

## مقاله پژوهشی

## تأثیر یک دوره تمرین استقامتی و مصرف ال-کارنیتین بر بیان ژن $TNF-\alpha$ و $IL-1\beta$ در بافت قلب رت‌های نر ویستار بعد از مصرف استروئید آنابولیک (بولدنون)

پوران ادیانی<sup>۱</sup>، آسیه عباسی دلویی<sup>۱\*</sup>، سعیده شادمهری<sup>۲</sup>

۱- گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد آیت‌الله آملی، دانشگاه آزاد اسلامی، آمل، ایران

۲- گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد یادگار امام خمینی (ره) شهرری، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۸/۰۴/۰۵

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۷/۱۰/۰۲

### چکیده

زمینه و هدف: هدف از این پژوهش تأثیر یک دوره تمرین استقامتی و مصرف ال-کارنیتین بر بیان ژن  $TNF-\alpha$  و  $IL-1\beta$  در بافت قلب رت‌های نر ویستار بعد از مصرف استروئید آنابولیک (بولدنون) بود.

مواد و روش‌ها: در این تحقیق تجربی، تعداد ۳۰ سر موش نر ویستار با سن ۱۲ هفته و میانگین وزن  $195 \pm 7/94$  گرم به‌طور تصادفی در ۵ گروه شامل کنترل، بدون درمان، بولدنون (۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن)، ال-کارنیتین و ال-کارنیتین-تمرین هوازی با شش سر موش در هر گروه تقسیم شدند. برنامه تمرین استقامتی با شدت متوسط (۵۰-۵۵ درصد اکسیژن مصرفی بیشینه) به مدت شش هفته و پنج جلسه در هفته اجرا شد. تزریق دارو یک‌بار در هفته، در یک روز مقرر و در عضلات همسترینگ به‌صورت عمیق انجام شد. پس از بیهوشی، کالبدشکافی انجام و بافت قلب برداشته شد. میزان بیان  $TNF-\alpha$  و  $IL-1\beta$  به روش Real Time PCR اندازه‌گیری شد. داده‌ها به روش t همبسته، تحلیل واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی شفه در سطح معنی‌داری  $P < 0.05$  تجزیه و تحلیل شدند.

نتایج: نتایج نشان داد بین میانگین بیان ژن  $TNF-\alpha$  و  $IL-1\beta$  بافت قلب موش‌های نر ویستار در گروه‌های مختلف تفاوت وجود دارد ( $P = 0/001$ ). تغییرات بیان ژن  $TNF-\alpha$  و  $IL-1\beta$  بافت قلب در گروه‌های ال-کارنیتین و تمرین-ال-کارنیتین نسبت به گروه بدون درمان و بولدنون به‌طور معنی‌داری کمتر بود ( $P = 0/001$ ). نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد مکمل ال-کارنیتین همراه با تمرینات هوازی منظم سبب کاهش آسیب قلبی ناشی از استروئیدهای آنابولیک آندروژنی می‌شود.

**کلمات کلیدی:** تمرین هوازی، بولدنون، ال کارنیتین،  $TNF-\alpha$  و  $IL-1\beta$

### مقدمه

نارسایی قلب و مرگ ناگهانی قلبی مرتبط است (۱). تغییرات ساختاری قلب پس از تجویز استروئیدهای آنابولیک در انسان نیز مشاهده شده است (۲). بولدنون (Boldenone) یکی از استروئیدهای آنابولیک است که موجب افزایش اندازه عضلات از طریق تحریک تولید پروتئین و کاهش تخریب پروتئین می‌شود (۳). نشان داده شده است که بولدنون موجب آسیب به بافت عضله قلبی و سلول‌های عضله قلبی، نکروز و پرخونی در بافت قلب می‌شود (۴).

واسطه‌های دقیق هیپرتروفی قلب، متنوع هستند و از محرک‌های مکانیکی تا عوامل هومورال آزاد شده توسط قلب و

اگرچه استروئیدهای آندروژنی آنابولیک اثرات سودمندی روی دستگاه قلبی-عروقی دارند، برخی از مطالعات انجام شده نشان داده‌اند که استروئیدهای آندروژنی آنابولیک بسته به مدت تجویز و دوز مصرفی می‌توانند باعث بسیاری از عوارض جانبی قلبی-عروقی شوند به طوری که استفاده از دوزهای فیزیولوژیکی بالای استروئیدهای آندروژنی آنابولیک با توسعه اختلالات قلبی-عروقی همچون افزایش ضخامت دیواره درونی بطنی، آسیب قلبی،

\*نویسنده مسئول: آسیه عباسی دلویی، گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد آیت‌الله آملی، دانشگاه آزاد اسلامی، آمل، ایران  
Email: abbasi.dalooi@gmail.com  
https://orcid.org/0000-0003-0746-0299



اکسایش سوخت‌وساز قلب را افزایش می‌دهد. همچنین مکمل‌گیری برون‌زاد با ال-کارنیتین، ذخایر تخلیه‌شده کارنیتین قلبی را بازسازی می‌کند و سوخت‌وساز قلبی و بطن چپ (LV) را بهبود می‌بخشد (۱۱). از این جهت، ورزشکاران برای افزایش انتقال اسید چرب آزاد به درون میتوکندری از ال-کارنیتین به‌عنوان یک ماده نیروزا در فعالیت‌های استقامتی بهره می‌گیرند (۱۲). علاوه بر این نشان داده‌شده است که مکمل‌گیری ال-کارنیتین التهاب را مهار می‌کند (۱۳). در تحقیقات قبلی کاهش بیان و فعالیت TNF-a و عدم تغییر TNF-a به دنبال مکمل‌گیری با ال-کارنیتین نشان داده‌شده است (۱۴، ۱۵). همچنین شواهد حاکی از کاهش پروتئین و بیان IL-1 $\beta$  متعاقب مکمل‌گیری با ال-کارنیتین است (۱۴، ۱۵). تمرین استقامتی باعث تغییرات معنی‌داری در مورفولوژی بافت قلب از جمله هیپرتروفی فیزیولوژیکی بطن چپ انسان می‌شود، که مرتبط با افزایش قطر حفره‌های قلبی است (۱۶، ۱۷). سطوح TNF-a و IL-1 $\beta$  متعاقب تمرین با افزایش (۱۸)، کاهش (۱۹) و عدم تغییر (۲۰) همراه بوده است.

استروئیدهای آنابولیک آندروژنیک به میزان فزاینده‌ای در میان ورزشکاران رقابتی، در ورزش‌های تفریحی و بدن‌سازی مورد سوءاستفاده قرار می‌گیرند. دوزهای بی‌نهایت بالا اغلب طی دوره‌های طولانی، به‌ویژه در میان بدن‌سازان مصرف می‌شود که منجر به اثرات جانبی شدید یا مضر و مزمن می‌شود که اغلب به‌وسیله مصرف چند داروی اضافی دیگر، پیچیده‌تر می‌شود (۲۱). در میان برجسته‌ترین اثرات جانبی آن‌ها می‌توان به اختلالات قلبی اشاره نمود (۲۲). با توجه به دانش ما، مطالعات کمی در مورد اثرات بولدنون بر بافت قلب و مکانیسم‌های دفاعی در برابر التهاب بافت قلب ناشی از بولدنون وجود دارد. با توجه به تحقیقات فوق‌الذکر مشاهده می‌شود اثر تمرین بر وضعیت التهابی بافت قلب مشخص نیست. از طرفی، با توجه به اثرات منفی و کنترل نشده استروئیدهای آندروژنی آنابولیک برای بدن و به‌ویژه تأثیر آن‌ها بر قلب می‌توان با بررسی مکمل‌های مؤثر از قبیل ال-کارنیتین بر سطوح قلب یاری رساند. از طرفی با توجه به بررسی‌های صورت گرفته و مطالعات قبلی تاکنون تحقیقی در مورد تأثیر توآمان مکمل‌گیری ال-کارنیتین به همراه تمرینات ورزشی بر بافت قلب صورت نگرفته است که از این منظر تحقیق حاضر از اهمیت بالایی برخوردار است؛ بنابراین تحقیق حاضر سعی دارد به بررسی تأثیر یک دوره تمرین استقامتی و مصرف ال-کارنیتین بر بیان

اندام‌های محیطی متفاوت هستند. به نظر می‌رسد که هیپرتروفی قلبی ناشی از ورزش به دلیل افزایش پیش بار (پر شدن دیاستولی) در قلب است، درحالی‌که مکانیسم دقیق برای هیپرتروفی قلبی ناشی از استروئید آنابولیک در حال حاضر ناشناخته است. مطالعات نشان داده‌اند که برخی از سایتوکاین‌ها از جمله فاکتور نکروز تومور آلفا (TNF- $\alpha$ ) و اینترلوکین-۱ بتا (IL-1 $\beta$ ) ممکن است در بازسازی قلب نقش داشته باشند مشاهده‌شده است که استروئیدهای آنابولیک به‌شدت باعث تولید TNF- $\alpha$  می‌شوند (۵). فاکتور IL-1 $\beta$  یک سایتوکاین قلبی است که توسط آنژیوتانسین-۲ تحریک می‌شود و تشکیل بافت فیبروزی را تسهیل می‌کند. IL-1 $\beta$  به‌صورت سه ایزوفورم در انسان وجود دارد ولی IL-1 $\beta$  به دلیل وجود در سلول‌های اپتلیال و عضلات صاف عروقی، میوفیبروبلاست‌ها و ماکروفاژها، به‌عنوان ایزوفرم اصلی دستگاه قلبی-عروقی شناخته‌شده است. به‌علاوه IL-1 $\beta$  با تنظیم مثبت بیان کلژن از طریق تحریک ماتریکس خارج سلولی منجر به فیبروز میوکاردی و یا عروقی می‌شود (۶).

همچنین شواهد قانع‌کننده وجود دارد که نشان می‌دهد بیان TNF-a می‌تواند توسط سایتوکاین‌های التهابی تنظیم شود. بنابراین TNF-a می‌تواند بر پیشرفت التهاب از طریق اثر عملکرد واسطه‌های همچون سایتوکاین‌ها و کموکاین‌ها تأثیر بگذارد و می‌تواند نقش مهمی را در بازسازی میوکارد ایفا کند (۷). در تحقیقات قبلی کاهش بیان و فعالیت TNF-a و افزایش بیان و سطوح IL-1 $\beta$  به دنبال تجویز استروئیدهای آندروژنی آنابولیک مشاهده‌شده است (۸، ۹). ورزشکاران اغلب در برابر وسوسه مصرف انواع مکمل‌ها جهت پیشرفت و بهبود عملکرد ورزشی ضعیف هستند و از روش‌های تغذیه‌ای متفاوت مانند مصرف مکمل‌های دارویی استفاده می‌کنند اگرچه کارنیتین در بدن سنتز و از مسیر رژیم غذایی نیز وارد بدن می‌شود، لیکن در برخی شرایط مکمل‌سازی کارنیتین در ورزشکاران رقابتی و فعالیت‌های شدید استقامتی که امکان کمبود احتمالی کارنیتین وجود دارد سودمند است. ال-کارنیتین (3-hydroxy-4-N-trimethylaminobutyrate) شکل فعال زیستی کارنیتین، یک اسیدآمینو آندوژن شاخه‌دار غیرضروری است که به‌طور طبیعی در عضله اسکلتی و بافت‌های قلب، کبد، کلیه و پلاسما وجود دارد (۱۰). ال-کارنیتین، نقش مهمی در تولید انرژی در میوکارد دارد و نشان داده‌شده است که اسیدهای چرب آزاد را به داخل میتوکندری منتقل می‌کند، در نتیجه سوبسترای ترجیحی برای

Levocarvit، ساخت کشور ایتالیا) را به صورت گاوژ دریافت کردند (۲۳).

### پروتکل تمرین هوازی

در پژوهش حاضر از شدت تمرینی متوسط (۵۵-۵۰ درصد اکسیژن مصرفی بیشینه) و درعین حال کارآمد از لحاظ فیزیولوژیک استفاده گردید؛ بدین صورت که گروه‌های ورزشی در معرض تمرین نوارگردان با شدت متوسط برای ۵ روز در هفته و به مدت ۶ هفته قرار گرفتند. سرعت و مدت تمرین نوارگردان به تدریج افزایش یافت و از ۱۰ متر در دقیقه برای ۱۰ دقیقه در هفته اول، ۱۰ متر در دقیقه برای ۲۰ دقیقه در هفته دوم، ۱۴-۱۵ متر در دقیقه برای ۲۰ دقیقه در هفته سوم، ۱۵-۱۴ متر در دقیقه برای ۳۰ دقیقه در هفته چهارم، به ۱۸-۱۷ متر در دقیقه برای ۳۰ دقیقه در هفته پنجم افزایش یافت (۲۴). جهت رسیدن سازگاری‌های به دست آمده به حالت یکنواخت، تمامی متغیرهای تمرینی در هفته پایانی ثابت نگه داشته شدند. به منظور تحریک موش‌ها برای دویدن، از محرک صوتی (ضربه به دیواره نوارگردان) استفاده شد، بدین صورت که در جلسات اول، از محرک الکتریکی با ولتاژ کم، همراه با محرک صوتی استفاده شد و پس از شرطی نمودن موش‌ها به همراه بودن دو محرک، در سایر جلسات به منظور رعایت نکات اخلاقی کار با حیوان آزمایشگاهی، فقط از محرک صوتی استفاده شد (۲۴).

### مراحل نمونه‌گیری بافت و اندازه‌گیری تغییرات بیان ژن عوامل التهابی در بافت قلب

در پایان مطالعه، حیوانات به مدت ۱۲ ساعت ناشتا نگه داشته شدند. سپس نمونه‌ها وزن شده و برای نمونه‌گیری بی‌هوش شدند. بیهوشی با استفاده از محفظه شیشه‌ای درب‌دار (دسیکاتور)، محتوی پنبه آغشته به کلروفورم محصول شرکت مرک آلمان انجام شد. پس از گذشت ۴۰ تا ۵۰ ثانیه حیوان در بیهوشی مناسب قرار گرفت. پس از بیهوشی با ثابت کردن حیوان روی تخته جراحی جوندگان، کالبدشکافی انجام شده و بلافاصله بافت قلب برداشته شد. نمونه‌گیری بافت قلب از ۵ گروه پس از مداخله متغیرهای مستقل انجام و آن‌ها مورد مقایسه قرار گرفت. 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 مدنظر قرار گرفت. همه آزمایش‌ها بر اساس خط‌مشی‌های قرارداد هلسینکی اجرا شد و

ژن TNF- $\alpha$  و IL-1 $\beta$  در بافت قلب رت‌های نر ویستار بعد از مصرف استروئید آنابولیک (بولدنون) پردازد.

### مواد و روش‌ها

جامعه آماری این تحقیق تجربی، موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار پژوهشکده علمی کاربردی دامغان بودند که از میان آن‌ها تعداد ۳۰ سر موش صحرایی نر ویستار با سن ۸-۱۲ هفته و وزن اولیه  $195 \pm 7/94$  گرم به عنوان نمونه آماری انتخاب شدند. نمونه آماری این تحقیق، به روش نمونه‌گیری انتخابی هدف‌دار با توجه به شرایط وزنی و سنی انجام شد. گروه‌ها بر این اساس به ۵ گروه به صورت تصادفی تقسیم‌بندی شدند. ابتدا تمامی گروه‌ها به مدت ۷ هفته شروع به مصرف استروئید با دوز بالا (۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم) کردند. سپس؛ ۱- یک گروه پس از مصرف استروئید کشته شدند (گروه کنترل)، ۲- یک گروه بعد از مصرف اولیه، هیچ ماده‌ای مصرف نکردند و فعالیتی انجام ندادند (گروه بدون درمان)، ۳- گروهی که همچنان استروئید مصرف کردند (گروه بولدنون)، ۴- گروهی که کارنیتین (۱۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم) مصرف کردند (گروه ال-کارنیتین)، ۵- گروهی که کارنیتین مصرف کردند و تمرین استقامتی انجام دادند (گروه کارنیتین-تمرین هوازی). گروه‌های مورد مطالعه در قفسه‌های مخصوص جوندگان از جنس PVC با درپوش توری فلزی که کف آن‌ها با تراشه‌های تمیز چوب پوشانده شده بود، تقسیم شدند. دمای اتاق  $22 \pm 1/4$  درجه سانتی‌گراد با رطوبتی معادل ۶۵ تا ۷۵ درصد بود. نمونه‌ها طبق چرخه ۱۲ ساعت خواب‌وبیداری، با در دسترس بودن آب و غذا که غذای مورد استفاده آن‌ها، غذای فشرده و آماده مخصوص موش، ساخت کارخانه خوراک گرگان و آب مصرفی، آب تصفیه‌شده شهری بود که در ظرف آب‌خوری از جنس PVC در دسترس گروه حیوانات قرار می‌گرفت، نگهداری شدند. جهت تجویز و تزریق دارو (بولدنون بانام تجاری مدتیچ آلمان) از سرنگ انسولین مدرج استفاده شده و در زمان معین به حیوان تزریق شد، به صورت یک‌بار در هفته (۰/۵ میلی‌گرم به ازای ۱۰۰ گرم از وزن موش)، رأس ساعت معین (ساعت ۱۱ صبح) و در یک روز مقرر در هفته و در عضله خلف رانی به صورت عمیق انجام شد. گروه کنترل نیز محلول فیزیولوژیک نرمال سالین یا محلول سدیم کلرید ۰/۰۹ را دریافت کردند. گروه‌های مکمل ال کارنیتین و تمرین-ال کارنیتین نیز طی دوره مداخله مقدار ۱۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن ال-کارنیتین (شرکت

یک‌طرفه برای تغییرات بین گروهی و آزمون تعقیبی شفه برای بررسی تفاوت بین گروه‌ها استفاده شد. تمام عملیات آماری پژوهش با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۳ و سطح معنی‌داری  $P < 0.05$  در نظر گرفته شده است.

### نتایج

در جدول ۲ میانگین و انحراف معیار متغیرهای تحقیق در گروه‌های مختلف نشان داده شده است. تجزیه و تحلیل داده‌ها نشان داد که بین میانگین بیان ژن TNF- $\alpha$  بافت قلب موش‌های نر و بیستار در گروه‌های مختلف تحقیق، تفاوت وجود دارد ( $P = 0.001$ ). نتایج آزمون شفه نشان داد تغییرات بیان ژن TNF-

توسط کمیته اخلاق دانشگاه فردوسی شماره ۳/۱۹۷۵۳ بررسی و تأیید گردید.

اندازه‌گیری بیان ژن‌های فاکتورهای موردنظر از بافت قلب به وسیله تکنیک Real time - PCR - سنجش و پس از کمی سازی مقادیر بیان ژن با استفاده از فرمول  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  تجزیه و تحلیل شد. واکنش PCR با استفاده از Applied PCR master mix (Applied Biosystems, Sequence Detection Systems, Foster City, CA) طبق پروتکل شرکت سازنده انجام گرفت. توالی پرایمرهای مورد استفاده در تحقیق حاضر در جدول ۱ آورده شده است.

جدول ۱- توالی پرایمرهای مورد استفاده

نام ژن	پرایمرها	توالی	طول amplicon
TNF-a	Forward Reverse	5'-GGCTTGGCCTCCATTGAGATCC-3' 5'-ATACAGATTGTAAGTGTCACTGT-3'	104 bp
IL-1 $\beta$	Forward Reverse	5'-CCTGCTCCTGGCTGCTGCCGG-3' 5'-CTCTGGGGACTCATCGGAGCC-3'	123 bp
GAPDH	Forward Reverse	5'-AAGTTCAACGGCACAGTCAAGG-3' 5'-CATACTCAGCACCAGCATCACC-3'	94 bp

جدول ۲- میانگین و انحراف معیار متغیرهای تحقیق در گروه‌های مختلف

گروه متغیر	کنترل	بدون درمان	مکمل بولدنون	ال- کارنیتین	تمرین- ال- کارنیتین	
وزن موش‌ها	هفته اول	۲۴۴/۰ ± ۱۹/۵	۲۴۴/۰ ± ۴/۰	۲۲۸/۶ ± ۳۲/۰	۲۳۲/۱ ± ۲۶/۸	۲۲۸/۳ ± ۲۵/۸
	هفته ششم	۳۱۷/۲ ± ۳۱/۵	۲۹۳/۸ ± ۲۵/۳	۳۰۸/۲ ± ۲۶/۲	۳۴۱/۶ ± ۳۷/۰	۳۲۵/۳ ± ۲۸/۹
بیان ژن TNF- $\alpha$ (CT $\Delta\Delta$ )		۱/۳۹ ± ۰/۰۲۸	۶/۲۳ ± ۰/۲۲۵	۷/۱۷ ± ۰/۵۰۸	۲/۸۴ ± ۰/۰۶۵	۱/۵۸ ± ۰/۰۶۵
بیان ژن IL-1 $\beta$ (CT $\Delta\Delta$ )		۱/۰۱ ± ۰/۰۰۵	۵/۸۹ ± ۰/۲۰۲	۶/۸۰ ± ۰/۲۹۸	۲/۱۴۶ ± ۰/۱۰۳	۱/۵۳۱ ± ۰/۵۲۳

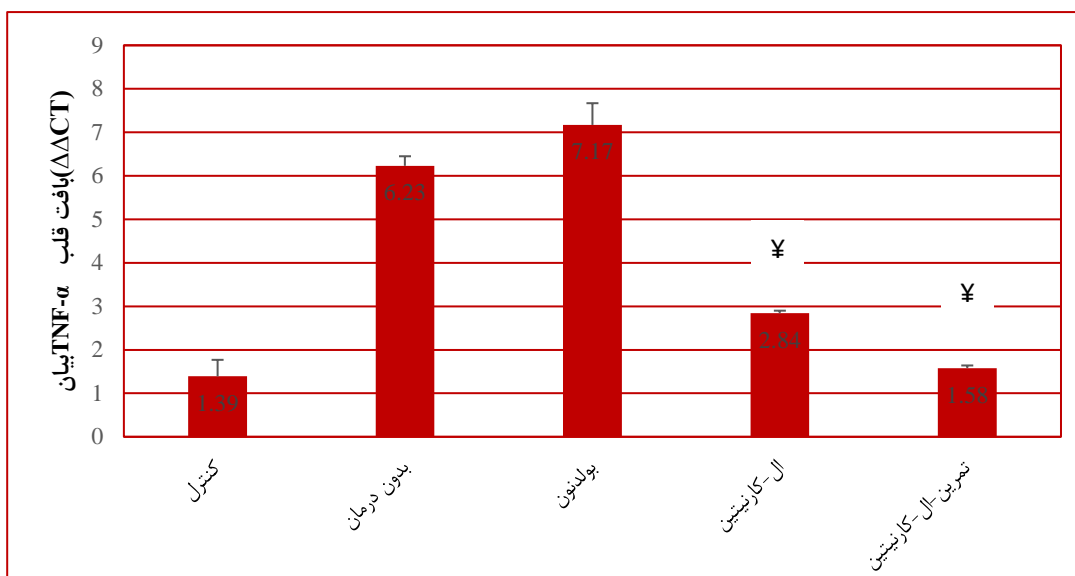
$\alpha$  بافت قلب در گروه بولدنون نسبت به گروه‌های کنترل و بدون درمان افزایش معنی‌داری دارد ( $P = 0.001$ ). تغییرات بیان ژن TNF- $\alpha$  بافت قلب در گروه‌های ال-کارنیتین و تمرین- ال-

### تجزیه و تحلیل آماری

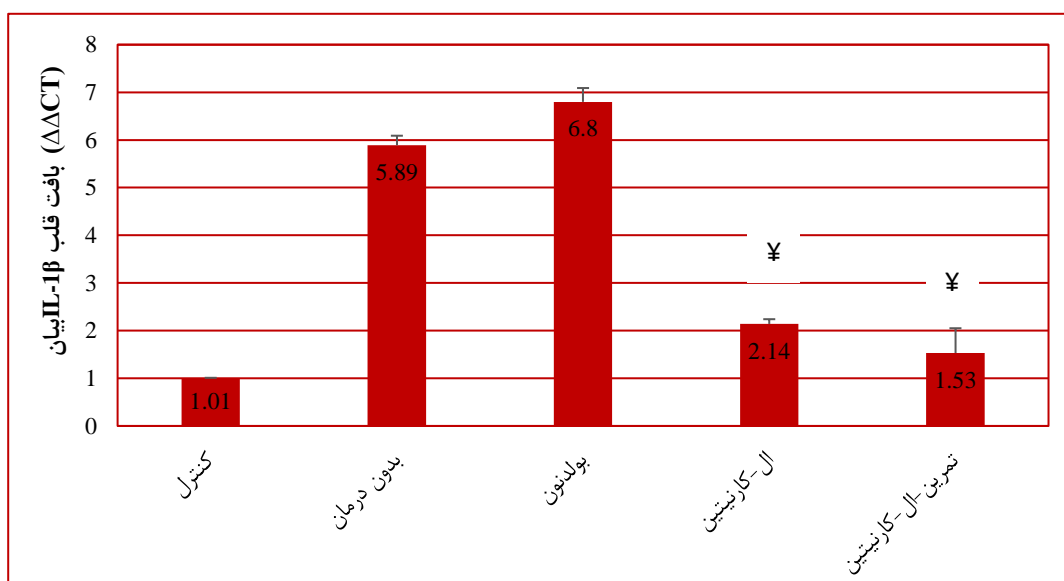
جهت بررسی اثر متغیرهای مستقل بر متغیر وابسته وزن از تست t- همبسته برای تغییرات درون گروهی و تحلیل واریانس

۱۲۰۲۸) ( $P=0/001$ ). تغییرات بیان ژن IL-1 $\beta$  بافت قلب در گروه تمرین- ال-کارنیتین نسبت به گروه بدون درمان به طور معنی داری کمتر بود ( $P=0/001$ ). همچنین تغییرات بیان ژن IL-1 $\beta$  بافت قلب در گروه‌های ال-کارنیتین و تمرین- ال-کارنیتین نسبت به گروه بولدنون به طور معنی داری کمتر بود ( $P=0/001$ ). علاوه بر این، تغییرات بیان ژن IL-1 $\beta$  بافت قلب در گروه تمرین- ال-کارنیتین نسبت به گروه ال-کارنیتین به طور معنی داری کمتر بود ( $P=0/026$ ) (نمودار ۲).

کارنیتین نسبت به گروه بولدنون به طور معنی داری کاهش یافت ( $P=0/001$ ). همچنین تغییرات بیان ژن TNF- $\alpha$  بافت قلب در گروه تمرین- ال-کارنیتین نسبت به گروه ال-کارنیتین به طور معنی داری کمتر بود ( $P=0/001$ ) (نمودار ۱). تجزیه و تحلیل داده‌ها نشان داد که بین میانگین بیان ژن IL-1 $\beta$  بافت قلب موش‌های نر ویستار در گروه‌های مختلف تحقیق، تفاوت وجود دارد ( $P=0/001$ ). نتایج آزمون شفه نشان داد تغییرات بیان ژن IL-1 $\beta$  بافت قلب در گروه بولدنون نسبت به



نمودار ۱- تغییرات بیان ژن TNF- $\alpha$  بافت قلب موش‌های نر ویستار در گروه‌های مختلف پس از دوره مداخله ¥ تفاوت معنی دار نسبت به گروه بولدنون



نمودار ۲- تغییرات بیان ژن IL-1 $\beta$  بافت قلب موش‌های نر ویستار در گروه‌های مختلف پس از دوره مداخله ¥ تفاوت معنی دار نسبت به گروه بولدنون



## بحث

مکمل‌گیری ال-کارنیتین به‌طور معنی‌داری عملکرد بطن چپ قلب را افزایش می‌دهد (۳۴). کوت و همکاران نیز در مطالعه بر روی در بیماران قلبی ارتباط معنی‌داری سطوح ال-کارنیتین پلاسما و خطرات ناشی از بیماری عروق کرونر، بیماری عروق محیطی و عوامل خطر قلبی وجود دارد (۳۶). علاوه بر این، نشان داده شده که سطح پلاسمایی ناشتای ال-کارنیتین یک پیش‌بینی کننده مستقل از عوارض جانبی قلبی بعد از اصلاح عوامل خطر قلبی رایج است (۳۵). در مجموع، برای شناسایی مکانیسم اثرات مفید ال-کارنیتین بر سطوح TNF- $\alpha$  مطالعات بیشتری مورد نیاز است. از طرفی، در برخی از مطالعات انجام شده در این زمینه نتایج متفاوتی به دست آمده و گزارش‌های ارائه شده با عدم تغییر یا افزایش سطوح TNF- $\alpha$  همراه بوده است (۱۸، ۲۰). تناقض موجود در تحقیقات گزارش شده را می‌توان به نوع تمرین، شدت، مدت و طول دوره تمرین نسبت داد. به نظر می‌رسد وجود تناقض بین یافته‌های مطالعات مختلف پیرامون بررسی‌ها با مکمل سازی ال-کارنیتین طی فعالیت‌های ورزشی نیز به دلیل تفاوت در میزان یا طول دوره مصرف ال-کارنیتین است که نیازمند انجام مطالعات بیشتری با رعایت تمام جوانب است.

همچنین نتایج تحقیق حاضر نشان داد که بیان ژن IL-1 $\beta$  بافت قلب در گروه بولدنون به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. همچنین بیان ژن IL-1 $\beta$  بافت قلب در گروه تمرین-ال-کارنیتین به‌طور معنی‌داری کمتر بود. فینچی و همکاران (۲۰۱۱) به بررسی اثر استروئید آنابولیک و ورزش بر بیان واسطه‌های التهابی بافت قلب (IL-1 $\beta$  و TNF- $\alpha$ ) در موش‌ها پرداختند. IL-1 $\beta$  و TNF- $\alpha$  در گروه‌های تحت درمان با استروئید آنابولیک افزایش یافت. بیان شد که اثرات ترکیبی تمرین، سوءاستفاده از استروئید آنابولیک و تحریک سیستم عصبی سمپاتیک ممکن است به قلب آسیب برساند (۲۵). اثرات مفید مصرف کوتاه‌مدت مکمل ال-کارنیتین در کاهش واسطه‌های التهابی سرم توسط مهدوی و همکاران (۲۰۱۶) نشان داده شده است (۳۸). 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 لیبیدهای رژیمی با استفاده از کارنیتین در بدن می‌تواند به‌عنوان یک منبع انرژی استفاده شود (۳۹). یکی از مکانیسم‌های سودمند ال-کارنیتین بر روی آسیب قلبی توانایی تثبیت سیال

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که تغییرات بیان ژن TNF- $\alpha$  بافت قلب در گروه بولدنون افزایش معنی‌داری دارد. همچنین، بیان ژن TNF- $\alpha$  بافت قلب در گروه تمرین-ال-کارنیتین به‌طور معنی‌داری کمتر بود. نتایج تحقیق حاضر مبنی بر افزایش بیان ژن TNF- $\alpha$  بافت قلب به دنبال مصرف بولدنون با یافته‌های قلبی همخوان است (۲۵، ۲۶). مطالعات نشان داده‌اند که سوءاستفاده از استروئید تغییر در ساختار قلب، اندازه و ضخامت بطن و همچنین التهاب بافت قلب را به همراه دارد (۲۷، ۲۸). نتایج مارکوتی و همکاران (۲۰۱۲) نشان می‌دهد که استروئیدهای آنابولیک آندروژنی ممکن است بازسازی بافت قلب را تخریب کرده و به اختلال قلبی منجر شود همچنین تمرین افزایش التهاب ناشی از استروئیدهای آنابولیک آندروژنی را تضعیف می‌کند (۲۹). مکانیسم‌های عمل فیزیولوژیک و دارویی استروئیدهای آندروژنی آنابولیک بر بافت قلب به‌طور واضحی مشخص نشده‌اند. استروئیدهای آندروژنی آنابولیک به گیرنده‌های آندروژنی در قلب و شریان‌های اصلی متصل می‌شوند و سطوح فیزیولوژیک ممکن است تأثیر مثبتی روی عروق کرونر از طریق رهایش نیتریک اکساید اندوتلیال و مهار تون عضلانی عروق صاف داشته باشند (۳۰). مطالعات حیوانی نشان داده‌اند سوءاستفاده از استروئیدهای آنابولیک با دوز بالا ممکن است این پاسخ گشادکننده عروق را معکوس کند و منجر به پیشبرد اثرات رشد آن بر بافت قلب، به‌عنوان کاردیومیوپاتی هیپرتروفیک شده و به دنبال آن مرگ برنامه‌ریزی شده سلول را موجب گردد (۳۱). این اثرات به احتمال زیاد توسط آبشارهای پیام‌بر گیرنده ثانویه غشاء که جریان  $Ca^{2+}$  داخل سلولی و فراخوان  $Ca^{2+}$  از شبکه سارکوپلاسمی را افزایش می‌دهند، تعدیل می‌شوند (۳۲). افزایش  $Ca^{2+}$  نفوذپذیری میتوکندری را تحت تأثیر قرار می‌دهد و منجر به رهایش عوامل اپوپتوزنیک مانند سیوکروم C، عامل الفاکنده آپوپتوز و کاسپاز ۹ می‌شود (۳۳). این یافته‌ها ممکن است مشاهدات بالینی را توضیح دهند که استروئیدهای آنابولیک بدون ترومبوز کرونر می‌توانند به مرگ یا تصلب شریان قلبی منجر شوند و التهاب بافت قلب را افزایش دهند. در تحقیق حاضر تغییرات بیان ژن TNF- $\alpha$  بافت قلب در گروه‌های ال-کارنیتین و تمرین-ال-کارنیتین به‌طور معنی‌داری کمتر بود. مطالعات قلبی اثرات حفاظت قلبی ناشی از مکمل‌گیری ال-کارنیتین را نشان داده‌اند (۳۴-۳۷). سادا و همکاران (۲۰۱۵) نشان دادند که

استروئیدهای آنابولیک است.

### نتیجه گیری

به طور خلاصه، نتایج تحقیق حاضر نشان داد تغییرات بیان ژن  $TNF-\alpha$  و  $IL-1\beta$  بافت قلب در گروه‌های ال-کارنیتین و تمرین-ال-کارنیتین به طور معنی داری کمتر بود؛ بنابراین، با توجه به یافته‌های تحقیق حاضر احتمالاً مکمل ال-کارنیتین همراه با تمرینات هوازی منظم سبب کاهش آسیب قلبی ناشی از استروئیدهای آنابولیک آندروژنی می‌شود. با این وجود، با توجه مطالعات اندک انجام شده در این رابطه، تحقیق روی ارتباط بین فعالیت ورزشی، استروئیدهای آنابولیک و بیان ژن سایتوکاین‌های التهابی در بافت قلب نیاز به تحقیقات بیشتری دارد.

### تشکر و قدردانی

این مقاله برگرفته از پایان‌نامه کارشناسی ارشد دانشگاه آزاد اسلامی واحد آیت‌الله آملی با کد شماره 23921407952043 است. بدین وسیله از کلیه افرادی که در انجام تحقیق حاضر همکاری داشته‌اند، صمیمانه تشکر و قدردانی می‌شود.

### تعارض منافع

هیچ‌گونه تعارض منافع در اجرای این پژوهش وجود نداشته است.

بودن غشای سلولی با تنظیم مقادیر اسپینوگومیلین است. ال-کارنیتین دارای خواص محافظتی در برابر داروهای القاکننده آسیب به میتوکندری است. به طوری که ال-کارنیتین را می‌توان در دوزهای درمانی حتی با تجویز طولانی مدت بدون عوارض جانبی قابل توجه استفاده کرد. علاوه بر این، ال-کارنیتین دارای خواص آنتی‌اکسیدانی با اثرات محافظتی در برابر آسیب رادیکال‌های آزاد است (۴۰)؛ بنابراین، کاهش فعالیت التهاب با ال-کارنیتین ممکن است مربوط به اثرات کاهش چربی ال-کارنیتین و خواص آنتی‌اکسیدانی آن باشد. در مجموع، با توجه مطالعات اندک انجام شده در این رابطه، تحقیق روی ارتباط بین فعالیت ورزشی، استروئیدهای آنابولیک و بیان ژن سایتوکاین‌های التهابی در بافت قلب نیاز به تحقیقات بیشتری دارد. تمرین هوازی با شدت متوسط از نقاط قوت تحقیق حاضر بود؛ چراکه این نوع تمرین، پاسخ‌ها و سازگاری‌های متفاوتی نسبت به برنامه‌های تمرینی دیگر می‌تواند به همراه داشته باشد. محدودیت‌هایی نیز در تحقیق حاضر وجود داشت که از جمله می‌توان به مطالعه بر روی نمونه‌های حیوانی اشاره کرد. از دیگر محدودیت‌های تحقیق حاضر می‌توان به عدم اندازه‌گیری دیگر فاکتورهای التهابی بافت قلب اشاره کرد. بررسی تأثیر دوزهای مختلف مکمل ال-کارنیتین به دنبال تمرین پس از مسمومیت با بولدنون نیز می‌تواند در تبیین و تفسیر بهتر نتایج به‌ویژه در بافت کمک نماید. این نقطه‌ضعف پژوهشی پیشنهادی به مطالعات آینده به منظور اندازه‌گیری این عوامل در بافت قلب همراه با مصرف

## References

1. Payne JR, Kotwinski PJ, Montgomery HE. Cardiac effects of anabolic steroids. *Heart* 2004; 90:473-475
2. Hartgens F, Kuipers H. Effects of Androgenic-Anabolic Steroids in Athletes. *Sports Med.* 2004; 34 (8):513-554
3. Tousson E, El-Moghazy M, A. Massoud, Akel A. Histopathological and immunohistochemical changes in the testis of rabbits after injection with the growth promoter boldenone. *Reprod. Sci* 2012; 19: 253-259.
4. Ahmadi M, Abbassi-Dalooi A, Ziaolhagh S J, Yahyaei B. Structural changes of cardiac tissue in response to boldenone supplementation with or without alcoholic extract of jujuba fruit during resistance training in male Wistar rats. *Feyz.* 2017; 21 (6):534-542. [In Persian]
5. Du Toit EF, Rossouw E, Van Rooyen J, Lochner A. Proposed mechanisms for the anabolic steroid-induced increase in myocardial susceptibility to ischaemia/reperfusion injury. *Cardiovasc J S Afr.* 2005; 16: 21-8.
6. Thaik CM, Calderone A, Takahashi N, Colucci WS. Interleukin-1 b modulates the growth and phenotype of neonatal rat cardiac myocytes. *J Clin Invest* 1995; 96:1093-1099.
7. Tian M, Yun-Chuan Y, Jia-YL, Michael RG, Rong-Chong H. Tumor necrosis factor- $\alpha$  and its role as a mediator in myocardial infarction: A brief review *Chronic Diseases and Translational Medicine.* 2015; 1: 18-26
8. Wang M, Ben MT, Kher A, Lauren BB, Mathenge Wairiuko G, Meldrum DR. Role of endogenous testosterone in myocardial proinflammatory and proapoptotic signaling after acute ischemia-reperfusion *American Journal of Physiology.* 2005; 24-36.
9. Tasgin E, Sefa L, Seyfullah H, Nagehan D, Hale E. Effects of single dose administered nandrolone decanoate on serum cytokine levels and some biochemical parameters in male and female rats. *Biomedical Research* 2017; 28(8): 3727-3730

10. Benvenega S. Effects of L-carnitine on thyroid hormone metabolism and on physical exercise tolerance. *Horm Metab Res* 2005; 37(9):566-71.
11. Opie LH. Role of carnitine in fatty acid metabolism of normal and ischemic myocardium. *Am Heart J*. 1979; 97(3):375-388.
12. Stephens FB, Constantin-Teodosiu D, Greenhaff PL. New insights concerning the role of carnitine in the regulation of fuel metabolism in skeletal muscle. *J Physiol*. 2007; 581(2):431-444.
13. Mehrotra R, Kopple JD. Causes of protein-energy malnutrition in chronic renal failure. In: Kopple JD, Massry SG (eds). *Kopple and Massry's Nutritional Management of Renal Disease*. 2nd ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins 2004; 168-82.
14. Hua X1, Su Z, Deng R, Lin J, Li DQ, Pflugfelder SC. Effects of L-carnitine, erythritol and betaine on pro-inflammatory markers in primary human corneal epithelial cells exposed to hyperosmotic stress. *Curr Eye Res*. 2015;40(7):657-67.
15. Shakeri A, Tabibi H, Hedayati M. Effects of L-carnitine supplement on serum inflammatory cytokines, C-reactive protein, lipoprotein (a), and oxidative stress in hemodialysis patients with Lp (a) hyperlipoproteinemia. *Hemodial Int*. 2010;14(4):498-504. [In Persian]
16. Azamian Jazi A, Abdi H, Hafezi Ahmadi M R, Cheraghi J. Effect of endurance exercise training on morphological changes in rat heart tissue following experimental myocardial infarction. *JBRMS*. 2017; 4 (1):8-17. [In Persian]
17. Yilmaz DC, Buyukakilli B, Gurgul S, Rencuzogullari I. Adaptation of heart to training: A comparative study using echocardiography & impedance cardiography in male & female athletes. *Indian J Med Res*. 2013; 137(6): 1111-1120.
18. Silva CMS, Vieira-Junior RC, Trombeta JCR, Lima TR, Fraga GA, Sena M.S, et al. Effects of aerobic and resistance training of long duration on pro- and anti-inflammatory cytokines in rats. *Revista Andaluza de Medicina del Deporte* 2017; 10 (4): 23-36.
19. Khademi Y, Azarbayjani M, Hosseini H. Simultaneous Effect of High-Intensity Interval Training (HIIT) and Consumption of Flaxseed on Serum Levels of TNF- $\alpha$  and IL1 $\beta$  in Rats. *Horizon Med Sci*. 2017; 23 (4):257-263. [In Persian]
20. Isanejad A, Sarraf ZH, Mahdavi M, Gharakhanlou R. The Effect of Aerobic Exercise Training on Serum Levels of TNF- $\alpha$ , IL - 1 $\beta$ , IL-6 and Hsp70 in Rats. *Journal of Sport Sciences*. 2013; 91-106. [In Persian]
21. Nieschlag E, Vorona E. Doping with anabolic androgenic steroids (AAS): Adverse effects on non-reproductive organs and functions. *Rev Endocr Metab Disord* 2015; 15-23.
22. Bird S, Greaves RF, Burke LM, Goebel C. Doping in sport and exercise: anabolic, ergogenic, health and clinical issues. *Ann Clin Biochem*. 2015; 17-26.
23. Habib Pour F, Abbassi Dalooi A, Abdi A, Ziaolhagh SJ. Structural changes of cardiac tissue in response to L-carnitine supplementation during endurance training in Wistar male rats toxicated by steroid anabolic hormone. *Medical Journal of Hormozgan University*. 2017; 21(2); 86 -95. [In Persian]
24. Habib Pour F, Abbassi Dalooi A, Abdi A, Ziaolhagh SJ. Evaluation of ziziphus jujube extract effect during endurance training on cardiac tissue in wistar male rats toxicated by boldenone. *Journal of Knowledge & Health* 2018;13(2):42-49. [In Persian]
25. Fineschi V, Di Paolo M, Neri M, Bello S, D'Errico S, Dinucci D, et al. Anabolic steroid- and exercise-induced cardio-depressant cytokines and myocardial  $\beta$ 1 receptor expression in CD1 mice. *Curr Pharm Biotechnol*. 2011;12(2):275-84.
26. Lima EM, Nascimento AM, Brasil GA, Kalil IC, Lenz D, Endringer DC, Andrade TU, Bissoli NS. Cardiopulmonary reflex, cardiac cytokines, and nandrolone decanoate: response to resistance training in rats. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 2015; 93(11): 985-991.
27. Tanno AP, das Neves VJ, Rosa KT, Cunha TS, Giordano FC, Calil CM, Guzzoni V, Fenandes T, de Oliveira EM, Novaes PD, Irigoyen MC, Moura MJ, Marcondes FK. Nandrolone and resistance training induce heart remodeling: role of fetal genes and implications for cardiac pathophysiology. *Life Sci* 2011; 89(17):631-7.
28. Frati P, Busardo FP, Cipolloni L, Dominicis ED, Fineschi V. Anabolic androgenic steroids (AAS) related deaths: autoptotic, histopathological and toxicological findings. *Curr Neuropharmacol*. 2015; 13(1):146-59
29. Marqueti RC, Micocci KC, Leite RD, Selistre-de-Araujo HS. Nandrolone inhibits MMP-2 in the left ventricle of rats. *Int J Sports Med*. 2012;33(3):181-5.
30. Rosano GM, Cornoldi A, Fini M. Effects of androgens on the cardiovascular system. *J Endocrinol Invest*. 2005; 28:32-38.
31. Zaugg M, Jamali NZ, Lucchinetti E, Xu W, Alam M, Shafiq SA, Siddiqui MA. Anabolic androgenic steroids induce apoptotic cell death in adult rat ventricular myocytes. *J Cell Physiol*. 2001; 187:90-95.
32. Lieberherr M, Grosse B. Androgens increase intracellular calcium concentration and inositol 1, 4, 5-triphosphate and diacylglycerol formation via a pertussis toxin-sensitive G-protein. *J Biol Chem*. 1994; 269:7217-7223.
33. Kroemer G, Dallaporta B, Resche-Rigon M. The mitochondrial death/ life regulator in apoptosis and necrosis. *Annu Rev Physiol*. 1998; 60:619-642.
34. Sada H, Kato A, Sumimoto R, Ohmori H, Ohdan H. Effects of L-carnitine supplementation on nutritional, immunological, and cardiac parameters in hemodialysis patients: a pilot study. *Renal Replacement Therapy*. 2015; 1-8.
35. Najafi M, Garjani A. Short Term Administration of L-Carnitine can be Detrimental to the Ischemic Heart. *Advanced Pharmaceutical Bulletin*, 2014; 4(1): 1-3. [In Persian]



36. Koeth RA, Wang Z, Levison BS, Buffa JA, Sheehy BT, Britt EB, et al. Intestinal microbiota metabolism of l-carnitine, a nutrient in red meat, promotes atherosclerosis. *Nat Med* 2013; 19(5):576–585.
37. Strilakou A, Perelas A, Lazaris A, Papavdi A, Karkalousos P, Giannopoulou I, et al. Immunohistochemical determination of the extracellular matrix modulation in a rat model of choline-deprived myocardium: the effects of carnitine. *Fundam Clin Pharmacol*. 2016; 30(1):47-57.
38. Mahdavi MA, Mahdavi R, Kolahi S. Effects of l-Carnitine Supplementation on Serum Inflammatory Factors and Matrix Metalloproteinase Enzymes in Females with Knee Osteoarthritis: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Pilot Study. *J Am Coll Nutr*. 2016; 2:1-7.
39. Cha YS. Effects of L-carnitine on obesity, diabetes, and as an ergogenic aid. *Asia Pac. J. Clin. Nutr*. 2008; 17(1): 306-308.
40. Kart A, Yapar K, Karapehlivan M, Citil M. The Possible Protective effect of L-carnitine on Tilmicosininduced Cardiotoxicity in Mice. *J. Vet. Med. A*. 2007; 54: 144-146.



## Original Article

## The Effect of Endurance Training and L-Carnitine Consumption on TNF- $\alpha$ and IL-1 $\beta$ Gene Expression of Heart Tissue in Wistar Male Rats following Anabolic Steroid Consumption (Boldenone)

Adiyani P<sup>1</sup>, Abbasi Dalooi A<sup>1\*</sup>, Shadmehri S<sup>3</sup>

1. Department of Sport Physiology, Ayatollah Amoli branch, Islamic Azad University, Amol

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

Received: 23 Dec 2018

Accepted: 26 Jun 2019

### Abstract

**Background & Objective:** The aim of this study was to investigate the effect of endurance training and L-carnitine consumption on TNF- $\alpha$  and IL-1 $\beta$  gene expression of heart tissue in Wistar male rats following anabolic steroid consumption (Boldenone).

**Materials & Methods:** In this experimental study, 30 male Wistar rats aged 12 weeks (weight 195 $\pm$ 7.94g) were randomly divided into five groups including control, no-treatment, boldenone (5mg/kg), L-carnitine and aerobic training- L-carnitine. The endurance moderate intensity training program (55-50% of maximal oxygen consumption) was performed for 6 weeks and 5 times a week. Injection was conducted once a week, on an appointed day, and in the quadriceps and hamstring it was conducted in depth. After anesthesia, autopsy was performed and the heart was isolated. The TNF- $\alpha$  and IL-1 $\beta$  gene expression in the samples was measured by Real Time PCR. Data were analyzed using t-test, One-way ANOVA and post hoc Scheffe at the significant level of P<0.05.

**Results:** The results showed that there was a significant difference between the mean TNF- $\alpha$  and IL-1 $\beta$  gene expression of heart tissue in male Wistar rats in different groups (P=0.001). The changes in TNF- $\alpha$  and IL-1 $\beta$  gene expression of heart tissue in L-carnitine and Training-L-carnitine groups were significantly lower than those of the no-treatment and boldenon groups (P=0.001).

**Conclusion:** It seems that supplementation of L-carnitine with regular aerobic training reduces heart tissue damage induced by anabolic androgenic steroids.

**Keywords:** Aerobic training, Boldenone, L-carnitine, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$

\*Corresponding Author: Abbasi Dalooi Asiye, Department of Sport Physiology, Ayatollah Amoli branch, Islamic Azad University, Amol

Email: [abbasi.dalooi@gmail.com](mailto:abbasi.dalooi@gmail.com)

<https://orcid.org/0000-0003-0746-0299>

Journal of Fasa University of Medical Sciences 9 (2019): 1903-1912