Archive of SID

علوم زیستی ورزشی – زمستان ۱۳۹۹
دورهٔ ۱۲، شمارهٔ ۴، ص: ۳۸۹ – ۳۷۵
تاریخ دریافت : ۰۲ / ۰۲ / ۹۶
تاریخ پذیرش : ۰۹ / ۰۴ / ۹۶

تأثیر تعاملی شش هفته تمرین استقامتی و تزریق استروئید استانوزولول بر آنزیم‌های کبدی موش‌های صحرایی نر سالم

علیرضا جنیدی شریعت زاده[۱] – عباسعلی گائینی*[۲] – سیروس چوبینه[۳] – مریم میرزایی [۴]

۱. دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزشی، دانشکدهٔ تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه تهران، تهران، ایران۲. استاد، دانشکدهٔ تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه تهران، تهران، ایران۳. دانشیار، دانشکدهٔ تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه تهران، تهران، ایران ۴. دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزشی، دانشکدهٔ تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه گیلان، گیلان، ایران

چکیده

هدف از پژوهش حاضر، بررسی تأثیر تعاملی ۶ هفته تمرین استقامتی و تزریق استروئید استانوزولول بر تغییرات مقادیر سرمی آنزیم‌های آلانین آمینوترانسفراز، آسپارتات آمینوترانسفراز و آلکالین فسفاتاز در موش‌های صحرایی نر سالم بود. بدین‌منظور ۳۲ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با سن ۱۲ هفته و میانگین وزن اولیهٔ ۱۶±۲۸۹گرم به چهار گروه تقسیم شدند: دارونما (n=۸)، تمرین+دارونما (n=۸)، تمرین+استانوزولول (n=۸) و استانوزولول (n=۸). موش‌های دریافت‌کنندهٔ استروئید هفته‌ای یک بار تزریق درون‌عضلانی استانوزولول (۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) داشتند، گروه‌های بدون دارو، به همان مقدارروغن آراشیذ را به‌عنوان دارونما دریافت کردند. حیوانات گروه تمرین به مدت ۶ هفته و ۵ جلسه در هفته، تحت برنامهٔ تمرین پیشروندهٔ استقامتی تا سقف شدت ۷۰ تا ۷۵ در صد VO_2max روی تردمیل دویدند. مقادیر سرمی آلانین آمینوترانسفراز، آسپارتات آمینوترانسفراز و آلکالین فسفاتاز به روش الایزا سنجیده شد. برای تعیین طبیعی بودن توزیع داده‌ها از آزمون KS و برای مشخص کردن توزیع پراکندگی یکسان گروه‌ها از آزمون لِوِن استفاده شد. همچنین داده‌ها با آنالیز واریانس یکطرفه در سطح $P < ۰/۰۵$ تحلیل شد و برای تعیین تفاوت‌های درون‌گروهی از آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. تغییرات سرمی آنزیم آلانین آمینوترانسفراز ($P=۰/۰۰۲$) و آنزیم آسپارتات آمینوترانسفراز ($P=۰/۰۰۱$) معنادار شدند، اما مقادیر سرمی آنزیم آلکالین فسفاتاز ($P=۰/۰۷۰$) معنادار نشد. برا ساس یافته‌های این پژوهش می‌توان گفت عدم تأثیر تعدیلی تمرین استقامتی بر تغییرات آنزیم‌های کبدی در پی مصرف استروئید استانوزولول است.

واژه‌های کلیدی

استروئید آنابولیک آندروژنیک، آلانین آمینوترانسفراز، آسپارتات آمینوترانسفراز، آلکالین فسفاتاز، تمرین استقامتی.

* نویسندهٔ مسئول: تلفن: ۰۹۱۲۳۳۵۱۸۷۲

Email: **aagaeini@ut.ac.ir**

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

دستهٔ معروفی از داروها که سال‌هاست در پژوهش‌های پزشکی بررسی شده‌اند، استروئیدهای آنابولیک-آندروژنیک (AAS)[1] هستند (۱). داروهای استروئیدی در اواخر دههٔ ۱۹۳۰ برای درمان هایپوگونادیسم و کمبود تستوسترون[2] کافی ساخته شدند و اولین بار در پزشکی، برای درمان بیماری‌هایی مانند تأخیر در بلوغ، ضعف جسمانی، ناتوانی جنسی و سایر بیماری‌ها استفاده شدند (۲). در همان زمان دانشمندان دریافتند استروئیدهای آنابولیک می‌توانند رشد عضلات اسکلتی را در جانوران آزمایشگاهی تقویت کنند. پس از این اکتشاف، نخستین بار وزنه‌برداران و بدنسازان و سپس ورزشکاران سایر رشته‌های ورزشی، این ترکیبات را استفاده کردند (۳).

مهم‌ترین شکل AASها، استروئیدهای آنابولیک ۱۷آلفایی‌اند که در مقادیر زیاد توسط ورزشکاران مرد، بدنسازان و نوجوانان مورد سوءمصرف قرار می‌گیرد (۵،۴). این گروه عبارت‌اند از :بولدنون، میبولرون، استانوزولول، ترنبولون و دیگر استرها و ایزومرهای آنها (۶). مشتقات آلکیله ۱۷آلفای تستوسترون در مقابل تخریب کبدی نسبتاً مقاوم‌اند، به همین دلیل قرارگیری استانوزولول در این دسته آن را بالقوه برای کبد سمی می‌کند. چرخهٔ زمانی مصرف استروئید ۴ تا ۱۲ هفته است. بین هر چرخه، مصرف استروئیدها به‌طور کامل قطع می‌شود تا عوارض جانبی و تنظیم کاهشی گیرنده‌ها به حداقل برسد (۷). با توجه به چرخهٔ زمانی مصرف استروئیدها، ۶ هفته تزریق استانوزولول در کنار تمرین استقامتی میانگین مناسبی برای بررسی آثار استانوزولول بر تغییرات کبدی به‌نظر می‌رسد.

پزشکان نگرانی خود را اغلب از آثار جانبی این داروها بر کبد عنوان کرده‌اند، زیرا کبد جایگاه اولیهٔ سم‌زدایی هورمون‌های استروئیدی است (۸). استفادهٔ طولانی‌مدت از استروئیدهای آنابولیک سبب انباشت این داروها در کبد شده و به سمی شدن کبد یا هپاتیت شیمیایی[3] در مصرف‌کنندگان منجر می‌شود. پاره‌ای از این اختلال‌ها ظاهراً با قطع دارو برگشت‌پذیر است، ولی سایر تغییرات ساختاری برگشت‌ناپذیرند. این اندام در بسیاری از اعمال متابولیکی از جمله پروتئین‌سازی و سم‌زدایی شرکت دارد و نیز محل نشر آنزیم‌های گوناگونی از جمله آلانین آمینوترانسفراز[4] (ALT)، آسپارتات آمینوترانسفراز[5] (AST) و آلکالین

1. Anabolic-Androgenic Steroids
2. Testosterone
3. Chemical hepatitis
4. Alanine Aminotransferase
5. Aspartate Aminotransferase

www.SID.ir

Archive of SID

فسفاتاز[1](ALP) است. هر سه آنزیم، فراوان در کبد وجود دارند. آسیب دیدن سلول‌های کبد سبب انتشار این آنزیم‌ها در جریان خون می‌شود (۹). مقادیر طبیعی آنزیم‌های ALT و AST، بی‌نقص بودن سلول‌های کبدی و مقادیر طبیعی ALP، تولید و ترشح کافی آلبومین برای ساخت پروتئین را نشان می‌دهد (۱۱، ۱۰). شایان ذکر است مقدار طبیعی AST، ۵ تا ۴۰ واحد به ازای هر لیتر سرم؛ ALT، ۷ تا ۶۵ واحد به ازای هر لیتر سرم و ALP، ۶۰ تا ۲۵۰ واحد به ازای هر لیتر سرم است (۱۲). در نتیجهٔ آسیب کبدی و ورود این آنزیم‌ها به جریان خون، میزان آنها از مقادیر طبیعی فراتر می‌رود که خود مشخصهٔ صدمه به کبد است.

پژوهش‌ها در زمینهٔ آسیب به بافت کبد و تغییرات ساختاری در پی مصرف استروئیدهای آنابولیک در انسان به‌صورت گزارش‌های موردی (۱۳-۱۶) و مطالعات علی یا مقایسه‌ای (پس از وقوع) (۱۷-۱۹) ارائه شده است. به‌طور کلی، عوارض کبدی گزارش‌شده در پژوهش‌های وابسته به استفاده‌کنندگان AAS عبارت‌اند از: افزایش مقدار آنزیم‌های کبدی، بیلی‌روبین، زردی، کلستاز، پلیوز کبدی و تخریب بافت کبد. اما بیشتر پژوهش‌های انجام‌گرفته در حیوانات دربارهٔ آسیب‌های کبدی ناشی از مصرف AAS بدون مداخلهٔ تمرین بوده است. از جمله تاوسون و همکاران (۲۰۱۱) به بررسی تأثیر استروئید آنابولیک بولدنون بدون تمرین بدنی در کبد خرگوش پرداختند (۲۰). آنها التهاب، سینوزوئیدهای پر از خون و واکوئل‌های چربی را در بافت کبد گزارش کردند. بوآدا و همکاران (۱۹۹۹) نیز به بررسی تغییرات کبد در موش‌های نر ویستار با مصرف وینسترول خوراکی بدون تمرین بدنی پرداختند (۲۱). یافته‌ها نشان می‌دهد وینسترول ظرفیت سوخت‌وساز سلول‌های کبدی را تا حد غیرطبیعی تغییر می‌دهد. از دیگر پژوهش‌هایی که بدون دخالت تمرین به انجام رسیده است، پژوهش هلواگی و همکاران (۲۰۱۶) است که پس از مصرف آنابول خوراکی به مدت سه ماه افزایش معناداری را در آمینوترانسفرازهای خون موش‌های صحرایی مشاهده کرده‌اند (۲۲). لُک و همکاران (۲۰۱۰) نیز پس از ۱۰ هفته تزریق تستوسترون به موش‌های صحرایی، افزایش معناداری را در AST سرم و عدم تفاوت معناداری را در ALP سرم مشاهده کردند (۲۳). پژوهش شهرکی و رافعی (۱۳۹۴) روی موش‌های نر و مادهٔ نژاد ویستار، نتایج عدم تفاوت معنادار آنزیم ALT را بین گروه دریافت‌کنندهٔ استروئید ناندرولون و گروه کنترل نشان داد (۲۴). به‌طور کلی، همهٔ این پژوهش‌ها به بررسی بالینی استروئیدهای آنابولیک پرداخته‌اند و اطلاعات دربارهٔ تأثیر تمرین بدنی خیلی اندک است، به‌طوری‌که

1. Alkaline Phosphatase

www.SID.ir

Archive of SID

تا به حال در پژوهش‌های داخلی، تأثیر تمرین استقامتی بر سوخت‌وساز استروئیدها از جمله استانوزولول مطالعه نشده است. طاهرنژاد و همکاران (۱۳۹۵) تأثیر استانوزول تزریقی همراه با ۸ هفته تمرین مقاومتی را بر آنزیم‌های کبدی موش‌های صحرایی بررسی کردند (۲۵). آنها افزایش در مقادیر سرمی آمینوترانسفرازها و همچنین افزایش درALP را گزارش کردند. نتایج پژوهش‌های پی و همکاران (۲۰۰۳) و گراگیرا و همکاران (۱۹۹۳) پس از مصرف استانوزولول در مورد تغییرات آمینوترانسفرازهای سرم، عدم تفاوت معنادار در این آنزیم‌ها را نشان داده است (۲۷، ۲۶). همچنین نتایج پژوهش‌های بنتو سیلوا و همکاران (۲۰۱۰) با مصرف استروئیدها و تمرین استقامتی در رت‌های ماده و نیز فلین و همکاران (۲۰۰۴) همراه با شنا در کانال نشان می‌دهد آسیب‌های کبدی در گروه‌های استفاده‌کننده از استروئیدهای آنابولیک رخ داده است (۲۸). با توجه به عدم انجام نمونهٔ مشابه داخلی که تعامل تأثیر تمرین استقامتی و مصرف استروئید استانوزولول را سنجیده باشد، نتایج پژوهش حاضر دربارهٔ تعامل سازوکار تمرین استقامتی و مصرف استروئید بر شاخص‌های آسیب کبدی از اهمیت زیادی برخوردار است.

بر پایهٔ گزارش‌های موجود، مصرف استروئیدهای آنابولیک آندروژنیک علاوه‌بر رشته‌های قدرتی در سایر رشته‌های ورزشی نیز مشهود است (۳۰، ۲۹، ۹). نتایج پژوهش حلب‌چی و همکاران (۱۳۸۸) که کشتی‌گیران تهرانی را مطالعه کردند، نشان داد ۳۵ درصد آنها از مواد نیروزا استفاده می‌کنند. همین‌طور در پژوهش فن زیل و همکاران (۱۹۹۵) دربارهٔ تأثیر استروئید دورابولین (ناندرولون فنیل پروپیونات) برافزایش استقامت موش‌های صحرایی، معلوم شد مصرف این استروئید سبب افزایش استقامت موش‌ها در تمرینات هوازی زیربیشینه می‌شود (۳۱). در نتیجه، بدیهی است با توجه به آثار مثبت استروئیدهای آنابولیک آندروژنیک بر بیشتر عوامل آمادگی جسمانی، وجه اشتراک همهٔ پژوهش‌ها اعم از داخلی و خارجی، شیوع هرچه بیشتر داروهای استروئیدی در بین ورزشکاران رشته‌های گوناگون باشد (۳۳، ۳۲، ۳۰). این شیوع مصرف، تهدیدی جدی برای سلامت همهٔ ورزشکاران در رشته‌های گوناگون تلقی می‌شود. در نتیجه، پرسش‌هایی که این پژوهش درصدد پاسخگویی به آنهاست عبارت‌اند از:

مصرف ۶ هفته استروئیدهای آندروژنیک-آنابولیک چه تأثیری بر تغییرات آنزیم‌های کبدی دارد و آیا می‌توان این تغییرات احتمالی را مرتبط با آسیب‌های کبدی دانست؟ همچنین مصرف این استروئیدها به‌همراه تمرینات استقامتی چه آثاری بر آنزیم‌های کبدی دارد؟

www.SID.ir

Archive of SID

روش تحقیق

پژوهش حاضر از نوع کاربردی است و به روش تجربی انجام گرفت. در این پژوهش تمامی اصول اخلاقی نحوهٔ کار با حیوانات آزمایشگاهی از جمله در دسترس بودن آب و غذا، شرایط نگهداری مناسب و عدم اجبار در فعالیت ورزشی براساس شیوه‌نامهٔ کمیتهٔ اخلاقی حیوانات مرکز تحقیقات دانشکدهٔ دامپزشکی دانشگاه تهران درنظر گرفته شد.

نمونه‌های پژوهش

به‌منظور انجام پژوهش حاضر، ۳۲ سر موش صحرایی نر سالم نژاد ویستار (میانگین وزن اولیهٔ ۱۶± ۲۸۹گرم) با سن ۱۲ هفته از انستیتو پاستور کرج خریداری و بعد از ۲ هفته عادت دادن به محیط و پروتکل تمرینی، از هفتهٔ سوم تمرینات شروع شد. حیوانات در گروه‌های مورد بررسی به‌صورت تکی در قفس‌های پلی‌کربنات شفاف و استاندارد در دمای ۲۲-۲۰ درجهٔ سانتی‌گراد و رطوبتی معادل ۵۵ تا ۶۵ درصد و طبق چرخهٔ معکوس ۱۲ ساعت خواب و بیداری با در دسترس بودن آب و غذای کافی نگهداری شدند. غذای مورد استفادهٔ حیوانات، غذای فشرده و آمادهٔ مخصوص جوندگان ساخت کارخانهٔ خوراک دام بهپرور و آب مصرفی، آب تصفیه‌شدهٔ شهری بود که در ظروف آب‌خوری از جنس PVC در دسترس حیوانات قرار داشت.

حیوانات به چهار گروه تقسیم شدند:

گروه اول (C): دارونما (n=8)

گروه دوم (T): تمرین + دارونما (n=8)

گروه سوم (TD): تمرین + استانوزولول با دوز ۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن (n=8)

گروه چهارم (D): استانوزولول با دوز ۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن (n=8)

نحوهٔ تجویز دارو

در این پژوهش در گروه‌های دریافت‌کنندهٔ استروئید، از استانوزولول (تولید شرکت Merit Organics هند) و برای رقیق‌سازی دارو از روغن آراشید (تولید شرکت Henry Lamotte آلمان) اهدایی شرکت باران استفاده شد. برای آنکه دارو با دوز دقیق و در زمان معین به حیوان تجویز شود، از سرنگ ۳ میلی‌لیتری

www.SID.ir

Archive of SID

مدرج استفاده شد. گروه اول به‌عنوان گروه کنترل تحت برنامهٔ تمرینی قرار نگرفتند، اما روغن آراشیذ را به‌عنوان دارونما دریافت کردند.گروه دوم تمرینات استقامتی را براساس برنامه انجام دادند و روغن آراشیذ را به‌عنوان دارونما دریافت کردند. گروه سوم علاوه‌بر اجرای تمرینات استقامتی، استانوزولول را با دوز ۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به‌صورت تزریق عمیق عضلانی دریافت کردند (۲۶). گروه چهارم نیز تحت برنامهٔ تمرینی قرار نگرفت، اما استانوزولول را با دوز ۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به‌صورت تزریق عمیق عضلانی دریافت کرد. هورمون یادشده در عضلات سرینی و پشت ران به‌صورت عمیق تزریق شد.

پروتکل تمرین استقامتی

پس از سه روز سازگاری حیوانات با محیط حیوان‌خانهٔ دانشگاه تهران، برنامهٔ آشناسازی موش‌های صحرایی با فعالیت روی دستگاه نوار گردان مخصوص جوندگان شروع شد. برنامهٔ آشناسازی شامل ۵ جلسه راه رفتن و دویدن در هفته (به مدت ۲ هفته) با سرعت ۵ تا ۱۰ متر در دقیقه و شیب صفر درصد، به مدت ۵ تا ۱۰دقیقه بود. پس از آشناسازی، موش‌های صحرایی تصادفی در چهار گروه قرار گرفتند. گروه‌های تمرین به مدت ۶ هفته و هفته‌ای ۵ جلسه با شدت و مدت پیش‌رونده (از ۵۵ درصد VO_2max تا ۷۵ درصد VO_2max)[1] و با رعایت اصل اضافه‌بار تمرین کردند (۳۴). در اولین جلسهٔ تمرین، موش‌ها با سرعت ۱۷/۴متر در دقیقه با شیب صفر درصد به مدت ۱۵دقیقه شروع به تمرین کردند و زمان تمرین هر روز ۵ دقیقه افزایش یافت تا آنکه در پایان هفتهٔ دوم به ۶۰ دقیقه رسید. در هفتهٔ سوم موش‌ها با سرعت ۱۷/۴ متر در دقیقه و با شیب ۱۰ درصد به مدت ۶۰ دقیقه دویدند. با شروع هفتهٔ چهارم جلسهٔ تمرین شامل ۸ دقیقه گرم کردن با سرعت ۱۷/۴ متر در دقیقه ، ۴۵ دقیقه تمرین با سرعت ۲۰ متر در دقیقه و در نهایت ۵ دقیقه سرد کردن با سرعت ۱۷/۴ متر در دقیقه بود. در هفتهٔ پنجم هر جلسه شامل ۸ دقیقه گرم کردن با سرعت ۲۰ متر در دقیقه، ۴۵ دقیقه تمرین با سرعت ۲۳ متر در دقیقه و ۵ دقیقه سرد کردن با سرعت ۱۸ متر در دقیقه بود. در هفتهٔ آخر، هر جلسهٔ تمرین با ۵ دقیقه گرم کردن با سرعت ۲۵ متر

---

۱ . شدت‌های گوناگون تمرین براساس منابع به شرح زیرند: پاورز و همکاران، ۱۹۹۳؛ کینوشیتا و همکاران، ۱۹۹۷؛ وینسنت و همکاران، ۲۰۰۰.

Low intensity exercise: 16-20 m/min ≈ %55 VO_2max
Moderate intensity exercise: 25m/min ≈ %65 VO_2max
High intensity exercise: 30m/min ≈ %85 VO_2max

www.SID.ir

Archive of SID

در دقیقه شروع می‌شد و در ادامه موش‌ها به مدت ۴۵ دقیقه با سرعت ۳۰ متر در دقیقه می‌دویدند و در نهایت ۵ دقیقه با سرعت ۲۰ متر در دقیقه سرد می‌کردند (جدول ۱). گروه‌های کنترل و دارو برای قرار گرفتن در شرایط یکسان با گروه‌های تمرین پس از اتمام جلسهٔ تمرین، به اندازهٔ زمان تمرین گروه‌های تمرین، روی نوار گردان بدون حرکت قرار گرفتند. برای تحریک حیوانات به دویدن روی نوار گردان از هیچ‌گونه شوک یا عامل استرس‌زایی استفاده نشد و با پارچه‌ای نرم و تماس پشت موش‌های صحرایی، حیوانات به دویدن تحریک شدند.

جدول 1. جزئیات برنامهٔ ۶ هفته تمرین استقامتی

	هفته	زمان (دقیقه)	سرعت (متر/دقیقه)
اول	روز اول	۱۵	۱۷/۴
	روز دوم	۲۰	۱۷/۴
	روز سوم	۲۵	۱۷/۴
	روز چهارم	۳۰	۱۷/۴
	روز پنجم	۳۵	۱۷/۴
دوم	روز اول	۴۰	۱۷/۴
	روز دوم	۴۵	۱۷/۴
	روز سوم	۵۰	۱۷/۴
	روز چهارم	۵۵	۱۷/۴
	روز پنجم	۶۰	۱۷/۴
سوم		۶۰	۱۷/۴ با شیب ۱۰درصد
چهارم		۶۰	۲۰
پنجم		۶۰	۲۳
ششم		۶۰	۳۰

زمان و روش نمونه‌گیری

در پایان پژوهش، حیوانات به مدت ۱۲ساعت ناشتا نگه‌داشته شده، سپس برای نمونه‌گیری با تزریق ۳ واحد محلول کتامین و زایلازین با نسبت ۵ به ۲ بی‌هوش و کشته شدند. یادآور می‌شود حیوانات آخرین دوز دارو را ۲۴ تا ۳۶ ساعت قبل از کشته شدن دریافت کردند. پس از ثابت کردن موش‌ها روی تختهٔ

www.SID.ir

Archive of SID

جراحی و شکافتن قفسهٔ سینهٔ آنها، با استفاده از سرنگ آغشته به هپارین از قلب آنها ۵ سی‌سی خون گرفته شد و نمونه‌های خونی بلافاصله سانتریفیوژ (دور ۵۰۰۰ و مدت زمان ۱۰ دقیقه) و سرم جدا شد و در دمای ۸۰- درجهٔ سانتی‌گراد برای سنجش آنزیم‌های کبدی نگهداری شد. سنجش آنزیم‌های کبدی به روش الایزا[1] و به‌وسیلهٔ کیت‌های ساخت شرکت پارس‌آزمون انجام گرفت.

تجزیه‌وتحلیل آماری

از آمار توصیفی (میانگین و انحراف معیار) برای توصیف وضعیت گروه‌های پژوهش استفاده شد. برای تعیین طبیعی بودن توزیع داده‌ها از آزمون کولموگروف اسمیرنوف (K-S) و برای مشخص کردن واریانس یا توزیع پراکندگی یکسان گروه‌ها از آزمون لِوِن استفاده شد. پس از اطمینان از طبیعی بودن توزیع متغیرهای پژوهش، از آزمون تحلیل واریانس یکطرفه (ANOVA) برای تعیین معنادار بودن اختلاف میان گروه‌ها و برای بررسی تفاوت‌های بین‌گروهی از آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. در همهٔ آزمون‌ها سطح معناداری P <۰/۰۵ در نظر گرفته شد و برای تجزیه‌وتحلیل داده‌های خام از نرم‌افزار SPSS19 و برای رسم نمودارها از نرم‌افزار EXCEL 2010 استفاده شد.

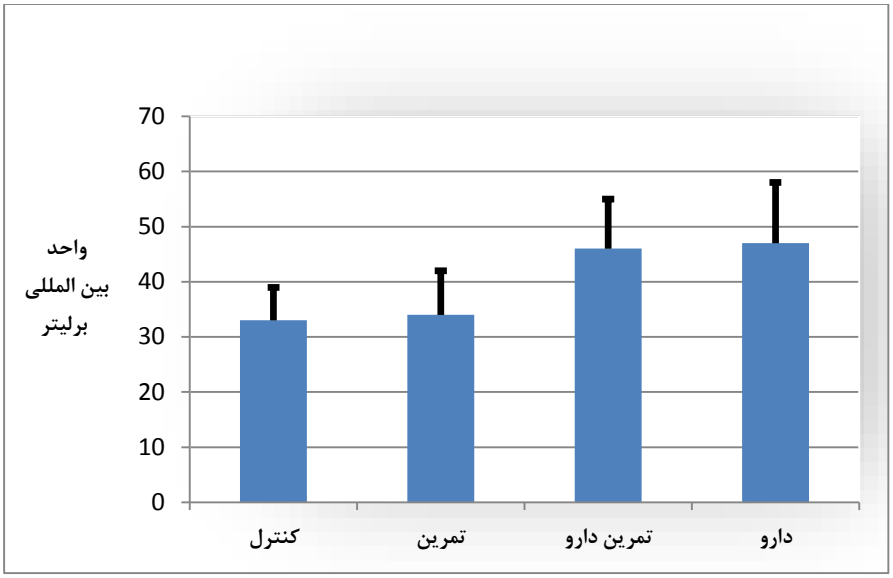
نتایج و یافته‌های تحقیق

یافته‌های پژوهش نشان می‌دهد تعامل ۶ هفته تمرین استقامتی و تزریق استروئید استانوزولول تفاوت معناداری را در سطوح سرمی آنزیم‌های ALT (P =۰/۰۰۲) و AST (P =۰/۰۰۱) در گروه‌های مصرف‌کنندهٔ دارو نسبت به گروه تمرین و کنترل نشان داده است (شکل‌های ۱و۲)، اما این تغییرات دربارهٔ آنزیم ALP (P=۰/۰۷۰) معنادار نیست (شکل ۳).

1. ELISA

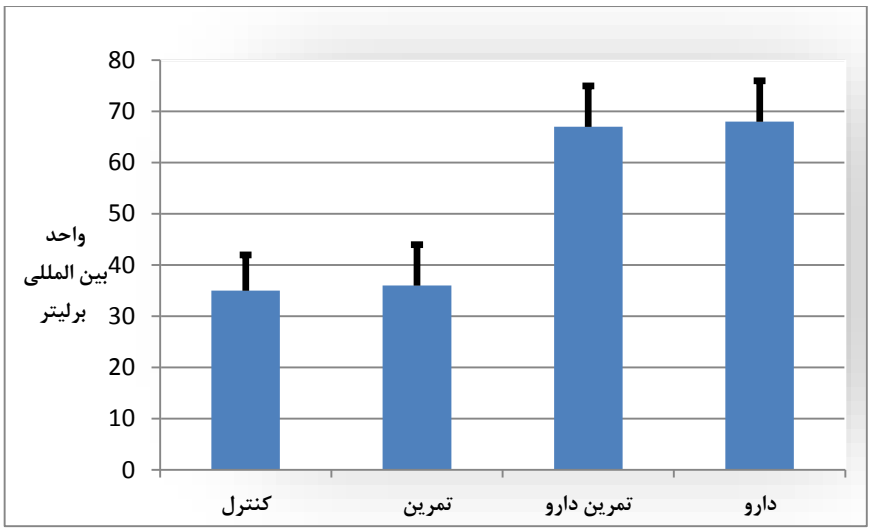
www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۱. میانگین و انحراف استاندارد آنزیم ALT سرمی پس از تعامل ۶ هفته تمرین استقامتی و تزریق استانوزولول

* تفاوت معناداری در سطح P <۰/۰۵ نسبت به گروه کنترل و تمرین

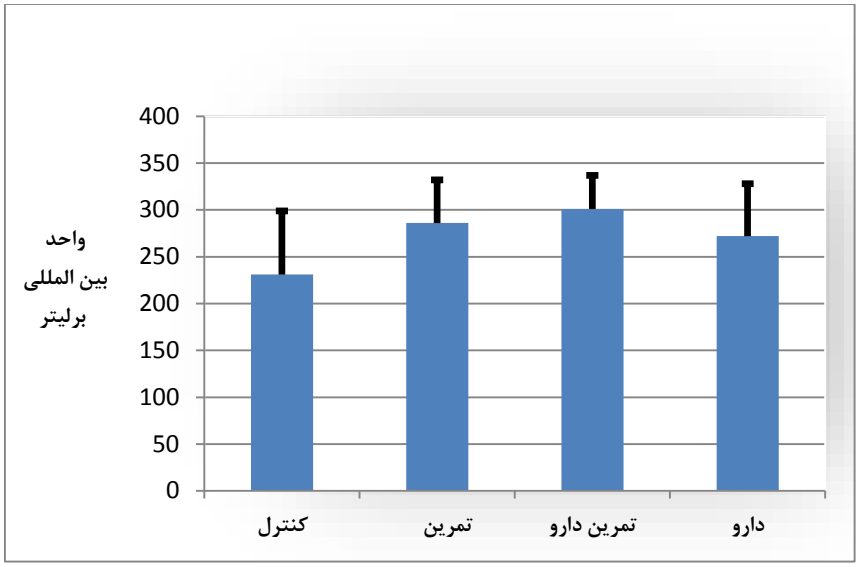


شکل ۲. میانگین و انحراف استاندارد آنزیم AST سرمی پس از تعامل ۶ هفته تمرین استقامتی و تزریق استانوزولول

* تفاوت معناداری در سطح P <۰/۰۵ نسبت به گروه کنترل و تمرین

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۳. میانگین و انحراف استاندارد آنزیم ALP سرمی پس از تعامل ۶ هفته تمرین استقامتی و تزریق استانوزولول

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج پژوهش نشان می‌دهد تعامل ۶ هفته تمرین استقامتی و تزریق استروئید استانوزولول سبب تغییرات معناداری در مقادیر سرمی آمینوترانسفرازهای کبد (ALT و AST) در بین چهار گروه شده، اما این تغییرات دربارهٔ آنزیم ALP معنادار نبوده است. میانگین گروه‌های کنترل و تمرین در آمینوترانسفرازهای سرم مقادیر یکسانی را نشان می‌دهند، البته گروه‌های تمرین تا حدودی میانگین زیادتری داشته‌اند که احتمالاً به‌دلیل استرس اکسایشی ناشی از تمرینات استقامتی است. گروه‌های دریافت‌کنندهٔ استروئید یعنی گروه دارو و گروه تمرین دارو، افزایش معناداری را در مقادیر آمینوترانسفرازها در مقایسه با گروه‌های کنترل و تمرین نشان دادند. این موضوع، آسیب احتمالی بافت کبد - ناشی از تـزریق استانـوزولول- را تداعی می‌کند. نکتهٔ شایان توجه آنکه تمرین استقامـتی نقش تعدیل‌کننده‌ای در کاهش سرمی ALT و AST نداشته است. دربارهٔ آنزیم آلکالین فسفاتاز نیز با آنکه تغییرات معناداری به‌دست نیامده است، اما میانگین گروه‌های تمرین دارو، گروه تمرین و گروه دارو به‌ترتیب بیشترین تغییرات را تجربه کرده‌اند.

اغلب مطالعاتی که به بررسی بیوشیمیایی خون ورزشکاران مصرف‌کنندهٔ AAS پرداخته‌اند، بیشترین تغییرات را در آنزیم‌های AST و ALT گزارش کرده و تغییرات بارزی را در مقدار ALP گزارش نکرده‌اند

www.SID.ir

Archive of SID

(۳۶، ۳۵) که نتایج این پژوهش نیز حاکی از همین موضوع است. از آنجا که دو آنزیم AST و ALT در مقایسه با ALP درکبد فراوان‌ترند، بیشتر آسیب ناشی از مصرف استروئیدها متوجه این دو آنزیم است (۳۷).

اما بیشتر پژوهش‌های انجام‌گرفته در حیوانات دربارهٔ آسیب‌های کبدی ناشی از مصرف AAS بدون مداخلهٔ تمرین بوده است؛ از جمله تحقیقات تاوسون و همکاران (۲۰۱۱) و بوآدا و همکاران (۱۹۹۹). از دیگر پژوهش‌هایی که بدون دخالت تمرین به انجام رسیده است، پژوهش هلواگی و همکاران (۲۰۱۶) است که پس از مصرف آنابول خوراکی به مدت سه ماه افزایش معناداری را در آمینوترانسفرازهای خون موش‌های صحرایی مشاهده کردند که با نتایج پژوهش حاضر همسوست. نتایج پژوهش لُک و همکاران (۲۰۱۰) نیز همسو با نتایج پژوهش حاضر است، اما مشاهدهٔ عدم تفاوت معنادار در مقادیر ALT توسط لک و همکاران با نتایج پژوهش حاضر همسو نیست. نتایج پژوهش شهرکی و رافعی (۱۳۹۴) روی موش‌های نر و مادهٔ نژاد ویستار عدم تفاوت معنادار آنزیم ALT را بین گروه دریافت‌کنندهٔ استروئید ناندرولون و گروه کنترل نشان داده است. این امر با یافته‌های این پژوهش همخوانی ندارد. از دلایل احتمالی ناهمسویی می‌توان به این موضوع اشاره کرد که استروئید مورد آزمون در پژوهش شهرکی و همکاران به‌دلیل قرار نگرفتن در گروه استروئیدهای ۱۷آلفا آلکیل، سمیت بارزی برای کبد نداشته است. به‌طور کلی، همهٔ این پژوهش‌ها به بررسی بالینی استروئیدهای آنابولیک پرداخته‌اند و اطلاعات دربارهٔ تأثیر تمرین بدنی خیلی اندک است، به‌طوری‌که تا به حال در پژوهش‌های داخلی، تأثیر تمرین استقامتی بر سوخت‌وساز استروئیدها از جمله استانوزولول مطالعه نشده است. در پژوهش طاهرنژاد و همکاران (۱۳۹۵) افزایش مقادیر سرمی آمینوترانسفرازها همسو با پژوهش حاضر گزارش شده است، اما افزایش ALP ناهمسوست که علت آن ممکن است تفاوت در نوع تمرین (تمرین مقاومتی) باشد. نتایج پژوهش‌های پی و همکاران (۲۰۰۳) و گراگیرا و همکاران (۱۹۹۳) دربارهٔ تغییرات آمینوترانسفرازها عدم تفاوت معنادار در این آنزیم‌ها را نشان داده‌اند که با نتایج این پژوهش همخوانی ندارد. احتمالاً مدت زمان پروتکل تمرین در هر دو این پژوهش‌ها (۱۲هفته تمرین استقامتی) سبب ایجاد سازگاری در مقادیر آمینوترانسفرازهای کبدی شده است.

به‌نظر می‌رسد استروئیدهایی که سبب آسیب به کبد می‌شوند، رابطهٔ نزدیکی با استرس اکسایشی[1] در سلول‌های کبد دارند. فعال شدن گیرندهٔ آندروژن، به افزایش گونه‌های اکسیژن واکنشی (ROS)[2] منجر می‌شود. همچنین فعالیت گیرندهٔ آندروژن، بتااکسیداسیون میتوکندریایی را افزایش می‌دهد که با دخالت

1. oxidative stress
2. Reactive Oxygen Species

www.SID.ir

Archive of SID

بر غشای خارجی میتوکندری و تأثیر آن بر CPT1[1]، موجب افزایش ROS می‌شود. CPT1، یک آنزیم محدودکننده در فرایند بتااکسیداسیون اسیدهای چرب میتوکندری است. این آنزیم تبدیل آسیل کوآنزیم A زنجیره‌بلند سیتوپلاسمی را به آسیل کارنیتین کاتالیز می‌کند. در نتیجهٔ آن اسید چرب وارد میتوکندری می‌شود و تحت بتااکسایش قرار می‌گیرد. این آنزیم در غشای خارجی میتوکندری قرار دارد و به‌عنوان آنزیمی محدودکننده در برداشت اسید چرب توسط میتوکندری درنظر گرفته می‌شود (۳۸). در مجموع، آندروژن‌ها، برای مثال تستوسترون یا استروئیدهای آندروژنیک آنابولیک که مشتقات صناعی تستوسترون هستند، با اتصال به گیرندهٔ آندروژنی خود، موجب افزایش میزان بتااکسیداسیون اسیدهای چرب در میتوکندری می‌شوند که این اتفاق افزایش فعالیت CPT1 را به‌همراه خواهد داشت. فعالیت بیشتر این آنزیم یعنی تولید مقادیر بیشتری از ROS که در نهایت ROS به‌دلیل ماهیت اکسیدانی خود، موجبات آسیب به سلول‌های کبدی را فراهم می‌آورد. به‌علاوه، مقاومت در برابر متابولیزه شدن و قدرت آندروژنیکی، همبستگی مثبتی را با درجهٔ آسیب به کبد نشان می‌دهد. تمامی عوامل ذکرشده از سازوکارهای احتمالی دخیل در آسیب‌های کبدی در اثر مصرف AAS هستند (۳۹).

با توجه به یافته‌های پژوهش حاضر می‌توان استنباط کرد تزریق استانوزولول سبب افزایش مقادیر سرمی آنزیم‌های ALT و AST می‌شود. اما در خصوص آنزیم ALP، نتایج نشان می‌دهد احتمالاً این آنزیم تحت تأثیر مصرف استروئیدها نیست و دربارهٔ آنزیم‌های کبدی، بیشتر عوارض متوجه آمینوترانسفرازهای کبد است. افزایش مقادیر آمینوترانسفرازها، آسیب‌های احتمالی کبد را گوشزد می‌کند. نتیجهٔ دیگری که از یافته‌های این پژوهش حاصل می‌شود، عدم تأثیر تعدیلی تمرین استقامتی بر تغییرات کبدی در پی مصرف استروئید استانوزولول است. بدین‌مفهوم که ورزشکاران و افرادی که از استروئید استانوزولول به‌منظور بهبود عملکرد ورزشی و ترکیب بدنی استفاده می‌کنند، می‌بایست از آثار آن بر کبد آگاه باشند، چراکه استرس اکسایشی ناشی از مصرف استانوزولول سبب بروز تغییراتی در آنزیم‌های کبدی این افراد می‌شود.

با توجه به محدودیت‌های پژوهش حاضر یعنی کمبود امکانات هیستوپاتولوژیکی، به‌منظور حصول اطمینان از آثار مخرب مصرف استانوزولول بر بافت کبد پیشنهاد می‌شود با تهیهٔ نمونهٔ میکروسکوپی از بافت کبد، بررسی هیستوپاتولوژی نیز به انجام برسد. همچنین به‌منظور سنجش میزان تأثیر استرس

1. Carnitine Palmitoyltransferase I

www.SID.ir

Archive of SID

اکسایشی بر بافت کبد، پیشنهاد می‌شود علاوه‌بر بررسی آنزیم‌های کبدی، شاخص‌های زیستی استرس اکسایشی مثل سوپراکسیددیسموتاز (SOD)، کاتالاز، گلوتاتیون (GSH) و غیره نیز مورد سنجش قرار گیرد.

منابع و مآخذ

1. Lundholm L, Käll K, Wallin S, Thiblin I. Use of anabolic androgenic steroids in substance abusers arrested for crime. Drug and alcohol dependence. 2010;111(3):222-6
2. Street C, Antonio J, Cudlipp D. Androgen use by athletes: a reevaluation of the health risks. Canadian Journal of Applied Physiology. 1996;21(6):421-40
3. Kargarfard M, GHIAS M, KarimZadegan A, Kashi A. Assumption of anabolic-androgenic steroids among Isfahan University students: prevalence, and awareness about their side effects
4. Yesalis CE, Kennedy NJ, Kopstein AN, Bahrke MS. Anabolic-androgenic steroid use in the United States. Jama. 1993;270(10):1217-21
5. Padgham C, Wang X, Paine A, editors. The loss of cytochromes P450 (CYPs) in rat liver cell culture is triggered during hepatocyte isolation and again during the first 4 hours of culture. Cytochrome P450 8th International Conference John Libbey Eurotext, Paris; 1994
6. Soma L, Uboh C, Guan F, McDonnell S, Pack J. Pharmacokinetics of boldenone and stanozolol and the results of quantification of anabolic and androgenic steroids in race horses and nonrace horses. Journal of veterinary pharmacology and therapeutics. 2007;30(2):101-8
7. Mottram D. Drug Use in sport and dope festing. Sport and Exercise Medicine for Pharmacists. 20. ۱: ۳۳۹ ۰۶
8. Hoffman JR, Ratamess NA. Medical issues associated with anabolic steroid use: are they exaggerated? Journal of sports science & medicine. 2006;5(2):182
9. Montisci M, El Mazloum R, Cecchetto G, Terranova C, Ferrara SD, Thiene G, et al. Anabolic androgenic steroids abuse and cardiac death in athletes: morphological and toxicological findings in four fatal cases. Forensic science international. 2012;217(1):e13-e8
10. Elinav E, Ben-Dov IZ, Ackerman E, Kiderman A, Glikberg F, Shapira Y, et al. Correlation between serum alanine aminotransferase activity and age: an inverted U curve pattern. The American journal of gastroenterology. 2005;100(10):2201-4
11. Rahmioglu N, Andrew T, Cherkas L, Surdulescu G, Swaminathan R, Spector T, et al. Epidemiology and genetic epidemiology of the liver function test proteins. PLoS One. 2009;4(2):e4435

www.SID.ir

Archive of SID

12. Warburton D, Welsh R, Haykowsky M, Taylor D, Humen D. Biochemical changes as a result of prolonged strenuous exercise. British journal of sports medicine. 200۳۰۵ : (۶ ۴۶ ۲ . ۳
13. Stępień PM, Reczko K, Wieczorek A, Zarębska-Michaluk D, Pabjan P, Król T, et al. Severe intrahepatic cholestasis and liver failure after stanozolol usage–case report and review of the literature
14. Ampuero J, García ES, Lorenzo MM, Calle R, Ferrero P, Gómez MR. Stanozolol-induced bland cholestasis. Gastroenterología y hepatología. 2014;37(2):71
15. Socas L, Zumbardo M, Perez-Luzardo O, Ramos AP. C., Hernandez, JR and Boada, LD Hepatocellular adenomas associated with anabolic androgenic steroid abuse in bodybuilders: a report of two cases and a review of the literature. British Journal of Sports Medicine. 2005;39:e27
16. Orlandi F, Jezequel A, Merlitti A. The action of some anabolic steroids on the structure and the function of human liver cell. International Association for Study of the Liver: Karger Publishers; 1965. p. 109-13
17. Rashid Lamir A, Dehbashi M, Ketabdar B. The Effects of Anabolic-Androgenic Steroids Abuse on the Level of Liver Enzymes and Serum Albumin among Bodybuilding Athletes. Shomal Journal of Management and Physiology in Sport. 2014;1(2):9-18
18. ZAHAKI JM, RAHMANI NF. THE IMPACT OF ANABOLIC–ANDROGENIC STEROIDS USE ON THE LIVER ENZYMES (ALT, AST, ALP) AND HEMATOLOGIC PARAMETERS IN MALE BODYBUILDERS. 2016
19. Finkelstein JS, Lee H, Burnett-Bowie S-AM, Pallais JC, Yu EW, Borges LF, et al. Gonadal steroids and body composition, strength, and sexual function in men. New England Journal of Medicine. 2013;369(11):1011-22
20. Tousson E, Alm-Eldeen A, El-Moghazy Mp53 and Bcl-2expression in response to boldenone induced liver cells injury. Toxicology and industrial health. 2011:0748233710395350
21. Boada LD, Zumbado M, Torres S, López A, Díaz-Chico BN, Cabrera JJ, et al. Evaluation of acute and chronic hepatotoxic effects exerted by anabolic-androgenic steroid stanozolol in adult male rats. Archives of toxicology. 1999;73(8-9):465-72
22. El-Halwagy ME, Abd-Alrahman SH, Mahmoud RH, Khalifa FK, Darwish NS, Attia AA, et al. Impact of chronic androgenic steroid exposure on liver toxicity. INTERNATIONAL JOURNAL OF CLINICAL AND EXPERIMENTAL PATHOLOGY. 2016;9(2):2652-9
23. Coward RM, Rajanahally S, Kovac JR, Smith RP, Pastuszak AW, Lipshultz LI. Anabolic steroid induced hypogonadism in young men. The Journal of urology. 2013;190(6):2200-5
24. Shahraki MR, Rafeei R. The Effects of Subacute Supraphysiological Dose of Nandrolone Decanoate on Liver Enzymes and Lipid Pofiles in Rats. Zahedan Journal of Research in Medical Sciences. 2015;17(θ

www.SID.ir

Archive of SID

25. Tahernejad Z, Baghshani H, Rashidlamir A. Blood biochemical and oxidant/antioxidant alterations following stanozolol treatment along with resistance training in rats. Andrologia. 2016
26. Pey A, Saborido A, Blázquez I, Delgado J, Megías A. Effects of prolonged stanozolol treatment on antioxidant enzyme activities, oxidative stress markers, and heat shock protein HSP72 levels in rat liver. The Journal of steroid biochemistry and molecular biology. 2003;87(4):269-77
27. Gragera R, Saborido A, Molano F, Jimenez L, Muñiz E, Megias A. Ultrastructural changes induced by anabolic steroids in liver of trained rats. 1993
28. Bento-Silva MT, Martins MdCdC, Torres-Leal FL, Barros TL, Carvalho ILdNF, Carvalho Filho HA, et al. Effects of administering testosterone undecanoate in rats subjected to physical exercise: effects on the estrous cycle, motor behavior and morphology of the liver and kidney. Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences. 2010;46(1):79-89
29. Slater G, Tan B, Teh KC. Dietary supplementation practices of Singaporean athletes. International journal of sport nutrition and exercise metabolism. 2003;13:320-32
30. Halabchi F. Doping in combat sports. Combat sports medicine: Springer; 2009. p. 55-72
31. Van Zyl CG, Noakes TD, Lambert MI. Anabolic-androgenic steroid increases running endurance in rats. Medicine and science in sports and exercise. 1995;27(10):1385-9
32. Kristiansen M, Levy-Milne R, Barr S, Flint A. Dietary supplement use by varsity athletes at a Canadian university. Int J Sport Nutr Exerc Metab. 2005 ۱۹۵ ۲۱۰ (۷ ۱۵
33. Graham MR, Grace FM, Boobier W, Hullin D, Kicman A, Cowan D, et al. Homocysteine induced cardiovascular events: a consequence of long term anabolic-androgenic steroid (AAS) abuse. British journal of sports medicine. 2006;40(7):644-8.
34. Noble EG, Moraska A, Mazzeo RS, Roth DA, Olsson MC, Moore RL, et al. Differential expression of stress proteins in rat myocardium after free wheel or treadmill run training. Journal of Applied Physiology. 1999;86(5):1696-701
35. Štimac D, Milic S, Dintinjana RD, Kovac D, Ristic S. Androgenic/Anabolic steroid-induced toxic hepatitis. Journal of clinical gastroenterology. 2002;35(4):350-2
36. Timcheh-Hariri A, Balali-Mood M, Aryan E, Sadeghi M, Riahi-Zanjani B. Toxic hepatitis in a group of 20 male body builders taking dietary supplements. Food and chemical toxicology. 2012;50(10):3826-32
37. Filipowicz R, Greene T, Wei G, Cheung AK, Raphael KL, Baird BC, et al. Associations of serum skeletal alkaline phosphatase with elevated C-reactive protein and mortality. Clinical Journal of the American Society of Nephrology. 2013;8(1):26-32
38. McGarry JD, Brown NF. The mitochondrial carnitine palmitoyltransferase system—from concept to molecular analysis. European Journal of Biochemistry. 1997;244(1):1-14
39. Bond P, Llewellyn W, Van Mol P. Anabolic androgenic steroid-induced hepatotoxicity. Medical Hypotheses. 2016;93:150-3

www.SID.ir

Archive of SID

The Interactive Effect of 6 Weeks of Endurance Training and Stanozolol Steroid Treatment on Hepatic Enzymes in Healthy Male Rats

Alireza Joneidi Shariatzade[1]- Abbas Ali Gaeini*[2]- Siroos Choobine[3]- Maryam Mirzaei[4]

1. PhD Student of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, University of Tehran, Tehran, Iran 2. Professor, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, University of Tehran, Tehran, Iran 3. Associate Professor, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, University of Tehran, Tehran, Iran 4. PhD Student of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, University of Guilan, Gilan, Iran

(Received: 2017/04/22 ; Accepted:2017/06/30)

Abstract

The aim of this study was to investigate the interactive effect of six weeks of endurance training and treatment of stanozolol steroid on changes of serum levels of ALT, AST and ALP enzymes in male healthy rats. 32 male Wistar rats (age: 12 weeks, mean initial body weight: 289±16 g) were divided into four groups: placebo (P, n=8), exercise+placebo (E, n=8), exercise+stanozolol (ES, n=8) and stanozolol (S, n=8). ES and S groups received weekly intramuscular stanozolol injection (5mg/kg of body weight) while P and E groups received the same dosage of arachis oil as placebo. E and ES groups were submitted to a progressive endurance running program on a treadmill with the intensity of 70-75% VO2max for 6 weeks and 5 days per week. ALT, AST and ALP serum levels were measured by ELISA method. KS test was used to determine the normal distribution of data and Leven test was applied to determine the distribution of similar dispersion of groups. Data were analyzed by one-way ANOVA test at ($P<0.05$) and Tukey post hoc test was used to determine within-group differences. ALT ($P=0.002$) and AST ($P=0.001$) changes were significant but ALP serum levels ($P=0.070$) were not significant. According to the findings of this study, it can be stated that endurance training did not have a modulating effect on changes of liver enzymes due to stanozolol steroid consumption.

Keywords

ALP, ALT, anabolic androgenic steroid, AST, endurance training.

* Corresponding Author: Email: aagaeini @ut.ac.ir ; Tel: +989123351872

www.SID.ir