



اثر هشت هفته تمرین مقاومتی و مصرف تستوسترون انانتات بر بیان ژن‌های BAX و BCL-2 بافت کبد موش‌های صحرایی ماده

تاریخ دریافت: ۹۹/۰۳/۲۰ - تاریخ پذیرش: ۹۹/۰۷/۱۵

چکیده

مقدمه: استروئیدهای آنابولیک-آندروژنیک (AAS) اغلب توسط ورزشکاران به‌عنوان داروی آنابولیک برای بهبود عملکرد ورزشی مورد استفاده قرار می‌گیرند، هدف از پژوهش حاضر اثر هشت هفته تمرین مقاومتی و مصرف تستوسترون انانتات بر بیان ژن‌های BAX و BCL-2 بافت کبد موش‌های صحرایی ماده می‌باشد.

روش کار: در این مطالعه تجربی، ۲۴ سر موش ماده با سن ۸ هفته و وزن ۲۰۰ گرم از انستیتو پاستور (ایران) تهیه شد. موش‌ها پس از یک هفته آشناسازی به‌طور تصادفی به ۳ گروه (۱) گروه کنترل (n=۸)، (۲) گروه تمرین (n=۸) و (۳) گروه تستوسترون+تمرین (n=۸) تقسیم شدند. پروتکل هشت هفته‌ای تمرین مقاومتی (نزدبان ۲۴ پله با وزنه)، پنج روز تمرین در هفته با دو روز استراحت در هفته که در آن وزنه‌ها، هفته‌ی اول ۴۰٪ وزن بدن موش‌های ماده بود و هر هفته ۲۰٪ وزن بدن اضافه شد و دو جلسه در هفته وزن‌کشی انجام شد. و بعد به موش‌های گروه تستوسترون، استروئید (تستوسترون انانتات با دوز ۲۰ میلی‌گرم سه بار در هفته) تزریق شد. از تمام حیوانات با شرایط کاملاً مشابه و به دنبال ۱۲ تا ۱۴ ساعت ناشتایی و ۷۲ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین و تزریق تستوسترون، نمونه‌گیری انجام شد. آنالیز آزمایشگاهی سطوح ژن‌های BAX و BCL-2 بافت کبد با استفاده از کیت‌های تجاری ویژه و با روش Real-time PCR تعیین شد.

نتایج: تزریق تستوسترون منجر به افزایش معنی‌دار بیان ژن BAX کبد رت‌های ماده تمرین کرده مقاومتی شد، هم‌چنین بیان ژن BCL-2 بافت کبد در اثر مصرف تستوسترون کاهش یافت که این کاهش معنی‌دار نبود.

نتیجه‌گیری: می‌توان اذهان داشت که مصرف تستوسترون آپوپتوز را در سلول‌های کبد ایجاد می‌کند، که ممکن است از این طریق سبب بروز بیماری‌های کبدی در موش‌های صحرایی تمرین کرده مقاومتی شود.

کلمات کلیدی: تمرینات مقاومتی، تستوسترون انانتات، آپوپتوز، آسیب کبد

پی‌نوشت: این مطالعه فاقد تضاد منافع می‌باشد.

اکرم آژنده^۱

یاسر کاظم‌زاده^{۲*}

علی گزری^۳

ولی‌الله شاهدی^۴

^۱ دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت‌بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد اسلام‌شهر

^۲ استادیار، عضو هیأت علمی دانشکده تربیت‌بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد اسلام‌شهر

^۳ دانشیار فیزیولوژی ورزشی و عضو هیأت علمی دانشگاه زنجان

^۴ دانشیار، عضو هیأت علمی دانشکده تربیت‌بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد پرند

Email: Azhandehnegar@gmail.com

مقدمه

تمرینات مقاومتی با تأثیر بر افزایش مصرف گلوکز و هیپرتروفی ناشی از انقباض‌های عضلانی موجب شده تا برای معالجه و کنترل تعدادی از بیماری‌ها ابزاری درمانی دانسته شود. هم‌چنین نشان داده شده است این نوع تمرین برای افراد چاق و مبتلا به بیماری‌های مختلف موثر و ایمن می‌باشد (۱). تمرینات مقاومتی، ضمن افزایش توده عضلانی و ایجاد استایل بدنی مناسب همانند تمرینات هوازی، موجب افزایش حساسیت انسولینی، افزایش هزینه‌کرد انرژی و بهبود کیفیت زندگی می‌شود. هم‌چنین تمرینات مقاومتی در درازمدت می‌تواند سطوح ژن‌های آپوپتوزی را کاهش دهد (۲).

مرگ سلولی یا آپوپتوز برای بسیاری از عملکردهای فیزیولوژیکی مانند حفظ هومئوستاز بافت و حذف سلول‌های خطرناک و آسیب دیده لازم است (۳). دو مسیر وابسته به کاسپاز برای تنظیم آپوپتوز مشخص شده است که منافذ انتقال نفوذپذیری میتوکندریایی و رهایی پروتئین‌های آپوپتوزیک (به‌طور عمده سیتوکروم C)، در فرآیند آپوپتوز شرکت دارد. آزادسازی سیتوکروم C فعال شدن کاسپاز ۹ را تسهیل می‌کند. اعضای خانواده (Bcl-2 (2B-cell lymphoma)، مانند خود Bcl-2 (پروتئین ضد آپوپتوتیک) و پروتئین پرو آپوپتوتیک - Bax (Bcl-2-associated protein x) به‌طور قوی در تنظیم منافذ نفوذپذیری میتوکندریایی نقش دارند (۴). مطالعات متعددی نقش تمرینات بدنی منظم در تنظیم شاخص‌های آپوپتوز در بافت کلیه (۳)، قلب (۴) و کبد (۵) نشان داده‌اند.

استروئیدهای آنابولیک-آندروژنیک (AAS) اغلب توسط ورزشکاران به‌عنوان داروی آنابولیک برای بهبود عملکرد ورزشی مورد استفاده قرار می‌گیرند (۲). AAS ترکیباتی مشتق از تستوسترون، هورمون اصلی مردانه است، و از دیرباز در علوم پزشکی برای درمان برخی بیماری‌ها رایج بوده است (۶). این داروها در اواخر دهه‌ی ۱۹۳۰ برای درمان هیپوگنادیسم و کمبود تستوسترون کافی ساخته و نخستین بار در پزشکی برای

درمان بیماری‌هایی نظیر، بلوغ تغییر یافته، ضعف جسمانی، ناتوانی جنسی و سایر بیماری‌ها استفاده شد (۷). AAS را می‌توان در اشکال مختلف، خوراکی و تزریقی یافت (۸). تستوسترون را که پدر اغلب استروئیدها یاد می‌شود، نخستین بار بوتنت و همکاران (۹) به‌دست آوردند و پس از آن استفاده از این هورمون بی‌آنکه منع قانونی داشته باشد برای درمان بیماری‌های خاص و برای تقویت عمومی و تخصصی مرسوم شد. نوع دارویی آن مرسوم به تستوسترون انانتات است که هورمون آندروژنی طبیعی است و به‌طور گسترده، ورزشکاران رشته‌های قدرتی استفاده می‌کنند (۱۰). این هورمون از طریق تعامل با هسته‌ی مرکزی اثر می‌گذارد و به‌دلیل خواص حلالیت در چربی، در سلول پراکنده است و با ترکیب با پروتئین به درون هسته‌ی سلول راه پیدا می‌کند و سبب فعال شدن سنتز یک یا چند پروتئین می‌شود (۱۱).

متأسفانه، افرادی که صلاحیت کافی ندارند، به‌طور گسترده این داروها را برای ورزشکاران و جوانان برای افزایش توده‌ی عضلاتشان به‌منظور داشتن استایل بدنی خوب تجویز می‌کنند، که استفاده نابجا از این داروها در درازمدت سبب بروز مشکلات در برخی از اندام‌های حیاتی مانند قلب، کلیه، مغز و کبد می‌شود که برخی از این اختلالات قابل برگشت نیستند (۲، ۱۲).

کبد بزرگ‌ترین غده و ارگان داخلی در بدن انسان است (۱۳). کبد در بسیاری از اعمال متابولیکی از جمله پروتئین‌سازی و سم‌زدایی شرکت دارد. کبد گیرنده‌های آندروژنی فراوانی دارد. این گیرنده‌ها در برابر استروئیدهای وارد به این عضو حساس است، از طرفی، کبد محل اصلی سوخت‌وساز استروئیدهاست. از این رو، مصرف داروهای استروئیدی ممکن است یکی از عوامل به‌وجود آورنده‌ی آسیب در کبد باشد (۱۴).

سادوسکا-کرپا و همکاران نشان دادند که دوز بالای تستوسترون به‌طور معنی‌داری وزن کبد و بدن را کاهش داد (۱). هم‌چنین دهباشی و همکاران افزایش آنزیم آسپارات آمینوترانسفراز کبد را در اثر استفاده از تستوسترون در رت‌های

² Sadowska-Krępa¹ Anabolic androgenic steroids

که در آن وزنه‌ها، هفته‌ی اول ۴۰ درصد وزن بدن موش‌های ماده بود و هر هفته ۲۰ درصد وزن بدن اضافه شد (۱۵) و دو جلسه در هفته وزن‌کشی انجام شد (جدول ۱). و بعد به موش‌های گروه تستوسترون، استروئید (تستوسترون انانتات با دوز ۲۰ میلی‌گرم سه بار در هفته) تزریق شد (۱۵).

جدول ۱. تمرین مقاومتی در ۳ دور ۴ تکراری روی نردبان ۱

متری با ۲۶ پله

| هفته | اول | دوم | سوم | چهارم | پنجم | ششم | هفتم | هشتم |
|--------|-----|-----|-----|-------|------|-----|------|------|
| بار | ۳۰ | ۸۰ | ۱۰۰ | ۱۳۰ | ۱۵۰ | ۱۷۵ | ۱۹۰ | ۲۰۰ |
| (درصد) | | ۷۰ | | ۱۲۰ | ۱۴۰ | ۱۷۰ | ۱۸۰ | |
| وزن | | | | | | | | |
| (بدن) | | | | | | | | |

نمونه‌گیری: پس از اجرای تحقیق به منظور از بین بردن اثرات حاد تمرین، از تمام حیوانات با شرایط کاملاً مشابه و به دنبال ۱۲ تا ۱۴ ساعت ناشتایی و ۷۲ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین و تزریق تستوسترون، نمونه‌گیری انجام شد. موش‌ها با تزریق درون صفاقی ترکیبی از کتامین (۷۰ mg/kg) و زایلازین (۷ mg/kg) (۳-۵) بی‌هوش شدند. با توجه به زمان‌بندی از پیش تعیین شده، نمونه‌برداری بافت کبد از گروه‌های کنترل، تمرین و تستوسترون-تمرین انجام شد که پس از شستشو با سرم فیزیولوژیک در تیوب‌های مخصوص قرار داده شدند. بافت‌های مورد نظر بلافاصله در نیتروژن مایع (دمای ۱۹۶- درجه) منجمد شدند و ضمن انتقال به آزمایشگاه، در دمای ۸۰- درجه تا زمان اجرای سنجش آزمایشگاهی نگهداری شدند.

آنالیز بیوشیمیایی متغیرها: آنالیز آزمایشگاهی سطوح ژن‌های BAX و BCL-2 با استفاده از کیت‌های تجاری ویژه و با روش Real-time PCR تعیین شد.

کیت استخراج RNA:

Cat. No. (DQ383-40h)

BioFACT™2X Real-Time PCR Master Mix
(h) (final 2.5mM MgCl₂), including SYBR®

Green I in mixture, w/o Rox reference dye

کیت سنتز cDNA:

Cat. No. (BR441-096)

تمرین‌کرده مقاومتی را گزارش کردند (۱۴). استفاده از داروهای استروئیدی، در میان جوانان به ویژه در بین ورزشکاران با هدف تقویت ماهیچه‌ها و بالابردن توانایی جسمی شیوع پیدا کرده است. این داروها در بدن دارای دو اثر آندروژنی و آنابولیکی می‌باشند و ورزشکاران به دلیل اثر آنابولیکی آنها، جهت بهبود و پیشرفت کارآیی ورزشی خود از آنها استفاده می‌کنند (۱۵) تستوسترون انانتات یکی از این داروهاست که به دلیل طولانی اثر بودنش (با یک بار تزریق میزان تستوسترون پلازما برای مدت بیش از یک هفته در حد بالا باقی می‌ماند) نسبت به سایر ترکیبات آندروژنی مثل تستوسترون پروپیونات، بیشتر مصرف می‌شود (۱۶). با این وجود تحقیقی که اثر مصرف تستوسترون بر شاخص‌های آپوتوز کبد در رت‌های تمرین‌کرده مقاومتی را بررسی کرده باشد یافت نشد لذا این پژوهش به بررسی اثر هشت هفته تمرین مقاومتی و مصرف تستوسترون انانتات بر بیان ژن‌های BAX و BCL-2 بافت کبد موش‌های صحرایی ماده پرداخت.

روش کار

این پژوهش از نوع تجربی و کاربردی با طرح پس‌آزمون همراه با گروه کنترل انجام شد. به منظور اجرای پژوهش ۲۴ سر موش ماده با سن ۸ هفته و وزن ۲۰۰ گرم از انستیتو پاستور (ایران) تهیه شد. همه حیوانات در قفس‌های پلی‌کربنات در گروه‌های چهارتایی و طبق چرخه ۱۲ ساعت خواب و بیداری (روشنایی و تاریکی) در یک درجه حرارت ۲۲±۲ درجه سانتی‌گراد و رطوبت ۴۵±۵ درصد نگهداری شدند آب و مواد غذایی در دسترس، در حد اشتهای موش در دسترس قرار داشتند. موش‌ها پس از یک هفته آشناسازی به‌طور تصادفی ۳ گروه ذیل قرار گرفتند:

۱- گروه کنترل (n= 8)

۲- گروه تمرین (n= 8)

۳- گروه تستوسترون+تمرین (n= 8).

پروتکل کلی: پروتکل هشت هفته‌ای تمرین مقاومتی (نردبان ۲۴ پله با وزنه)، پنج روز تمرین در هفته با دو روز استراحت در هفته

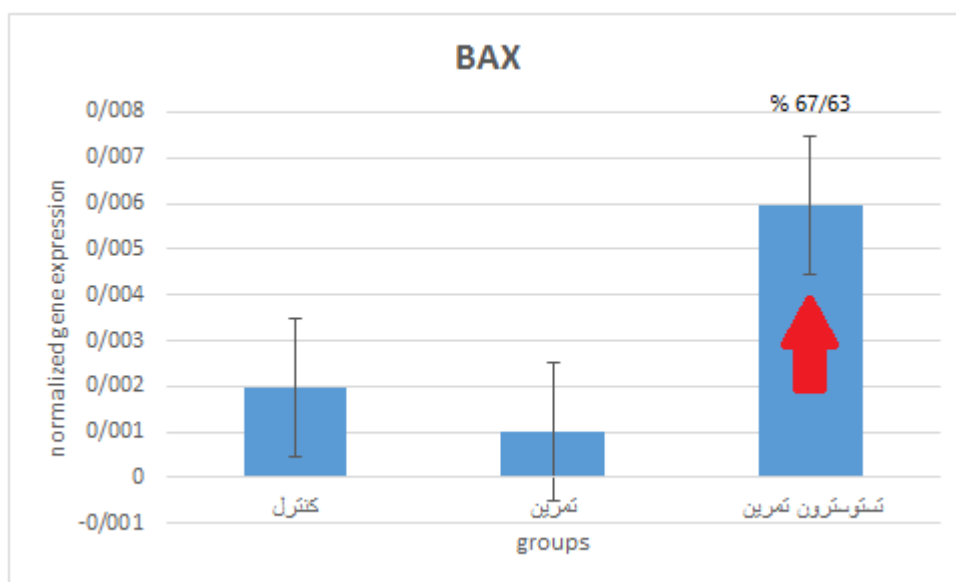
1. Ketamine
2. Xylazine

نتایج

بر اساس نتایج حاصل از آزمون آماری آنالیز واریانس یک-طرف $p=0/01$ نشان از تغییرات معنی‌دار بین گروه‌های پژوهش می‌باشد. بررسی میانگین‌ها نشان می‌دهد که بیشترین سطوح بیان ژن BAX مربوط به گروه تستوسترون تمرین و کمترین سطوح آن متعلق به گروه تمرین بود. هشت هفته تمرین مقاومتی منجر به کاهش بیان ژن BAX بافت کبد رت‌ها نسبت به گروه کنترل شد ($p=1$). که این کاهش معنی‌دار نبود. استفاده از تستوسترون در رت‌های تمرین کرده بیان ژن BAX بافت کبد را به ترتیب نسبت به گروه تمرین ($p=0/000$) و گروه کنترل ($p=0/05$) افزایش معنی‌داری داد.

BioFACT™ 5X RT Pre-Mix, w/o dye, total volume 20µl reactions

روش تجزیه و تحلیل داده‌ها: جهت طبقه‌بندی داده‌های حاصل از این پژوهش، از آمار توصیفی استفاده شد. جهت تعیین نرمال بودن توزیع داده‌ها از آزمون شاپیروویلیک استفاده گردید. جهت تعیین معنادار بودن تفاوت بین متغیرها و تعامل بین آنها از تحلیل واریانس یک طرفه و در صورت معنی‌دار بودن داده‌ها برای تعیین محل تفاوت از آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. یافته‌ها در سطح اطمینان ۹۵ درصد ($P \leq 0/05$) بررسی شدند و برای تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها نیز از نرم افزار IBM SPSS Statistics نسخه ۲۰ استفاده گردید. تمامی داده‌ها به صورت میانگین \pm انحراف معیار ارائه شدند.



بحث

در پژوهش حاضر تزریق تستوسترون منجر به افزایش معنی‌دار بیان ژن BAX کبد رت‌های ماده شد، هم‌چنین بیان ژن BCL-2 بافت کبد در اثر مصرف تستوسترون کاهش یافت که این کاهش معنی‌دار نبود. که این نشان می‌دهد مصرف تستوسترون آپوپتوز را در سلول‌های کبد موش‌های تمرین کرده مقاومتی ایجاد می‌کند. هم‌چنین در اثر اجرای تمرین مقاومتی محتوای ژن BAX بافت کبد موش‌ها کاهش و BCL-2 افزایش داشت که هیچ‌کدام تغییرات معنی‌داری نبودند.

بر اساس نتایج حاصل از آزمون آماری آنالیز واریانس یک-طرف $p=0/061$ نشان از عدم تغییرات معنی‌دار بین گروه‌های پژوهش می‌باشد. بررسی میانگین‌ها نشان می‌دهد که بیشترین سطوح بیان ژن BCL-2 مربوط به گروه تمرین و کمترین سطوح آن متعلق به گروه تستوسترون-تمرین بود. هشت هفته تمرین مقاومتی منجر به افزایش بیان ژن BCL-2 بافت کبد رت‌ها نسبت به گروه کنترل شد. که این کاهش معنی‌دار نبود. استفاده از تستوسترون در رت‌های تمرین کرده بیان ژن BCL-2 بافت کبد را نسبت به گروه کنترل و تمرین افزایش داد که معنی‌دار نبودند.

است دلیلی بر افزایش التهاب و بروز بیماری‌های مختلف کبد باشد.

هم‌چنین، تمرین ورزشی در رت‌های دیابتی از طریق فسفوریلاسیون Akt، مقاومت به انسولین را در آن‌ها کاهش می‌دهد و باعث بهبود شکل‌پذیری سیناپسی می‌گردد (۲۳). مشخص شده است که فعال‌سازی پروتئین کیناز B در نتیجه تمرینات ورزشی، باعث کاهش استرس اکسایشی و نتیجه کاهش مرگ آپوپتوزی نورون‌ها می‌گردد (۲۴).

مهار تقسیم Bcl-2 ممکن است به بیشتر فعال شدن کاسپازها پایین دست و در افزایش آبخار کاسپاز همکاری کند. افزایش جهش مقاوم در برابر تقسیم Bcl-2 برای حفاظت از بازگیری اینترلوکین-۳ و آپوپتوز مکرر ناشی از بیماری می‌باشد. بنابراین تقسیم Bcl-2 توسط کاسپازها از مرگ سلولی اجتناب‌ناپذیر ممکن است، مراقبت کند (۲۵). Bcl-2 یک تنظیم‌کننده برنامه فعال‌سازی کاسپاز مستقل از سیتوکروم c, Apaf-1, کاسپاز-۹، آپوپتوزوم می‌باشد که به‌نظر می‌رسد برای تقویت سریع‌تر نسبت به آغاز آبخار کاسپاز است (۲۶). وقتی عوامل بالا دستی کاسپازها تعدیل‌گردند، مسلماً بیان و تولید کاسپازها که افکتورهای نهایی آپوپتوز هستند نیز دست‌خوش تغییر قرار می‌گیرند. لذا تغییر سطوح کاسپازها با فعالیت مقاومتی، پذیرفتنی می‌باشد.

هم‌چنین همان‌گونه که در این تحقیقات به آن اشاره شد فعالیت بدنی از طریق تغییرات در مسیرهای سیگنالینگ مختلف از جمله افزایش iNOS – NO – cGMP-Mcl-1، HSP، SOD، SIRT1، PGC1- α ، فعال شدن پروتئین BCL-2، PI3K، کاهش ROS، Fas، BAX، انتشار سیتوکروم C و هم‌چنین تغییر در مسیر فعالیت کاسپازها باعث کند شدن روند آپوپتوز ناشی از عوامل مختلف می‌شود، در نتیجه می‌توان انتظار داشت که فعالیت مقاومتی فرایند آپوپتوز را کاهش دهد. در مقابل این نتایج دسته‌ای از تحقیقات فعالیت بدنی را عاملی بر افزایش روند آپوپتوز معرفی می‌کنند. به عنوان مثال سندری و همکارانش (۲۷) بر این باور هستند که فعالیت بدنی باعث افزایش میزان قطعه قطعه شدن DNA و

پژوهشی که تغییرات ژن‌های درگیر در آپوپتوز بافت کبد را در اثر مصرف تستوسترون بررسی کرده باشد یافت نشد. با این وجود، سادوسکا و همکاران (۲۰۲۰) طی پژوهشی نشان دادند که مکمل تستوسترون باعث افزایش استرس کبدی و تغییر تعادل پروکسیدان/آنتی‌اکسیدان کبدی در موش‌های صحرایی نوجوان می‌شود. این تغییرات با افزایش فعالیت ALT، AST، GGT و ALP، بدتر شدن نیمرخ لیپیدی خون، کاهش فعالیت‌های SOD و CAT و محتوای GSH کبدی همراه بود (۱). افزایش ALT، AST، GGT و ALP، سرم، نشانگرهای شناخته شده سمیت کبدی ناشی از استروئیدهای آنابولیک هستند (۱۷، ۱۸، ۱۹، ۲۰).

با توجه به اینکه افزایش استرس اکسیداتیو و برهم خوردن تعادل پرواکسیدان/آنتی‌اکسیدان در پژوهش‌های پیشین در اثر مصرف تستوسترون به اثبات رسید، افزایش آپوپتوز سلول‌های کبدی ناشی از مصرف تستوسترون ممکن است ناشی از افزایش استرس اکسیداتیو باشد، که می‌تواند زمینه‌ساز بیماری‌های کبدی باشد. از دیگر نتایج پژوهش حاضر افزایش ژن ضد آپوپتوز Bcl-2 و کاهش ژن آپوپتوزی BAX در موش‌های صحرایی ماده در اثر اجرای تمرین مقاومتی بود، که این تغییرات معنی‌دار نبود. کواک و همکاران نیز اظهار کردند که فعالیت ورزشی سطوح افزایش یافته Bax/Bcl-2 در بافت قلبی رت‌های پیر را به واسطه کاهش بیان پروتئین Bax و افزایش سطوح Bcl-2 قلبی کاهش می‌دهد (۲۱) که این مسئله تأیید دیگری بر نقش حمایتی فعالیت ورزشی از طریق کاهش روند آپوپتوز در بافت‌های بدن است. در شرایط بیماری که با افزایش شاخص‌های التهابی همراه است، در درازمدت باعث تغییرات لایه داخلی عروق، افزایش میزان کلاژن و کلسیم، ظهور لیوپروتئین‌های آتروژنیک، افزایش استرس اکسیداتیو، افزایش آسیب سلولی و کاهش فعالیت بافت‌ها می‌شود (۲۲). هم‌چنین افزایش نسبت Bax/Bcl2 ممکن است نفوذپذیری منافذ غشاء میتوکندریایی را افزایش دهد و با فعال‌سازی کاسپاز ۳ منجر به التهاب کبد شود (۵). در پژوهش حاضر نیز مصرف تستوسترون منجر به افزایش نسبت Bax/Bcl2 بافت کبد موش‌های صحرایی ماده شد که ممکن

مصرف تستوسترون در رت‌های تمرین کرده مقاومتی منجر به افزایش نسبت Bax/Bcl-2 بافت کبد شد. که می‌توان اذهان داشت که مصرف تستوسترون آپوپتوز را در سلول‌های کبد ایجاد می‌کند، که ممکن است از این طریق سبب بروز بیماری‌های کبدی در موش‌های صحرایی تمرین کرده مقاومتی شود.

افزایش فرایند آپوپتوز می‌شود. همسو با این تحقیقات، کوآن (۲۸) معتقد است تمرین هوازی باعث کاهش سطح BCL-2 و افزایش مسیر Fas در عضلات اسکلتی خواهد شد. آن‌ها هم-چنین معتقدند فعالیت میزان SOD را نیز کاهش می‌دهد در نتیجه مقاومت در برابر رادیکال‌های آزاد نیز کاهش می‌یابد. شاید بتوان دلیل منطقی برای این تضاد نتایج تحقیقات را در متفاوت بودن شدت تمرین، مدت تمرین و نوع تمرین بدنی دنبال کرد.

نتیجه گیری

References

- Sadowska-Krępa E, Kłapcińska B, Nowara A, Jagsz S, Szoltysek-Boldys I, Chalimoniuk M, Langfort J, Chrapusta SJ. 2020. High-dose testosterone supplementation disturbs liver pro-oxidant/antioxidant balance and function in adolescent male Wistar rats undergoing moderate-intensity endurance training. *PeerJ* 8:e10228.
- Karbasi S, Zaeemi M, Mohri M, Rashidlamir A, Moosavi Z. Effects of testosterone enanthate and resistance training on myocardium in Wistar rats; clinical and anatomical pathology. *Andrologia*. 2017;e12908.
- Farzanegi P, Habibian M, Alinejad A. The Combined Effect of Regular Aerobic Exercise with Garlic Extract on Renal Apoptosis Regulatory Factors in Aged rats with Chronic Kidney Disease. *Arak Medical University Journal (AMUJ)* 2016; 19(108): 62-70.
- Sadighi A, Abdi A, Azarbayjani MA, Barari AR. Effect of aerobic exercise on some factors of cardiac apoptosis in male rats. *Journal of Kashan University of Medical Sciences*, December, 2019; Vol. 23, No5, Pages 495-502.
- Shayesteh Rad F, Farzanegi P, Habibian M, Alinejad A. The effect of regular swimming training and garlic extract on apoptosis of liver cells in doxorubicin-induced aging rat. *Daneshvar Medicine. Scientific-Research Journal of Shahed University* 24th Year, No.129 June- July 2017.
- 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.
- 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.
- Abd El Nasser AM. Local steroid injection for management of different types of acute idiopathic orbital inflammation: an 8-year study. *Ophthalmic Plastic & Reconstructive Surgery*. 2013; 29(4): 286-9.
- Nieschlag E, Nieschlag S. The medical and cultural history of testosterone and the testes. *Testosterone: Action, Deficiency, Substitution*. 2012; 4: 1-14.
- Bhasin S, Cunningham GR, Hayes FJ, Matsumoto AM, Snyder PJ, Swerdloff RS, et al. Testosterone therapy in men with androgen deficiency syndromes: an endocrine society clinical practice guideline. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2010; 95(6): 2536-59.
- N K. Anabolic Steroids and Nutritional Supplements In Sports 2011:120-40.
- Herbert, M. E., Roy, R. R., & Edgerton, V. R. (1988). Influence of one-week hind limb suspension and intermittent high load exercise on rat muscle. *Experimental Neurology*, 102(2), 190–198.
- Turillazzi E, Perilli G, Di Paolo M, Neri M, Riezzo I, Fineschi V. Side effects of AAS abuse: an overview. *Mini Reviews in Medicinal Chemistry*. 2011; 11(5): 374-89.
- Dehbashi M, Rashidlamir A, Mousavi Z, Atarzadeh Hoseini SR, Zaeimi M. Effects of eight weeks testosterone enanthate administration and resistance training on liver enzyme profile in male rats. *Sabzevar University of Medical Sciences*, June and July 2017, Volume 52, Number 2.
- Gorzi A., Rajabi H., Qarakanlu R., Dehkoda M., Hedayati M. The effect of eight weeks of resistance training on total acetylcholinesterase activity and type A12 in the horseshoe muscles of rats. *Research in Sports Medicine and Technology*. 1396; 13 (7): 20-7.
- El-hanbuli HM, Abo-sief AF, Mostafa T. Protective effect of silymarin on the testes of rats treated with anabolic androgenic steroid: A biochemical, histological, histochemical and immune histochemical study. *Journal of Histology & Histopathology*. 2017;4(1):10.

17. Sadowska-Krępa E, Kłapcińska B, Jagsz S, Nowara A, Szołtysek-Bołdys I, Chalimoniuk M, Langfort J, Chrapusta SJ. 2017. High-dose testosterone enanthate supplementation boosts oxidative stress, but exerts little effect on the antioxidant barrier in sedentary adolescent male rat liver. *Pharmacological Reports* 69:673–678.
18. Urhausen A, Torsten A, Wilfried K. 2003. Reversibility of the effects on blood cells, lipids, liver function and hormones in former anabolic-androgenic steroid abusers. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology* 84:369–375.
19. Ozer J, Ratner M, Shaw M, Bailey W, Schomaker S. 2008. The current state of serum biomarkers of hepatotoxicity. *Toxicology* 245:194–205.
20. Singh A, Bhat TK, Sharma OP. 2011. Clinical biochemistry of hepatotoxicity. *J Clin Toxicol* 54:001.
21. Song W, Kwak H-B, Lawler JM. Exercise training attenuates age-induced changes in apoptotic signaling in rat skeletal muscle. *Antioxidants & redox signaling*. 2006; 8(3-4):517-28.
22. Schlondorff DO. Overview of factors contributing to the pathophysiology of progressive renal disease. *Kidney international*. 2008; 74(7):860-6.
23. Aguiar AS, Castro AA, Moreira EL, Caser V, Santos AR, Tasca CI, et al. Short bouts of mild intensity physical exercise improve spatial learning and memory in aging rats involvement of hippocampal plasticity via AKT, CREB and BDNF signaling. *Mech Age Dev* 2011; 132:560-7
24. Kim YA, Kim YS, Oh SL, Kim HJ, Song W. Autophagic response to exercise training in skeletal muscle with age. *Journal of physiology and biochemistry* 2013; 69(4):697-705.
25. Mirakhori Z, Kordi M, Alizadeh SH, Ghani AA, et al. The investigation of the Preventive and Therapeutic Therapy Assistance on the Growth Rate of the Tumor, E2 and expression of 206-miR and ER α tumor tissue of breast cancer. *Journal of Applied exercise Physiology* 2016; 11: 87-98.
26. Rodríguez-Berriguete G, Galvis L, Fraile Bde Bethencourt FR, Martínez-Onsurbe P, Olmedilla G, Paniagua R, et al. Immunoreactivity to caspase-3, caspase-7, caspase-8, and caspase-9 forms is frequently lost in human prostate tumors. *HistoPathol* 2012; 43(2): 229-37
27. El-Sayed, Eman M., et al. "Cardioprotective effects of Curcuma longa L. extracts against doxorubicin-induced cardiotoxicity in rats." *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(17) (2011): 4049-4058.
28. Sandri, Marco, et al. "Apoptosis, DNA damage and ubiquitin expression in normal and mdx muscle fibers after exercise." *FEBS letters* 373, no. 3 (1995): 291-295.

Original Article

The effect of eight weeks of resistance training and testosterone enanthate consumption on the expression of BAX and BCL-2 genes in liver tissue of female rats

Received:09/06/2020 –Accept:06/10/2020

Akram Azhande¹
Yaser Kazemzade²
Ali Gorzi³
Valiollah Shahedi⁴

¹Ph.D. student, Department of Exercise Physiology, Islamshahr Branch, Islamic Azad University, Islamshahr, Iran

²Assistant Professor, Department of Exercise Physiology, Islamshahr Branch, Islamic Azad University, Islamshahr, Iran (Corresponding Author)

³Associate Professor, Department of Exercise Physiology, university of zanzan, Zanzan, Iran

⁴Assistant Professor, Department of Exercise Physiology, Parand Branch, Islamic Azad University, Parand, Iran

Email: Azhandehnegar@gmail.com

Abstract

Introduction: Anabolic-androgenic steroids are often used by athletes as an anabolic drug to improve athletic performance. The aim of this study was the effect of eight weeks of resistance training and testosterone enanthate consumption on the expression of BAX and BCL-2 genes in liver tissue of female rats.

Materials and Methods: In this experimental study, 24 female mice aged 8 weeks and weighing 200 g were prepared from Institut Pasteur (Iran). Mice were randomly divided into 3 groups after 1 week of introduction: 1) control group (n = 8), 2) exercise group (n = 8) and 3) testosterone + exercise group (n = 8). Eight-week resistance training protocol (24-step ladder with weights), five days of training per week with two days of rest per week, in which weights were 40% of female rats' body weight in the first week and 20% of body weight was added every week and two sessions per week. Weighing was performed. The mice in the testosterone group were then injected with a steroid (testosterone enanthate at a dose of 20 mg three times a week). Sampling was performed on all animals with completely similar conditions, followed by 12 to 14 hours of fasting and 72 hours after the last training session and testosterone injection. Laboratory analysis of BAX and BCL-2 gene levels of liver tissue was determined using special commercial kits by real-time PCR.

Results: Testosterone injection resulted in a significant increase in the expression of liver BAX gene in resistant female rats. Also, the expression of BCL-2 gene in liver tissue decreased due to testosterone consumption, which was not significant.

Conclusion: It can be thought that testosterone consumption causes apoptosis in liver cells, which may lead to liver disease in resistance-trained rats.

Key words: Resistance training, Testosterone Enanthate, Apoptosis, Liver damage

Acknowledgement: There is no conflict of interest.