

Original Article

The effect of eight weeks of testosterone enanthate consumption on antioxidant activity and NF-KB and cyclooxygenase-2 genes expression of kidney tissue in resistance trained male rats

Mehrabi M¹, Kazemzadeh Y^{2*}, Gorzi A³, Hosseini SA⁴, Sedaghati S⁵

1- Department of Exercise Physiology, Islamshahr Branch, Islamic Azad University, Islamshahr, I.R. Iran.

2- Graduated from Kharazmi University, Tehran, I.R. Iran.

3- Department of Sport Sciences, University of Zanjan, Zanjan, I.R. Iran.

4- Department of Exercise Physiology, Marvdasht Branch, Islamic Azad University, Marvdasht, I.R. Iran.

5- Department of Sport Management, Islamshahr Branch, Islamic Azad University, Islamshahr, I.R. Iran.

Received: 2022/08/5 | Accepted: 2022/12/7

Abstract:

Background: Anabolic-androgenic steroids can cause disturbances in the antioxidant system and some inflammatory markers such as nuclear factor kappa B (NF-KB) and cyclooxygenase-2 (COX-2) in kidney of athletes. So, this study aimed to investigate the effect of eight weeks of testosterone enanthate consumption on antioxidant activity, NF-KB and COX-2 genes expression in kidney tissue of resistance-trained male rats.

Materials and Methods: 24 male rats were divided into three groups: control, training, training + testosterone after a week of familiarization. Rats in the training and training + testosterone groups performed resistance training for eight weeks and five sessions per week. Also, rats in the training + testosterone group received 20 mg/kg/week of testosterone enanthate by intramuscular injection three days a week. One-way analysis of variance was used to analyze the research findings ($P \leq 0.05$).

Results: The results of one-way analysis of variance showed that COX-2 gene expression in the training group ($P=0.001$) and the training + testosterone group ($P=0.001$) had a significant increase compared to the control group. Also, a significant increase was observed in the Training + testosterone group compared to the training group ($P=0.001$). NF-kB gene expression in the training group ($P=0.003$) and the training + testosterone group ($P=0.001$) compared to the control group significantly was higher. Also, a significant increase was observed in the training + testosterone group compared to the training group ($P=0.002$).

Conclusion: It seems that intense resistance training and testosterone consumption can lead to an increase in inflammatory factors in the kidney tissue of resistance trained rats.

Keywords: Oxidative stress, NF-kB, COX-2, Testosterone enanthate, Resistance training

*Corresponding Author

Email: yaser.kazemzadeh@yahoo.com

Tel: 0098 912 220 5973

Fax: 0098 215 636 932

Conflict of Interests: No

Feyz, Journal of Kashan University of Medical Sciences, January, 2023; Vol. 27, No 6, Pages 666-675

Please cite this article as: Mehrabi M, Kazemzadeh Y, Gorzi A, Hosseini SA, Sedaghati S. The effect of eight weeks of testosterone enanthate consumption on antioxidant activity and NF-KB and cyclooxygenase-2 genes expression of kidney tissue in resistance trained male rats. *Feyz* 2023; 27(6): 665-75.

بررسی اثر هشت هفته مصرف تستوسترون انانثات بر فعالیت آنتیاکسیدانی و بیان ژن‌های NF-KB و سیکلواکسیژناز-۲ بافت کلیه موش‌های صحرایی نر تمرین‌کرده مقاومتی

معصومه مهرابی^۱، یاسر کاظم‌زاده^۲، علی گرزی^۳، سید علی حسینی^۴، سعید صداقتی^۵

خلاصه:

سابقه و هدف: استروئیدهای آنابولیک - آندروژنیک می‌توانند به اختلال در سیستم آنتیاکسیدانی و برخی از نشانگرهای التهابی، مانند فاکتور هسته‌ای کاپا B (NF-KB) و سیکلواکسیژناز-۲ (COX-2) در کلیه ورزشکاران منجر شوند. هدف مطالعه حاضر، بررسی اثر هشت هفته مصرف تستوسترون انانثات بر فعالیت آنتیاکسیدانی ییان ژن‌های NF-KB و COX-2 در بافت کلیه موش‌های صحرایی نر تمرین‌کرده مقاومتی بود.

مواد و روش‌ها: در این پژوهش، تعداد ۲۴ سر موش صحرایی نر، پس از یک هفته آشنازی به سه گروه کنترل، تمرین و تمرین+ تستوسترون تقسیم شدند. موش‌های صحرایی گروه‌های تمرین و تمرین+ تستوسترون به مدت هشت هفته و پنج جلسه در هفته تمرینات مقاومتی را انجام دادند، همچنین موش‌های صحرایی گروه تمرین+ تستوسترون، سه روز در هفته دوز تجمیعی هفتگی (۲۰ mg/kg) تستوسترون انانثات را بصورت تزریق عضلانی دریافت نمودند. جهت تجزیه و تحلیل یافته‌های پژوهش از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه استفاده شد ($P \leq 0.05$).

نتایج: نتایج تحلیل واریانس یک‌طرفه نشان داد که ییان ژن 2-COX در گروه‌های تمرین ($P=0.003$) و تمرین+ تستوسترون ($P=0.001$) نسبت به گروه کنترل افزایش معنی دار داشت. همچنین افزایش معنی داری در گروه تمرین+ تستوسترون نسبت به گروه تمرین مشاهده شد ($P=0.001$). ییان ژن NF-kB در گروه‌های تمرین ($P=0.001$) و تمرین+ تستوسترون ($P=0.001$) در مقایسه با گروه کنترل به طور معنی داری بالاتر بود. همچنین افزایش معنی داری در گروه تمرین+ تستوسترون نسبت به گروه تمرین مشاهده شد ($P=0.001$).

نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد تمرینات مقاومتی شدید و مصرف تستوسترون می‌تواند به افزایش عوامل التهابی در بافت کلیه موش‌های صحرایی نر منجر شود.

واژگان کلیدی: استرس اکسیداتیو، COX-2، NF-kB، تستوسترون انانثات، تمرین مقاومتی
— دوماً نامه علمی - پژوهشی فیض، دوره بیست و ششم، شماره ۶، بهمن-اسفند ۱۴۰۱، صفحات ۶۷۸-۶۶۹

علیرغم این که از خواص آنابولیک AAS به طور گسترده‌ای برای درمان هیپوگنادیسم، کم‌خونی، ناباروری، ایدز، برخی سرطان‌ها و بیماری‌هایی که با تعادل منفی نیتروژن ارتباط دارند، استفاده می‌شود [۴]؛ اما همواره از سوی ورزشکاران مورد سوء‌صرف قرار می‌گیرد و بدليل اثرات جبران‌ناپذیر آن بر سیستم‌های بدن، از سوی سازمان جهانی ضددوپینگ (WADA) ممنوع است [۵]. گزارش‌ها نشان می‌دهند که اگرچه استروئیدهای آنابولیک - آندروژنیک در دوزهای دارویی در بیماران کلیوی استفاده می‌شوند، اما هنگامی که AAS‌ها برای بهبود قدرت و عملکرد ورزشی به کار می‌روند، ممکن است دارای دوزهای ۱۰ تا ۱۰۰ برابر دوزهای درمانی باشند [۶]. کلیه نیز به عنوان یافته برای تعدیل AAS الکتروولیت‌ها، همانند سایر بافت‌ها تحت تأثیر سوء‌صرف قرار می‌گیرد. به عبارتی سوء‌صرف AAS‌ها با افزایش گونه‌های اکسیژن واکنش‌پذیر (ROS : Reactive Oxygen Species) کراتینین سرم، نارسایی حاد کلیه، گلومرولوسکلروز فوکال سگمنتال، آتروفی توپولی، فیبروز بینایینی و نفریت بینایینی التهابی همراه است [۸,۷]. همچنین مصرف طولانی‌مدت AAS باعث

مقدمه

استروئیدهای آنابولیک - آندروژنیک (AAS: Anabolic androgenic steroids)، گروه بزرگی از مولکول‌های مشتق شده از تستوسترون می‌باشد و در ورزشکاران با هدف افزایش توده عضلانی و بهبود عملکرد بدنی مورد استفاده قرار می‌گیرند [۱]. از بین مشتقات تستوسترون، تستوسترون انانثات بهدلیل طولانی‌بودن اثرش نسبت به سایر ترکیبات آندروژنی بیشتر در وزنه برداران، پرورش اندام کاران و ورزشکاران نفریجی مصرف می‌شود [۳,۲].

۱. گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد اسلامشهر، دانشگاه آزاد اسلامی، اسلامشهر، ایران
۲. دانش آموزخانه دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران

۳. گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران

۴. گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد مرودشت، دانشگاه آزاد اسلامی، مرودشت، ایران

۵. گروه مدیریت ورزشی، واحد اسلامشهر، دانشگاه آزاد اسلامی، اسلامشهر، ایران

*لشان نویسنده مسؤول:

تهران، پونک، اشرفی اصفهانی، خیابان هفتم، پلاک ۲

تلفن: ۰۹۱۲۲۰-۰۵۹۷۳۲، دوام‌نویس: ۰۹۱۵۶۳۶۹۳۲

پست الکترونیک: yaser.kazemzadeh@yahoo.com

تاریخ پذیرش نهایی: ۱۴۰۱/۹/۱۶، تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۵/۱۴

مواد و روش‌ها

این مطالعه تجربی در کمیته اخلاق در پژوهش دانشکده پزشکی - دانشگاه علوم پزشکی آزاد اسلامی تهران با کد IR.IAU.TMU.REC.1400.133 به تأیید رسیده است.

نگهداری حیوانات

در این مطالعه تجربی و از نوع بنیادی با طرح پس‌آزمون همراه با گروه کنترل، ابتدا تعداد ۲۴ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با سن ۸ هفته و میانگین وزنی ۱۸۰ ± ۵۰ گرم از انتیتوپاستور ایران خریداری شدند. در طی اجرای پژوهش، حیوانات در قفسه‌های پلی‌کربنات با قابلیت شست و شو نگهداری گشتند. گفتنی است که در تمام دوره تحقیق، حیوانات در شرایط استاندارد با دمای محیط ۲۲ ± ۲ درجه سانتی‌گراد و چرخه تاریکی و روشنایی ۱۲:۱۲ ساعت و رطوبت ۴۵ ± ۵ درصد در آزمایشگاه فیزیولوژی ورزشی دانشگاه زنجان نگهداری شدند. علاوه بر این در حین انجام پژوهش، اصول اخلاقی، مانند ورود و خروج افراد، رعایت سکوت آزمایشگاه و ثابت بودن فرد آزمونگر و کارشناسان آزمایشگاه رعایت گردید. همچنین آب و غذا به‌فور در دسترس حیوانات قرار گرفت.

گروه‌بندی و اجرای تحقیق

پس از یک هفته آشنازی با محیط آزمایشگاه، موش‌های صحرایی تحت دوره هفت‌روزه آموزش بالارفتن از پله، ویژه تمرين مقاومتی موش‌های صحرایی قرار گرفتند. پس از آموزش، موش‌هایی صحرایی به صورت تصادفی و براساس وزنشان به سه گروه (هر گروه ۸ سر)، کنترل، تمرين و تمرين + تستوسترون تقسیم شدند. موش‌هایی صحرایی گروه‌های تمرين و تمرين + تستوسترون به مدت هشت هفته و پنج جلسه در هفته تمرينات مقاومتی را انجام دادند. همچنین موش‌هایی صحرایی گروه تمرين + تستوسترون هشت هفته، سه روز در هفته به دوز تجمعی هفته‌ای 20 mg/kg تستوسترون اناتات (ساخت شرکت ایران هورمون، کشور ایران با شماره سریال ساخت ۰۰۶۹) به صورت تزریق عضلانی دریافت نمودند [۱۵]. این نکته گفتنی است که دوز تجمعی تستوسترون برای هر هفته به میزان 20 mg/kg در نظر گرفته شده بود. در مطالعه حاضر، پرتوکل تمرين مقاومتی شامل پنج روز در هفته (چهار نوبت شش تایی با استراحت ۶۰ الی ۹۰ ثانیه) به صورت صعود از نردهان ۱ متري با ۲۶ پله و بستن وزنه به دُم موش‌ها بود که وزنه‌ها در هفته اول معادل ۶۰ درصد وزن بدن موش‌هایی صحرایی بود و هر هفته معادل ۲۰ درصد وزن بدن، به وزنه‌ها اضافه گردید و دو جلسه در هفته وزن‌کشی انجام شد و برای جلوگیری از بیش‌تمرينی و رعایت اصل اضافه‌بار نوسانی،

افزايش پراکسیداسيون ليبيدی، کاهش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، پیشبرد التهاب و آپوپتوز در بافت کلیه می‌شود [۶]. به نظر می‌رسد که افزایش بیان فاکتور هسته‌ای کاپا B (NF-κB) و سیکلواکسیژنаз - ۲ (cyclooxygenase-2:COX-2) متعاقب سوء‌صرف AAS‌ها عامل اصلی افزایش التهاب و آسیب بافتی باشد [۹]. همچنین محققان در مطالعه‌ای اشاره کردند که سوء‌صرف AAS‌ها موجب سمیت گلومرولی، افزایش پراکسیداسيون ليبيدی، افزایش عامل نکروزدهنده تومور آلتا (IL-6)، ایترلوکین - ۱ بتا (IL-1b) و ایترلوکین - ۶ (TNF-α)، هایپرتروفی پاتولوژیک بافت کلیه و درنهایت آسیب حاد کلیوی می‌باشد [۸]. پژوهشگران در مطالعه‌ای دیگر گزارش نمودند که در افراد درمعرض سوء‌صرف AAS‌ها، نکروز بافتی، افزایش کراتینین سرم، اختلال فیلتراسیون گلومرولی و فیبروز نوبول کلیوی مشاهده گردید [۱۰]. به عبارتی اعتقاد بر این است که تحت شرایط استرس اکسیداتیو و تجمع بیش از حد ROS، پروتئین مهارکننده (I-κB) NF-κB به سرعت فسفریله می‌شود و NF-κB را آزاد می‌کند تا به این پروتئین درون هسته منتقل شود و عوامل التهابی مانند COX-2 را رونویسی کند [۱۱، ۱۲]. همچنین به نظر می‌رسد که استفاده از AAS بیشتر با تمرينات شدت‌بالا همراه است و ممکن است بسته به نوع تمرين، تعداد تکرارها، مدت‌زمان و شدت ورزش، اثرات مفید یا مضر بر بدن ایجاد شود [۱۳]. تمرينات مقاومتی با شدت کم تا متوسط، استرس اکسیداتیو، التهاب و آسیب سلولی را در افراد جوان تمرين کرده و مسن کاهش می‌دهد، در حالی که این احتمال وجود دارد که هنگام انجام تمرينات مقاومتی با شدت زیاد این اثرات افزایش یابد [۱۴]. با توجه به اهمیت NF-κB و COX-2 در پیشبرد استرس اکسیداتیو و التهاب و نیز ناشناخته‌ماندن این مسیر، متعاقب سوء‌صرف AAS‌ها در بافت کلیه، این موضوع از چالش‌های محققان حوزه بررسی تأثیر استروئیدهای آنانوبیلیک بر شاخص‌های فیزیولوژیک آسیب کلیه متعاقب تمرينات ورزشی پرداخته‌اند، می‌تواند اطلاعات دقیق‌تری نسبت به مکانیسم استرس اکسیداتیو و التهاب در بافت کلیه در شرایط مواجهه با سوء‌صرف استروئیدها در ورزشکاران ارائه نماید. از این‌رو مطالعه حاضر با هدف بررسی اثر یک دوره تمرين مقاومتی و تجویز تستوسترون بر شاخص‌های اکسیدان - آنتی‌اکسیدانی و التهابی بافت کلیه در موش‌های صحرایی انجام شد.

فعالیت کاتالاز (Catalase : CAT) به روش Aebi با مقیاس $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ اندازه‌گیری شد.

برای اندازه‌گیری بیان ژن‌های NF-KB و COX-2 از کیت تجاری تریپیور (Roche, Cat No.11667165001) (Roche, Cat No.11667165001)، به منظور جداسازی RNA کل از نمونه‌های بافتی، مطابق با راهنمای شرکت سازنده استفاده شد. برای تعیین کیفیت و کمیت mRNA استخراج شده، چگالی نوری (OD) همه نمونه‌ها با دستگاه نانودرایپ اندازه‌گیری شد. پس از آن، سنتز DNA مکمل (TAKARA Cat No. 6130) توسط کیت سنتز cDNA تاکارا (TAKARA Cat No. 6130) و مطابق با دستورالعمل شرکت سازنده انجام شد. تجزیه و تحلیل کمی توسط دستگاه real time PCR مدل استپ (Applied Biosystems, Foster City, CA, وان پلاس USA). صورت گرفت. کمیت نسبی سطح بیان mRNA (USA) و COX-2 از نمونه‌های بافت کلیه سنجش شد که برای این کار از پرایمرهای اختصاصی ژن (NF-KB و COX-2) و (TAKARA Cat No. RR820W) مستر میکس سایبرگرین استفاده شد. سطح بیان ژن GAPDH (ژن خانه‌داری) جهت نرمال کردن سطح بیان ژن‌های هدف به کار رفت. پرایمرها (جدول شماره ۱) با استفاده از نرمافزار الیگو ۷ طراحی شدند و همه پرایمرها برای اختصاصیت و دقت در وب‌سایت NCBI بلاست گشتند. میانگین نمرات مقادیر تکراری Ct برای هر نمونه اندازه‌گیری شد و روش Ct مقایسه‌ای برای تعیین سطح بیان نسبی ژن‌های هدف به کار رفت.

یک هفته کاهش بار در هفته پنجم صورت گرفت. این موضوع، فرصت بازیافت مناسب را برای اجرای تمرینات سنگین در سه هفته پیانی در اختیار حیوانات قرار داد [۱۶].

تشریح و نمونه‌برداری

پس از اعمال متغیر مستقل، تمام گروه‌ها با شرایط کاملاً مشابه و پایه (۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی) با ترکیب زایلazin (سه تا پنج میلی‌گرم بهازای هر کیلوگرم از وزن بدن) و کتامین (۳۰ تا ۵۰ میلی‌گرم بهازای هر کیلوگرم از وزن بدن) بیهوش شدند. پس از اطمینان از بیهوشی کامل و تشخیص عدم حس درد توسط متخصصان آزمایشگاه با آزمون‌های فشردن پا و لمس بدن موش‌ها، ابتدا حفره شکمی موش‌های صحرایی توسط تیغ جراحی سایز ۱۵ شکافته شد و پس از کثارت‌ذن احساء و بافت‌های حفره شکمی، بافت کلیه تحت شرایط استریل جدا شد و پس از توزین و شستشو در میکروتیوب‌های ویژه نگهداری بافت قرار گرفت؛ به منظور ایجاد ماندگاری، بافت کلیه به سرعت به تانک ازت منتقل شد و پس از آن نمونه‌ها با بسته‌بندی مناسب و شرایط استاندارد سنجش متغیرهای پژوهش در سریع ترین زمان به آزمایشگاه منتقال داده شدند.

اندازه‌گیری متغیرهای واپس

اندازه‌گیری فعالیت ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام (Total Antioxidant Capacity : TAC) با استفاده از کیت (Randox Laboratories Ltd, UK) ساخت کشور انگلستان و مطابق با روش Benzie و با مقیاس nmol/l ارزیابی شد و

جدول شماره ۱- توالی پرایمرهای مورد استفاده در تحقیق حاضر

	نام ژن	طول قطمه	توالی پرایمر (۵'->3')
GAPDH	99	Forward: 5' CTCTCTGCTCCCTCCCTGTTCT 3' Reverse: 5' CAAATCCGTTCACACCGACCT 3'	
COX-2	145	Forward: ATGCTCTTCGAGCTGTGCTG Reverse: ATCCAGTCCGGTACAGTCAC	
NF-KB	138	Forward: TGGAAGCACGGATGACAGAGG Reverse: CCTGGCGGATGATCTCCTTCT	

سطوح TAC, CAT و COX-2 به ترتیب در نمودارهای شماره‌های ۱ تا ۴ ارائه شده است. نتایج آزمون آنالیز واریانس یکراهه نشان داد که تفاوت معنی‌داری در مقادیر COX-2 ($P=0.001$) و NF-kB ($P=0.001$) و CAT ($P=0.035$) معنی‌داری در سطوح TAC ($P=0.09$) و CAT ($P=0.074$) در سه گروه تحقیق وجود داشت. با این حال تفاوت معنی‌داری در سطوح TAC ($P=0.035$) و CAT ($P=0.074$) در نرمافزار SPSS نسخه ۲۲ صورت گرفت. سطح معنی‌داری برای تجزیه و تحلیل داده‌ها ($P \leq 0.05$) در نظر گرفته شد.

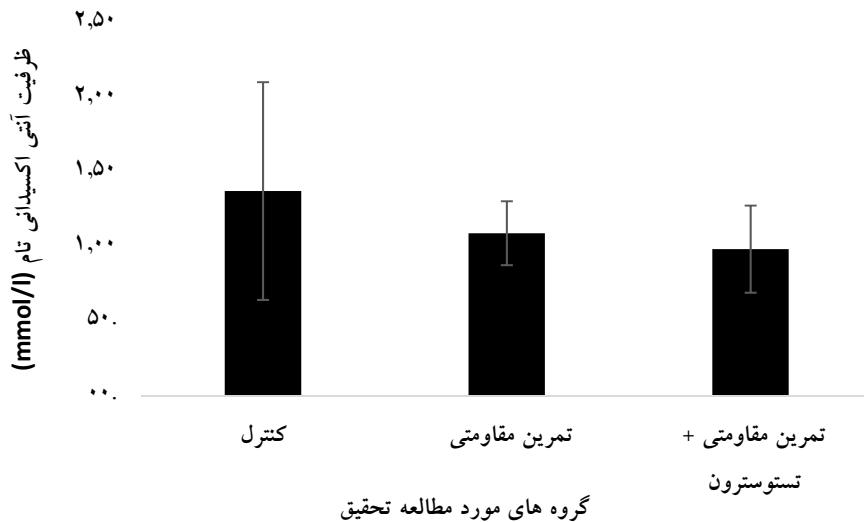
روش تجزیه و تحلیل داده‌ها

برای بررسی طبیعی بودن داده‌ها از آزمون شاپیرو - ویلک استفاده شد. با توجه به طبیعی بودن توزیع داده‌ها، جهت بررسی تفاوت بین گروه‌ها، آزمون آنالیز واریانس به کار رفت و بررسی محل تفاوت بین گروه‌ها توسط آزمون تعمیی توکی در نرمافزار SPSS نسخه ۲۲ صورت گرفت. نتایج آزمون تعمیی توکی برای تجزیه و تحلیل داده‌ها ($P \leq 0.05$) در نظر گرفته شد.

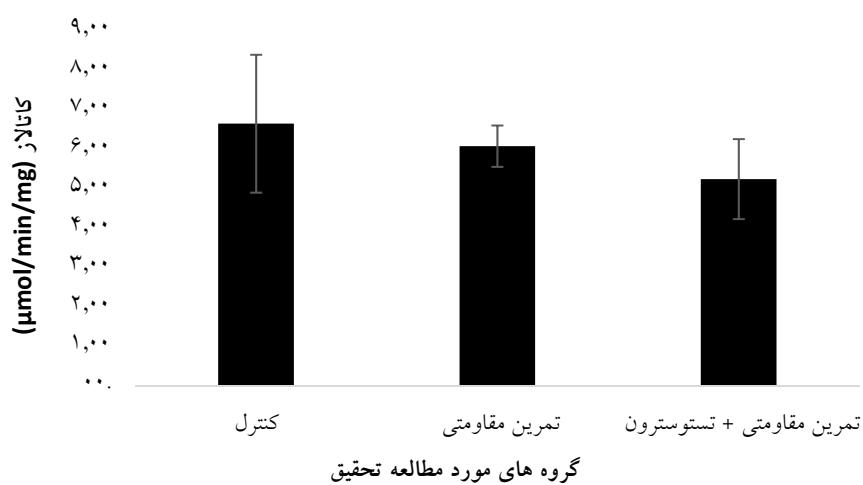
نتایج

معنی داری بالاتر بود و در گروه تمرین + تستوسترون به طور معنی داری بالاتر از گروه تمرین بود ($P=0.001$).

معنی داری بالاتر از گروه کنترل بود. همچنین در گروه تمرین + تستوسترون به طور معنی داری بالاتر از گروه تمرین بود ($P=0.001$). بیان ژن NF-kB در گروه های تمرین ($P=0.001$) و تمرین+تستوسترون ($P=0.001$) در مقایسه با گروه کنترل به طور



نمودار شماره ۱- نتایج آزمون آنالیز واریانس یکراهه برای بررسی تغییرات سطح TAC در گروه های مختلف پژوهش؛ گروه کنترل: بدون مداخله (۸ سر)، گروه تمرین مقاومتی: هشت هفته تمرین مقاومتی (۸ سر)؛ گروه تمرین مقاومتی + تستوسترون: هشت هفته تمرین مقاومتی + هفته ای ۲۰ mg/kg تستوسترون اناتات (۸ سر) تفاوت معنی داری در گروه های پژوهش مشاهده نشد.



نمودار شماره ۲- نتایج آزمون آنالیز واریانس یکراهه برای بررسی تغییرات سطح CAT در گروه های مختلف پژوهش؛ گروه کنترل: بدون مداخله (۸ سر)، گروه تمرین مقاومتی: هشت هفته تمرین مقاومتی (۸ سر)؛ گروه تمرین مقاومتی + تستوسترون: هشت هفته تمرین مقاومتی + هفته ای ۲۰ mg/kg تستوسترون اناتات (۸ سر) تفاوت معنی داری در گروه های پژوهش مشاهده نشد.



نمودار شماره ۳- نتایج آزمون آنالیز واریانس یکراهه برای بررسی تغییرات بیان ژن COX-2 در گروههای مختلف پژوهش؛ گروه کنترل: بدون مداخله (۸ سر)، گروه تمرین مقاومتی: هشت هفته تمرین مقاومتی (۸ سر)؛ گروه تمرین مقاومتی + تستوسترون: هشت هفته تمرین مقاومتی + هفتاهی ۲۰ mg/kg تستوسترون انانتات (۸ سر) افزایش معنی دار نسبت به گروه کنترل، ***($P \leq 0.001$) افزایش معنی دار نسبت به گروه تمرین



نمودار شماره ۴- نتایج آزمون آنالیز واریانس یکراهه برای بررسی تغییرات بیان ژن NF-*kB* در گروههای مختلف پژوهش؛ گروه کنترل: بدون مداخله (۸ سر)، گروه تمرین مقاومتی: هشت هفته تمرین مقاومتی (۸ سر)؛ گروه تمرین مقاومتی + تستوسترون: هشت هفته تمرین مقاومتی + هفتاهی ۲۰ mg/kg تستوسترون انانتات (۸ سر) افزایش معنی دار نسبت به گروه کنترل، ***($P \leq 0.001$) افزایش معنی دار نسبت به گروه تمرین

تحقيق مشاهده نشد. همسو با مطالعه حاضر، Recep (۲۰۱۰) نشان داد که TAC متعاقب تمرینات مقاومتی کوتاه‌مدت باشد بالا کاهش می‌یابد [۱۷]. همچنین Park و همکاران (۲۰۱۶) کاهش مقادیر TAC را برای ورزشکاران استقامتی و تمرین‌کرده مقاومتی پس از ورزش حاد گزارش دادند [۱۸]. از طرفی دلاور و همکاران نشان دادند که تمرین ترکیبی دویدن استقامتی (۶۰ تا ۸۰ درصد حداقل ضربان قلب) و تمرین با وزنه (۴۰ تا ۵۰ درصد ۱RM)

بحث

هدف مطالعه حاضر، بررسی اثر یک دوره تمرین مقاومتی و تجویز تستوسترون بر شاخصهای اکسیدان - آنتیاکسیدانی و التهابی بافت کلیه در موش‌های صحرایی بود. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که بیان ژن‌های NF-*kB* و COX-2 پس از هشت هفته تمرین مقاومتی، به طور معنی داری نسبت به گروه کنترل افزایش یافت؛ ولی تفاوت معنی داری در کاتالاز و TAC در گروههای

Sadowska و همکاران (۲۰۲۰) گزارش کردند که مصرف دوزهای بالای تستوسترون انانتات با کاهش فعالیت SOD و CAT به سیستم‌های دفاعی و آنتی‌اکسیدانی موش‌های صحرایی نزدیک تمرین است مقاومتی در پیش از ۲۸. حیدری و همکاران (۲۰۲۰) گزارش کردند که مصرف ناندرلون موجب کاهش سطوح CAT و SOD در بافت کلیه موش‌های صحرایی گردید؛ با این وجود تغییراتی در میزان فعالیت GPX ایجاد نکرد [۲۹]. در حالی که مطالعات قبلی گزارش کرده‌اند که مصرف استروئید هیچ اثر مشخصی بر سیستم حفاظت آنتی‌اکسیدانی یا ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل در بافت‌های قلب و کلیه‌ها نداشته است [۳۰، ۳۱]. Kara و همکاران (۲۰۱۸)، نشان دادند که مصرف استروئیدهای آنابولیک با افزایش سطح PC و CAT باعث آپوپتوز در بافت قلب می‌شود، در حالی که پارامترهای GSH، MDA و SOD هیچ تغییر قابل توجهی را نشان نمی‌دهند [۳۱]. در حال حاضر سازوکارهای مولکولی که نشان می‌دهند مصرف استروئیدها چگونه می‌تواند باعث کاهش فعالیت آنتی‌اکسیدانی و تولید رادیکال‌های آزاد شود، مشخص نیست؛ ولی در پژوهش‌های قبلی مشاهده شده است که تجویز طولانی مدت AAS باعث اختلال در عملکرد کمپلکس‌های زنجیره تنفسی میتواند باشد (میتوکندری ROS) و سیستم‌های مونو‌اکسیژناز می‌شود که ممکن است این تغییرات با افزایش تولید ROS و آسیب سلول همراه باشد [۳۲]. همچنین اخیراً نقش تغییرات ریزمولکولی مانند میکروRNAها متعاقب مصرف AASها مشخص شده است که می‌توانند موجب اختلال در سیستم آنتی‌اکسیدانی سلول شوند [۳۲]. به نظر می‌رسد AASها ممکن است اثر سمی مستقیمی بر روی سلول‌های گلومرولی اعمال کنند که به تجمع ماتریس مجازی منجر می‌شود. تستوسترون می‌تواند به صورت مستقیم و غیرمستقیم با فعالسازی سیستم رنین - آنزیوتانسین - آلدостرون (renin-angiotensin-aldosterone system: RAAS) (از طریق تنظیم بالای NADPH اکسیداز) باعث ایجاد استرس اکسیداتیو شود [۸] که احتمال دارد کاهش غیرمعنی‌دار TAC و CAT در این پژوهش به دنبال مصرف تستوسترون، به دلیل پاسخ به این شرایط باشد. از طرفی ممکن است که عدم تغییر معنی‌دار آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی پژوهش حاضر با تغییرات معنی‌دار سایر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (SOD و GPX) این بافت همراه باشد. در پژوهش حاضر، سطوح دیگر آنزیم‌های ضدآکسایشی تعیین نشد که می‌تواند از محدودیت‌های این پژوهش محسوب شود؛ ولی در مطالعات دیگر مشاهده شد که هشت هفته مصرف تستوسترون به همراه تمرین مقاومتی به کاهش فعالیت GPX در بافت کلیه

به مدت ۲۴ جلسه، به کاهش MDA و افزایش TAC منجر می‌گردد [۱۹]. با این وجود نتایج مطالعه‌ای نیز نشان داد که اجرای تمرینات مقاومتی به مدت سه ماه تأثیری بر روی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاتالاز و SOD در بافت قلب نداشت [۲۰]. همچنین در پژوهشی دیگر نشان داده شد که سطح فعالیت کاتالاز، پس از ۱۲ هفته پروتکل تمرین مقاومتی باشدت بالا افزایش یافته؛ اما سایر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند Mn-SoD و CuZn-SOD تغییر نکردند [۲۱]. براساس پیشینه تحقیق به نظر می‌رسد که می‌توانند اثرات متفاوتی بر عملکرد سیستم هستند که می‌توانند اثرات متفاوتی بر عوامل مهمی آنتی‌اکسیدانی داشته باشند. بدطوری که محققان بر این عقیده‌اند که تمرینات ورزشی می‌توانند با افزایش نیاز سلول به اکسیژن، چالشی برای تأمین انرژی ایجاد کنند و با افزایش رادیکال‌های آزاد به کاهش توان سیستم آنتی‌اکسیدانی منجر گردند [۲۲]. همچنین سازوکارهای احتمالی مسؤول در تشکیل ROS ناشی از تمرین مقاومتی می‌توانند شامل تغییر هوموستاز کلیسیم، مسیر گزانتین اکسیداز، ایسکمی موضعی عضلانی و تبدیل سوپر اکسید ضعیف به رادیکال هیدروکسیل قوی توسط اسید لاکتیک باشند [۲۳]؛ اما در ارتباط با افزایش بیان ژن‌های NF-KB و COX-2 متعاقب تمرینات مقاومتی که با برخی مطالعات همسو بود، به عنوان مثال Vella و همکاران (۲۰۱۲) نشان داده شد که فعالیت ورزشی مقاومتی، فعالیت NF-KB را در عضله اسکلتی انسان افزایش می‌دهد [۲۴]. گایینی و همکاران (۲۰۱۳) گزارش کردند که هشت هفته تمرین مقاومتی دارای سه جلسه تمرین در هر هفته باعث افزایش میزان COX-2 در بافت قلب شد [۲۵]. با این وجود، Li و همکاران (۲۰۱۵) گزارش کردند که تمرینات ورزشی یک مهارکننده قوی برای IL-1 β ، TNF- α ، COX-2، NF-kB و ۶ هستند [۲۶]. محمدنژاد و همکاران (۲۰۲۰) نیز گزارش کردند که ۶ هفته تمرین مقاومتی به کاهش NF-kB در موش‌های دیابتی منجر شد [۲۷]. از دلایل اختلاف نتایج این پژوهش‌ها با نتایج پژوهش حاضر، می‌توان به تفاوت در بافت مورد اندازه‌گیری، نوع پروتکل تمرینی و نمونه‌های متفاوت اشاره کرد. احتمالاً در مطالعه حاضر، شدت فعالیت ورزشی به اندازه‌ای بوده است که به راهاندازی مسیرهای سیگنالینگ التهابی پس از فعالیت ورزشی منجر شده است. همچنین نتایج پژوهش حاضر نشان داد که مصرف هشت هفته تستوسترون به همراه تمرین مقاومتی موجب افزایش معنی‌دار بیان ژن‌های NF-KB و COX-2 نسبت به گروه‌های تمرین مقاومتی و کنترل شد؛ ولی تفاوت معنی‌داری در مقادیر TAC و کاتالاز در گروه‌های تحقیق مشاهده نشد. مشابه با پژوهش حاضر،

افزایش سطح NF-kB به افزایش سطح COX-2 در موش‌های گروه تستوسترون منجر شده است. هرچند هدف این مطالعه، بررسی اثر مصرف تستوسترون در شرایط تمرین مقاومتی بود، با این حال مقادیر این متغیرها در شرایط مصرف استروئید بدون تمرین ورزشی نیز از نظر علمی دارای اهمیت است؛ بنابراین عدم بررسی این متغیرها در گروه مصرف تستوسترون می‌تواند از محدودیت‌های تحقیق حاضر باشد و پیشنهاد می‌گردد که در مطالعات آتی، هم در شرایط تمرین و هم در شرایط غیرتمرینی اثرات استروئیدها بررسی شود. علاوه براین با توجه به پیچیدگی مسیرهایی مانند NF-kB به نظر می‌رسد که عدم بررسی مسیرهای آنزیوبونز و التهابی زیردست این پروتئین و همچنین عدم بررسی‌های پاتولوژی بافت برای اطمینان بیشتر، از نتایج از محدودیت‌های مطالعه حاضر باشد. بنابراین پیشنهاد می‌گردد در مطالعات آتی متغیرهای فیزیولوژیک و پاتولوژیک زیردست این متغیر نیز ارزیابی شوند.

نتیجه‌گیری

با توجه به یافته‌های پژوهش حاضر، به نظر می‌رسد مصرف تستوسترون به همراه تمرین مقاومتی موجب افزایش شاخص‌های التهابی در بافت کلیه می‌شود. همچنین به نظر می‌رسد ضعف نسبی سیستم آنتی‌اکسیدانی در پیشبرد آسیب کلیوی متعاقب مصرف استروئیدها مؤثر می‌باشد؛ البته تحقیقات بیشتری در این زمینه موردنیاز است.

تشکر و قدردانی

از تمامی کسانی که محققان این مقاله را در انجام آن یاری نموده‌اند، صمیمانه تشکر و تشکر می‌شود.

منجر شد؛ اما تأثیری بر میزان فعالیت SOD و MDA نداشت [۳۳]. همچنین Tsitsimpikou و همکاران (۲۰۱۶) نشان دادند که تجویز طولانی مدت ناندرولون دکانوات موجب افزایش سطح TBARS بافتی و کاهش GSH کلیه شد. اما فعالیت کاتالاز و TAC با تجویز ناندرولون دکانوات در هر دوزی تحت تأثیر قرار نگرفت که نشان می‌دهد القای استرس اکسیداتیو بر این آنزیمهای آنتی‌اکسیدانی تأثیری ندارد [۳۰]. علاوه براین با توجه به افزایش بیان ژن‌های فاکتور رونویسی NF-KB و COX-2 به دنبال مصرف هشت هفته تستوسترون انانتات همراه با تمرین مقاومتی که با نتایج پژوهش‌های Camiletti و همکاران (۲۰۱۵) و Turillazzi و همکاران (۲۰۱۶) همسو بود، افزایش پروتئین التهابی NF-KB به دنبال مصرف استروئید گزارش داده شد [۳۴،۲۱]. همچنین Pozzi و همکاران (۲۰۱۳)، افزایش قابل توجهی را در بیان پروتئین‌های COX-2 در سلول‌های زبان موش‌های مصرف کننده ناندرولون دکانوات طی ۱۵ و ۳۰ روز گزارش کردند [۳۵]. پژوهش‌های پیشین تأیید کرده‌اند که مصرف استروئیدهای آنابولیک به افزایش گونه‌های اکسیژن واکنش‌پذیر (ROS) منجر می‌شود [۲۳،۶]. افزایش رادیکال‌های آزاد به فعال شدن NF-kB می‌انجامد و در ادامه NF-kB و COX-2 به طور تعاملی در بیان سایتوکاین‌های التهابی در سلول نقش دارد [۳۶،۳۴]. در نتیجه افزایش عوامل التهابی و استرس اکسیداتیو به آسیب بیشتر بافت کلیه متعاقب سوء مصرف AAS‌ها منجر می‌شود. علاوه براین شواهد نشان می‌دهد که NF-kB پس از فعال شدن، از سیتوپلاسم به هسته منتقل می‌شود، جایی که NF-kB روی پرموتور COX-2 می‌نشیند و با القاء بیان آن موجب التهاب می‌شود. عامل هسته‌ای کاپا B باعث افزایش بیان COX-2، آنزیم محدود کننده سرعت در بیوستز پروستاگلاندین‌ها می‌شود که میانجی فرآیندهای التهابی است [۳۷]. براساس نتایج پژوهش حاضر، به نظر می‌رسد که

References:

- [1] Roman M, Roman DL, Ostafe V, Ciorsac A, Isvoran A. Computational assessment of pharmacokinetics and biological effects of some anabolic and androgen steroids. *Pharm Res* 2018; 35(2): 1–25.
- [2] Piper BJ, Alinea AA, Wroblewski JR, Graham SM, Chung DY, McCutcheon LRM, et al. A quantitative and narrative evaluation of Goodman and Gilman's Pharmacological Basis of Therapeutics. *Pharmacy* 2019;8(1):1.
- [3] Mullen C, Whalley BJ, Schifano F, Baker JS. Anabolic androgenic steroid abuse in the United Kingdom: An update. *Br J Pharmacol* 2020; 177(10): 2180–98.
- [4] Patanè FG, Liberto A, Maria Maglitto AN, Malandrino P, Esposito M, Amico F, et al. Nandrolone decanoate: use, abuse and side effects. *Medicina (B Aires)* 2020; 56(11): 606.
- [5] Kanayama G, Kaufman MJ, Pope Jr HG. Public health impact of androgens. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes* 2018; 25(3): 218-223.
- [6] Riezzo I, Turillazzi E, Bello S, Cantatore S, Cerretani D, Di Paolo M, et al. Chronic nandrolone administration promotes oxidative stress, induction of pro-inflammatory cytokine and TNF-α mediated apoptosis in the kidneys of CD1 treated mice. *Toxicol Appl Pharmacol* 2014; 280(1): 97–106.
- [7] Albano GD, Amico F, Cocimano G, Liberto A,

- Maglietta F, Esposito M, et al. Adverse effects of anabolic-androgenic steroids: A literature review. *Healthcare* 2021; 9(1) :97.
- [8] Davani-Davari D, Karimzadeh I, Khalili H. The potential effects of anabolic-androgenic steroids and growth hormone as commonly used sport supplements on the kidney: a systematic review. *BMC Nephrol* 2019; 20(1): 1–12.
- [9] Parente Filho SLA, de Carvalho Gomes PEA, Forte GA, Lima LLL, da Silva Júnior GB, Meneses GC, et al. Kidney disease associated with androgenic-anabolic steroids and vitamin supplements abuse: *Be Aware! Nefrologia* 2020; 40(1): 26–31.
- [10] Almukhtar SE, Abbas AA, Muhealdeen DN, Hughson MD. Acute kidney injury associated with androgenic steroids and nutritional supplements in bodybuilders. *Clin Kidney J* 2015; 8(4): 415–9.
- [11] Lingappan K. NF-κB in oxidative stress. *Curr Opin Toxicol* 2018; 7: 81–6.
- [12] Zago M, de Souza AR, Hecht E, Rousseau S, Hamid Q, Eidelman DH, et al. The NF-κB family member RelB regulates microRNA miR-146a to suppress cigarette smoke-induced COX-2 protein expression in lung fibroblasts. *Toxicol Lett* 2014; 226(2): 107–16.
- [13] Gomes FC, Chuffa LGA, Scarano WR, Pinheiro PFF, Fávaro WJ, Domeniconi RF. Nandrolone decanoate and resistance exercise training favor the occurrence of lesions and activate the inflammatory response in the ventral prostate. *Andrology* 2016; 4(3): 473–80.
- [14] Tofas T, Draganidis D, Deli CK, Georgakouli K, Fatouros IG, Jamurtas AZ. Exercise-induced regulation of redox status in cardiovascular diseases: the role of exercise training and detraining. *Antioxidants* 2019; 9(1): 13.
- [15] Dornelles GL, Bueno A, de Oliveira JS, da Silva AS, França RT, da Silva CB, et al. Biochemical and oxidative stress markers in the liver and kidneys of rats submitted to different protocols of anabolic steroids. *Mol Cell Biochem* 2017; 425(1): 181–9.
- [16] Gorzi A, Rajabi H, Gharakhanlou R, Dehkoda MR, Hedayati M. The effects of 8 weeks of resistance training on total and A12 acetyl cholinesterase activity in slow twitch muscles of rats. *Res Sport Med Technol* 2017; 15(13): 9–16. [in Persian]
- [17] Recep K. The effects of short-term exercise on the parameters of oxidant and antioxidant system in handball players. *African J Pharm Pharmacol* 2010; 4(7): 448–52.
- [18] Park SY, Kwak YS, Park SY, Kwak YS. Impact of aerobic and anaerobic exercise training on oxidative stress and antioxidant defense in athletes. *J Exec Rehabil* 2016; 12(2): 113–7.
- [19] Delavar R, Mogharnasi M, Khoobkhahi N. The effects of combined training on oxidative stress and antioxidant defense indicators. *Int J Basic Sci Med* 2017; 2(1): 29–32.
- [20] Rahbar S, Ahmadiasl N. Effect of long term regular resistance exercise on heart function and oxidative stress in rats. *J Ardabil Univ Med Sci* 2012; 12(3): 256–64.
- [21] Camiletti-Moiron D, Aparicio VA, Nebot E, Medina G, Martínez R, Kapravelou G, et al. High-intensity exercise modifies the effects of stanozolol on brain oxidative stress in rats. *Int J Sports Med* 2015; 36(12): 984–91.
- [22] Gorzi A, Ekradi S. The effect of intake duration of curcumin supplementation during strenuous endurance training on GPX activity and MDA levels of liver, heart and skeletal muscle in male Wistar rats. *Sport Physiol* 2020; 12(46): 139–56. [in Persian]
- [23] Arazi H, Mohammadjafari H, Asadi A. Use of anabolic androgenic steroids produces greater oxidative stress responses to resistance exercise in strength-trained men. *Toxicol Reports* 2017; 4: 282–6.
- [24] Vella L, Caldow MK, Larsen AE, Tassoni D, Della Gatta PA, Gran P, et al. Resistance exercise increases NF-κB activity in human skeletal muscle. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2012; 302(6): R667–73.
- [25] Gaeini A, Bahramian A, Javidi M. The effect of eight weeks of resistance training on stimulatory and inhibitory factors of cardiac microvascular injuries in wistar diabetic rats. *Metab Exerc* 2013; 3(1): 21–32. [in Persian]
- [26] Li GY, Zheng YX, Sun FZ, Huang J, Lou MM, Gu JK, et al. In silico analysis and experimental validation of active compounds from Cichorium intybus L. ameliorating liver injury. *Int J Mol Sci* 2015; 16(9): 22190–204.
- [27] Mohammadnezhad B, Hashemvarzi SA, Farzane Hessari A. The effect of resistance training with mesenchymal stem cell injection on TNF-α and kappa B nuclear factor levels in the cortex of streptozotocin-induced diabetic rats. *J Jiroft Univ Med Sci* 2020; 7(3): 414–21. [in Persian]
- [28] Sadowska-Krępa E, Kłapcińska B, Nowara A, Jagisz S, Szoltysek-Boldtys I, Chalimoniuk M, et al. High-dose testosterone supplementation disturbs liver pro-oxidant/antioxidant balance and function in adolescent male Wistar rats undergoing moderate-intensity endurance training. *Peer J* 2020; 8: e10228.
- [29] Heidari E, Hosseini SA, Azarbayjani MA. Effect of Nandrolone Treatment with and without Resistance Training on Superoxide Dismutase Concentration and Pathology of Kidney Tissue in Rats. *J Clin Res Paramed Sci* 2020; 9(2).
- [30] Tsitsimpikou C, Vasilaki F, Tsarouhas K, Fragkiadaki P, Tzardi M, Goutzourelas N, et al. Nephrotoxicity in rabbits after long-term nandrolone decanoate administration. *Toxicol Lett* 2016; 259: 21–7.
- [31] Kara M, Ozcagli E, Kotil T, Alpertunga B.

- Effects of stanozolol on apoptosis mechanisms and oxidative stress in rat cardiac tissue. *Steroids* 2018; 134: 96–100.
- [32] Agahi MRH, Mosallanejad Z, Salehi OR. The effects of resistance training and spirulina on the performance of the antioxidant system with emphasis on mir125b, mir146a and cognitive function in stanazolol-induced neurotoxicity in rats. *Chem Biol Interact* 2022; 110112.
- [33] Mehrabi M, Kazemzadeh Y, Gorzi A, Hosseini SA, Sedaghati S. The Effect of Eight Weeks of Testosterone Enanthate Consumption on Oxidative Indicators of Kidney Tissue in Resistance Trained Rats. *Int J Basic Sci Med* 2020; 5(4): 155–9.
- [34] Turillazzi E, Neri M, Cerretani D, Cantatore S, Frati P, Moltoni L, et al. Lipid peroxidation and apoptotic response in rat brain areas induced by long-term administration of nandrolone: the mutual crosstalk between ROS and NF-κB. *J Cell Mol Med* 2016; 20(4): 601–12.
- [35] Pozzi R, Fernandes KR, Foot Gomes de Moura C, Ferrari RAM, Fernandes KPS, Chaves MD, et al. DNA damage, p53, Ki-67 and COX-2 expression in rat tongue cells exposed to nandrolone decanoate. *Toxicol Mech Methods* 2013; 23(4): 289–96.
- [36] Nafar M, Sahraei Z, Salamzadeh J, Samavat S, Vaziri ND. Oxidative stress in kidney transplantation: causes, consequences, and potential treatment. *Iran J Kidney Dis* 2011; 5(6): 357–72.
- [37] Kim S, Jun T, Lee Y, Na H, Surh Y, Song W. Effects of exercise on cyclooxygenase-2 expression and nuclear factor-κB DNA binding in human peripheral blood mononuclear cells. *Ann N Y Acad Sci* 2009; 1171(1): 464–71.