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 Daloii2, Samira Salehi Kiasari2

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 apo-
...osis 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 BLC-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±7.94g) 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).

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 Bel-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-
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 Daloii; Investigation: Samira Salehi Kiasari; Writing – review & editing: Mozghan Ahmadi

Conflicts of interest

There was no conflict of interest in conducting this study.
پاسخ بیان Zn-2 و Bcl-2 به یک دوره تمرین هوازی به همراه مکمل ال کارنیتین در موش‌های مسموم‌شده با بولدنون (Bolde)

در این پژوهش، مقایسه پاسخ بیان ژن‌های Bax و Bcl-2 موش‌های مسموم شده با بولدنون انجام شد.

گروه‌بندی انجام شد تا گروه‌های یکسانی داشته باشند. گروه بولدنون 5 میلی‌گرم بولدنون روزی و گروه ال کارنیتین 5 میلی‌گرم ال کارنیتین گرفتند.

نتایج نشان داد که این مکمل به شکلی که در این پژوهش استفاده شد، می‌تواند راکتکوکسید‌ها را کاهش دهد. همچنین، آپوپتوز کبد با استفاده از Real Time PCR تعیین شد.

نتایج نشان داد که در گروه ال کارنیتین و ال کارنیتین و تمرینات ورزشی، مقاومت بیشتری علیه آپوپتوز کبد داشتند.

کلیدواژه‌ها:
تمار ورزشی، بولدنون، ال کارنیتین، آپوپتوز، موش‌های ویستار

مقدمه
مشتقات تولید شده از استروئیدهای آندروژنی آنابولیک به عنوان نوعی از هورمون‌های کنترلی در کنترل افزایش وزن و توده می‌باشند. این استروئیدها از جمله بولدنون، استروئیدی است که آنزیم Bcl-2 بیانگر آپوپتوز بیانگر است. در این پژوهش، به کاهش آپوپتوز در کبد موش‌های ویستار پایه‌گذاری گردید.

کاهش آپوپتوز در کبد با استفاده از ال کارنیتین و تمرینات ورزشی

در این پژوهش، به تحقیق درباره افزایش مقاومت کبدی در موش‌های ویستار پایه‌گذاری گردید.

نتایج نشان داد که استروئیدها باعث افزایش آپوپتوز بیشتری در کبد موش‌های ویستار می‌شود. همچنین، استروئیدها باعث افزایش آپوپتوز بیشتری در کبد موش‌های ویستار می‌شود.

نتایج نشان داد که استروئیدها باعث افزایش آپوپتوز بیشتری در کبد موش‌های ویستار می‌شود. همچنین، استروئیدها باعث افزایش آپوپتوز بیشتری در کبد موش‌های ویستار می‌شود.

نتایج نشان داد که استروئیدها باعث افزایش آپوپتوز بیشتری در کبد موش‌های ویستار می‌شود. همچنین، استروئیدها باعث افزایش آپوپتوز بیشتری در کبد موش‌های ویستار می‌شود.

نتایج نشان داد که استروئیدها باعث افزایش آپوپتوز بیشتری در کبد موش‌های ویستار می‌شود. همچنین، استروئیدها باعث افزایش آپوپتوز بیشتری در کبد موش‌های ویستار می‌شود.

نتایج نشان داد که استروئیدها باعث افزایش آپوپتوز بیشتری در کبد موش‌های ویستار می‌شود. همچنین، استروئیدها باعث افزایش آپوپتوز بیشتری در کبد موش‌های ویستار می‌شود.

نتایج نشان داد که استروئیدها باعث افزایش آپوپتوز بیشتری در کبد موش‌های ویستار می‌شود. همچنین، استروئیدها باعث افزایش آپوپتوز بیشتری در کبد موش‌های ویستار می‌شود.

نتایج نشان داد که استروئیدها باعث افزایش آپوپتوز بیشتری در کبد موش‌های ویستار می‌شود. همچنین، استروئیدها باعث افزایش آپوپتوز بیشتری در کبد موش‌های ویستار می‌شود.

نتایج نشان داد که استروئیدها باعث افزایش آپوپتوز بیشتری در کبد موش‌های ویستار می‌شود. همچنین، استروئیدها باعث افزایش آپوپتوز بیشتری در کبد موش‌های ویستار می‌شود.

نتایج نشان داد که استروئیدها باعث افزایش آپوپتوز بیشتری در کبد موش‌های ویستار می‌شود. همچنین، استروئیدها باعث افزایش آپوپتوز بیشتری در کبد موش‌های ویستار می‌شود.

نتایج نشان داد که استروئیدها باعث افزایش آپوپتوز بیشتری در کبد موش‌های ویستار می‌شود. همچنین، استروئیدها باعث افزایش آپوپتوز بیشتری در کبد موش‌های ویستار می‌شود.

نتایج نشان داد که استروئیدها باعث افزایش آپوپتوز بیشتری در کبد موش‌های ویستار می‌شود. همچنین، استروئیدها باعث افزایش آپوپتوز بیشتری در کبد موش‌های ویستار می‌شود.

نتایج نشان داد که استروئیدها باعث افزایش آپوپتوز بیشتری در کبد موش‌های ویستار می‌شود. همچنین، استروئیدها باعث افزایش آپوپتوز بیشتری در کبد موش‌های ویستار می‌شود.

نتایج نشان داد که استروئیدها باعث افزایش آپوپتوز بیشتری در کبد موش‌های ویستار می‌شود. همچنین، استروئیدها باعث افزایش آپوپتوز بیشتری در کبد موش‌های ویستار می‌شود.

نتایج نشان داد که استروئیدها باعث افزایش آپوپتوز بیشتری در کبد موش‌های ویستار می‌شود. همچنین، استروئیدها باعث افزایش آپوپتوز بیشتری در کبد موش‌های ویستار می‌شود.

نتایج نشان داد که استروئیدها باعث افزایش آپوپتوز بیشتری در کبد موش‌های ویستار می‌شود. همچنین، استروئیدها باعث افزایش آپوپتوز بیشتری در کبد موش‌های ویستار می‌شود.

نتایج نشان داد که استروئیدها باعث افزایش آپوپتوز بیشتری در کبد موش‌های ویستار می‌شود. همچنین، استروئیدها باعث افزایش آپوپتوز بیشتری در کبد موش‌های ویستار می‌شود.

نتایج نشان داد که استروئیدها باعث افزایش آپوپتوز بیشتری در کبد موش‌های ویستار می‌شود. همچنین، استروئیدها باعث افزایش آپوپتوز بیشتری در کبد موش‌های ویستار می‌شود.

نتایج نشان داد که استروئیدها باعث افزایش آپوپتوز بیشتری در کبد موش‌های ویستار می‌شود. همچنین، استروئیدها باعث افزایش آپوپتوز بیشتری در کبد موش‌های ویستار می‌شود.

نتایج نشان داد که استروئیدها باعث افزایش آپوپتوز Bax و Bcl-2 به یک دوره تمرین هوازی به همراه Mکم ژن‌ها در موش‌های مسموم‌شده با بولدنون (Bolde)

در این پژوهش، مقایسه پاسخ Bax و Bcl-2 موش‌های مسموم شده با بولدنون انجام شد.

گروه‌بندی انجام شد تا گروه‌های یکسانی داشته باشند. گروه بولدنون 5 میلی‌گرم بولدنون روزی و گروه ال کارنیتین 5 میلی‌گرم ال کارنیتین گرفتند.

نتایج نشان داد که این مکمل کاهش بیان ژن‌های Bax و Bcl-2 را در کبد موش‌های ویستار می‌نماید.
ازجمله آپوپتوز کبدی گزارش شده که ممکن است زندگی به مدت سنگینی کبدی یا زمان اتانول در خون نشان داده است. این توصیه‌ها به‌طور کلی از تحقیقات آپوپتوز گزارش شده بودند.

1. 3-hydroxy-4-N-trimethylaminobutyrate
در پایان مطالعه، حیوانات به مدت 12 ساعت تا نهایت داشته شدند و در سه گروه: کنترل، ال کارنیتین و تمرین، تمرین + ال کارنیتین بیافزایی بیشتری بلافاصله پس از کمیسیونگری با داشتن صفر در بهینه نتوانستند. گروه کنترل نیز بیافزایی بیشتری 2 بلافاصله پس از کمیسیونگری نتوانستند. گروه کنترل نیز بیافزایی بیشتری 2 بلافاصله پس از کمیسیونگری نتوانستند. گروه کنترل نیز بیافزایی بیشتری 2 بلافاصله پس از کمیسیونگری نتوانستند. گروه کنترل نیز بیافزایی بیشتری 2 بلافاصله پس از کمیسیونگری نتوانستند. گروه کنترل نیز بیافزایی بیشتری 2 بلافاصله پس از کمیسیونگری نتوانستند. گروه کنترل نیز بیافزایی بیشتری 2 بلافاصله پس از کمیسیونگری نتوانستند. گروه کنترل نیز بیافزایی بیشتری 2 بلافاصله پس از کمیسیونگری نتوانستند. گروه کنترل نیز بیافزایی بیشتری 2 بلافاصله پس از کمیسیونگری نتوانستند. گروه کنترل نیز بیافزایی بیشتری 2 بلافاصله پس از کمیسیونگری نتوانستند. گروه کنترل نیز بیافزایی بیشتری 2 بلافاصله پس از کمیسیونگری نتوانستند. گروه کنترل نیز بیافزایی بیشتری 2 بلافاصله پس از کمیسیونگری نتوانستند. گروه کنترل نیز بیافزایی بیشتری 2 بلافاصله پس از کمیسیونگری نتوانستند. گروه کنترل نیز بیافزایی بیشتری 2 بلافاصله پس از کمیسیونگری نتوانستند. گروه کنترل نیز بیافزایی بیشتری 2 بلافاصله پس از کمیسیونگری نتوانستند. گروه کنترل نیز بیافزایی بیشتری 2 بلافاصله پس از کمیسیونگری نتوانستند. گروه کنترل نیز بیافزایی بیشتری 2 بلافاصله پس از کمیسیونگری نتوانستند. گروه کنترل نیز بیافزایی بیشتری 2 بلافاصله پس از کمیسیونگری نتوانستند. گروه کنترل نیز بیافزایی بیشتری 2 بلافاصله پس از کمیسیونگری نتوانستند. گروه کنترل نیز بیافزایی بیشتری 2 بلافاصله پس از کمیسیونگری نتوانستند. گروه کنترل نیز بیافزایی بیشتری 2 بلافاصله پس از کمیسیونگری نتوانستند. گروه کنترل نیز بیافزایی بیشتری 2 بلافاصله پس از کمیسیونگری نتوانستند. گروه کنترل نیز بیافزایی بیشتری 2 بلافاصله پس از کمیسیونگری نتوانستند. گروه کنترل نیز بیافزایی بیشتری 2 بلافاصله پس از کمیسیونگری نتوانستند. گروه کنترل نیز بیافزایی بیشتری 2 بلافاصله پس از کمیسیونگری نتوانستند. گروه کنترل نیز بیافزایی بیشتری 2 بلافاصله پس از کمیسیونگری نتوانستند. گروه کنترل نیز بیافزایی بیشتری 2 بلافاصله پس از کمیسیونگری نتوانستند. گروه کنترل نیز بیافزایی بیشتری 2 بلافاصله پس از کمیسیونگری نتوانستند. گروه کنترل نیز بیافزایی بیشتری 2 بلافاصله پس از کمیسیونگری نتوانستند. گروه کنترل نیز بیافزایی بیشتری 2 بلافاصله پس از کمیسیونگری نتوانستند. گروه کنترل نیز بیافزایی بیشتری 2 بلافاصله پس از کمیسیونگری نتوانستند. گروه کنترل نیز بیافزایی بیشتری 2 بلافاصله پس از کمیسیونگری نتوانستند. گروه کنترل نیز بیافزایی بیشتری 2 بلافاصله پس از کمیسیونگری نتوانستند. گروه کنترل نیز بیافزایی بیشتری 2 بلافاصله پس از کمیسیونگری نتوانستند. گروه کنترل نیز بیافزایی بیشتری 2 بلافاصله پس از کمیسیونگری نتوانستند. گروه کنترل نیز بیافزایی بیشتری 2 بلافاصله پس از کمیسیونگری نتوانستن...
بحث

در تحقیق حاضر مکمل ال کارنیتین همراه با تمرینات هوازی بلافاصله افزایش عامل ضد آپوپتوزی به دنبال مصرف بولدنون شد. این یافته نشان دهنده مثبت مصرف ال کارنیتین در مواجهه با مصرف ال کارنیتین بود که کاهش معنی‌دار نسبت به گروه بولدنون * بود (تصویر شماره 2). (تصویر شماره 1).

تجزیه و تحلیل دمآمورا نشان داد میانگین بیان ژن Bax و Bcl-2 در گروه های مختلف متفاوت بود. نتایج آزمون تعقیبی گروه + ال کارنیتین و ال کارنیتین نسبت به گروه کنترل به طور معنی‌داری کمتر بود (جدول 1). نتایج آزمون تعقیبی بیان از این آزمون توضیح نویسی دارد که کاهش معنی‌دار نسبت به گروه بولدنون * بود (جدول 1). (تصویر شماره 3).

جدول 1. لوکس پرایمرها و ضرایب دی‌ان‌ای

| ژن    | لوکس پرایمرها | ضرایب دی‌ ان‌ای | طول امپلیکون |
|-------|---------------|----------------|---------------|
| bax   | Forward Reverse | 5′-AGGGTGGCTGGGAAGGC-3′, 5′-TGAGCGAGGCGGTGAGG-3′ | 92 bp |
| Bcl-2 | Forward Reverse | 5′-AAGTTCAACGGGACAGTCAAGG-3′, 5′-CATACTGACCGACGATCC-3′ | 93 bp |
| GAPDH | Forward Reverse |                  | 90 bp         |
همخوان است. پروتئین‌های خانواده Bax در گروه‌های تجربی افزایش یافتند؛ بنابراین کاهش در سطح سلول‌های کبدی را کاهش دهد. برخی مطالعات اخیر این امر را تقویت کنند. در بیشتر تحقیقات یادشده از پروتکل مقاومتی در سیرو و همکاران تأثیر فعالیت اختیاری (چرخ دوّار) بر عوامل بافت کبد و بهبود عملکرد ممکن است با آسیب سلولی به دنبال مصرف استروئید مرتبط باشد. بر اساس نتایج تحقیق حاضر، مکمل ال‌کارنیتین همراه با تمرین منجر به کاهش معنادار سطوح Bax و Bcl-2 می‌شود. این نتایج تأثیر مثبت ال‌کارنیتین در مقایسه با استروئید را تقویت کنند.

این نتایج به همراه مقدار وزن موش ها (گرم) در هفته اول و نسبت عوامل پیش آپوپتوز را نشان می‌دهد. این روند باعث القای آپوپتوز می‌شود که یک روند طبیعی برای آتفرش و استحکام پایدار در افراد ناشی از بروز عوارض آپوپتوز خطرناک باشد.
نتیجه‌گیری

به طور خلاصه، مکمل ال کارنیتین همراه با تمرینات هوازی منظم موجب کاهش عمل آوری باترون به علت ضعف باترونی شده و کاهش سطح آنزیم فیتامین‌های اکسیژنی می‌گردد. سپس آنزیم‌های باترونی می‌توانند عمل آوری های خاصی انجام دهند و باعث پاسخ دفاعی بدن می‌شوند. این پاسخ دفاعی می‌تواند در پاسخ به تنش‌های فیزیکی به عنوان یک عامل مهم در تعیین افزایش آپوپتوز به شمار بود. به طور خلاصه، مکمل ال کارنیتین همراه با تمرینات هوازی منظم موجب کاهش عمل آوری باترون به علت ضعف باترونی شده و کاهش سطح آنزیم فیتامین‌های اکسیژنی می‌گردد. سپس آنزیم‌های باترونی می‌توانند عمل آوری های خاصی انجام دهند و باعث پاسخ دفاعی بدن می‌شوند. این پاسخ دفاعی می‌تواند در پاسخ به تنش‌های فیزیکی به عنوان یک عامل مهم در تعیین افزایش آپوپتوز به شمار بود.

ملاحظات اخلاقی

پیروی از اصول اخلاق پژوهش

این مقاله در کمیته اخلاق دانشگاه فردوسی با شماره 3/19753 تأیید و در دانشگاه آزاد اسلامی واحد آیت اللّه آملی اجرا شد.

پاسخ‌نامه‌های بفتگان

پیروی از اصول اخلاق پژوهش

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

مشارکت‌نامه‌های متعدد

موفقیت‌های آسه‌ها، مبهسری دلبری، تحقیق و بررسی: سمیرا صالحی کیاسری، ویراستاری و نهایی سازی نوشته: مژگان احمدی.

مشارکت‌نامه‌های متعدد

توجه‌ها و مناقع

بیان اطلاعات بی‌طرف و سوال‌های متعدد

بحث‌های طبیعی

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 UHPLC-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] Velaquez 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

[6] 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:10.1177/074823731501365] [PMID]

[7] Chau 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]

[8] Ahmadi M, et al. Response of Liver Tissue Bax and Bcl-2 Gene Expression to Aerobic Training. CMJA. 2019; 9(3):3890-3901.

[9] 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 Araujo 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]
