatty rats. Diabetes Metabol J. 2013;37(5):358-364.
33. Bandyopadhyay GK, Joseph GY, Ofrecio J, Olefsky JM. Increased malonyl-CoA levels in muscle from obese and type 2 diabetic subjects lead to decreased fatty acid oxidation and increased lipogenesis; thiazolidinedione treatment reverses these defects. Diabetes. 2006;55(8):2277-2285.
34. Bassami EK, Sarkot K. Comparison of the effect of circular and hypertrophic resistance activity on fat and carbohydrate metabolism during endurance activity in men overweight. Res Sport Sci. 2013;5(17):29-45.
35. Aminizadeh S, Habibi A, Marefati H, Shakerian S. Response of Estrogen-related Receptor Alpha (ERR ) to Endurance Training and its Participation in Endurance Training-induced Adaptations in Lipid Metabolism in Skeletal Muscle of Male Wistar rats. SSU J. 2017;25(5):414-425.
36. Nathan DM. Long-term complications of diabetes mellitus. N Eng J Med. 1993;328(23):1676-1685.