

## تأثیر مصرف پروپولیس و کاسنی در طی هشت هفته تمرین مقاومتی بر برخی شاخص‌های آپوپتوزی بافت کبد موش‌های ماده مصرف کننده تستوسترون انانتات

تاریخ دریافت: ۹۹/۰۸/۲۷- تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۱/۲۵

### خلاصه

**مقدمه:** داروهای استروئیدی، در میان جوانان به‌ویژه در بین ورزشکاران با هدف تقویت ماهیچه‌ها و بالابردن توانایی جسمی شیوع پیدا کرده است، هدف از پژوهش حاضر تأثیر مصرف پروپولیس و کاسنی در طی هشت هفته تمرین مقاومتی بر برخی شاخص‌های آپوپتوزی بافت کبد موش‌های ماده مصرف کننده تستوسترون انانتات بود.

**روش کار:** در این مطالعه تجربی، ۴۰ سر موش ماده با سن ۸ هفته و وزن ۲۰۰ گرم از انستیتو پاستور (ایران) تهیه شد. موش‌ها پس از یک هفته آشنا سازی به‌طور تصادفی به ۵ گروه، (۱) گروه کنترل (n=8)، (۲) گروه تمرین (n=8)، (۳) گروه تستوسترون+تمرین (n=8)، (۴) گروه تستوسترون+تمرین+پروپولیس (n=8) و (۵) گروه تستوسترون+تمرین+کاسنی (n=8) تقسیم شدند. پروتکل هشت هفته‌ای تمرین مقاومتی (نردبان ۲۴ پله با وزنه)، پنج روز تمرین در هفته با دو روز استراحت در هفته که در آن وزنه‌ها، هفته‌ی اول ۴۰ درصد وزن بدن موش‌های ماده بود و هر هفته ۲۰ درصد وزن بدن اضافه شد و دو جلسه در هفته وزن کشی انجام شد. و بعد به موش‌های گروه تستوسترون، تزریق استروئید (تستوسترون انانتات با دوز ۲۰ میلی‌گرم) سه بار در هفته و مصرف پاک‌کننده‌ها، پروپولیس (۴۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم از وزن بدن) به شکل گاوآذ و کاسنی (۶گرم به ازای هر کیلو از وزن بدن) به شکل تزریق سه بار در هفته انجام شد.

**نتایج:** تزریق تستوسترون منجر به افزایش معنی‌دار بیان ژن BAX کبد رت‌های ماده تمرین‌کرده مقاومتی شد، هم‌چنین بیان ژن BCL-2 بافت کبد در اثر مصرف تستوسترون کاهش یافت که این کاهش معنی‌دار نبود، مصرف کاسنی و پروپولیس بیان ژن BAX بافت کبد را کاهش معنی‌دار و بیان ژن BCL-2 بافت کبد را افزایش داد که این افزایش از نظر آماری 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 صحرائی تمرین‌کرده مقاومتی شود، که مصرف پاک‌کننده‌ها (کاسنی و پروپولیس) با کاهش BAX و افزایش BCL-2 بافت کبد و به نوعی مهار آپوپتوز ممکن است نقش محافظتی داشته باشد.

**کلمات کلیدی:** تمرینات مقاومتی، تستوسترون انانتات، آپوپتوز، پروپولیس، کاسنی

اکرم آژنده<sup>۱</sup>

یاسر کاظم‌زاده<sup>۲\*</sup>

علی گزری<sup>۳</sup>

ولی‌الله شاهی<sup>۴</sup>

<sup>۱</sup> دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت‌بدنی و

علوم ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد اسلام‌شهر

<sup>۲</sup> استادیار، عضو هیأت علمی دانشکده تربیت‌بدنی و علوم

ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد اسلام‌شهر

<sup>۳</sup> دانشیار فیزیولوژی ورزش و عضو هیأت علمی دانشگاه

زنجان

<sup>۴</sup> استادیار، هیأت علمی گروه تربیت‌بدنی و علوم ورزشی دانشگاه

آزاد اسلامی واحد پرنده

Email: yaser.kazemzadeh@yahoo.com

## مقدمه

تمرین مقاومتی یک روش مؤثر برای افزایش قدرت عضلانی است که اغلب جهت آمادگی عمومی، آماده‌سازی ورزشکاران، بازتوانی و جلوگیری از صدمات ارتوپدیک یا عضلانی پیشنهاد می‌شود (۱). تمرینات مقاومتی، ضمن افزایش توده عضلانی و ایجاد استایل بدنی مناسب، موجب افزایش حساسیت انسولینی، افزایش هزینه کرد انرژی و بهبود کیفیت زندگی می‌شود. هم‌چنین تمرینات مقاومتی در دراز مدت می‌تواند سطوح ژن‌های آپوتوزی را کاهش دهد (۲).

آپوتوزیس یک شکل تنظیمی پیشرفته از مرگ سلول توسط وقایع ویژه بیوشیمیایی و مولکولی است و تحت هر دو شرایط فیزیولوژیکی طبیعی و اختلالات فیزیولوژیکی رخ می‌دهد (۳). هم‌چنین آپوتوزیس نقشی حیاتی در حذف سلول‌های بی‌مصرف و قویاً خطرناک، مانند سلول‌های تومور و سلول‌های آلوده شده با ویروس بازی می‌کند (۴). اعضای خانواده Bcl-2؛ مانند خود Bcl-2 (پروتئین ضد آپوتوتیک) و پروتئین پرو آپوتوتیک Bax به‌طور قوی در تنظیم منافذ نفوذپذیری میتوکندریایی نقش دارند (۵). مطالعات متعددی نقش تمرینات بدنی در تنظیم شاخص‌های آپوتوز در بافت کلیه (۴)، قلب (۵) و کبد (۳) نشان داده‌اند.

داروهای استروئیدی، در میان جوانان به‌ویژه در بین ورزشکاران با هدف تقویت ماهیچه‌ها و بالابردن توانایی جسمی شیوع پیدا کرده است (۲). این داروها در بدن دارای دو اثر آندروژنی و آنابولیکی می‌باشند و ورزشکاران به‌دلیل اثر آنابولیکی آن‌ها، جهت بهبود و پیشرفت کارآیی ورزشی خود از آن‌ها استفاده می‌کنند (۶). تستوسترون انانتات یکی از این داروهاست که به‌دلیل طولانی اثر بودنش نسبت به سایر ترکیبات آندروژنی مثل تستوسترون پروپیونات، بیشتر مصرف می‌شود (۷). 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 فعال‌شدن سنتز یک یا چند پروتئین می‌شود (۸). سادوسکا-کریا<sup>۳</sup> 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 تمرین کرده مقاومتی را گزارش کردند (۹).

پدیده شوم دوپینگ<sup>۴</sup> و استفاده از استروئیدهای آنابولیک در میان ورزشکاران، علاوه بر آنکه روحیه جوانمردی در ورزش را کمرنگ نموده است، اثرات مخرب و جبران‌ناپذیری بر سلامت استفاده‌کنندگان گذاشته است. تلاش‌های دانشمندان و متخصصین حوزه فیزیولوژی ورزشی و بهداشت برای نشان دادن اثرات سوء و خطرناک استفاده از این مکمل‌ها در طی دهه‌های اخیر نتوانسته است ورزشکاران را متقاعد به استفاده نکردن از این داروها نماید (۱۰). اخیراً تلاش‌هایی برای یافتن راه‌حلی برای کم کردن عوارض این مواد آگروژنی آغاز شده و رویکرد استفاده از گیاهان دارویی و یا محصولات طبیعی دیگر برای تعدیل این خطرات در دستور کار پژوهشگران قرار گرفته است.

پروپولیس<sup>۵</sup> (چسب زنبورعسل) یک ماده تاریک رنگی است که زنبورعسل از گیاهان زنده جمع‌آوری می‌کند، با موم ترکیب شده و در ساخت‌وساز و تطبیق لانه‌هایش استفاده می‌کند و ساختارهای شیمیایی پروپولیس حاوی ترکیبات بیولوژیکی ارزشمندی است (۱۱). در تعدادی از مطالعات شواهدی وجود دارد مبنی بر اینکه پروپولیس دارای خواص قوی ضد تشنج، ضد تومور، آنتی‌اکسیدکننده، ضد میکروبی و ضدالتهابی است (۱۴-۱۲). پروپولیس تأثیراتی آنتی‌اکسیدانی بر بافت‌های کبد و کلیه و کاهش و مهار سلول‌های آپوتوزی مغزی دارد (۱۵).

از مواد پاک‌کننده‌ی دیگر کاسنی<sup>۷</sup> است، کاسنی گیاهی از راسته‌ی گل‌مینا که از جمله پاک‌کننده‌هایی است که

<sup>4</sup>. Doping

<sup>5</sup>. Propolis

<sup>6</sup>. Apoptosis

<sup>7</sup>. Cichorium intybus

<sup>1</sup> B-cell lymphoma<sup>۲</sup>

<sup>2</sup> Bcl-2-associated protein x

<sup>3</sup> Sadowska-Krępa

خواص آنتی‌اکسیدانی<sup>۸</sup> دارد و در برخی بیماری‌های پزشکی مانند یبوست، اسهال، سرطان، بیماری‌های قلبی عروقی، از دست دادن اشتها و غیره کمک می‌گیرند. در پژوهش‌های متعددی به اثرات پاک‌کنندگی آن در برابر استروئیدها در بافت کبد، کلیه و البته درمان بیماری قلبی اشاره شده است (۱۶).

در پژوهشی که ناصری و همکاران انجام دادند اشاره کرده است به خواص آنتی‌اکسیدانی کاسنی در کتاب پزشک ایرانی، رازی که از این گیاه برای پاک‌سازی کانال‌های کبدی و البته التهاب معده و پاک‌سازی دستگاه ادراری استفاده می‌شده است (۱۷). از اثرات مثبت کاسنی در سمیت و آسیب کبدی ناشی از استروئیدها منبع مؤثقی در دسترس نیست و پژوهشی در این زمینه انجام نشده است. اما در پژوهشی اثرات مثبت و حفاظتی کاسنی بر سمیت کبدی ناشی از کرین ترا کلراید<sup>۹</sup> نشان داده شده است (۱۸).

بیشتر پژوهش‌هایی که در این زمینه انجام شده اند به اثر یک نوع عصاره یا مکمل گیاهی پرداخته اند و پژوهش‌های انجام شده بر شاخص‌های آپوپتوزی در نتیجه تمرین و هر دو نوع عصاره یافت نشد بنابراین با توجه به موارد مطروحه و آثار مخربی که ممکن است استفاده از استروئیدهای آنابولیک بر بافت کبد داشته باشد و هم‌چنین اثرات آنتی‌اکسیدانی و پاک‌کنندگی کاسنی و پروپولیس این پژوهش با هدف بررسی اثر مصرف پروپولیس و کاسنی در طی هشت هفته تمرین مقاومتی بر برخی شاخص‌های آپوپتوزی بافت کبد موش‌های ماده مصرف کننده تستوسترون انانات پرداخت.

## مواد و روش

نمونه‌های پژوهش حاضر را موش‌های آزمایشگاهی نژاد ویستار تشکیل دادند. با توجه به این که آزمودنی‌ها

در آزمایشگاه به لحاظ بسیاری از متغیرها تحت کنترل بودند، از این رو پژوهش حاضر از نوع تجربی و کاربردی با طرح پس‌آزمون همراه با گروه کنترل می‌باشد.

**جامعه و نمونه آماری:** به‌منظور اجرای پژوهش ۴۰ 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 ۵ گروه ذیل قرار گرفتند:

- ۱- گروه کنترل (n= 8)
- ۲- گروه تمرین (n= 8)
- ۳- گروه تستوسترون+تمرین (n= 8)
- ۴- گروه تستوسترون+تمرین+پروپولیس (n= 8)
- ۵- گروه تستوسترون+تمرین+کاسنی (n= 8)

## محیط پژوهش و تغذیه آزمودنی‌ها:

حیوانات به آزمایشگاه، آزمودنی‌ها در طی مراحل پژوهش در قفس‌های پلی‌کربنات شفاف به ابعاد ۳۰\*۱۵\*۱۵ سانتی‌متر ساخت شرکت رازی راد، با دمای محیط ۲۰±۲ درجه سانتی‌گراد و رطوبت ۵۰±۵ درصد به‌همراه تهویه مناسب نگهداری شدند. غذای مورد نیاز آن‌ها که از شرکت خوراک دام به‌پرور کرج به‌صورت پلت تهیه و آب مورد نیاز آن‌ها به‌صورت آزاد در بطری ۵۰۰ میلی‌لیتری ویژه حیوانات آزمایشگاهی در اختیار آنان قرار گرفت.

## پروتکل تمرین:

پروتکل هشت هفته‌ای تمرین مقاومتی (۱۹) (نردبان ۲۴ پله با وزنه)، پنج روز تمرین در هفته با دو روز استراحت در هفته که در آن وزنه‌ها، هفته‌ی اول ۴۰ درصد وزن بدن موش‌های ماده بود و هر هفته ۲۰ درصد وزن بدن اضافه شد و دو جلسه در هفته وزن‌کشی انجام شد (جدول ۱).

<sup>۲</sup>. Carbon tetrachloride

<sup>۸</sup>. Antioxidant

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	۷۰-۸۰	۱۰۰	۱۲۰-۱۳۰	-۱۵۰	-۱۷۵	۱۸۰-۱۹۰	۲۰۰
(درصد وزن بدن)					۱۴۰	۱۷۰		

BioFACT™2X Real-Time PCR Master Mix (h) (final 2.5mM MgCl<sub>2</sub>), including SYBR® Green I in mixture, w/o Rox reference dye

#### کیت سنتز *xDNA*

Cat. No. (BR441-096)

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 معنی دار 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.

#### نتایج

نتایج تحلیل واریانس یک طرفه بر سطوح BAX گروه‌های مختلف پژوهش نشان‌دهنده آن است که؛ ارزش F محاسبه شده (۷/۶۱۹) و معنی داری آن در سطح  $p = 0/001$  حاکی از وجود تفاوت معنی داری بین سطوح BAX در گروه‌های مختلف پژوهش است (جدول ۲).

#### نحوه مصرف تستوسترون انانتات، کاسنی و پروپولیس:

تزریق استروئید (تستوسترون انانتات با دوز ۲۰ میلی گرم) (۲۰) (سه بار در هفته) و مصرف پاک‌کننده‌ها، پروپولیس (۴۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم از وزن بدن) به شکل گاوآژ (۱۲، ۱۵) و کاسنی (۶گرم به ازای هر کیلو از وزن بدن) به شکل تزریق سه بار در هفته انجام شد (۲۱).

#### نمونه گیری و بافت‌برداری:

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 (۱ mg/kg) و زیلازین (۳-۵ mg/kg) بی‌هوش شدند. با توجه به ۷۰ 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 تیوپ‌های 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 بافت کبد با استفاده از کیت‌های تجاری ویژه و با روش Real-time PCR تعیین شد.

#### کیت استخراج RNA

Cat. No. (DQ383-40h)

## جدول ۲. نتایج آزمون تحلیل واریانس یک طرفه سطوح BAX در گروه‌های مختلف پژوهش

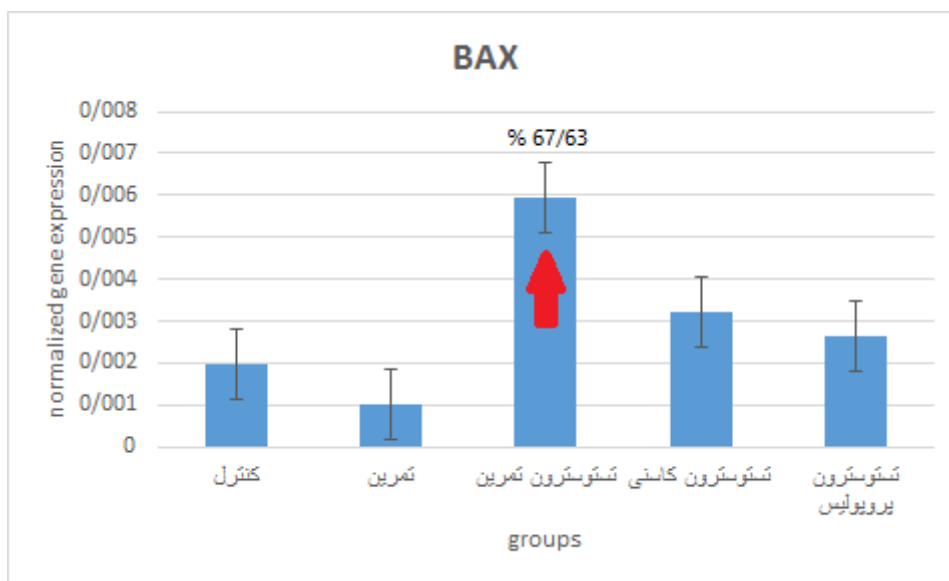
منابع تغییر	مجموع مربعات SS	درجات آزادی Df	میانگین مربعات	ارزش F	ارزش p
بین گروهی	.۰۰۰	۴	.۰۰۰	۶۱۹,۷	.۰۰۱
درون گروهی	.۰۰۰	۲۰	.۰۰۰		
جمع کل	.۰۰۰	۲۴			

در جدول ۳ نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داده شده است.

## جدول ۳. نتایج آزمون تعقیبی توکی سطوح BAX گروه‌های مختلف پژوهش

گروه	کنترل	تمرین	تستوسترون تمرین	تستوسترون کاسنی	تستوسترون پروپولیس
کنترل	---	M=.۰۰۰۹۷۶۶۴ P=1.000	M=-.۰۰۳۹۸۸۹۹* P=.۰۰۵*	M=-.۰۰۱۲۳۰۷۶ P=1.000	M=-.۰۰۰۶۵۶۱۱ P=1.000
تمرین	---	---	M=-.۰۰۴۹۶۵۶۳* P=.۰۰۰*	M=-.۰۰۲۲۰۷۴۰ P=.۳۲۲	M=-.۰۰۱۶۳۲۷۵ P=1.000
تستوسترون تمرین	---	---	---	M=.۰۰۲۷۵۸۲۳ P=.۰۹۳	M=.۰۰۳۳۳۲۸۸* P=.۰۲۴*
تستوسترون کاسنی	---	---	---	---	M=.۰۰۰۵۷۴۶۵ P=1.000
تستوسترون پروپولیس	---	---	---	---	---

\*: معنی داری اختلاف



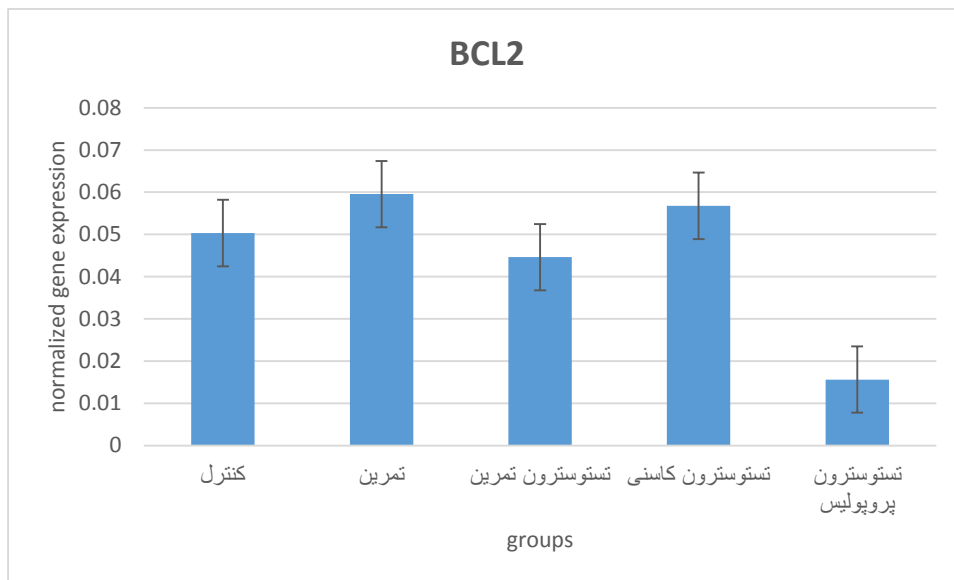
نمودار ۱. مقایسه میانگین سطوح BAX در گروه‌های مختلف پژوهش

نتایج تحلیل واریانس یک طرفه بر سطوح BCL-2 گروه‌های مختلف پژوهش؛ ارزش F محاسبه شده (۲/۶۸۸) و معنی داری آن در سطح  $p=0/061$  حاکی از آن است که تفاوت معنی داری بین سطوح BCL-2 در گروه‌های مختلف پژوهش وجود ندارد (جدول ۴ و نمودار ۲).

نتایج جدول ۳ و نمودار ۱ حاکی از آن است که در سطح اطمینان ۰/۰۵، گروه کنترل با گروه تستوسترون تمرین، گروه تمرین با گروه تستوسترون تمرین و گروه تستوسترون تمرین با گروه تستوسترون پروپولیس اختلاف معنی دار دارند.

جدول ۴. نتایج آزمون تحلیل واریانس یک طرفه سطوح BCL-2 در گروه‌های مختلف پژوهش

منابع تغییر	مجموع مربعات SS	درجات آزادی df	میانگین مربعات	ارزش F	ارزش p
بین گروهی	۰۰۶	۴	۰۰۲	۲,۶۸۸	۰۰۶۱
درون گروهی	۰۱۲	۲۰	۰۰۱		
جمع کل	۰۱۸	۲۴			



نمودار ۲. مقایسه میانگین سطوح BCL-2 در گروه‌های مختلف پژوهش

### بحث و نتیجه‌گیری

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 معنی داری نبودند. مصرف کاسنی و پروپولیس

در پژوهش حاضر تزریق تستوسترون منجر به افزایش معنی دار بیان ژن BAX کبد رت‌های ماده شد، هم‌چنین بیان ژن BCL-2 بافت کبد در اثر مصرف تستوسترون کاهش یافت که این کاهش معنی دار نبود. که این نشان می‌دهد مصرف تستوسترون

که به‌عنوان پاک‌کننده در پژوهش به کار گرفته شد بیان ژن BAX بافت کبد را در رت‌های مصرف‌کننده تستوسترون انانتات کاهش معنی‌داری داد. هم‌چنین بیان ژن BCL-2 بافت کبد رت‌های مصرف‌کننده تستوسترون انانتات را افزایش داد که از نظر آماری معنی‌دار نبودند.

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 خون، بدتر شدن نیمیخ لیپیدی خون، کاهش فعالیت‌های SOD و CAT و محتوای GSH کبدی همراه بود (۱). 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. همچنین نشان داده شده که تمرینات مختلف با شدت و مدت متفاوت اثرات متناقضی بر بیان ژن‌های آپوپتوزی و همچنین آنزیم‌های اثرگذار بر آسیب کبد اعمال می‌کنند بنابراین اثرات عصاره‌های گیاهی بر این تغییرات حائز اهمیت می‌باشد.

تحقیقی که اثر مصرف عصاره کاسنی بر شاخص‌های آپوپتوز بافت کبد را بررسی کرده باشد یافت نشد، با این حال یوپر<sup>۱</sup> و همکاران (۲۰۰۹) با بررسی اثر عصاره کاسنی در موش‌های مبتلا به بیماری کبدی، پس از ۷ روز مصرف این عصاره، به میزان ۸۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در روز، سطوح آنزیم‌های کبدی ALT و AST کاهش پیدا کرد (۲۲). در زمینه بررسی تأثیرات محافظتی کاسنی بر سلول‌های کبدی صادقی و همکاران (۲۰۰۸) تأثیرات عصاره کاسنی را بر سلول‌های کبدی و سطوح سرمی آنزیم‌های کبدی در موش‌های مبتلا به آسیب کبدی بررسی کردند که نتایج

مطالعه آن‌ها نشان داد در اثر مصرف این ماده گیاهی، سطوح در گردش آنزیم‌های ALT و AST کاهش می‌یابد (۲۳). در مطالعه دیگری نیز مصرف عصاره کاسنی در موش‌های صحرایی نر مبتلا به بیماری کبد سلطوح آنزیم‌های کبدی را کاهش داد (۲۴). هم‌چنین عنوان شده است که گیاه کاسنی دارای تأثیرات ضداکسایشی است که بدین صورت می‌تواند تأثیرات محافظتی بر سلول‌های کبدی داشته باشد، کاسنی می‌تواند به‌دلیل داشتن اثر ضداکسایشی باعث استحکام و پایداری غشای سلول‌های کبدی و ممانعت از آسیب آن‌ها شود (۲۳). تحقیقات مختلف نشان داده‌اند که افزایش استرس اکسیداتیو می‌تواند باعث افزایش شاخص‌های آپوپتوز در بافت‌های مختلف بدن شود (۵-۳)، در این پژوهش نیز نتایج نشان داد که استفاده از تستوسترون انانتات در موش‌های تمرین کرده مقاومتی سبب افزایش بیان ژن BAX و کاهش BCL-2 شد که نشان از افزایش آپوپتوز سلول‌های کبدی دارد، و ممکن است از این طریق باعث آسیب به سلول‌های کبدی شود. درحالی که مصرف عصاره کاسنی دقیقاً این روند را معکوس نمود و با کاهش بیان ژن BAX و افزایش ژن BCL-2 بافت کبد و به نوعی باعث مهار آپوپتوز سلول‌های کبدی شد، که ممکن است از این طریق اثر محافظتی خود را اعمال نموده باشد. تأثیرات مثبت کاسنی ممکن است به‌دلیل ترکیبات پلی‌فنلی موجود در این گیاه باشد که به‌عنوان دهنده‌ی الکترون عمل کرده و اثرات آنتی‌اکسیدانی و آنتی‌پراکسیدانی را به‌همراه دارد (۲۵-۲۷). کاسنی گیاهی غنی از اینولین به‌عنوان یک پلی‌فروکتان، باعث کاهش خطر آترواسکلروز از طریق کم نمودن سنتز تری-گلیسیریدها و اسیدهای چرب در کبد شود (۲۷).

از طرفی، محتوای شیمیایی پروپولیس از صدها ترکیب، در درجه اول اجزای پلی‌فنول تشکیل شده است. از آن‌جا که محتوای پروپولیس غنی از فلاونوئیدها است، تعداد زیادی از پلی‌فنول‌ها مانند اسیدهای فنلی، استرها، آلدئیدهای فنلی و کتون‌ها وجود دارند. از دیگر اجزای موجود در ساختار پروپولیس می‌توان به این موارد اشاره کرد: روغن‌های فرار و اسیدهای معطر (۵-۱۰٪)، موم

<sup>۱۴</sup> NAME، که یک مهارکننده‌ی سنتز نیتریک اکساید می‌باشد، مشخص شد که افزایش استرس اکسیداتیو ناشی از L-NAME توسط عصاره‌ی اتانولی بره‌موم سرکوب شد. در مطالعه قبلی توسط کیسمت<sup>۵</sup> و همکاران (۳۲)، زردی انسدادی ایجاد شده در یک مدل رت و اثرات پروپولیس را مورد بررسی قرار دادند که نتایج نشان داد بره‌موم استرس اکسیداتیو در کبد و پلاسما را کاهش می‌دهد و از نظر هیستوپاتولوژی اثرات مثبت آن بر تغییرات پاتولوژیک بافت کبد مشاهده شد، که نویسندگان پیشنهاد کردند پروپولیس این کار را از طریق اثرات ضدالتهابی، آنتی‌اکسیدانی و تنظیم‌کننده‌ی سیستم ایمنی انجام می‌دهد. رمبرز<sup>۶</sup> و همکاران (۳۳) مشخص کردند که پروپولیس آسیب کبدی که در رت‌ها با تجویز الکل آلیل ایجاد شد را کاهش داد و نتایج توسط میکروسکوپ الکترونی تأیید شد. گزارش شده است که اثر بره‌موم با دوز به کارگیری ارتباط دارد، ضروری بود که استفاده از بره‌موم ۳۰ دقیقه قبل از الکل باشد و این اثر به خواص آنتی‌اکسیدانی پروپولیس مرتبط بود. ژائو<sup>۷</sup> و همکاران (۳۴) پتانسیل آنتی‌اکسیدانی پروپولیس و اثر محافظت‌ش در برابر استرس اکسیداتیو ناشی از جیوه را مورد بررسی قرار دادند. نتایج این مطالعه نشان داد که بره‌موم با دوز ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم باعث افزایش مقاومت آنتی‌اکسیدانی در برابر استرس اکسیداتیو ناشی از جیوه می‌شود، بنابراین، یک اثر درمانی بالقوه به‌عنوان یک ماده محافظ کبدی برای پروپولیس متصور می‌باشد. در مطالعه‌ی دیگری توسط باداوری<sup>۸</sup> و همکاران (۳۵)، استرس اکسیداتیو کبدی ناشی از CCl<sub>4</sub> و آسیب مرتبط با آن را مورد ارزیابی قرار دادند که نتایج مشابهی یافت شد و نتیجه‌گیری شد که عصاره‌ی بره‌موم دارای یک اثر محافظت کبدی در برابر آسیب مزمن مرتبط با CCl<sub>4</sub> توسط تنظیم فعالیت‌های دفاع آنتی-اکسیدانی می‌باشد.

با توجه به این مطالعات که اثرات محافظت کبدی، آنتی-اکسیدان و و ضدالتهابی پروپولیس را نشان می‌دهد، مطالعه حاضر

(۴۰-۳۰٪)، رزین، بلسان و دانه‌های گرده که منبع غنی از مواد ضروری هستند عناصری مانند منیزیم، نیکل، کلسیم، آهن و روی. از بین فلاونوئیدها، پینوسمبین، گالاتین و پینوبانکسین، استر اسیدهای کومائیک و کفیک، مشتقات اسید کافئوئیلینوئیک، فوروفوران لیگنان و استر استیل اسید کافئیک (CAPE) اجزایی هستند که در فعالیت‌های مختلف بره‌موم نقش به‌سزایی دارند (۲۸). از آن‌جا که ساختاری از ترکیبات پیچیده و دارویی است، مطالعات مربوط به پروپولیس نشان داده است که برخی از اجزای سازنده آن‌ها اثر مستقل و برخی دیگر دارای اثر هم‌افزایی هستند (۲۹، ۳۰). بیشتر اثرات بیولوژیکی پروپولیس با ظرفیت آنتی-اکسیدانی مرتبط است. فلاونوئیدهای موجود در بره‌موم اثر آنتی‌اکسیدانی بسیار قوی رو نشان می‌دهد. این فلاونوئیدها با توجه به اثرات مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد، در برابر پراکسیداسیون لیپید غشای سلول محافظت می‌کنند. علاوه‌براین، بره‌موم سطوح H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> و NO سلولی را کاهش می‌دهد و این اثرش یک نقش در اثر ضدالتهابی بازی می‌کند. پروپولیس بر بسیاری از مسیرهای سیگنالینگ بیوشیمیایی بدن تأثیر می‌گذارد که در اثرات ضدالتهابی و آنتی‌اکسیدانی مشاهده شده نقش مهمی را بازی می‌کند. در یک محیط آزمایشگاهی، بره‌موم پراکسیداسیون LDL، نیتراتاسیون پروتئین را مهار می‌کند، بیان eNOS را افزایش می‌دهد و آنزیم NAPDH اکسیداز را مهار می‌کند. در حالی که در مطالعات *in vivo*، کاهش در پراکسیداسیون لیپید توسط یک افزایش در ظرفیت آنتی‌اکسیدانی فراهم می‌شود. علاوه‌براین اثرات، آپوپتوز ماکروفاژ را از طریق اثر روی گلوکوتایون و مسیر TNF- $\alpha$ /NF-kB مهار می‌شود (۳۰). از آن‌جا که پروپولیس اثرات آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی قوی از طریق مکانیسم‌های ذکر شده در بالا دارد، چندین مطالعه وجود دارد که اثرات محافظت‌ش روی کبد را مورد بررسی قرار دادند. در پژوهشی توسط سلاموگلو<sup>۳</sup> و همکاران (۳۱) که بررسی نمودند اثر آنتی‌اکسیدانی پروپولیس در رت‌های اعمال شده با L-

<sup>1</sup> Ramirez 6  
<sup>1</sup> Zhao 7  
<sup>1</sup> Bhadauria 8

<sup>1</sup> Selamoglu 3  
<sup>1</sup> Nv-Nitro-Larginine methyl ester 5  
<sup>1</sup> Kismet 5



می‌شود، هم‌چنین همان‌گونه که در نتایج این پژوهش اشاره شد مصرف پاک‌کننده‌ها نظیر کاسنی و پروپولیس می‌تواند اثر محافظتی بر بافت کبد داشته باشد که ممکن است این اثر حفاظتی ناشی از کاهش آپوپتوز سلول‌های کبدی ناشی از مصرف کاسنی و پروپولیس باشد. لذا پیشنهاد می‌گردد که ورزشکاران رشته‌های مقاومتی در درجه‌ی اول از استروئیدهای آنابولیک استفاده نکنند، چنانچه اصرار بر استفاده باشد مصرف کاسنی و پروپولیس می‌تواند اثر حفاظتی بر بافت کبد داشته باشد.

### تشکر و قدردانی

این تحقیق در قالب رساله دکتری در دانشگاه آزاد اسلامی واحد اسلامشهر انجام شد. بدین‌وسیله، نویسندگان تشکر و قدردانی خود را از این واحد دانشگاهی اعلام می‌دارند.

### References

- 1- Sadowska-Krępa E, Kłapcińska B, Nowara A, Jagsz S, Szołtysek-Bołdys 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.
- 2- 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.
- 3- 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.
- 4- 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.
- 5- 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.
- 6- 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.
- 7- 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.
- 8- N K. Anabolic Steroids and Nutritional Supplements In Sports 2011:120-40.
- 9- 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.
- 10- 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.
- 11- Banskota AH, Tezuka Y, Kadota S. Recent progress in pharmacological research of propolis. *Phytotherapy research*. 2001;15(7):561-71.
- 12- Barakat LA, Tousson E, Ibrahim W, El-Hakeem AA. Role of propolis in improving hepatic and renal damage in boldenone undecylenate in male rats. *American Journal of Biological Chemistry*. 2015;3 (1):8.
- 13- Newairy A-SA, Salama AF, Hussien HM, Yousef MI. Propolis alleviates aluminium-induced lipid peroxidation and biochemical parameters in male

- rats. *Food and Chemical Toxicology*. 2009;47(6):1093-8.
- 14- Viuda-Martos M, Ruiz-Navajas Y, Fernández-López J, Pérez-Álvarez J. Functional properties of honey, propolis, and royal jelly. *Journal of food science*. 2008;73(9):R117-R24.
  - 15- Tousson E, Ibrahim W, Barakat L, Abd El-Hakeem A. Role of Propolis administration in boldenone-induced oxidative stress, Ki-67 protein alterations and toxicity in rat liver and kidney. *Int J Sci Eng Res*. 2015;6(8):660-4.
  - 16- Rouhi-Boroujeni H, Heidarian E, Rouhi-Boroujeni H, Deris F, Rafieian-Kopaei M. Medicinal plants with multiple effects on cardiovascular diseases: A systematic review. *Current pharmaceutical design*. 2017;23(7):999-1015.
  - 17- Naseri M. The school of traditional Iranian medicine: The definition, origin and advantages. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*. 2010;20.
  - 18- Khalid A, Shahid S, Khan SA, Kanwal S, Yaqoob A, Rasool ZG, Rizwan K. Antioxidant activity and hepatoprotective effect of *Cichorium intybus* (Kasni) seed extract against carbon tetrachloride-induced liver toxicity in rats. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*. 2018;17(8):1531-8.
  - 19- Gorzi A., Rajabi H., Qarakhanlu R., Dehkhoda 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.
  - 20- 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.
  - 21- Li G-Y, Zheng Y-X, Sun F-Z, Huang J, Lou M-M, Gu J-K, et al. In silico analysis and experimental validation of active compounds from *Cichorium intybus* L. ameliorating liver injury. *International journal of molecular sciences*. 2015;16(9):22190-204.
  - 22- Upur H, Amat N, Blažeković B, Talip A. Protective effect of *Cichorium glandulosum* root extract on carbon tetrachloride-induced and galactosamine-induced hepatotoxicity in mice. *Food Chem Toxicol* 2009; 47(8):2022-30.
  - 23- Sadeghi H, Reza NM, Izadpanah G, Sohaila S. Hepatoprotective effect of *Cichorium intybus* on CCl<sub>4</sub>-induced liver damage in rats. *Afr J Biochem Res* 2008; 2(6):141-4.
  - 24- Hassan HA, Yousef MI. Ameliorating effect of chicory (*Cichorium intybus* L.)- supplemented diet against nitrosamine precursors-induced liver injury and oxidative stress in male rats. *Food and Chemical Toxicology*. 2010;48(8-9):2163-9.
  - 25- Hasani A, Ansari R, Mazani A. Effect of 8 weeks of Aerobic Training and using Chicory extractive supplementation on Serum levels of ALT and AST Enzymes in women with Fatty Liver. *The Iranian Journal of Obstetrics, Gynecology and Infertility*. 2016;19(10):1-8. (In Persian).
  - 26- Lavelli V. Antioxidant activity of minimally processed red chicory (*Cichorium intybus* L.) evaluated in xanthine oxidase-, myeloperoxidase-, and diaphorase-catalyzed reactions. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2008;56(16):7194-200.
  - 27- Elmieh A, Rafizade B, Khanbabakhani H. Effect of Aerobic Interval Training and Consumption of Chicory Extract on Levels of Liver Enzymes in Obese Boys with Non-Alcoholic Fatty Liver. *Journal of Applied Exercise Physiology /Vol.15/No.30/Autumn & winter 2019*.
  - 28- S. Castaldo, F. Capasso, Propolis, an old remedy used in modern medicine, *Fitoterapia* 73 (Suppl. 1) (2002) S1–S6.
  - 29- J.M. Sforcin, Biological properties and therapeutic applications of propolis, *Phytother. Res.* 30 (2016) 894–905.
  - 30- J.B. Daleprane, D.S. Abdalla, Emerging roles of propolis: antioxidant, cardioprotective, and antiangiogenic actions, *Evid. Based Complement. Altern. Med.* 2013 (2013) 175135.
  - 31- Z.S. Selamoglu, I. Ozdemir, O. Ciftci, M.F. Gulhan, A. Savci, Antioxidant effect of ethanolic extract of propolis in liver of L-NAME treated rats, *Adv. Clin. Exp. Med.* 24 (2015) 227–232.
  - 32- K. Kismet, C. Ozcan, S. Kuru, O. Gencay et al. Does propolis have any effect on non-alcoholic fatty liver disease? *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 90 (2017) 863–871.
  - 33- D. Ramirez, R. González, S. Rodriguez, O. Ancheta, J.C. Bracho, A. Rosado, E. Rojas, M.E. Ramos, Protective effects of Propolis extract on allyl alcohol-induced liver injury in mice, *Phytomedicine* 4 (1997) 309–314.
  - 34- J.Q. Zhao, Y.F. Wen, M. Bhadauria, S.K. Nirala, A. Sharma, S. Shrivastava, S. Shukla, O.P. Agrawal, R. Mathur, Protective effects of propolis on inorganic mercury induced oxidative stress in mice, *Indian J. Exp. Biol.* 47 (2009) 264–269.
  - 35- M. Bhadauria, Propolis prevents hepatorenal injury induced by chronic exposure to carbon tetrachloride, *Evid. Based Complement. Altern. Med.* 2012 (2012) 235358.

## The effect of propolis and chicory consumption during eight weeks of resistance training on some indicators of liver tissue apoptosis in female mice consuming testosterone enanthate

Received: 17/11/2020 - Accepted: 14/04/2021

Akram Azhande<sup>1</sup>  
Yaser Kazemzade<sup>2\*</sup>  
Ali Gorzi<sup>3</sup>  
Valiollah Shahedi<sup>4</sup>

<sup>1</sup>PhD student of Islamic Azad University, Eslamshahr Branch.

<sup>2</sup>Assistant Professor, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, Islamic Azad University, Islamshahr Branch, Iran.

<sup>3</sup>Associate Professor, Department of Exercise Physiology, university of zanzan, Zanzan, Iran

<sup>4</sup>Assistant Professor, Department of Exercise Physiology, Parand Branch, Islamic Azad University, Parand New Town, Iran

Email:  
yaser.kazemzadeh@yahoo.com

### Abstract

**Introduction:** Steroid drugs have become popular among young people, especially among athletes with the aim of strengthening muscles and increasing physical fitness. The aim of this study was to investigate the effect of propolis and chicory consumption during eight weeks of resistance training on some indicators of liver tissue apoptosis in female mice consuming testosterone enanthate.

**Method:** In this experimental study, 40 female mice aged 8 weeks and weighing 200 g were prepared from Institut Pasteur (Iran). Mice were randomly divided into 5 groups after 1 week of introduction: 1) control (n = 8), 2) exercise (n = 8), 3) testosterone + exercise (n = 8), 4) testosterone + exercise + Propolis (n = 8) and 5) testosterone + exercise + chicory (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. Injection of steroids (Testosterone Enanthate at a dose of 20 mg) three times a week and the use of cleansers, propolis (400 mg per kg of body weight) in the form of gavage and chicory (6 g per kg of body weight) in the form of injections three times done per week.

**Results:** Testosterone injection resulted in a significant increase in liver BAX gene expression in trained female rats. Also, BCL-2 gene expression decreased in liver tissue due to testosterone consumption, which was not significant. Chicory and propolis significantly reduced liver tissue BAX gene expression, BCL-2 gene expression increased liver tissue, which was not statistically significant.

**Conclusion:** It can be thought that testosterone consumption causes apoptosis in liver cells, which may lead to liver disease in resistance-trained rats, which use cleansers (chicory and propolis) by lowering BAX and increasing BCL-2 liver tissue and somehow inhibit apoptosis may play a protective role.

**Keywords :** Osteoarthritis, Cardiovascular disease, Aerobic training, MSCs, Wnt/ $\beta$ -Catenin signaling.