



Original Article

Effect of Interval Training and Omega-3 on the Indices of Liver Apoptosis in Rats with Non-alcoholic Fatty Liver Disease

Zahra Salimi¹, Babisan Askari ^{*2}, Amir Taghipoor², Moslem Sharifi³

1. Department of Physical Education and Sport Sciences, QaS.C., Islamic Azad University, Qaemshahr, Iran
2. Department of Physical Education and Sport Sciences, QaS.C., Islamic Azad University, Qaemshahr, Iran
3. Department of Physical Education and Sport Sciences, Ba.SC., Islamic Azad University, Babol, Iran

* Corresponding author: Babisan Askari, Department of Physical Education and Sport Sciences, QaS.C., Islamic Azad University, Qaemshahr, Iran. Email: b.askari.1359@iau.ac.ir

DOI: [10.22034/cmja.16.3.207](https://doi.org/10.22034/cmja.16.3.207)

How to Cite this Article:

Salimi Z, Askari B, Taghipoor A, Sharifi M. Effect of Interval Training and Omega-3 on the Indices of Liver Apoptosis in Rats with Non-alcoholic Fatty Liver Disease. *Complement Med J*. 2026;16(3): 207-217. DOI: [10.22034/cmja.16.3.207](https://doi.org/10.22034/cmja.16.3.207)

Received: June 28, 2026

Accepted: November 19, 2026

Keywords:

Apoptosis
Non-alcoholic fatty liver
Omega-3
Sports activity

© 2026 Arak University of Medical Sciences

Abstract

Introduction: Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) is a prevalent disease worldwide and is characterized by abnormal accumulation of fat in the liver. The present study aimed to determine the effect of interval training and omega-3 on the expression of BAX, BCL-2, and the BCL2/Bax ratio in liver tissue of rats with NAFLD.

Materials and Methods: In this laboratory study, 40 male Wistar rats (weight 156.98 ± 7.82 g) were divided into five groups: healthy control (CN), NAFLD, NAFLD + interval training (TRNAF), NAFLD + omega-3 supplementation (SUPNAF), and NAFLD + interval training + omega-3 supplementation (TRSUPNAF). The supplement groups were orally administered 1 g of omega-3 per kilogram of body weight throughout the eight-week intervention period. The interval training protocol comprised treadmill running at speeds of 14–28 m/min, with sessions conducted five days per week for eight weeks.

Results: Non-alcoholic fatty liver disease Induction led to a significant increase in BAX expression and the BAX/BCL2 ratio, alongside a significant reduction in BCL2 expression ($p=0.0001$). When compared to the NAFLD group, the TRNAF, SUPNAF, and TRSUPNAF groups exhibited significant decreases in both BAX expression and the BAX/BCL2 ratio (TRNAF: $p=0.021$ and $p=0.0001$, respectively; SUPNAF: $p=0.033$ and $p=0.0001$, respectively; TRSUPNAF: $p=0.0001$). In contrast, BCL2 expression was significantly elevated in the TRNAF ($p=0.029$), SUPNAF ($p=0.032$), and TRSUPNAF ($p=0.0001$) groups compared to the NAFLD group.

Conclusion: The findings of the present research provide further confirmation that exercise combined with omega-3 consumption reduces apoptosis and promotes the survival of healthy cells in the liver tissue of rats.

INTRODUCTION

Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) is considered one of the most prevalent chronic liver disorders worldwide and represents the hepatic manifestation of metabolic syndrome. The disease is characterized by excessive lipid accumulation within hepatocytes in individuals without significant alcohol consumption and may progress from simple steatosis to non-alcoholic steatohepatitis (NASH), fibrosis, cirrhosis, and ultimately hepatocellular carcinoma. The global prevalence of NAFLD has increased dramatically during recent decades due to sedentary lifestyles, obesity, insulin resistance, dyslipidemia, and unhealthy dietary habits, making it an important public health concern. Although the exact molecular mechanisms underlying disease progression remain incompletely understood, accumulating evidence indicates that oxidative stress, mitochondrial dysfunction, chronic inflammation, endoplasmic reticulum stress, and hepatocyte apoptosis play central roles in the initiation and progression of liver injury. Among these mechanisms, apoptosis has attracted considerable attention because excessive programmed cell death contributes directly to hepatic inflammation, fibrosis, and functional deterioration. Members of the BCL-2 family are major regulators of mitochondrial apoptosis, in which **BAX** functions as a pro-apoptotic protein while **BCL-2** acts as an anti-apoptotic protein that preserves mitochondrial integrity and cell survival. Consequently, alterations in the expression of these genes and particularly the **BCL-2/BAX ratio** are considered reliable indicators of apoptotic activity in liver tissue.

Several pharmacological and non-pharmacological interventions have been proposed for preventing or attenuating NAFLD progression. Lifestyle modification remains the first-line therapeutic strategy since no universally accepted pharmacological treatment is currently available. Regular physical exercise improves glucose homeostasis, insulin sensitivity, lipid metabolism, mitochondrial biogenesis, antioxidant defense, and inflammatory responses, thereby reducing hepatic fat accumulation and improving liver function. Interval training, characterized by alternating periods of high-intensity exercise and recovery, has recently attracted considerable interest, as it produces substantial metabolic adaptations within relatively short exercise sessions. Similarly, omega-3 polyunsaturated fatty acids possess potent anti-inflammatory, antioxidant, and lipid-lowering properties and have demonstrated beneficial effects on hepatic lipid metabolism and cellular survival. Nevertheless,

despite the established independent benefits of exercise and omega-3 supplementation, limited information exists regarding their combined influence on apoptosis-related molecular pathways in NAFLD. Therefore, the present study aimed to evaluate the individual and combined effects of interval training and omega-3 supplementation on hepatic expression of **BAX**, **BCL-2**, and the **BCL-2/BAX ratio** in rats with experimentally induced NAFLD.

Materials and Methods

This experimental laboratory study was conducted on 40 adult male Wistar rats (156.98 ± 7.82 g). Animals were randomly assigned into five groups ($n=8$, each): healthy control (CN), NAFLD, NAFLD + interval training (TRNAF), NAFLD + omega-3 supplementation (SUPNAF), and NAFLD + interval training + omega-3 supplementation (TRSUPNAF). The NAFLD was induced in the animals via a six-week high-fat diet. After confirmation of successful induction, the intervention groups were subjected to an eight-week experimental protocol. Rats in the exercise groups performed interval treadmill training five sessions per week. Following a one-week familiarization period, the main training protocol began with 10 one-minute running bouts separated by two-minute recovery intervals at a speed of 14 m/min. Exercise intensity and training volume were progressively increased throughout the intervention until the animals completed 15 one-minute bouts at a speed of 28 m/min during the final week. Animals assigned to the supplementation groups received omega-3 fatty acids orally at a dosage of 1 g/kg body weight daily throughout the intervention period. At 48 h following the final exercise session, and after an overnight fast, liver tissue samples were collected under deep anesthesia. Total RNA was extracted from liver samples and reverse-transcribed into complementary DNA. Relative gene expression of **BAX** and **BCL-2** was quantified using real-time polymerase chain reaction (RT-PCR), while the **BCL-2/BAX ratio** was calculated as an indicator of apoptotic balance. Data normality was confirmed using the Shapiro-Wilk test, and differences among groups were analyzed using one-way analysis of variance followed by Tukey's post hoc test. A **P-value < 0.05** was considered statistically significant.

Results

Induction of NAFLD markedly altered the hepatic apoptotic profile. Compared with the healthy control group, rats fed the high-fat diet exhibited significantly elevated expression of

the pro-apoptotic **BAX** gene together with a significant reduction in the anti-apoptotic **BCL-2** gene, indicating enhanced hepatocyte apoptosis. The **BCL-2/BAX ratio** was also significantly altered following disease induction, confirming disruption of apoptotic homeostasis in liver tissue. Interval training alone significantly reduced **BAX** expression ($p=0.021$) and improved the **BCL-2/BAX ratio** ($p<0.0001$) compared with untreated NAFLD animals. Similarly, omega-3 supplementation significantly decreased **BAX** expression ($p=0.033$) and reduced the apoptotic ratio ($p<0.0001$). The combined intervention produced the most pronounced response, with highly significant reductions in **BAX** expression and the **BCL-2/BAX ratio** (both $p<0.0001$). Furthermore, hepatic **BCL-2** expression increased significantly following interval training ($p=0.029$), omega-3 supplementation ($p=0.032$), and particularly after the combined intervention ($p<0.0001$) relative to untreated NAFLD animals. These molecular adaptations demonstrate that both interventions effectively shifted apoptotic signaling toward cell survival, with the combination generally producing greater improvements than either intervention alone. The observed responses are consistent with the hypothesis that regular interval exercise and omega-3 supplementation act through complementary mechanisms involving attenuation of oxidative stress, preservation of mitochondrial integrity, improvement of lipid metabolism, suppression of inflammatory signaling, and modulation of apoptosis-related genes.

Conclusion

The findings of the present investigation demonstrate that both interval training and

omega-3 supplementation effectively attenuate hepatocyte apoptosis in rats with experimentally induced NAFLD through favorable regulation of **BAX** and **BCL-2** gene expression. The combined intervention exhibited the greatest overall protective effect, suggesting additive or synergistic interactions between regular exercise and omega-3 fatty acids in preserving hepatic cellular integrity. These beneficial effects are likely mediated through improvements in mitochondrial function, reduction of oxidative stress, attenuation of inflammatory responses, and restoration of the balance between pro-apoptotic and anti-apoptotic signaling pathways. Considering the increasing global prevalence of NAFLD and the lack of definitive pharmacological therapies, these findings provide further evidence supporting lifestyle-based interventions as effective strategies for limiting liver injury and slowing disease progression. Future investigations should evaluate longer intervention periods, additional apoptotic and inflammatory biomarkers, histopathological alterations, and translation of these findings to clinical populations with NAFLD. Overall, the present study suggests that combining structured interval training with omega-3 supplementation may represent a safe, practical, and promising non-pharmacological approach for improving liver health and reducing apoptosis associated with NAFLD.

Keywords

Apoptosis, BAX, BCL-2, BCL-2/BAX ratio, High-fat diet, Interval training, Liver tissue, Non-alcoholic fatty liver disease, Omega-3 fatty acids, Real-time PCR



اثر تمرین تناوبی و امگا ۳ بر بیان BAX، BCL-2 و نسبت Bax/BCL2 بافت کبد موش‌های مبتلابه کبد چرب غیرالکلی

زهرا سلیمی^۱، بابی سان عسکری^{۲*} ID، امیر تقی‌پور اسرمی^۲ ID، مسلم شریفی^۳ ID

۱. کارشناس ارشد فیزیولوژی ورزشی، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد قائم‌شهر، دانشگاه آزاد اسلامی، قائم‌شهر، ایران

۲. استادیار، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد قائم‌شهر، دانشگاه آزاد اسلامی، قائم‌شهر، ایران

۳. استادیار، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد بابل، دانشگاه آزاد اسلامی، بابل، ایران

* نویسنده مسئول: بابی سان عسکری، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد قائم‌شهر، دانشگاه آزاد اسلامی، قائم‌شهر، ایران. ایمیل: b.askari.1359@iaau.ac.ir

چکیده

تاریخ دریافت: ۱۴۰۵/۰۴/۰۷

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۵/۰۸/۲۸

واژگان کلیدی:

فعالیت ورزشی

امگا ۳

آپوپتوز

کبد چرب غیرالکلی

تمامی حقوق نشر برای دانشگاه علوم پزشکی اراک محفوظ است.

مقدمه: بیماری کبد چرب غیرالکلی (NAFLD) در سطح جهانی شایع است و با تجمع غیرطبیعی چربی در کبد مشخص می‌شود. هدف از پژوهش حاضر، تعیین اثر تمرین تناوبی و امگا ۳ بر بیان BAX، BCL-2 و نسبت Bax/BCL2 بافت کبدی موش‌های مبتلابه کبد چرب غیرالکلی بود. روش کار: در این مطالعه آزمایشگاهی، ۴۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار (وزن $156/98 \pm 7/82$ گرم) در پنج گروه بیمار کنترل-سالم (CN)، بیمار (NAFLD)، بیمار-تمرین (TRNAF)، بیمار-مکمل (SUPNAF) و بیمار-تمرین-مکمل (TRSUPNAF) قرار گرفتند. گروه‌های مکمل در دوره مداخله روزانه ۱ گرم امگا ۳ (به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن) را به‌صورت خوراکی دریافت کردند. برنامه تمرین تناوبی شامل دویدن روی تردمیل، با سرعت ۱۴ تا ۲۸ متر در دقیقه، پنج روز هفته به‌مدت هشت هفته اجرا شد. ۴۸ ساعت پس از پروتکل تحقیق، سطوح بیان ژنی در بافت کبد به روش Real-time PCR اندازه‌گیری شد. نهایتاً، برای بررسی مقایسه میانگین تغییرات متغیرهای تحقیق از تحلیل واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی توکی در سطح معناداری $P < 0/05$ استفاده شد. یافته‌ها: القای NAFLD باعث افزایش بیان BAX و نسبت BAX/BCL2 و کاهش بیان BCL2 شد ($P = 0/0001$). همچنین، در بیان BAX و نسبت BAX/BCL2 در گروه‌های TRNAF (به‌ترتیب $P = 0/021$ و $P = 0/0001$)، SUPNAF (به‌ترتیب $P = 0/033$ و $P = 0/0001$) و TRSUPNAF (به‌ترتیب $P = 0/0001$ و $P = 0/0001$) در مقایسه با NAFLD کاهش معنی‌داری مشاهده شد. بیان BCL2 در گروه‌های TRNAF ($P = 0/029$)، SUPNAF ($P = 0/032$) و TRSUPNAF ($P = 0/0001$) در مقایسه با NAFLD افزایش داشت. نتیجه‌گیری: نتایج تحقیق حاضر تأیید دیگری بر کاهش میزان آپوپتوز و افزایش بقای سلول‌های سالم در بافت کبد موش‌ها به‌دنبال تمرین و مصرف امگا ۳ است.

قبلی نشان می‌دهد افزایش سطوح n-3 PUFA در بافت‌ها به‌طور قابل‌توجهی احتمال ایجاد سرطان کبد را کاهش می‌دهد (۱۸). در مطالعات سلولی HCC انسانی، درمان با n-3 PUFAs، EPA و DHA با تأثیر در کاسپاز-۳ و کاسپاز-۹، در آپوپتوز سلولی اثر گذاشت (۱۶).

اگرچه بسیاری از آثار مولکولی n-3 PUFAs شناسایی شده‌اند و به نظر می‌رسد مکانیسم‌های متعددی زمینه‌ساز القای آپوپتوز هستند، این مکانیسم‌ها هنوز به‌طور کامل شناخته نشده‌اند (۱۹). دربارهٔ اثر 3PUFA مطالعات بیان شده است که سلول‌ها را در برابر آپوپتوز حساس می‌کند (۲۰). بنابراین، به نظر می‌رسد درمان اختلالات کبدی، به‌ویژه آپوپتوز کبدی، با استفاده از روش‌های غیردارویی و استفاده از مواد طبیعی، می‌تواند تا حدی آثار جانبی مصرف داروها را کاهش دهد. علاوه بر این، مکانیزم اثر تمرین ورزشی و امگا ۳ بر آپوپتوز به‌خوبی شناسایی نشده است. در همین زمینه، فرض محقق این است که ترکیب تمرین تناوبی و مکمل امگا ۳، در مقایسه با هر کدام به‌تنهایی، اثر بیشتری در آپوپتوز دارد. بنابراین، در این پژوهش سعی شده است تا اثر تمرین تناوبی و امگا ۳ در شاخص‌های آپوپتوز کبدی موش‌های کبد چرب غیرالکلی بررسی شود.

روش کار

برای انجام تحقیق آزمایشی و کاربردی حاضر، ۴۰ سر موش صحرایی نر هشت هفته‌ای (وزن $156/98 \pm 7/82$ گرم) از نژاد ویستار به‌عنوان نمونه انتخاب و به مرکز پژوهش منتقل شدند و تا انتهای مدت تحقیق، به اندازهٔ کافی و آزادانه آب و غذا (به‌صورت پلت) دریافت کردند. پس از انتقال موش‌های صحرایی به آزمایشگاه و آشنایی با فعالیت ورزشی روی تردمیل مخصوص جوندگان، به‌طور تصادفی به دو گروه بیمار NAFLD و کنترل-سالم (CN) تقسیم شدند. موش‌های صحرایی در گروه کنترل به‌مدت شش هفته تحت رژیم غذایی استاندارد (شامل ۱۲ درصد چربی، ۵۷ درصد کربوهیدرات، ۲۸ درصد پروتئین و ۳ درصد مواد دیگر) قرار گرفتند، درحالی‌که برای القای NAFLD در موش‌ها، حیوانات به‌مدت شش هفته تحت رژیم غذایی پرچرب (شامل ۲۲ درصد چربی، ۵۰ درصد کربوهیدرات، ۲۴ درصد پروتئین و ۴ درصد مواد دیگر) قرار گرفتند (۲۱) (جدول ۱).

موش‌های صحرایی گروه بیمار مجدداً به چهار زیر گروه تجربی شامل بیمار (NAFLD)، بیمار-تمرین (TRNAF)، بیمار-مکمل (SUPNAF) و بیمار-تمرین-مکمل (TRSUPNAF) تقسیم شدند. موش‌های صحرایی گروه تمرین، برنامهٔ هشت‌هفته‌ای (پنج روز هفته) تمرین تناوبی را اجرا کردند، درحالی‌که موش‌های صحرایی دیگر در هیچ برنامهٔ تمرینی‌ای شرکت داده نشدند.

جدول ۱. ترکیبات سازندهٔ رژیم غذایی استاندارد و رژیم پرچرب

رژیم استاندارد (درصد)	رژیم پرچرب (درصد)
چربی ۱۲	۲۲
کربوهیدرات ۵۷	۵۰
پروتئین ۲۸	۲۴
مواد دیگر ۳	۴

قبل از شروع تمرین اصلی و به‌منظور آشنایی با چگونگی فعالیت با تردمیل، موش‌های صحرایی گروه‌های تمرین و گروه مکمل-تمرین در یک

بیماری کبد چرب غیرالکلی (NAFLD) تظاهرات کبدی سندرم متابولیک و شایع‌ترین بیماری کبد در سراسر جهان است (۱). شیوع NAFLD در ایالات متحده، اروپا و کشورهای آسیایی تقریباً ۳۰ درصد است (۲). طیفی از آسیب سلولی کبدی شامل استئاتوز ساده تا استئاتوهپاتیت غیرالکلی (NASH)، فیبروز و سیروز می‌شود (۳). مکانیسم‌های پاتولوژیک توسعهٔ NAFLD شامل اختلالات متابولیسم چربی، استرس اکسیداتیو و آپوپتوز سلول‌های کبدی است (۴). شواهد نشان می‌دهند که آپوپتوز هپاتوسیت ممکن است یکی از عوامل در پیشرفت NAFLD باشد و به‌دنبال آن، به آپوپتوز کبدی منجر می‌شود (۵). کاهش میزان آپوپتوز هپاتوسیت ممکن است هدف درمانی جدیدی برای تنظیم توسعهٔ NAFLD باشد (۶).

چندین استراتژی دارویی و غیردارویی برای بهبود NAFLD پیشنهاد شده است. در میان رویکردهای غیردارویی، سازگاری‌های چندسیستمی ناشی از فعالیت ورزشی در بهبود ارتباط متقابل بین اندام‌ها و هماهنگ کردن آثار پرومتابولیک برای کاهش اختلالات مرتبط با متابولیسم، مانند NAFLD، شناخته شده است (۷). کیتینگ و همکاران اثربخشی دوز و شدت تمرین را برای کاهش چربی کبد و بافت چربی احشایی در مدل حیوانی NAFLD بررسی کردند؛ نتایج بین دوز یا شدت فعالیت ورزشی و کاهش چربی کبد و چربی احشایی تفاوت معنی‌داری نشان نداد (۸). همچنین، نشان داده شده است که تمرینات شدید و متوسط به یک اندازه در کاهش محتوای تری‌گلیسیرید داخل کبدی مؤثر است، اما وزن بدن، چربی بدن، دور کمر و فشار خون در گروه ورزش شدید در مقایسه با گروه ورزش متوسط کمتر بود (۹). تسونودا و همکاران گزارش دادند که ورزش با شدت شدید در مقایسه با ورزش با شدت متوسط، در جلوگیری از پیشرفت کبد چرب سادهٔ غیرالکلی به NASH مؤثرتر بود (۱۰). دو مقالهٔ مروری نظام‌مند روی بیماران NAFLD شرکت‌کننده در برنامه‌های ورزشی هوازی نشان داد که چربی کبد به‌طور قابل‌توجهی کاهش یافته، اما شدت تمرین بهینه مشخص نشده است (۱۱). درمجموع، داده‌های قبلی نشان می‌دهد که شدت ورزش، به‌جای حجم یا مدت آن، ممکن است در اثر محافظتی ورزش در برابر NAFLD نقش مهمی داشته باشد (۱۲).

مکانیسم‌های بیولوژیکی زیربنای تأثیر فعالیت ورزشی در NAFLD هنوز به‌خوبی شناخته نشده است. ورزش استقامتی نشانگرهای در گردش آپوپتوز سلول‌های کبدی را در افراد چاق کم‌تحرك مبتلابه NAFLD کاهش می‌دهد و کاهش آپوپتوز ممکن است با بهبود ظرفیت اکسیداسیون چربی مرتبط باشد (۱۳). علاوه بر این، گونکالواس و همکاران نشان دادند که ورزش استقامتی از آزادشدن سیتوکروم c از میتوکندری جلوگیری می‌کند و سیگنال‌های آپوپتوز را در سلول‌های کبدی مدل موش NAFLD القاشده با HFD بهبود می‌بخشد (۱۴). باین‌حال، نقش و مکانیسم اساسی تمرین ورزشی در آپوپتوز هپاتوسیت هنوز به‌خوبی شناخته نشده است.

علاوه بر فعالیت ورزشی، بسیاری از آنتی‌اکسیدان‌های غذایی فعالیت ضدتوموری قوی دارند (۱۵). در سال‌های اخیر، محبوبیت اسیدهای چرب غیراشباع چندگانه (PUFAs) به‌دلیل عملکردهای متعدد آن‌ها در ارتقای سلامت افزایش یافته است. PUFAs دارای حداقل عوارض جانبی است و در کاهش خطر ابتلا به بیماری‌هایی مانند سرطان، بیماری‌های قلبی-عروقی، دیابت و چاقی نقش دارد (۱۶). کارآزمایی‌های بالینی زیادی برای نشان دادن اثربخشی n-3 PUFA در پیشگیری و درمان سرطان در حیوانات آزمایشگاهی و کشت سلولی انجام شده است (۱۷). گزارش‌های

پانزده ست رسید. سرعت فعالیت با ۱۴ متر در دقیقه در هفته اول شروع و هر هفته ۲ متر در دقیقه بر سرعت افزوده شد، تا در هفته هشتم به ۲۸ متر در دقیقه رسید (جدول ۲).

هفته طی پنج جلسه، به مدت پنج دقیقه با سرعت ۸ تا ۱۰ متر بر دقیقه با شیب صفر فعالیت داشتند. برنامه تمرین اصلی با اقتباس از پژوهش دانیل و همکاران (۲۲) بدین صورت انجام شد که در هفته اول ده ست فعالیت یک دقیقه ای و دو دقیقه استراحت بین ست ها بود که در هفته آخر به

جدول ۲. پروتکل تمرینی تناوبی برای موش های صحرایی NAFLD

هفته	اول	دوم	سوم	چهارم	پنجم	ششم	هفتم	هشتم
ست (تکرار)	۱۰	۱۱	۱۲	۱۳	۱۳	۱۴	۱۴	۱۵
سرعت (متر بر دقیقه)	۱۴	۱۶	۱۸	۲۰	۲۲	۲۴	۲۶	۲۸
مدت استراحت (دقیقه)	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲

بیهوش شدند. بافت مدنظر بلافاصله پس از جداسازی، وزن کشی و شست و شو با سالیین فوراً به نیتروژن مایع منتقل و سپس تا زمان اندازه گیری، در یخچال در دمای ۸۰- درجه سانتی گراد نگهداری شد. سپس، طراحی پرایمر انجام شد و RNA کل از بافت ها استخراج و به cDNA تبدیل شد. در ادامه، cDNA به روش PCR تکثیر و از نظر بیان ژن های ذکر شده بررسی شد (جدول ۳).

همچنین موش های گروه مکمل و تمرین-مکمل روزانه ۱ گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن امگا ۳ ساخت شرکت سیگما آلمان (شماره محصول: F8020) استفاده کردند (۲۳).

پس از اعمال متغیر مستقل، تمام نمونه ها با شرایط کاملاً مشابه و در شرایط پایه (۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی و دوازده تا چهارده ساعت ناشتایی، به منظور از بین بردن آثار حاد تمرین و مکمل) با تزریق داخل صفاقی ترکیبی از کتامین (۶۰ mg/kg) و زایلازین (۵ mg/kg)

جدول ۳. الگوی پرایمر

Genes	Forward primers	Reverse primers
β -actin	5'- TTGCTACAGGGTTTCATCCAGG -3'	5'-ACAGAGTACTTGCCTCAGGAG-3'
Bax	5'-CAGAAGCAGAAAGCAATTGAAGA-3'	5'- CACTCGCTCAGCTTCTTGGT -3'
Bcl2	5'- GAATCAAGTGTTTCGCATAAC -3'	5'- GTTATCATACCTGTTCTCTCC -3'

بیان زن از فرمول (کنترل) $ct - \Delta ct = \Delta ct$ استفاده شد. پس از محاسبه تغییرات بیان ژن ها با Δct ، برای کمی کردن نتیجه حاصل از تغییرات ct نمونه ها، این عدد در فرمول $2^{-\Delta ct}$ وارد و نتایج حاصل بین گروه ها مقایسه شد. نهایتاً، برای اطمینان از طبیعی بودن توزیع متغیرها، از آزمون شاپیرو ویلک، برای بررسی مقایسه میانگین تغییرات متغیرهای تحقیق از تحلیل واریانس یک طرفه و آزمون تعقیبی توکی در سطح معنی داری $p < 0.05$ با نرم افزار SPSS نسخه ۲۶ استفاده شد.

یافته ها

میانگین وزن گروه ها قبل و در دوره القای NAFLD و همچنین بعد از القای NAFLD در جدول ۴ آورده شده است.

در ادامه، ۲۰ میلی گرم از بافت با استفاده از اسکالپر خرد و وارد میکروتیوپ شد. سپس، با استفاده از محلول تیزول، RNA کل سلول ها استخراج و خالص سازی شد. به cDNA سنتز شد و برای انجام واکنش رونویسی معکوس استفاده شد. cDNA سنتز شده با استفاده از SYBR Green master mix (Thermo Scientific, USA) و آغازگرهای ذکر شده در جدول ۳ تکثیر شد. واکنش Real-time PCR با استفاده از دستگاه SYBR Green qPCR Master Mix انجام شد. پروتکل چرخه حرارتی مورد استفاده Real time-PCR شامل ۹۵° به مدت ۱۰ دقیقه و به دنبال آن چهل سیکل بیست ثانیه ای در حرارت ۹۵°، ۳۰ ثانیه در ۶۰° و ۵۰ ثانیه در دمای ۷۲° بود.

نسبت بیان ژن های مورد بررسی در این مطالعه، با روش مقایسه ای چرخه آستانه (Thereshold Cycle: CT) ارزیابی شد. برای نرمال سازی

جدول ۴. میانگین وزن موش های صحرایی (گرم) در گروه های مختلف قبل و بعد از القای NAFLD و انتهای پروتکل

گروه ها	قبل از القای NAFLD	بعد از القای NAFLD	انتهای پروتکل
CN (n=8)	۱۵۸/۸۸ ± ۱۹/۴۹	۲۲۲/۶۳ ± ۱۵/۷۱	۲۷۵/۵۰ ± ۱۳/۴۳
NAFLD (n=8)	۱۵۳/۶۳ ± ۱۵/۸۷	۱۵۴/۵۰ ± ۱۵/۰۹	۳۱۴/۸۷ ± ۱۲/۲۴
TRNAF (n=8)	۱۵۷/۰۰ ± ۱۸/۱۲	۲۶۰/۳۸ ± ۱۸/۰۲	۲۸۳/۵۰ ± ۱۸/۳۷
SUPNAF (n=8)	۱۵۴/۷۵ ± ۱۷/۰۰	۲۶۷/۵۰ ± ۱۸/۷۱	۲۹۸/۰۰ ± ۱۶/۸۶
TRSUPNAF (n=8)	۱۶۰/۶۳ ± ۱۷/۹۴	۲۵۱/۱۳ ± ۱۷/۳۲	۲۶۵/۳۸ ± ۱۲/۲۷

(جدول ۵) ($F=16/448$, $P=0/0001$)

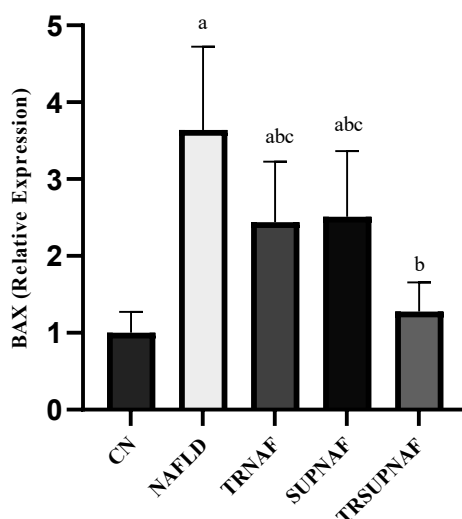
تجزیه و تحلیل داده‌ها نشان داد که در میزان تغییرات بیان BAX بافت کبدی بین گروه‌های مختلف تفاوت معنی‌داری وجود دارد

جدول ۵. نتایج آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه BAX بافت کبدی در گروه‌های مختلف پژوهش

سطح معنی‌داری	مقدار F	میانگین مربعات	درجه آزادی	مجموع مربعات	
۰/۰۰۰۱	۱۶/۴۴۸	۹/۰۱۹	۴	۳۶/۰۷۶	بین گروه‌ها
		۰/۵۴۸	۳۵	۱۹/۱۹۲	داخل گروه‌ها
			۳۹	۵۵/۲۶۸	مجموع

و TRSUPNAF ($P=0/0001$) در مقایسه با NAFLD؛ و TRSUPNAF در مقایسه با گروه TRNAF ($P=0/027$) و SUPNAF ($P=0/017$) کاهش معنی‌داری مشاهده شد (نمودار ۱).

همچنین نتایج آزمون تعقیبی نشان داد افزایش معنی‌داری در میزان تغییرات BAX در گروه‌های NAFLD ($P=0/0001$)، TRNAF ($P=0/004$) و SUPNAF ($P=0/002$) در مقایسه با CN وجود دارد. همچنین، در گروه‌های TRNAF ($P=0/021$)، SUPNAF ($P=0/033$)



نمودار ۱. تغییرات بیان BAX بافت کبد در گروه‌های مختلف با آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه (در سطح $P<0/05$)

(a: تفاوت با گروه CN; b: تفاوت با گروه NAFLD; c: تفاوت با TRSUPNAF).

CN: رژیم غذایی نرمال، NAFLD: کبد چرب غیرالکلی، TRNAF: کبد چرب غیرالکلی-تمرین، SUPNAF: کبد چرب غیرالکلی - مکمل و TRSUPNAF: کبد چرب غیرالکلی-تمرین-مکمل.

(جدول ۶) ($F=11/571$)

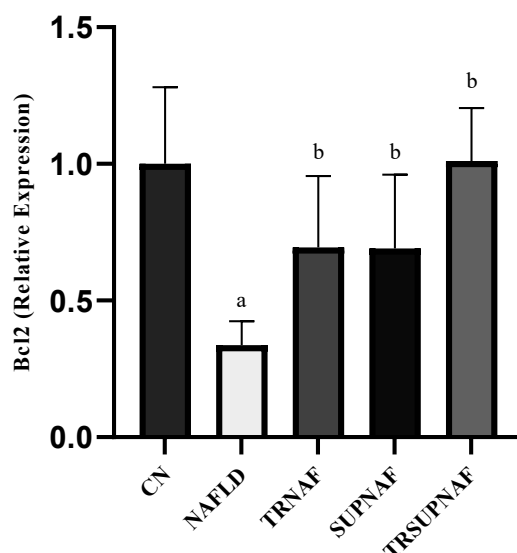
نتایج نشان داد که در میزان تغییرات بیان BCL2 بافت کبدی بین گروه‌های مختلف تفاوت معنی‌داری وجود دارد ($P=0/0001$).

جدول ۶. نتایج آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه BCL2 بافت کبدی در گروه‌های مختلف پژوهش

سطح معنی‌داری	مقدار F	میانگین مربعات	درجه آزادی	مجموع مربعات	
۰/۰۰۰۱	۱۱/۵۷۱	۰/۶۱۶	۴	۲/۴۶۴	بین گروه‌ها
		۰/۰۵۳	۳۵	۱/۸۶۳	داخل گروه‌ها
			۳۹	۴/۳۲۷	مجموع

SUPNAF ($P=0/032$) و TRSUPNAF ($P=0/0001$) در مقایسه با NAFLD افزایش معنی‌داری مشاهده شد (نمودار ۲).

همچنین، نتایج آزمون تعقیبی نشان داد در میزان تغییرات BCL2 در گروه‌های NAFLD ($P=0/0001$) در مقایسه با CN کاهش معنی‌داری وجود دارد. همچنین، در گروه‌های TRNAF ($P=0/029$).



نمودار ۲. تغییرات بیان BCL2 بافت کبد در گروه‌های مختلف با آزمون آنالیز واریانس یک‌راهه (در سطح $P < 0.05$).

(a تفاوت با گروه CN؛ b تفاوت با گروه NAFLD).

CN: رژیم غذایی نرمال، NAFLD: کبد چرب غیرالکلی، TRNAF: کبد چرب غیرالکلی-تمرین، SUPNAF: کبد چرب غیرالکلی-مکمل و TRSUPNAF: کبد چرب غیرالکلی-تمرین-مکمل

دارد ($F=21/438$, $P=0/0001$) (جدول ۷).

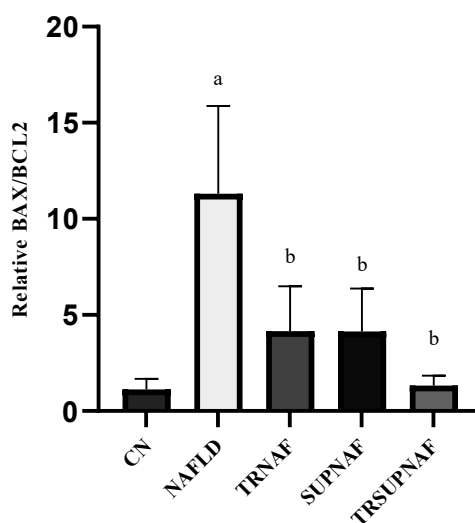
نتایج تجزیه و تحلیل داده‌ها نشان داد که در میزان تغییرات BAX/BCL2 بافت کبدی بین گروه‌های مختلف تفاوت معنی‌داری وجود

جدول ۷. نتایج آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه BAX/BCL2 بافت کبدی در گروه‌های مختلف پژوهش

سطح معنی‌داری	مقدار F	میانگین مربعات	درجه آزادی	مجموع مربعات	
0/0001	21/438	136/196	4	544/784	بین گروه‌ها
		6/353	35	222/359	داخل گروه‌ها
			39	767/143	مجموع

همچنین، در گروه‌های TRNAF ($P=0/0001$)، SUPNAF ($P=0/0001$) و TRSUPNAF ($P=0/0001$) در مقایسه با NAFLD کاهش معنی‌داری مشاهده شد (نمودار ۳).

همچنین نتایج آزمون تعقیبی نشان داد در میزان تغییرات BAX/BCL2 در گروه‌های NAFLD ($P=0/0001$) در مقایسه با CN افزایش معنی‌داری وجود دارد.



نمودار ۳. تغییرات نسبت BAX/BCL2 بافت کبد در گروه‌های مختلف با آزمون آنالیز واریانس یک‌راهه (در سطح $P < 0.05$).

(a تفاوت با گروه CN؛ b تفاوت با گروه NAFLD).

CN: رژیم غذایی نرمال، NAFLD: کبد چرب غیرالکلی، TRNAF: کبد چرب غیرالکلی-تمرین، SUPNAF: کبد چرب غیرالکلی-مکمل و TRSUPNAF: کبد چرب غیرالکلی-تمرین-مکمل

آثار آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی، باعث مهار آپوپتوز در سلول‌های کبدی می‌شود (۳۴).

براساس پژوهش‌های موجود، دو پروتئین Bax و Bcl2 در تعدیل فرایندهای آپوپتوز نقش مؤثری بازی می‌کنند (۳۵). بنابراین، هر عاملی که سبب تغییر نسبت Bax به Bcl2 یا برعکس شود، محیط را به سمت آپوپتوز یا ضدآپوپتوز سوق می‌دهد (۳۶). در حالت طبیعی، بین عوامل مهاری و محرک‌های آپوپتوز تعادل برقرار است، اما همواره در موقعیت‌های فیزیولوژیکی و پاتولوژیکی این تعادل بر هم می‌خورد که یکی از این موقعیت‌ها فعالیت بدنی است. احتمال می‌رود فعالیت‌های ورزشی با تأثیر در مهم‌ترین عوامل مؤثر در فرایند آپوپتوز، بتواند باعث جلوگیری از مرگ سلولی شود (۳۷). مطالعات متعددی نشان داده‌اند که فعالیت ورزشی منظم باعث افزایش پروتئین Bcl2 می‌شود و نسبت Bax به Bcl2 را به‌سوی محیط ضدآپوپتوزی تغییر می‌دهد (۳۸).

گزارش شده است که IL-6 در سرطان پستان و برخی سلول‌های تومور دیگر، با افزایش BCL-2، مقاومت به آپوپتوز را افزایش می‌دهد. از آنجا که ورزش منظم سطح IL-6 را کاهش می‌دهد (۳۸)، یکی از مکانیسم‌های ممکن برای کاهش Bcl-2 می‌تواند کاهش IL-6 باشد. از سوی دیگر، BCL-2 می‌تواند با جلوگیری از انتقال BAX از سیتوزول به میتوکندری، BAX را در میتوکندری کاهش دهد (۳۹). بنابراین، IL-6 به‌طور غیرمستقیم BAX را کاهش می‌دهد و ورزش با کاهش IL-6 باعث افزایش BAX می‌شود. عمده‌ترین نقش میتوکندری در مسیر آپوپتوز، مهار رهاسازی سیتوکروم c به درون سیتوزول است که به افزایش پتانسیل غشای میتوکندری منجر شده است. این قابلیت برای تولید انرژی ATP و حفظ هومئوستاز سلولی ضروری است. علاوه بر مهار رهاسازی سیتوکروم c، فعالیت‌های بدنی با کاهش ROS در میتوکندری‌ها در کاهش آپوپتوز نقش دارند (۳۹).

از دیگر نتایج پژوهش حاضر افزایش در میزان بیان Bcl2 و کاهش Bax به‌دنبال مصرف امگا ۳ بود. در همین زمینه، لو و همکاران نشان دادند که مکمل اسید چرب n-3 نشانگرهای آپوپتوز و اتوفاژی را در زنان بهبود می‌بخشد (۴۰). لیانگ و همکاران نیز مشاهده کردند مصرف اسید ۷-لینولنیک (GLA) می‌تواند در برابر اختلال متابولیسم لیپیدی، از طریق تعادل اتوفاژی و آپوپتوز به‌واسطه مسیر LKB1-AMPK-mTOR، از سلول‌ها محافظت کند. محققان این پژوهش اعلام کردند که GLA، به‌عنوان مکمل غذایی، می‌تواند با تنظیم متابولیسم لیپید و اتوفاژی به پیشگیری و درمان NAFLD کمک کند (۴۱). به نظر می‌رسد استفاده از امگا ۳ راهبرد درمانی امیدوارکننده‌ای برای جلوگیری از فیبروز کبدی است (۴۲).

شن و همکاران در پژوهش خود بیان کردند که اسیدهای چرب n-3 با تأثیر در بیان کاسپاز-۳، Bax و Bcl-2 و همچنین کاهش نسبت Bax/Bcl-2، باعث معکوس شدن فعالیت سلول‌های ستاره‌ای شدند و از سلول‌های کبدی در برابر فیبروز محافظت می‌کنند (۴۲). یکی از مسیرهای تأثیرگذاری امگا ۳ در آپوپتوز، STAT3 است. مطالعات قبلی نشان داده که مصرف امگا ۳ با افزایش STAT3 همراه بوده است (۴۳) و تنظیم افزایشی آن با ژن‌های مسیر پایین‌دست خود cyclin D1 و Bcl-2 در HCC در سلول‌های کبدی، نقش مهمی در کنترل آپوپتوز ایفا می‌کنند (۴۳).

در پژوهش حاضر اثر تمرین همراه با مصرف امگا ۳ تأثیر بیشتری در کاهش Bax داشت. اثر هم‌زمان تمرین اینتروال و امگا ۳ در شاخص‌های آپوپتوز بافت کبد در موش‌های NAFLD کمتر بررسی شده است.

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که القای NAFLD باعث کاهش معنی‌دار در Bcl2 و افزایش Bax شد. نشان داده شده است که فعال شدن کاسپازها، پروتئین‌های خانواده BCL-2 و کیناز N ترمینال c-Jun باعث القای آپوپتوز سلول‌های کبدی می‌شود که در فعال‌سازی NAFLD/NASH نقش مهمی ایفا می‌کنند. همچنین، اختلال در متابولیسم گلوکز و متابولیسم لیپید در بیماران NAFLD/NASH می‌تواند این بیماری را تسریع کند (۲۴) و فعال شدن گونه‌های فعال اکسیژن، استرس اکسیداتیو و استرس شبکه اندوپلاسمی (ER) نیز دخیل هستند (۲۵). در همین باره، پژوهش‌های قبلی نیز نشان داده‌اند که القای کبد چرب با استفاده از HFD باعث کاهش در Bcl2 و افزایش Bax می‌شود (۲۶). در همین زمینه، مطالعات نشان داده‌اند که بیان ضدآپوپتوز BCL-2 در سلول کبدی و سرم، با توجه به شدت NAFLD/NASH افزایش می‌یابد (۲۷). ER، که در طول NAFLD/NASH افزایش می‌یابد، می‌تواند سنتز لیپید و التهاب را تقویت کند (۲۸).

پروتئین‌های شبکه اندوپلاسمی PERK و فاکتور eIF-2α می‌توانند مسیر متعارف پاسخ پروتئین بازده (UPR) را برای افزایش استرس ER آغاز کنند و تجمع UPR می‌تواند به فعال شدن آپوپتوز منجر شود. آپوپتوز سلول‌های کبدی می‌تواند به دلایل زیادی، از جمله سمیت چربی، استرس ER و استرس اکسیداتیو فعال شود (۲۸). همچنین، نشان داده شده که آسیب کبدی در بیماران NASH با آپوپتوز و فعال شدن NF-kB همراه است (۲۹). این تغییرات به کاسپاز وابسته‌اند. افزایش التهاب در آسیب کبدی با دیپلاریزاسیون غشای میتوکندری و آزادسازی سیتوکروم c، که مسیرهای آپوپتوز میتوکندری را فعال می‌کند، همراه است. تنظیم مثبت بیان Bax و Bcl-2 نیز ممکن است در آپوپتوز در NAFLD نقش مهمی ایفا کند (۳۰). گزارش‌های دیگری نیز نشان داده‌اند که بیماران NASH به‌طور قابل توجهی سطوح پایین‌تری از پروتئین ضدآپوپتوز Bcl-2 را دارند (۳۱). درجه آپوپتوز با سطح Bcl-2 هم‌بستگی معکوس نشان می‌دهد (۳۱). سطوح بالای گلوکز ناشی از HFD می‌تواند با سمیت چربی همراه باشد و به‌دنبال آن، با افزایش استرس اکسیداتیو و آپوپتوز کبدی از طریق تغییر در نفوذپذیری میتوکندری و متعاقب آن اختلال عملکرد میتوکندری، به پیشرفت NAFLD کمک کند (۳۲).

هیچ دارویی برای درمان NAFLD شناسایی نشده است. باوجوداین، مداخله در سبک زندگی از درمان‌های اصلی NAFLD/NASH مورد تأیید FDA هستند. در میان روش‌های غیر دارویی، فعالیت ورزشی برای کاهش اختلالات متابولیکی، مانند NAFLD، با توسعه مکانیسم‌های سازگاری چندسیستمی، افزایش تعامل بین اندام‌ها و تنظیم آثار پرومتابولیک شناخته شده است (۳). مکانیسم‌های بیولوژیکی اساسی آثار ورزش در کبد NAFLD به‌خوبی شناخته نشده است. در پژوهش حاضر نشان داده شده است که فعالیت ورزشی تناوبی با افزایش در Bcl2 و کاهش در Bax و نسبت Bax/Bcl2 در بافت کبد موش‌های NAFLD همراه بوده است.

همسو با پژوهش حاضر، ازدوگرو و همکاران در موش‌های HFD نشان دادند که فعالیت ورزشی با افزایش Bcl2 و کاهش Bax و کاسپاز-۳ همراه است. همچنین، فعالیت ورزشی توانست شاخص‌های التهابی را بهبود ببخشد (۳۳). میرزایی و همکاران نیز نشان دادند که فعالیت ورزشی هوازی باعث کاهش Bax و افزایش Bcl2 می‌شود و آپوپتوز سلول‌های کبدی را در NAFLD بهبود می‌بخشد (۲۶). مطالعات نشان داده‌اند که فعالیت ورزشی در شدت‌های مختلف با بهبود چربی خون و

تشکر و قدردانی می‌شود.

ملاحظات اخلاقی

این مقاله برگرفته از پایان‌نامه کارشناسی ارشد گرایش فیزیولوژی ورزشی در دانشگاه آزاد واحد قائم‌شهر است و با کد اخلاق IR.IAU.SARI.REC.1403.090 از دانشگاه آزاد ساری تأیید شده است. همه آزمایش‌های مربوط به حیوانات براساس خط‌مشی‌های قرارداد هلسینکی انجام شد و قوانین راهنمای مؤسسه ملی سلامت در نگهداری حیوانات آزمایشگاهی رعایت شد.

حامی مالی

ندارد.

سهم نویسندگان

همه نویسندگان در تجزیه و تحلیل داده‌ها و آماده‌سازی این مقاله مشارکت یکسان داشته‌اند.

تعارض منافع

نویسندگان هیچ تضاد منافی اعلام نکرده‌اند.

باوجوداین، در محدوده مطالعه‌ای که روی موش‌های HFD انجام شد، تمرین هوازی همراه با روغن ماهی باعث کاهش لیپیدها و شاخص‌های آپوپتوزی و همچنین کاهش IL-6 و TNF- α شد (۴۴). بازاریار و همکاران نیز نشان دادند که تمرین مقاومتی همراه با مصرف عصاره زعفران موجب کاهش بیان ژن‌های دخیل در آپوپتوز رت‌های نر مبتلا به آلزایمر می‌شود (۴۵). به نظر می‌رسد در پژوهش حاضر اثر تمرین با مکمل به‌صورت هم‌افزایی باعث به‌دست‌آمدن چنین نتایجی شده است. باوجوداین، اثر ترکیب تمرین و مکمل در BCL2 معنی‌دار نشد. لذا، برای درک بهتر اثر ترکیبی به پژوهش‌های بیشتری نیاز است.

نتیجه‌گیری

به‌طور کلی نتایج پژوهش حاضر نشان دادند که تمرین تناوبی همراه با مصرف امگا ۳ باعث افزایش معنی‌دار پروتئین ضدآپوپتوزی Bcl2 شد و پروتئین آپوپتوزی Bax کاهش معنی‌داری داشت. همچنین، نسبت Bax/Bcl2 نیز کاهش یافت که تأیید دیگری بر کاهش میزان آپوپتوز و افزایش بقای سلول‌های سالم در بافت کبد موش‌ها به‌دنبال تمرین هوازی و مصرف امگا ۳ است. باوجوداین، بیان BCL2 در گروه ترکیبی تغییر معنی‌داری نداشت که به بررسی بیشتر در این زمینه نیاز است.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از تمام افرادی که در این پژوهش با ما همکاری کردند،

References

- Milić S, Lulić D, Štimac D. Non-alcoholic fatty liver disease and obesity: biochemical, metabolic and clinical presentations. *World J Gastroenterol*. 2014;20(28):9330-7. doi: 10.3748/wjg.v20.i28.9330 pmid
- Mahady SE, George J. Exercise and diet in the management of nonalcoholic fatty liver disease. *Metabolism*. 2016;65(8):1172-82. doi: 10.1016/j.metabol.2015.10.032 pmid
- Berlanga A, Guiu-Jurado E, Porras JA, Auguet T. Molecular pathways in non-alcoholic fatty liver disease. *Clin Exp Gastroenterol*. 2014;7:221-39. doi: 10.2147/CEG.S62831 pmid
- Spahis S, Delvin E, Borys JM, Levy E. Oxidative Stress as a Critical Factor in Nonalcoholic Fatty liver disease pathogenesis. *Antioxid Redox Signal*. 2017;26(10):519-41. doi: 10.1089/ars.2016.6776 pmid
- Wang K. Molecular mechanisms of hepatic apoptosis. *Cell Death Dis*. 2014;5(1):e996. doi: 10.1038/cddis.2013.499 pmid
- Roychowdhury S, McCullough RL, Sanz-Garcia C, Saikia P, Alkhoury N, Matloob A, Pollard KA, McMullen MR, Croniger CM, Nagy LE. Receptor interacting protein 3 protects mice from high-fat diet-induced liver injury. *Hepatology*. 2016;64(5):1518-33. doi: 10.1002/hep.28676 pmid
- Safdar A, Saleem A, Tarnopolsky MA. The potential of endurance exercise-derived exosomes to treat metabolic diseases. *Nat Rev Endocrinol*. 2016;12(9):504-17. doi: 10.1038/nrendo.2016.76 pmid
- Keating SE, George J, Johnson NA. The benefits of exercise for patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol*. 2015;9(10):1247-50. doi: 10.1586/17474124.2015.1075392 pmid
- Zhang HJ, Pan LL, Ma ZM, Chen Z, Huang ZF, Sun Q, et al. Long-term effect of exercise on improving fatty liver and cardiovascular risk factors in obese adults: A 1-year follow-up study. *Diabetes Obes Metab*. 2017;19(2):284-9. doi: 10.1111/dom.12809 pmid
- Tsunoda K, Kai Y, Kitano N, Uchida K, Kuchiki T, Nagamatsu T. Impact of physical activity on nonalcoholic steatohepatitis in people with nonalcoholic simple fatty liver: A prospective cohort study. *Prev Med*. 2016;88:237-40. doi: 10.1016/j.ypmed.2016.04.020 pmid
- Keating SE, Hackett DA, George J, Johnson NA. Exercise and non-alcoholic fatty liver disease: A systematic review and meta-analysis. *J Hepatol*. 2012;57(1):157-66. doi: 10.1016/j.jhep.2012.02.023 pmid
- Kistler KD, Brunt EM, Clark JM, Diehl AM, Sallis JF, Schwimmer JB, et al. Physical activity recommendations, exercise intensity, and histological severity of nonalcoholic fatty liver disease. *Am J Gastroenterol*. 2011;106(3):460. doi: 10.1038/ajg.2010.488 pmid
- Fealy CE, Haus JM, Solomon TP, Pagadala M, Flask CA, McCullough AJ, et al. Short-term exercise reduces markers of hepatocyte apoptosis in nonalcoholic fatty liver disease. *J Appl Physiol*. 2012;113(1):1-6. doi: 10.1152/japplphysiol.00127.2012 pmid
- Gonçalves IO, Passos E, Diogo CV, Rocha-Rodrigues S, Santos-Alves E, Oliveira PJ, et al. Exercise mitigates mitochondrial permeability transition pore and quality control mechanisms alterations in nonalcoholic steatohepatitis. *Appl Physiol Nutr Metab*. 2016;41(3):298-306. doi: 10.1139/apnm-2015-0470 pmid
- Torabi Palat Kaleh G, Kazemi M, A bdi A, Abbassi Dalooi A, Alsadat Mirshafaei MA. Effect of Aerobic Training along with Garlic on Oxidative Stress Index in Obese Women with High Blood Pressure. *Journal of Sports Physiology and Athletic Conditioning*. 2022; 2 (5): 1-13. doi:10.61186/jspac.38796.2.5.1
- Raoufi Sangachin A, Abdi A, Barari A. Effect of aerobic training and spirulina supplementation on mitochondrial-derived peptides in overweight elderly men. *Daneshvar Med*. 2022;30(2):12-23. (Persian) Link
- Shen C, Baron K, Toyama M, Cohen P, Wan J, Kumagai H, et al. Abstract P6-11-09: effects of a 12 week breast cancer exercise program on the mitochondrial derived peptide MOTS-c. *Cancer Res*. 2023;83(5_Supplement):P6-11-09-P6-11-09. doi: 10.1158/1538-7445.sabcs22-p6-11-09
- Li S, Wang M, Ma J, Pang X, Yuan J, Pan Y, et al. MOTS-c and exercise restore cardiac function by activating of NRG1-ErbB signaling in diabetic rats. *Front Endocrinol*. 2022;13:812032. doi: 10.3389/fendo.2022.812032 pmid
- Hyatt JPK. MOTS-c increases in skeletal muscle following

- long-term physical activity and improves acute exercise performance after a single dose. *Physiol Rep*. 2022;10(13):e15377. doi: [10.14814/phy2.15377](https://doi.org/10.14814/phy2.15377) pmid
20. Oh Y-S, Kwon H-Y, Jeong S-J, Park K-Y, Kim S-Y, Lee H-J, et al. Sojucktang induces apoptosis via loss of mitochondrial membrane potential and caspase-3 activation in KLE human endometrial cancer cells. *Chin Sci Bulletin*. 2009;54(23):4387-92. doi: [10.1007/s11434-009-0656-7](https://doi.org/10.1007/s11434-009-0656-7)
21. Efati M, Khorrami M, Zarei Mahmmmodabadi A, Raouf Sarshoori J. Induction of an animal model of non-alcoholic fatty liver disease using a formulated high-fat diet. *J Babol Univ Med Sci*. 2016;18(11):57-62. [link](#)
22. Freitas DA, Rocha-Vieira E, Soares BA, Nonato LF, Fonseca SR, Martins JB, et al. High intensity interval training modulates hippocampal oxidative stress, BDNF and inflammatory mediators in rats. *Physiol Behav*. 2018;184:6-11. doi: [10.1016/j.physbeh.2017.10.027](https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2017.10.027) pmid
23. de Andrade AM, Fernandes MdC, de Fraga LS, Porawski M, Giovenardi M, Guedes RP. Omega-3 fatty acids revert high-fat diet-induced neuroinflammation but not recognition memory impairment in rats. *Metab Brain Dis*. 2017;32(6):1871-81. doi: [10.1007/s11011-017-0080-7](https://doi.org/10.1007/s11011-017-0080-7) pmid
24. Csak T, Ganz M, Pespisa J, Kodys K, Dolganiuc A, Szabo G. Fatty acid and endotoxin activate inflammasomes in mouse hepatocytes that release danger signals to stimulate immune cells. *Hepatology*. 2011;54(1):133-44. doi: [10.1002/hep.24341](https://doi.org/10.1002/hep.24341) pmid
25. Li X, Wang J, Gong X, Zhang M, Kang S, Shu B, et al. Upregulation of BCL-2 by acridone derivative through gene promoter i-motif for alleviating liver damage of NAFLD/NASH. *Nucleic Acids Res*. 2020;48(15):8255-68. doi: [10.1093/nar/gkaa615](https://doi.org/10.1093/nar/gkaa615) pmid
26. Mirzaei M, Rahmaninia F, Mohebbi H, Ebrahimi M. Comparison of the effect of 8- and 12-week aerobic exercise with calorie restriction on the bax and bcl-2 expression in rats with non-alcoholic fatty liver disease. *Ann Mil Health Sci Res*. 2023;21(2):e139428. doi: [10.5812/amh-139428](https://doi.org/10.5812/amh-139428)
27. Yetti H, Naito H, Jia X, Shindo M, Taki H, Tamada H, et al. High-fat-cholesterol diet mainly induced necrosis in fibrotic steatohepatitis rat by suppressing caspase activity. *Life Sci*. 2013;93(18-19):673-80. doi: [10.1016/j.lfs.2013.09.013](https://doi.org/10.1016/j.lfs.2013.09.013) pmid
28. Rao Y, Lu Y, Li C, Song Q, Xu Y, Xu Z, et al. Bouchardatine analogue alleviates NAFLD/NASH in high fat fed mice via blunting ATP synthase activity. *Br J Pharmacol*. 2019;176:2877-93. doi: [10.1111/bph.14713](https://doi.org/10.1111/bph.14713) pmid
29. Ribeiro PS, Cortez-Pinto H, Solá S, Castro RE, Ramalho RM, Baptista A, et al. Hepatocyte apoptosis, expression of death receptors, and activation of NF-κ B in the liver of nonalcoholic and alcoholic steatohepatitis patients. *Am J Gastroenterol*. 2004;99(9):1708-17. doi: [10.1111/j.1572-0241.2004.40009.x](https://doi.org/10.1111/j.1572-0241.2004.40009.x) pmid
30. Li C, Li J, He S, Li P, Zhong X. Roles of Fas/FasL, Bcl-2/Bax, and Caspase-8 in rat nonalcoholic fatty liver disease pathogenesis. *Genet Mol Res*. 2014;13(2):3991-9. doi: [10.4238/2014.may.23.10](https://doi.org/10.4238/2014.may.23.10) pmid
31. Zhang P, Wang PX, Zhao LP, Zhang X, Ji YX, Zhang XJ, et al. The deubiquitinating enzyme TNFAIP3 mediates inactivation of hepatic ASK1 and ameliorates nonalcoholic steatohepatitis. *Nat Med*. 2018;24(1):84-94. doi: [10.1038/nm.4453](https://doi.org/10.1038/nm.4453) pmid
32. Yin X, Zheng F, Pan Q, Zhang S, Yu D, Xu Z, et al. Glucose fluctuation increased hepatocyte apoptosis under lipotoxicity and the involvement of mitochondrial permeability transition opening. *J Mol Endocrinol*. 2015;55(3):169-81. doi: [10.1530/jme-15-0101](https://doi.org/10.1530/jme-15-0101) pmid
33. Özudoğru E, Atay E, Savran M, AŞCI H, Özmen Ö, Topsakal Ş. Protective effects of swimming exercises and metformin on cardiac and aortic damage caused by a high-fat diet in obese rats with type 2 diabetes, by regulating the Bcl2/Bax signaling pathway. *Turk J Med Sci*. 2023;53(6):1582-92. doi: [10.55730/1300-0144.5727](https://doi.org/10.55730/1300-0144.5727) pmid
34. Ruan L, Li F, Li S, Zhang M, Wang F, Lv X, et al. Effect of different exercise intensities on hepatocyte apoptosis in HFD-induced NAFLD in rats: the possible role of endoplasmic reticulum stress through the regulation of the IRE1/JNK and eIF2α/CHOP signal pathways. *Oxid Med Cell Longev*. 2021;2021. doi: [10.1155/2021/6378568](https://doi.org/10.1155/2021/6378568) pmid
35. McMillan EM, Graham DA, Rush JW, Quadrilatero J. Decreased DNA fragmentation and apoptotic signaling in soleus muscle of hypertensive rats following 6 weeks of treadmill training. *J Appl Physiol*. 2012;113(7):1048-57. doi: [10.1152/japplphysiol.00290.2012](https://doi.org/10.1152/japplphysiol.00290.2012) pmid
36. Kazior Z, Willis SJ, Moberg M, Apró W, Calbet JA, Holmberg HC, et al. Endurance exercise enhances the effect of strength training on muscle fiber size and protein expression of Akt and mTOR. *PLoS One*. 2016;11(2):e0149082. doi: [10.1371/journal.pone.0149082](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0149082) pmid
37. Fagard R. Exercise is good for your blood pressure: effects of endurance training and resistance training. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 2006;33(9):853-6. doi: [10.1111/j.1440-1681.2006.04453.x](https://doi.org/10.1111/j.1440-1681.2006.04453.x) pmid
38. Shalamzari SA, Agha-Alinejad H, Alizadeh S, Shahbazi S, Khatib ZK, Kazemi A, et al. The effect of exercise training on the level of tissue IL-6 and vascular endothelial growth factor in breast cancer bearing mice. *Iran J Basic Med Sci*. 2014;17(4):231. doi: [10.30699/acadpub.ijbd.12.2.26](https://doi.org/10.30699/acadpub.ijbd.12.2.26) pmid
39. Murphy K, Ranganathan V, Farnsworth M, Kavallaris M, Lock RB. Bcl-2 inhibits Bax translocation from cytosol to mitochondria during drug-induced apoptosis of human tumor cells. *Cell Death Differ*. 2000;7(1):102-11. doi: [10.1038/sj.cdd.4400597](https://doi.org/10.1038/sj.cdd.4400597) pmid
40. Lo M, Black M, McGlory C, Quadrilatero J, Devries M. Effects of Omega-3 supplementation on markers of autophagy, apoptosis and mitochondrial area density. *Physiol*. 2023;38(S1):5735257. doi: [10.1152/physiol.2023.38.s1.5735257](https://doi.org/10.1152/physiol.2023.38.s1.5735257)
41. Liang Y, Zhang Z, Tu J, Wang Z, Gao X, Deng K, et al. γ-Linolenic acid prevents lipid metabolism disorder in palmitic acid-treated alpha mouse liver-12 cells by balancing autophagy and apoptosis via the LKB1-AMPK-mTOR pathway. *J Agric Food Chem*. 2021;69(29):8257-67. doi: [10.1021/acs.jafc.1c02596](https://doi.org/10.1021/acs.jafc.1c02596) pmid
42. Shan C, Wang R, Wang S, Zhang Z, Xing C, Feng W, et al. Endogenous production of N-3 polyunsaturated fatty acids protects mice from Carbon Tetrachloride-induced liver fibrosis by regulating mTOR and Bcl-2/Bax signalling pathways. *Exp Physiol*. 2021;106(4):983-93. doi: [10.1113/ep089328](https://doi.org/10.1113/ep089328) pmid
43. Wu Y, Min J, Ge C, Shu J, Tian D, Yuan Y, et al. Interleukin 22 in liver injury, inflammation and cancer. *Int J Biol Sci*. 2020;16(13):2405. doi: [10.7150/ijbs.38925](https://doi.org/10.7150/ijbs.38925) pmid
44. Veras ASC, Gomes RL, Almeida Tavares ME, Giometti IC, Cardoso APMM, da Costa Aguiar Alves B, et al. Supplementation of polyunsaturated fatty acids (PUFAs) and aerobic exercise improve functioning, morphology, and redox balance in prostate obese rats. *Sci Rep*. 2021;11(1):6282. doi: [10.1038/s41598-021-85337-9](https://doi.org/10.1038/s41598-021-85337-9) pmid
45. Bazyar F, Shabani R, Elmiyeh A. The Effect of resistance training along with the consumption of Saffron extract on the expression of bax, Bcl-2 and Caspase-3 Genes in the hippocampal tissue of male Alzheimer's induced rats. *J Isfahan Med School*. 2023;41(713):206-14. (Persian) doi: [10.48305/jims.v41.i713.0206](https://doi.org/10.48305/jims.v41.i713.0206)