Original Article

The effect of palm pollen extract, testosterone enanthate and resistance training on tight junction proteins in the prostate tissue of male rats

Nazarian A[1], Azarbayjani MA[1*], Atashak S[2], Peeri M[1]

1- Department of Exercise Physiology, Central Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, I.R. Iran.
2- Department of Exercise Physiology, Mahabad Branch, Islamic Azad University, Mahabad, I.R. Iran.

Received: 2022/04/28 | Accepted: 2022/11/12

Abstract:

Background: Considering the side effects and increasing use of testosterone enanthate among athletes, especially resistance athletes, it seems necessary to find alternative compounds. The present study examined the effect of palm pollen extract, testosterone enanthate and resistance training on the tight junctions proteins in the prostate tissue of male rats.

Materials and Methods: 36 male rats were divided into groups including: control, resistance training, palm pollen extract, testosterone enanthate, palm pollen extract+resistance training and testosterone enanthate+resistance training. The program of resistance training and other interventions consisted of four weeks and five days a week. The interventions of palm pollen extract and testosterone enanthate were applied with doses of 100 and 2 mg/kg of body weight, respectively. 48 hours after the last intervention, the animals were sacrificed and the prostate tissue was removed. Two-way analysis of variance (ANOVA) was used to analyze the data (significance level: $p<0.05$).

Results: Exercise training, testosterone enanthate and palm pollen each independently increased the expression of claudin-1 and occludin genes and increased the expression of occludin protein in prostate tissue, also. The simultaneous using of exercise training and testosterone/palm pollen had a synergistic effect on prostate occludin protein expression compared to the intervention of testosterone and palm pollen, alone.

Conclusion: It seems that palm pollen and testosterone enanthate have an effect on the variables of the present study with a similar pattern; therefore, the using of palm pollen may be considered as a natural alternative to synthetic testosterone.

Keywords: Resistance training, Prostate, Testosterone, Palm pollen extract, Gene expression

***Corresponding Author:**
Email: m_azarbayjani@iauctb.ac.ir
Tel: 0098 212 248 1622
Fax: 0098 218 807 4874

Conflict of Interests: ***No***

Feyz, Journal of Kashan University of Medical Sciences, September, 2022; Vol. 27, No 5, Pages 501-509

Please cite this article as: Nazarian A, Azarbayjani MA, Atashak S, Peeri M. The effect of palm pollen extract, testosterone enanthate and resistance training on tight junction proteins in the prostate tissue of male rats. ***Feyz*** 2022; 27(5): 501-9.

اثر عصاره گرده نخل، تستوسترون انانتات و تمرین مقاومتی بر پروتئین‌های عامل اتصالات محکم در بافت پروستات موش‌های صحرایی نر

آرام نظریان[۱]، محمّدعلی آذربایجانی[۱*]، سیروان آتشک[۲]، مقصود پیری[۱]

خلاصه:

سابقه و هدف: با توجه به اثرات جانبی و افزایش استفاده از تستوسترون انانتات در بین ورزشکاران به‌خصوص ورزشکاران مقاومتی، یافتن ترکیبات جایگزین ضروری به‌نظر می‌رسد. مطالعه حاضر اثر عصاره گرده نخل، تستوسترون انانتات و تمرین مقاومتی را بر پروتئین‌های عامل اتصالات محکم در بافت پروستات موش‌های صحرایی نر بررسی کرد.

مواد و روش‌ها: ۳۶ سر موش صحرایی نر، به گروه‌های کنترل، تمرین مقاومتی، عصاره گرده نخل، تستوسترون انانتات، عصاره گرده نخل + تمرین مقاومتی و تستوسترون انانتات + تمرین مقاومتی تقسیم شدند. برنامه تمرین مقاومتی و سایر مداخلات شامل چهار هفته و هفته‌ای پنج روز بود. مداخلات عصاره گرده نخل و تستوسترون انانتات با دوزهای به‌ترتیب ۱۰۰ و ۲ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن اعمال شدند. ۴۸ ساعت پس از آخرین مداخله، حیوانات قربانی شدند و بافت پروستات برداشته شد. بافت منجمد برای اندازه‌گیری بیان ژن و پروتئین اوکلودین و نیز بیان ژن کلودین-۱ به آزمایشگاه فرستاده شد. جهت آنالیز داده‌ها از تحلیل دوراهه واریانس استفاده گردید (سطح معناداری: $P<۰/۰۵$).

نتایج: تمرین، تستوسترون انانتات و گرده نخل، هرکدام به‌صورت مستقل موجب افزایش بیان ژن‌های کلودین-۱، اوکلودین و همچنین افزایش بیان پروتئین اوکلودین بافت پروستات شدند. استفاده هم‌زمان از تمرین و تستوسترون / گرده نخل اثر هم‌افزایی نسبت به مداخله تستوسترون و گرده نخل به‌تنهایی بر بیان پروتئین اوکلودین پروستات داشت.

نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد گرده نخل و تستوسترون انانتات با یک الگوی مشابه بر متغیرهای پژوهش حاضر اثر گذاشته‌اند؛ بنابراین ممکن است استفاده از گرده نخل به‌عنوان جایگزینی طبیعی برای تستوسترون سنتتیک مطرح باشد.

واژگان کلیدی: تمرین مقاومتی، پروستات، تستوسترون، عصاره گرده نخل، بیان ژن

دوماه‌نامه علمی - پژوهشی فیض، دوره بیست و ششم، شماره ۵، آذر - دی ۱۴۰۱، صفحات ۵۰۹-۵۰۱

مقدمه

امروزه ورزشکاران برای تقویت اثرات مفید تمرین، به استفاده از مکمل‌ها و داروهایی مانند تستوسترون سنتتیک روی آورده‌اند. تستوسترون یکی از مهم‌ترین هورمون‌های استروئیدی است که در بدن پستانداران به‌طور طبیعی وجود دارد. تستوسترون از طریق چندین مکانیسم بر بافت‌های بدن دارای اثرات آندروژنیک / آنابولیک است و همچنین نشان داده شده که آثار ضدآپوپتوزی دارد [۱،۲]. استفاده از تستوسترون سنتتیک در میان ورزشکاران، به‌ویژه بدنسازان و ورزشکاران مقاومتی افزایش یافته است.

۱. گروه فیزیولوژی ورزش، واحد تهران مرکزی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۲. گروه فیزیولوژی ورزش، واحد مهاباد، دانشگاه آزاد اسلامی، مهاباد، ایران

***نشانی نویسنده مسؤول:**

تهران، واحد تهران مرکزی، دانشگاه آزاد اسلامی، گروه فیزیولوژی ورزش

تلفن: ۰۲۱۲۲۴۸۱۶۲۲ **دورنویس:** ۰۲۱۸۸۰۷۴۸۷۴

پست الکترونیک: m_azarbayjani@iauctb.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۲/۸ **تاریخ پذیرش نهایی:** ۱۴۰۱/۸/۲۱

استفاده از تستوسترون به‌عنوان یک آندروژن درون‌زا، گیرنده‌های آندروژن را در بیشتر بافت‌های بدن شامل عضلات تحریک می‌کند [۳]. اثرات مفید تستوسترون اثبات شده است [۶-۴]. تستوسترون از سلول در برابر آپوپتوز Apoptosis و پیری سریع ناشی از استرس محافظت می‌کند [۴]. آپوپتوز فرآیند مرگ برنامه‌ریزی‌شده سلولی است. این فرآیند برای از بین بردن سلول‌های ناخواسته (مانند بین انگشتان دست جنین در حال رشد) و حذف سلول‌های آسیب‌دیده استفاده می‌شود. همچنین آپوپتوز در پیشگیری از سرطان نقش دارد؛ از طرفی می‌تواند به تعدادی از بیماری‌های به‌اصطلاح تخریب‌کننده منجر شود که در آن، سلول‌ها زمانی می‌میرند که قرار نیست بمیرند. استفاده از تستوسترون برای بهبود تناسب اندام و عملکرد هوازی، افزایش قدرت عضلانی، کاهش توده چربی کل و احشایی نشان داده شده است [۶]. با این‌حال، چندین مطالعه خطرات و عوارض جانبی استفاده از آن را نشان داده‌اند [۷،۸]. سرطان‌هایی مانند سرطان پروستات و پستان در مردان، هیپرپلازی پروستات و پلی‌سیتمی از عوارض جانبی مصرف تستوسترون است [۹]. از این جهت استفاده از داروهای گیاهی برای کاهش التهاب، آپوپتوز و تحریک ترشح طبیعی تستوسترون رواج یافته است

[۱۰،۱۱]. نتایج مطالعات بسیاری نشان داده است که استفاده از گیاهان دارویی می‌تواند باعث تغییر بیان ژن‌ها و پروتئین‌های مرتبط با آپوپتوز شود [۱۶-۱۲]. درخت خرما دارای محصولاتی، مانند گرده نخل، سلول بنیادی و میوه است. بررسی مطالعات نشان می‌دهد که مصرف مقادیر طبیعی گرده نخل عوارض نامطلوبی ندارد [۱۹-۱۷]. گرده نخل دارای آلکالوئیدها، تانن‌ها، فلاونوئیدها، استروئیدها، ترپن‌ها و قند است [۲۰،۲۱]. استروئیدهای تری‌ترپن اثرات بیولوژیک متعددی، شامل کاهش فشار اکسایشی، مهار التهاب سیستمیک، مهار تومورزایی، تحریک تستوسترون و کاهش آپوپتوزیس دارند [۱۹]. به‌هرحال مطالعه پیشین نشان داده است که استفاده از مکمل این گیاه نتوانسته شاخص‌های التهابی متعاقب کوفتگی عضلانی را بهبود بخشد [۲۲]. همچنین نشان داده شده است که استفاده از عصاره گرده نخل باعث جلوگیری از فیبروز میوپاتی به‌واسطه تغییر آبشار سلولی و مسیر سیگنال‌دهی آپوپتوز شده است [۲۳]. پروتئین‌های اتصال محکم مولکول‌هایی هستند که در اتصالات محکم سلول‌های اپیتلیال، اندوتلیال و میلین قرار دارند. اتصالات سلولی نقش مهمّی در ارتباط ساختاری و سیگنال بین سلول‌ها در بافت‌های مختلف ایفا می‌کنند. مؤلفه‌های اصلی اتصالات محکم شامل زنولااوکلودین-۱ Zonulaoccluden-1 (ZO-1)، کلودین-۱، کلویدین -۵ و اوکلودین است. این کمپلکس اتصالی چندپروتئینی عملکرد تنظیمی در عبور یون‌ها، آب و املاح از مسیر پاراسلولی دارد. عفونت، التهاب یا پیشرفت تومور می‌تواند به از بین رفتن اتصالات محکم منجر شود و اختلال در عملکرد پروتئین‌های کلودین-۱ و اوکلودین می‌تواند باعث القای آپوپتوز در سلول گردد. مطالعات پیشین اثرات مفید فعالیت بدنی منظم بر بیان ژن‌های مرتبط با التهاب و آپوپتوز شامل کلودین-۱ و اوکلودین [۳۱-۲۴] را نشان داده‌اند. تاکنون اثر گرده نخل بر روی ژن‌های کلودین-۱ و اوکلودین پروستات بررسی نشده است. با توجه به عدم بررسی اثر گرده نخل بر بیان ژن‌های مذکور و همچنین عدم مقایسه اثرات مستقل و تعاملی سه مداخله تمرین مقاومتی، تستوسترون و گرده نخل بر بیان این ژن‌ها، مطالعه حاضر به بررسی اثرات مستقل و تعاملی عوامل فوق بر بیان ژن‌های کلودین-۱ و اوکلودین و سنتز پروتئین اوکلودین پروستات در موش‌های صحرایی نر می‌پردازد.

مواد و روش‌ها

مقاله حاضر دارای کد اخلاق به شماره IR.IAU.M.REC.1399.022 از دانشگاه آزاد اسلامی واحد مرودشت می‌باشد. در یک کارآزمایی تجربی ۳۶ سر رت نر نژاد ویستار به‌عنوان آزمودنی از انستیتو پاستور تهران خریداری و به حیوانخانه آزمایشگاه هیستوژنوتک انتقال داده شدند. در طول مدت مطالعه، تمامی حیوانات تحت شرایط استاندارد آزمایشگاهی در قفس‌هایی از جنس پلی‌کربنات شفاف با قابلیت اتوکلاو به ابعاد (۱۵×۴۲×۲۶/۵)، دمای (۲۲-۲۰) درجه سانتی‌گراد، رطوبت (۵۵ درصد) و دسترسی آزاد به آب و غذای کافی (محصول شرکت بهپرور، ایران) با سیکل ۱۲ ساعت تاریکی / روشنایی نگهداری شدند. پس از یک هفته سازگاری رت‌ها با محیط آزمایشگاه، به‌صورت تصادفی به شش گروه: ۱. کنترل؛ ۲. تمرین مقاومتی؛ ۳. عصاره گرده نخل؛ ۴. تستوسترون انانتات؛ ۵. مصرف عصاره گرده نخل و تمرین مقاومتی و ۶. تستوسترون انانتات و تمرین مقاومتی تقسیم شدند. تمام اصول کار روی حیوانات آزمایشگاهی مصوب وزارت بهداشت جمهوری اسلامی در این مطالعه رعایت شد.

پروتکل تمرین مقاومتی

جهت آشنا نمودن رت‌ها به بالا رفتن از نردبان، قبل از شروع دوره تمرینی، ابتدا یک هفته نحوه بالا رفتن از نردبان به آن‌ها آموزش داده شد. پس از آن وزن رت‌ها محاسبه و برنامه تمرینی براساس وزن اوّلیه طراحی شد. برنامه تمرین مقاومتی شامل چهار هفته و هفته‌ای پنج روز بود. در اوّلین جلسه، وزنه‌ای معادل ۵۰ درصد وزن هر رت به دم حیوان وصل شد و رت‌ها از نردبان بالا رفتند. در صورت توانایی حیوان برای بالا رفتن، پس از آن ۳۰ گرم به وزنه اضافه شد و حیوان مجدد از نردبان بالا رفت. باز هم در صورت توانایی بالا رفتن ۳۰ گرم وزنه به دم رت افزوده شد. این عمل تا زمانی‌که حیوان توانایی بالا رفتن داشت، اجرا شد. بالاترین وزنه‌ای که حیوان توانست حمل نماید، حداکثر قدرت عضلانی حیوان در جلسه اوّل در نظر گرفته شد. در جلسه بعد رت‌ها چهار ست بالا رفتن از نردبان را اجرا نمودند، به‌گونه‌ای که در ست اوّل با ۵۰ درصد حداکثر قدرت عضلانی، ست دوم ۷۵ درصد، ست سوم ۹۰ درصد و ست چهارم با ۱۰۰ درصد قدرت عضلانی از نردبان بالا رفتند. پس از ست چهارم در صورت توانایی هر ست ۳۰ گرم به میزان وزنه افزود می‌شد و رت از نردبان بالا می‌رفت. این برنامه در یک جلسه تا ناتوانی برای اجرا در بالا رفتن ادامه یافت. در آغاز هر هفته رت‌ها براساس حداکثر وزنه‌ای که در پایان هفته قبل جابه‌جا نموده بودند، مجدد با الگوی هفته اوّل شروع به تمرین نمودند [۳۲].

تهیه عصاره اتانولی گرده نخل

گرده نخل از باغات استان کرمان تهیه و تا زمان عصاره‌گیری در دمای یخچال نگهداری شد. با توجه به ترکیبات موجود در این گیاه و نیز مطالعات قبلی، عصاره به شکل اتانولی

۹۰ درصد تهیه شد. کلیه مراحل عصاره‌گیری در پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی اجرا شد. ۲۵۰ گرم از گرده در دستگاه پرکولاتور ریخته شد. عصاره‌گیری به‌وسیله اتانول ۹۰ درصد به‌میزان ۶۷۰ میلی‌لیتر صورت گرفت. این کار برای سه بار تکرار شد. عصاره‌های حاصل به‌وسیله دستگاه تقطیر در خلأ تغلیظ شدند و حلّال آن به‌طور کامل حذف گردید. عصاره به‌صورت گاواژ ۵ روز در هفته به‌مدت ۴ هفته با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن به موش‌ها خورانده شد.

القای تستوسترون انانتات

در این مطالعه از تستوسترون انانتات با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر ساخت شرکت ایران‌هورمون به‌عنوان کنترل مثبت استفاده شد. رت‌ها پنج روز در هفته با دوز ۲ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن در روز به‌صورت زیرجلدی تستوسترون انانتات را دریافت نمودند.

نحوه قربانی نمودن حیوانات

جهت مهار اثر حادّ تمرین، ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین و پس از یک شب ناشتایی، نمونه‌گیری خونی از آزمودنی‌ها انجام شد. برای جمع‌آوری نمونه‌ها، حیوانات در محفظه CO2 قرار گرفتند و بیهوش شدند. پس از قربانی‌شدن حیوانات، بلافاصله بافت پروستات برداشته شد. نمونه‌ها که در میکروتیوپ‌های برچسب‌دار قرار داشتند، به تانک ازت انتقال داده شدند. سپس نمونه‌های منجمدشده به فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد منتقل و تا روز آزمایش در آن‌جا نگهداری شدند.

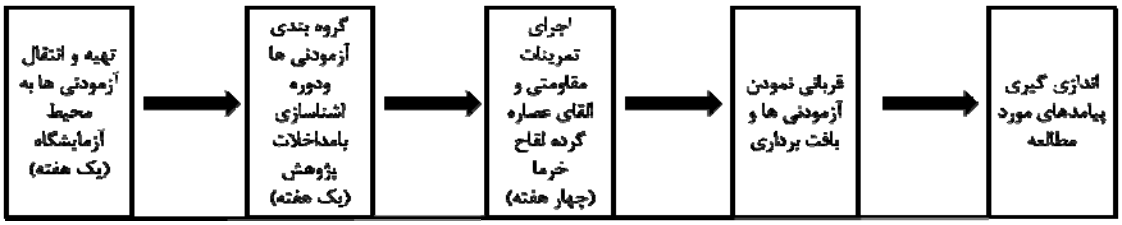
تعیین میزان بیان ژن و پروتئین

میزان بیان ژن‌های کلودین-۱ و اوکلودین بافت پروستات با استفاده از روش Real-time PCR بررسی شد. برای این منظور ابتدا طراحی پرایمر صورت گرفت. RNA کل از بافت پروستات مربوط به هر رت استخراج شد. درجه خلوص RNA استخراج‌شده با استفاده از اسپکتروفتومتری مورد ارزیابی قرار گرفت و با استفاده از آنزیم کپی‌برداری معکوس به cDNA تبدیل شد. cDNA حاصل، جهت حذف DNA ژنومی با آنزیم DNase I تیمار شد و به روش Real time PCR تکثیر گردید. توالی پرایمرهای استفاده‌شده در جدول شماره ۱ ارائه شده است. تمامی کیت‌ها و دستورالعمل‌ها مطابق با مقاله رحمتی احمدآباد و همکاران (۲۰۱۹) انجام شد [۳۳]. تعیین میزان بیان پروتئین اوکلودین با استفاده از روش وسترن بلات مطابق با دستورالعمل مقاله نیک‌بین و همکاران صورت گرفت [۳۴].

جدول شماره ۱- توالی پرایمرهای مورد استفاده برای بیان ژن‌های مطالعه

ژن	آغازگر برگشت	آغازگر رفت
کلودین-۱	GTGGTGTTGGGTAAGAGGTTG	GAAGTGGAAAAGATGTGGATGG
اوکلودین	GTTGATGTGAAGTGATAGGTGGA	GAAGGGGAAAGCAGGGAAGG
rGap	CATACTCAGCACCAGCATCACC	AAGTTCAACGGCACAGTCAAGG

کلیه مراحل جمع‌آوری اطلاعات در شکل شماره ۱ ارائه شده است.



شکل شماره ۱- مراحل جمع‌آوری اطلاعات.

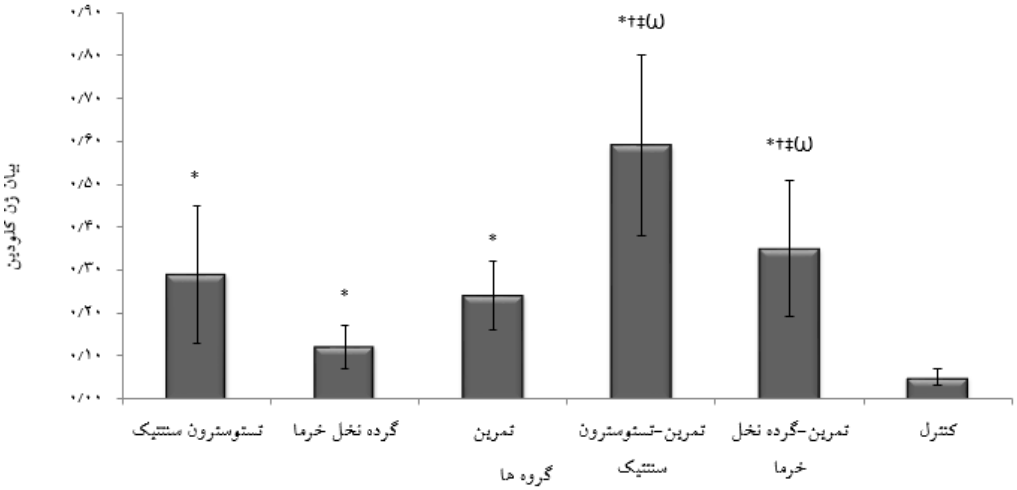
آنالیز آماری

داده‌ها به‌صورت میانگین ± انحراف معیار توصیف شدند. برای ارزیابی توزیع داده‌ها از آزمون شاپیروویلک و برای ارزیابی برابری واریانس‌ها از آزمون لون Levene استفاده شد. جهت آزمون اثر اصلی تمرین، دارو (تستوسترون سنتتیک یا عصاره گرده نخل) و اثر تعاملی تمرین و دارو تحلیل دوراهه واریانس به‌کار رفت. در صورت مشاهده تفاوت معنادار، جهت تعیین محلّ تفاوت از آزمون پیگیری بونفرونی استفاده شد. سطح معناداری نیز برای تمام محاسبات ($P<۰/۰۵$) در نظر گرفته شده است. آنالیز داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS ویرایش ۲۲ انجام شد.

نتایج

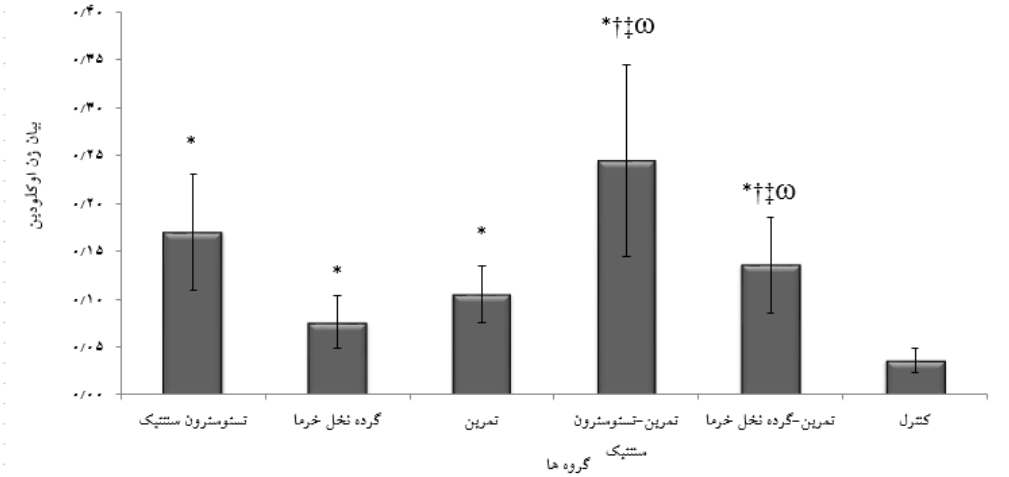
تمرین مقاومتی موجب افزایش معناداری بیان ژن کلودین-۱ شد ($F=22.44, P=0.001, \eta=0.428$). دریافت

عصاره گرده نخل و تستوسترون سنتتیک نیز باعث افزایش معنادار بیان ژن کلودین-۱ شد (F=11.90,P=0.001,η=0.443). با وجود آن‌که بیشترین بیان ژن کلودین-۱ مربوط به گروه‌های تعاملی (تمرین مقاومتی همراه با عصاره گرده نخل و یا تستوسترون سنتتیک) بود، اثر سینرژیکی مشاهده نشد (F=0.38,P=0.686,η=0.025) (نمودار شماره ۱).



نمودار شماره ۱- بیان ژن کلودین-۱ در گروه‌های مورد مطالعه. * نشانه تفاوت معنادار نسبت به گروه کنترل. † نشانه تفاوت معنادار نسبت به گروه تمرین. ‡ نشانه تفاوت معنادار نسبت به گروه گرده نخل. ω نشانه تفاوت معنادار نسبت به گروه تستوسترون سنتتیک. جهت و سطح معناداری در متن ارائه شده است. (تعداد آزمودنی در هر گروه ۶ سر). اطلاعات براساس میانگین و انحراف استاندارد گزارش شده است.

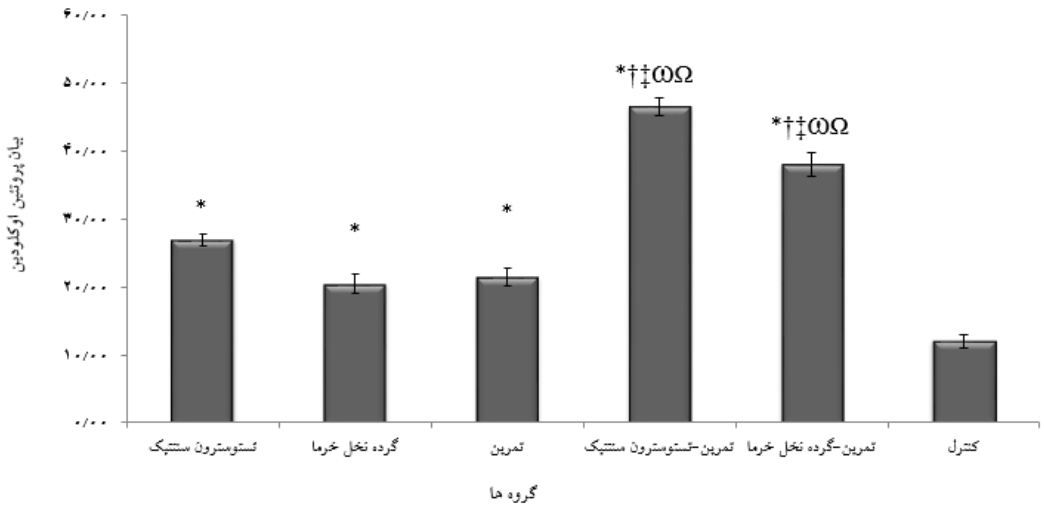
تمرین مقاومتی (F=12.12,P=0.002,η=0.288)، تستوسترون انانتات و عصاره نخل (F=17.63,P=0.001,η=0.540) موجب افزایش معنادار بیان ژن اوکلودین شدند. با وجود آن‌که بیشترین بیان این ژن در گروه تمرین مقاومتی، عصاره نخل و یا تستوسترون سنتتیک مشاهده شد، اما اثر سینرژیکی مشاهده نشد (F=0.04,P=0.953,η=0.003) (نمودار شماره ۲).



نمودار شماره ۲- بیان ژن اوکلودین در گروه‌های مورد مطالعه. * نشانه تفاوت معنادار نسبت به گروه کنترل. † نشانه تفاوت معنادار نسبت به گروه تمرین. ‡ نشانه تفاوت معنادار نسبت به گروه گرده نخل. ω نشانه تفاوت معنادار نسبت به گروه تستوسترون سنتتیک. جهت و سطح معناداری در متن ارائه شده است. (تعداد آزمودنی در هر گروه ۶ سر). اطلاعات براساس میانگین و انحراف استاندارد گزارش شده است.

استفاده از تمرین مقاومتی (F=797.60,P=0.001,η=0.964)، مکمل تستوسترون انانتات و عصاره گرده نخل (F=576.85,P=0.001,η=0.975) افزایش معنادار بیان پروتئین اوکلودین را به همراه داشت. تعامل تمرین، عصاره گرده نخل و تستوسترون سنتتیک بر بیان پروتئین اوکلودین اثر سینرژیکی داشتند (F=77.11,P=0.001,η=0.837). بر این اساس مشخص

شد که عصاره گرده نخل و تستوسترون سنتتیک همراه با تمرین مقاومتی اثر یکدیگر را بر بیان این پروتئین تقویت نمودند. البته اثر هم‌افزایی تستوسترون سنتتیک از گرده نخل بیشتر بود (نمودار شماره ۳).



نمودار شماره ۳- بیان پروتئین اوکلودین در گروه‌های مورد مطالعه. * نشانه تفاوت معنادار نسبت به گروه کنترل. † نشانه تفاوت معنادار نسبت به گروه تمرین. ‡ نشانه تفاوت معنادار نسبت به گروه گرده نخل. ω نشانه تفاوت معنادار نسبت به گروه تستوسترون سنتتیک. Ω نشانه تعامل معنادار. جهت و سطح معناداری در متن ارائه شده است. (تعداد آزمودنی در هر گروه ۶ سر). اطلاعات براساس میانگین و انحراف استاندارد گزارش شده است.

بحث

هدف از مطالعه حاضر، بررسی اثرات مستقل و تعاملی تمرین مقاومتی، تستوسترون انانتات و عصاره گرده نخل بر بیان ژن‌های کلودین-۱ و اوکلودین و نیز سنتز پروتئین اوکلودین پروستات در موش‌های صحرایی نر بود. نتایج مطالعه حاضر، نشان داد که تمرین و تستوسترون هرکدام به‌صورت مستقل موجب افزایش بیان ژن‌های کلودین-۱ و اوکلودین و همچنین سنتز پروتئین اوکلودین پروستات شدند. استفاده از عصاره گرده نخل نیز همین الگوی افزایشی را نشان داد. استفاده هم‌زمان از تمرین و تستوسترون / گرده نخل اثر هم‌افزایی نسبت به مداخله تستوسترون و گرده نخل به‌تنهایی بر بیان پروتئین اوکلودین پروستات داشت. پروتئین‌های اتصال محکم نقش مهمّی در چندین آسیب‌شناسی ازجمله عفونت ویروسی و باکتریایی، التهاب، آپوپتوز و پیشرفت تومور دارد [۳۵]. وجود اتصالات محکم در هر بافتی ضروری است و اختلال در عملکرد آن‌ها صرفنظر از نوع بافت باعث آپوپتوز سلولی می‌شود [۲۹]. کلودین-۱ و اکلودین پروتئین‌های غشایی اصلی اتصال محکم هستند که کنترل دقیقی بر انتشار پاراسلولی در اپیتلیوم ایجاد می‌کنند [۳۶]. کلودین و اکلودین اغلب توسط ویروس‌ها، باکتری و سیتوکین‌های التهابی مورد هدف و به اشتباه در جای خود قرار می‌گیرند [۳۵]. پژوهش حاضر اوّلین مطالعه‌ای است که افزایش بیان ژن‌های کلودین-۱ و اوکلودین را متعاقب تمرین در بافت پروستات بررسی کرده است. مطالعات پیشین نشان داده‌اند که فعالیت بدنی منظم از طریق تنظیم کلودین-۱ و اوکلودین اثر مهمّی در جلوگیری از آپوپتوز سلول سالم یا افزایش آپوپتوز سلول سرطانی دارد [۳۱-۲۴]. نتایج منتشرشده در یک مقاله مروری نشان داد که فعالیت بدنی میزان پروتئین‌های اتصالی شامل کلودین-۱ و اوکلودین را در روده تنظیم می‌کند [۲۹]. تمرین از طریق تنظیم آنزیم‌های فسفوریلاسیون باعث تنظیم عملکرد پروتئین‌های اتصالات محکم و درنتیجه آپوپتوز می‌شود [۲۹]. فعالیت بدنی شدید و طولانی‌مدت باعث افزایش آنزیم‌های کلیدی فسفوریلاسیون می‌شود که این افزایش عملکرد پروتئین‌های اتصالی را با اختلال مواجه می‌کند [۲۹]. Holland و همکاران در پژوهشی به بررسی تأثیر تمرینات استقامتی بر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، پروتئین‌های اتصالات محکم و نشانگرهای التهابی در ایلئوم موش‌های صحرایی پرداختند. نتایج آن‌ها نشان داد که ۱۰ روز تمرینات استقامتی آنزیم‌های اصلی آنتی‌اکسیدان درون‌زا را تنظیم می‌کند، نشانگرهای التهابی را کاهش و نشانگرهای نفوذپذیری اتصال محکم مانند اوکلودین را تغییر می‌دهد [۳۷]. الماسی و همکاران نشان دادند که یک دوره چهارهفته‌ای تمرین هوازی با شدت متوسط باعث افزایش بیان ژن کلودین-۱ و اوکلودین در بافت قلب رت‌های مسموم با کلروپیریفوس شده است [۲۷]. تغییرات در HIFα متعاقب فعالیت بدنی نیز به‌عنوان

یک مکانیسم که به تغییر بیان پروتئین‌های اتصال محکم منجر می‌شود، بیان شده است [۲۴]. تاکنون پژوهشی اثر گرده نخل را بر متغیرهای مطالعه حاضر بررسی نکرده است. با این‌حال مطالعه‌ای دیگر به بررسی ارتباط بین مصرف گرده نخل با تعداد عفونت‌ها، بستری‌شدن در بیمارستان در ارتباط با تب، نوتروپنی و مرگ‌ومیر بیماران سرطانی پرداخته است. به‌طورکلی آن‌ها نشان دادند که مصرف گرده نخل باعث بهبود شرایط ذکرشده در کودکان سرطانی شده است [۳۸]. گرده نخل دارای ترکیبات بسیاری مانند آلکالوئیدها، تانن‌ها، فلاونوئیدها، ترپن‌ها و قندها است که می‌تواند مسؤول اثرات ضدالتهابی و آپوپتوزی باشد. نشان داده شده است که این گرده از نظر پلی‌فنول و بسیاری از ترکیبات فعال دیگر برای سلامت بدن مفید است. در میان این ترکیبات، فلاونوئیدها به‌خوبی شناخته شده‌اند که از بافت‌ها در برابر اثرات مضر محافظت می‌نمایند و آنزیم‌های مسؤول ایجاد رادیکال‌های آزاد را به‌دلیل محتوای بالای آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی مهار می‌کنند. همچنین، مصرف آن علاوه‌بر خواص ارگانولپتیک، فعالیت‌های بیولوژیکی را که باعث کاهش خطر ابتلا به چندین بیماری مانند قلب و عروق، سرطان و... می‌شود، افزایش می‌دهد [۳۹]. کاهش بیان پروتئین‌ها و ژن‌های مرتبط با آپوپتوز در مطالعات مختلف در پاسخ به مصرف گرده نخل گزارش شده است [۴۰،۴۱]. مطالعه حاضر برای اوّلین‌بار افزایش بیان ژن‌های کلودین-۱ و اوکلودین را به‌عنوان مکانیسمی در برابر آپوپتوز در پروستات به‌واسطه استفاده از گرده نخل نشان می‌دهد. همان‌طور که در بالا ذکر شد، هم فعالیت بدنی منظم و هم گرده نخل باعث بهبود سیستم آنتی‌اکسیدانی بدن می‌شوند. ازطرفی نشان داده شده است که رادیکال‌های آزاد باعث اختلال در عملکرد اتصالات محکم می‌شوند [۴۲]؛ بنابراین، اثر آنتی‌اکسیدانی فعالیت بدنی منظم و گرده نخل به‌عنوان مکانیسمی برای توجیه اثر این مداخلات بر کلودین-۱ و اوکلودین مطرح است. همچنین با توجه به این‌که فعالیت بدنی و گرده نخل باعث ایجاد اثر مفید بر سیتوکین‌های التهابی می‌شوند، ممکن است این اثر مثبت به‌عنوان مکانیسم احتمالی بعدی مطرح باشد که به پژوهش‌های بیشتر در این زمینه نیاز است. از محدودیت‌های پژوهش حاضر، عدم بررسی سیتوکین‌های التهابی می‌باشد. اندازه‌گیری سیتوکین‌های التهابی و بررسی ارتباط آن‌ها با کلودین-۱ و اوکلودین در مطالعات بعدی می‌تواند به یافتن یک مکانیسم در زمینه تأثیر فعالیت بدنی و گرده نخل بر آپوپتوز منجر شود.

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج گروه‌های مصرف‌کننده گرده نخل و تستوسترون به‌نظر می‌رسد که استفاده از هر یک از آن‌ها باعث الگوی تغییر مشابه با یکدیگر بر متغیرهای پژوهش حاضر شده است؛ بنابراین ممکن است استفاده از گرده نخل به‌عنوان جایگزینی طبیعی برای تستوسترون مطرح باشد و به جلوگیری از آپوپتوز کمک نماید.

تشکر و قدردانی

نویسندگان از تمام افرادی که در این کار مشارکت نمودند، کمال تشکر و قدردانی را دارند.

References:

[1] Pronsato L, Boland R, Milanesi L. Testosterone exerts antiapoptotic effects against H2O2 in C2C12 skeletal muscle cells through the apoptotic intrinsic pathway. ***J Endocrinol*** 2012; 212(3): 371-81.

[2] Pronsato L, Milanesi L. Effect of testosterone on the regulation of p53 and p66Shc during oxidative stress damage in C2C12 cells. ***Steroids*** 2016; 106: 41-54.

[3] Kelly DM, Jones TH. Testosterone: a metabolic hormone in health and disease. ***J Endocrinol*** 2013; 217(3): R25-45.

[4] Kang SM, Jung HS, Kwon MJ, Lee SH, Park JH. Testosterone Protects Pancreatic β-cells from Apoptosis and Stress-Induced Accelerated Senescence. ***World J Mens Health*** 2021; 39(4): 724-32.

[5] Ono YJ, Tanabe A, Nakamura Y, Yamamoto H, Hayashi A, Tanaka T, et al. A low-testosterone state associated with endometrioma leads to the apoptosis of granulosa cells. ***PLoS One*** 2014; 9(12): e115618.

[6] Chasland LC, Yeap BB, Maiorana AJ, Chan YX, Maslen BA, Cooke BR, et al. Testosterone and exercise: effects on fitness, body composition, and strength in middle-to-older aged men with low-normal serum testosterone levels. ***Am J Physiol Heart Circ Physiol*** 2021; 320(5): H1985-H98.

[7] An Q, Gu YQ. Testosterone replacement therapy: Dilemmas and challenges in China and Asia. ***Asian J Androl*** 2018; 20(2): 149-51.

[8] Petering RC, Brooks NA. Testosterone Therapy: Review of Clinical Applications. ***Am Fam Physician*** 2017; 96(7): 441-9.

[9] Osterberg EC, Bernie AM, Ramasamy R. Risks of testosterone replacement therapy in men. ***Indian J Urol*** 2014; 30(1): 2-7.

[10] Levers K, Dalton R, Galvan E, O'Connor A, Goodenough C, Simbo S, et al. Effects of powdered Montmorency tart cherry supplementation on acute endurance exercise performance in aerobically trained individuals. ***J Int Soc Sports Nutr*** 2016; 13: 22.

[11] Stefanescu R, Tero-Vescan A, Negroiu A, Aurica E, Vari CE. A Comprehensive Review of the Phytochemical, Pharmacological, and Toxicological Properties of Tribulus terrestris L. ***Biomolecules*** 2020; 10(5).
[12] Safarzadeh E, Sandoghchian Shotorbani S, Baradaran B. Herbal medicine as inducers of apoptosis in cancer treatment. ***APB*** 2014; 4(Suppl 1): 421-7.
[13] Machana S, Weerapreeyakul N, Barusrux S, Nonpunya A, Sripanidkulchai B, Thitimetharoch T. Cytotoxic and apoptotic effects of six herbal plants against the human hepatocarcinoma (HepG2) cell line. ***Chin Med*** 2011; 6(1): 39.
[14] Majid MZ, Mohamad Zaini Z, Abdul Razak F. Apoptosis-Inducing Effect of Three Medicinal Plants on Oral Cancer Cells KB and ORL-48. ***Sci World J*** 2014; 2014: 125353.
[15] Farzanegi P, Abbaszadeh H, Farokhi F, Rahmati-Ahmadabad S, Hosseini SA, Ahmad A, et al. Attenuated Renal and Hepatic Cells Apoptosis Following Swimming Exercise Supplemented with Garlic Extract in Old Rats. ***Clin Interv Aging*** 2020; 15: 1409-18.
[16] Badkoubeh-Hezaveh M, Abedi B, Rahmati-Ahmadabad S. The Effect of Regular Aerobic Exercise Training and Pumpkin Seed Extract on the Heart and Aorta Apoptosis Biomarkers in Arsenic-Intoxicated Rats. ***Gene Cell Tissue*** 2021; 8(2): e112268.
[17] Sadeghi Goghari S, Yousefzadeh S, Rakhshandeh H, Dadghar S, Mazloom SR. The impact of Date Palm Pollen Capsule on Vaginal Iubrication and Dyspareunia In Menopausal Woman. ***JMRH*** 2018; 6(4): 1409-18.
[18] Rasekh A, Jashni HK, Rahmanian K, Jahromi AS. Effect of Palm Pollen on Sperm Parameters of Infertile Man. ***Pak J Biol Sci*** 2015; 18(4): 196-9.
[19] Mehraban F, Jafari M, Akbartabar Toori M, Sadeghi H, Joodi B, Mostafazade M, et al. Effects of date palm pollen (*Phoenix dactylifera* L.) and Astragalus ovinus on sperm parameters and sex hormones in adult male rats. ***Iran J Reprod Med*** 2014; 12(10): 705-12.
[20] Tahvilzadeh M, Hajimahmoodi M, Rahimi R. The Role of Date Palm (*Phoenix dactylifera* L.) Pollen in Fertility:A Comprehensive Review of Current Evidence. ***J Evid Based Complementary Altern Med*** 2016; 21(4): 320-4.
[21] Selmani C, Chabane D, Bouguedoura N. Ethnobotanical survey of *phoenix dactylifera* L. pollen used for the treatment of infertility problems in algerian oases. ***Afr J Tradit Complement Altern Med*** 2017; 14(3): 175-86.
[22] Birben E, Sahiner UM, Sackesen C, Erzurum S, Kalayci O. Oxidative stress and antioxidant defense. ***World Allergy Organ J*** 2012; 5(1): 9-19.
[23] Elblehi SS, El-Sayed YS, Soliman MM, Shukry M. Date Palm Pollen Extract Avert Doxorubicin-Induced Cardiomyopathy Fibrosis and Associated Oxidative/Nitrosative Stress, Inflammatory Cascade, and Apoptosis-Targeting Bax/Bcl-2 and Caspase-3 Signaling Pathways. ***Animals (Basel)*** 2021; 11(3).
[24] Glass OK, Bowie M, Fuller J, Darr D, Usary J, Boss K, et al. Differential response to exercise in claudin-low breast cancer. ***Oncotarget*** 2017; 8(60): 100989-1004.
[25] Zuhl M, Schneider S, Lanphere K, Conn C, Dokladny K, Moseley P. Exercise regulation of intestinal tight junction proteins. ***British J Sports Med*** 2014; 48(12): 980.
[26] Holland AM, Hyatt HW, Smuder AJ , Sollanek KJ, Morton AB, Roberts MD, et al. Influence of endurance exercise training on antioxidant enzymes, tight junction proteins, and inflammatory markers in the rat ileum. ***BMC Res Notes*** 2015; 8(1): 514.
[27] Almasi S, Azarbayjani MA, Peeri M. Interaction effect of moderate intensity aerobic training and eugenol on gene expression of claudin and occludin of cardiac tissue of male rats poisoned with chlorpyrifos. ***RJMS*** 2021; 27(12): 142-51. [in Persian]
[28] Campbell SC, Wisniewski PJ, Noji M, McGuinness LR, Häggblom MM, Lightfoot SA, et al. The Effect of Diet and Exercise on Intestinal Integrity and Microbial Diversity in Mice. ***PloS One*** 2016; 11(3): e0150502.
[29] Zuhl M, Schneider S, Lanphere K, Conn C, Dokladny K, Moseley P. Exercise regulation of intestinal tight junction proteins. ***Br J Sports Med*** 2014; 48(12): 980-6.
[30] Małkiewicz MA, Szarmach A, Sabisz A, Cubała WJ, Szurowska E, Winklewski PJ. Blood-brain barrier permeability and physical exercise. ***J Neuroinflammation*** 2019; 16(1): 15.
[31] Park M, Levine H, Toborek M. Exercise protects against methamphetamine-induced aberrant neurogenesis. ***Sci Rep*** 2016; 6(1): 34111.
[32] Shirvani H, Rahmati-Ahmadabad S, Broom DR, Mirnejad R. Eccentric resistance training and β-hydroxy-β-methylbutyrate free acid affects muscle PGC-1α expression and serum irisin, nesfatin-1 and resistin in rats. ***J Exp Biol*** 2019; 222(10): jeb198424.
[33] Rahmati-Ahmadabad S, Azarbayjani MA, Farzanegi P, Moradi L. High-intensity interval training has a greater effect on reverse cholesterol transport elements compared with moderate-intensity continuous training in obese male rats. ***Eur J Prev Cardiol*** 2019: 2047487319887828.
[34] Nikbin S, Tajik A, Allahyari P, Matin G, Hoseini Roote SS, Barati E, et al. Aerobic exercise and eugenol supplementation ameliorated liver injury induced by chlorpyrifos via modulation acetylcholinesterase activation and antioxidant defense. ***Environ Toxicol*** 2020; 35(7): 783-93.
[35] Beeman N, Webb PG, Baumgartner HK. Occludin is required for apoptosis when claudin-

claudin interactions are disrupted. ***Cell Death Dis*** 2012; 3(2): e273.
[36] Chung Y, Hsiao Y, Huang W. Physiological and Psychological Effects of Treadmill Overtraining Implementation. ***Biology*** 2021; 10(6): 515.
[37] Holland AM, Hyatt HW, Smuder AJ, Sollanek KJ, Morton AB, Roberts MD, et al. Influence of endurance exercise training on antioxidant enzymes, tight junction proteins, and inflammatory markers in the rat ileum. ***BMC Res Notes*** 2015; 8: 514.
[38] Al Jaouni SK, Hussein A, Alghamdi N, Qari M, El Hossary D, Almuhayawi MS, et al. Effects of *Phoenix dactylifera* Ajwa on Infection, Hospitalization, and Survival Among Pediatric Cancer Patients in a University Hospital: A Nonrandomized Controlled Trial. ***Integr Cancer Ther*** 2019; 18: 1534735419828834.
[39] Bentrad N, Hamida-Ferhat A. Chapter 22 - Date palm fruit (*Phoenix dactylifera*): Nutritional values and potential benefits on health. In: Preedy VR, Watson RR, editors. The Mediterranean Diet (Second Edition): Academic Press; 2020. p. 239-55.
[40] Assirey A, Wagih H, Mahran H. *Phoenix dactylifera* L. Extract Diminished Apoptotic Effect in Cirrhotic Liver of a Rat Model. ***Int J Pharmacol*** 2019; 15: 92-101.
[41] Roshankhah S, Abdolmaleki A, Salahshoor MR. Anti-inflammatory, anti-apoptotic, and antioxidant actions of Middle Eastern *Phoenix dactylifera* extract on mercury-induced hepatotoxicity in vivo. ***Mol Biol Rep*** 2020; 47(8): 6053-65.
[42] Enciu A-M, Gherghiceanu M, Popescu BO. Triggers and Effectors of Oxidative Stress at Blood-Brain Barrier Level: Relevance for Brain Ageing and Neurodegeneration. ***Oxid Med Cell Longev*** 2013; 2013: 297512.