مجله دیابت و متابولیسم ایران. بهمن و اسفند ۱۴۰۰؛ دوره ۲۱ (شماره ۶) ۳۸۹-۳۷۹

مقاله پژوهشی

تأثیر هشت هفته تمرین مقاومتی همراه با مصرف عصاره‌ی خارخاسک بر سازِکار آپوپتوز در بافت قلب موش‌های صحرایی در معرض استانوزولول

محمد درخشنده[۱]، فرزانه تقیان*[۱]، خسرو جلالی دهکردی[۱]، سید علی حسینی[۲]

چکیده

مقدمه: تجزیه و تحلیل هوش مصنوعی بر اساس مجموعه داده‌های به‌دست آمده از پایگاه دادهDisGeNET، ژن‌های مهم دخیل در فرآیند آسیب قلبی را تعیین کرد. از این‌رو، ما میل ترکیبی مولکول‌های شیمیایی و زیست فعال گیاه خارخاسک را بر روی پروتئین سیتوکروم-C محاسبه کردیم. هدف این مطالعه، تعیین اثرات هشت هفته تمرین مقاومتی همرا با مصرف عصاره‌ی خارخاسک بر سازِکار آپوپتوز در بافت قلب موش‌های صحرایی در معرض استانوزولول انجام شد.

روش ها: در این مطالعه‌ی تجربی سی و پنج موش صحرایی نر به‌صورت تصادفی به هفت گروه پنج تایی تقسیم شدند که شامل: ۱- گروه کنترل، ۲- موش‌های تحت تیمار با استانوزولول، ۳- موش‌های تحت تیمار داروی استانوزولول و داروی گیاهی خارخاسک با غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، ٤- موش‌های تحت تیمار داروی استانوزولول و داروی گیاهی خارخاسک با غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، ۵- موش‌های با تمرین مقاومتی و تحت تیمار استانوزولول، ٦- موش‌های با تمرین مقاومتی و تحت تیمار با داروی استانوزولول و داروی گیاهی خارخاسک با غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، و ۷- موش‌های صحرایی با تمرین مقاومتی و تحت تیمار با داروی استانوزولول و داروی گیاهی خارخاسک با غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم. بیان ژن‌های CRP و Cytochrome-c با تکنیک qPCR-Real Time در بافت قلب موش‌های صحرایی اندازه‌گیری شد. در تجزیه و تحلیل بیوانفورماتیک مسیر آپوپتوز به‌عنوان فرآیند بحرانی در آسیب‌های قلبی تعریف شد. همچنین، اثرات خارخاسک و استانوزولول در بافت قلب از طریق مسیر آپوپتوز با مدل‌سازی فارماکوفور و اتصال مولکولی تشخیص داده شد.

یافته‌ها: تمرینات مقاومتی همراه با مصرف عصاره‌ی خارخاسک با غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سبب کاهش میزان بیان ژن‌های CRP وcytochrome-c گردد. همچنین، مصرف میزان دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره‌ی خارخاسک می‌تواند بر روی عملکرد ورزشکاران مقاومتی اثرات مفیدی نسبت به دوز ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم داشته باشد.

نتیجه‌گیری: از سویی، با توجه به اثرات مفید خارخاسک نشان داده شد که این زیست فعال گیاهی می‌تواند خطرات قلبی را از طریق بهبود آپوپتوزومی و التهاب کاهش دهد.

واژگان کلیدی: تمرینات ورزشی مقاومتی، خارخاسک، آپوپتوز، بافت قلب، استانوزولول

۱- گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده‌ی علوم ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد اصفهان (خوراسگان)، اصفهان، ایران
۲- گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد مرودشت، دانشگاه آزاد اسلامی، مرودشت ، ایران

***نشانی:** اصفهان، ارغوانیه، خیابان جی، بلوار دانشگاه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد اصفهان (خوراسگان)، دانشکده‌ی علوم ورزشی، تلفن: ۰۹۱۳۳۰۸۰۲٤۱، صندوق پستی: ۱۵۸/۸۱۵۹۵، پست الکترونیک:f_taghian@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۸/۱۹ **تاریخ درخواست اصلاح: ۱۴۰۰/۰۹/۲۰** **تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۰/۲۵**

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2026-03-20]

مقدمه

استروئیدهای آنابولیک-آندروژنیک [1] (AAS)، از جمله تستوسترون[2]، ناندرولون[3] و استانوزولول[4] که باعث افزایش قدرت و توده‌ی عضلانی به سبب افزایش پروتئین‌های سلولی می‌شوند، در بروز صفات ثانویه جنسی در آقایان نقش به‌سزایی دارند [۱]. استروئید های آنابولیک-آندروژنیک به‌عنوان رویکرد های درمانی بالقوه در بهبود پوکی استخوان و کم‌خونی آپلاستیک[5] مورد استفاده قرار می‌گیرند [۲، ۳]. با این حال، ورزشکاران و جوانان از دوزهای فوق فیزیولوژیکی AAS برای بهبود عملکرد بدن استفاده می‌کنند [٤]. مصرف AAS دارای اثرات جبران ناپذیری است که می‌تواند باعث اختلالات متابولیسم در لیپوپروتئین[6]ها، ترومبوز عروق[7]، فشار خون بالا[8]، نارسایی آریتمی[10] و مرگ ناگهانی گردد. مصرف AAS در ورزشکاران ممکن است مسیرهای مولکولی درگیر در اتساع عروق[11] مانند مسیر اکسید نیتریک[12] را مختل کند که باعث اختلال در بیان گیرنده‌های لیپوپروتئین با چگالی کم[13]،آپولیپوپروتئین‌های A-1 و B، اکسیداسیون β و همچنین سبب افزایش سطح پروتئین واکنشی سی(CRP) [14]می‌شود [۲، ۵]. مطالعات نشان داده است که، استانوزولول (ST) می‌تواند بیان گیرنده‌های غشایی را نامنظم کرده و با فعال‌سازی مسیرهای پیام‌رسان ثانویه، منجر به افزایش انتشار یون کلسیم از شبکه‌ی سارکوپلاسمی[15]، تغییر در نفوذ پذیری میتوکندری، فعال کردن پروتئین‌های آپوپتوز[16] مانند سیتوکروم C[17] و افزایش میزان التهاب در بافت قلب می‌شود، و احتمال سکته‌ی قلبی را بالا می‌برد. بر اساس این مطالعات مشخص شده است که مصرف مکمل‌های استروئیدی سبب افزایش بیان ژن‌های CRP و سیتوکروم C می‌گردد [٦، ۵].

گیاهان دارویی یک رویکرد مفید و مؤثر برای پیشگیری و درمان بیماری‌های قلبی عروقی هستند. علاوه بر این، گیاهان دارویی و ورزش می‌توانند یک راهبرد سازنده در پیشگیری و درمان در نظر گرفته شود [۷]. گیاه دارویی خارخاسک با نام علمی(Tribulus Terrestris (TT، گیاهی است غنی از آنتی اکسیدان‌ها، ساپونین‌ها، فلاونوئیدها و ترکیبات آلکالوئیدی که سبب بهبود استرس اکسیداتیو، افزایش ظرفیت آنتی اکسیدانی، کاهش آپوپتوز و التهاب می‌گردد [۸]. علاوه بر این، مطالعات زیادی نشان داده‌اند که خارخاسک می‌تواند سازکار عملکرد آنتی اکسیدان‌ها، متابولیسم چربی‌ها، التهاب و CRP را بهبود بخشیده و از سویی، مسیرهای مرگ سلولی و آسیب عصبی را در بیماری های قلبی-عروقی متوقف کند [۸، ۹]. در مطالعه‌ای در سال ۲۰۱۵ مشاهده شد که مصرف خارخاسک سبب افزایش توده‌ی عضلانی و سطح غلظت تستسترون در ورزشکاران بوکسور نشده است اما به‌صورت معنی‌داری سبب بهبود تخریب عضلانی و عملکرد بی‌هوازی این ورزشکاران شده است. از طرفی، Pokrywka و همکاران نشان داده اند که مصرف عصاره‌ی خارخاسک و انجام تمرینات ورزشی باعث افزایش سطح تستوسترون و بهبود عملکرد ورزشکاران می‌شود [۱۰]. همچنین در مطالعه‌ای دیگر توسط Delfani و همکاران در سال ۲۰۲۱ مشخص شد که مصرف عصاره‌ی خارخاسک سبب افزایش بیوژنز میتوکندری و کاهش تخریب DNA در بافت قلب شده است [۸]. بر اساس موارد فوق، در این مطالعه، دوزهای مختلف عصاره‌ی خارخاسک همراه با تمرین مقاومتی را برای یافتن بهترین اثرات فیزیولوژیکی مورد بررسی قرار دادیم. اثرات مطلوب عصاره‌ی گیاه دارویی خارخاسک در برابر اثرات جبران ناپذیر سوءاستفاده از استروئیدهای آنابولیک بر بافت قلب، ممکن است اثرات مخرب مصرف استانوزولول را کاهش داده و به‌عنوان راهی مناسب برای جایگزینی یا کاهش تأثیرات آپوپتوز سلول‌های قلبی توسط استانوزولول پس از تمرین ورزشی در

[1] Androgenic-anabolic steroids
[2] Testosterone
[3] Nandrolone
[4] Stanozolol
[5] Aplastic anemia
[6] Lipoprotein
[7] Thrombosis
[8] Hypertension
[9] Heart failure
[10] Arrhythmia
[11] Vasodilation
[12] Nitric oxide
[13] Low-density lipoprotein
[14] C-reactive protein
[15] Sarcoplasmic reticulum
[16] Apoptosis
[17] Cytochrome C

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2026-03-20]

نظر گرفته شود. از این رو، در این مطالعه، مصرف عصاره‌ی خارخاسک و تمرینات مقاومتی را بر روی بافت قلب در موش هایی که مکمل استانوزولول را دریافت کرده‌اند ارزیابی شد.

روش‌ها

پژوهش حاضر از نوع مطالعات تجربی و بنیادی ، با طرح گروهی چند متغییره و از نوع کاربردی است که با تأیید کمیته‌ی اخلاق در پژوهش بر روی حیوانات دانشکده‌ی علوم ورزشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد اصفهان (خوراسگان) با کد اخلاق (IR.IAU.KHUISF.REC.1398.264) و با رعایت کلیه‌ی پروتکل‌های کار با حیوانات آزمایشگاهی انجام شده است.

در این مطالعه‌ی تجربی، ۳۵ موش صحرایی با نژاد Sprague-Dawley در محدوده‌ی وزن ۲۰۰-۱۵۰ گرم و میانگین سنی ۸ هفته خریداری و به آزمایشگاه منتقل شد. موش‌های صحرایی در لانه‌ی حیوانات در شرایط استاندارد دمای ۲۴-۲۲ درجه‌ی سانتی‌گراد، رطوبت ۵ ± ۶۵ درصد با چرخه‌ی ۱۲ ساعت نور/۱۲ ساعت تاریکی نگه‌داری شدند. همچنین، حیوانات با رژیم غذایی استاندارد تغذیه شدند. پس از یک هفته سازگاری با محیط لانه‌ی حیوانات، موش‌های صحرایی به‌صورت تصادفی به هفت گروه تقسیم شدند (در هر گروه ۵ سر موش)، شامل ۱- گروه کنترل، ۲- موش‌های تحت تیمار با استانوزولول (ST)، ۳- موش های تحت تیمار به‌طور همزمان با داروی استانوزولول و داروی گیاهی خارخاسک با غلظت ۱۰۰ mg/kg (ST+TT100)، ۴- موش‌های تحت تیمار به‌طور هم‌زمان با داروی استانوزولول و داروی گیاهی خارخاسک با غلظت ۵۰ mg/kg (ST+TT50)، ۵- موش‌های با تمرین مقاومتی و تحت تیمار استانوزولول (RT+ST)، ۶- موش‌های با تمرین مقاومتی و تحت تیمار به‌طور هم‌زمان با داروی استانوزولول و داروی گیاهی خارخاسک با غلظت ۱۰۰ mg/kg (RT+ST+TT100)، و ۷- موش‌های صحرایی با تمرین مقاومتی و تحت تیمار به‌طور هم‌زمان با داروی استانوزولول و داروی گیاهی خارخاسک با غلظت ۵۰mg/kg (RT+ST+TT50). تزریق داروی شیمیایی استانوزولول به‌صورت صفاقی و در روز انجام شد. علاوه بر این، داروی گیاهی خارخاسک به‌صورت صفاقی در روز در دوزهای مختلف (۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم ، ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) تزریق شد. در نهایت، ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه‌ی تمرین و تزریق، موش‌ها با داروهای شیمیایی کتامین و زایلازین بیهوش شدند و بافت قلب برای آزمایش‌های بیشتر جدا شد و پس از انجماد سریع در نیتروژن مایع با رعایت زنجیره‌ی دمایی سرد به آزمایشگاه ژنتیک منتقل و در دمای ۸۰- درجه‌ی سانتی‌گراد ذخیره شد.

پروتکل تمرین مقاومتی: تمرینات مقاومتی (RT) با استفاده از نردبان یک متری، با فاصله‌ی ۴ سانتی‌متری بین پله‌ها و شیب ۸۵ درجه، انجام شد. تمرین مقاومتی با ۳۰ درصد وزن بدن در هفته‌ی اول آغاز شد و در هفته‌ی هشتم به ۱۰۰ درصد وزن بدن موش‌های صحرایی رسید. قابل توجه است که موش‌ها از نردبان تمرین چهار بار بدون وزنه بالا رفتند تا در ابتدای تمرین گرم شوند. همچنین، تمرین در هر جلسه شامل چهار ست (ست اول ٪۵۰، ست دوم ٪۷۵، ست سوم ٪۹۰ و ست چهارم ٪۱۰۰ وزنه ی آن هفته) و دو تکرار (دو بار صعود پله‌ها) انجام شد. فاصله ی بین هر ست ۲ تا ۳ دقیقه و فاصله‌ی بین هر تکرار ۴۰ تا ۶۰ ثانیه بود [۱۱].

تهیه‌ی عصاره‌ی داروی گیاهی خارخاسک: برای تهیه‌ی عصاره‌ی داروی گیاهی خارخاسک (TT)، ابتدا ۱۰۰ گرم میوه‌ی خشک شده‌ی این گیاه آسیاب شد، سپس پودر آن در ۸۰ میلی لیتر الکل ٪۷۰ قرار داده شد. این محلول به‌مدت سه روز در آزمایشگاه نگه‌داری شد. پس از سه روز، ابتدا محلول را از طریق یک فیلتر کاغذی عبور داده و قسمت مایع را با استفاده از دستگاه خلاء تصفیه و آب‌گیری کرده و در نهایت عصاره‌ی خشک این گیاه به‌دست آمد. متعاقباً، پس از رقیق کردن عصاره با نرمال سالین، موش‌های صحرایی با دوزهای ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به‌صورت صفاقی در روز عصاره‌ی خارخاسک دریافت کردند [۱۲].

استخراج RNA و سنتز cDNA: RNA ابتدا بر اساس پروتکل شرکت سازنده (CinnaGen، ایران) از بافت قلب استخراج شد. سپس غلظت و خلوص نمونه mRNA توسط دستگاه

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2026-03-20]

اسپکتروفتومتر نانودراپ[1] (Thermo Scientific، USA) در جذب ۲۸۰/۲۶۰ ارزیابی شد. علاوه بر این، سنتز cDNA طبق پروتکل سازنده انجام شد و سپس cDNA سنتز شده برای انجام واکنش رونویسی معکوس استفاده شد. بیان نسبی mRNA با روش کمی q-RT PCR با CYBR Green (TaKaRa، ژاپن) بر روی چرخه‌ی حرارتی PCR کاربردی ارزیابی شد. ارزیابی بیان ژن بر اساس روش $۲^{-\Delta\Delta ct}$انجام شد و سطح بیان ژن‌های مرجع در این مطالعه به‌وسیله ژن بتا-۲-میکروگلوبولین (B2M) در نظر گرفته شد. علاوه بر این، آغازگرها از شرکت ماکروژن (کره جنوبی) خریداری شده‌اند توالی ژن‌ها در جدول ۱ آمده است.

جدول۱- توالی پرایمرها

ژن	ژن	اندازه (bp)
B2m	B2m Reverse: 5'-ATATACATCGGTCTCGGTGG -3'	۲٤٤
CRP	CRP Reverse: 5'- GACTCTGCTTCCAGGGACAC-3'	۹۰
Cytochrome-c	Cytochrome-c Reverse: 5'-CATTGTTAGCCATTCATGATCT-3'	۱۱۵

داده‌کاوی بیوانفورماتیکی: در این مطالعه از الگوریتم‌های مختلف بیوانفورماتیکی و شبکه‌ی میانکش‌های پروتئین-پروتئین برای شناسایی مهم‌ترین ژن‌های دخیل در پاتوژنز بافت قلب استفاده شده است. بدین‌منظور از پایگاه داده DisGeNET برای به‌دست آوردن لیست ژن‌های مرتبط با ایسکمی قلب بهره گرفتیم. شبکه‌ی میانکنش‌های پروتئین-پروتئین در پایگاه داده‌ی STRING 11.0 رسم شد و آنالیز شبکه بر اساس پارامترهای درجه و مرکزیت انجام گرفت. مسیرهای مولکولی و کلیدی در ارتباط با ژن‌ها بر اساس الگوریتم داده‌کاوی مشخص شدند. از میان 25 پروتئین کلیدی جمع آوری شده بر اساس آنالیز داده های بیوانفورماتیکی، دو پروتئین CRP و Cytochrome-c مورد بررسی آزمایشگاهی قرار گرفت.

داکینگ مولکولی: به‌منظور پیش‌بینی تأثیر ترکیب شیمیایی stanozolol و Flavonol 3-O-D-glucoside بر روی پروتئین سیتوکروم-C از روش داکینگ مولکولی استفاده شده است. در ابتدا ترکیبات موثره گیاه خارخاسک را بر اساس مطالعات گذشته شناسایی کردیم. در مرحله‌ی بعد، ساختار سه بعدی ماده‌ی مؤثره ی Flavonol 3-O-D-glucoside و stanozolol را از پایگاه داده ی ترکیبات شیمیایی PubChem با فرمت داده‌ی فضایی SDF بارگیری شدند. ساختار کریستالوگرافی مناسب برای پروتئین سیتوکروم-C بر اساس روش پراش اشعه‌ی ایکس با کد شناسایی 6ECJ و قدرت تفکیک 2.7Å از پایگاه داده بانک پروتئینی به آدرس https://www.rcsb.org/ با فرمت PDB به دست آمد. اتصال مولکولی ترکیبات در جایگاه فعال پروتئین سیتوکروم-C پس از کمینه‌سازی ساختار و انرژی در نرم‌افزار UCSF chimera با استفاده از روش داکینگ مولکولی در نرم افزار PyRx مورد بررسی قرار گرفت. امتیازدهی داکینگ مولکولی بر اساس میل اتصال کمتر از 5kdal/mol- و انحراف جذر مربع میانگین[2] کمتر از ۲ انجام پذیرفت. ابعاد فضای جستجوی تعریف شده برای این پروتئین X: 39.1625, Y: 41.6318, Z: 35.8480 و با تعداد دفعات واکنش ۱۰ بوده است.

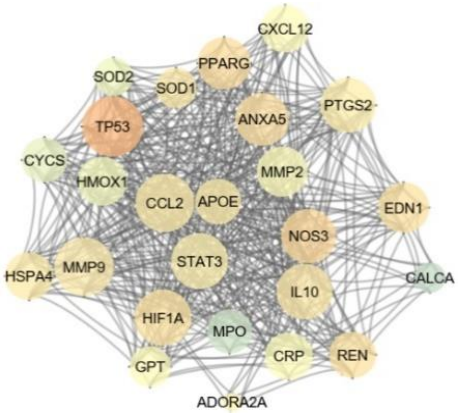
روش تجزیه و تحلیل داده‌ها: داده‌ها توسط نرم‌افزار GraphPad Prism جهت آمار توصیفی و استنباطی محاسبه شد است. برای همگن‌سازی توزیع، آزمون Shapiro-Wilk انجام شد. علاوه بر این، داده‌ها با استفاده از تجزیه واریانس یک‌طرفه (ANOVA) با آزمون تعقیبی Tukey محاسبه شد. در سطح آمار توصیفی نتایج به صورت میانگین ± انحراف استاندارد (SD) نشان داده شده است. سطح اهمیت آماری در همه‌ی تجزیه و تحلیل‌ها $P<0.05$ تعیین شد.

[1] Nanodrop spectrophotometer
[2] Root-mean-square deviation

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2026-03-20]

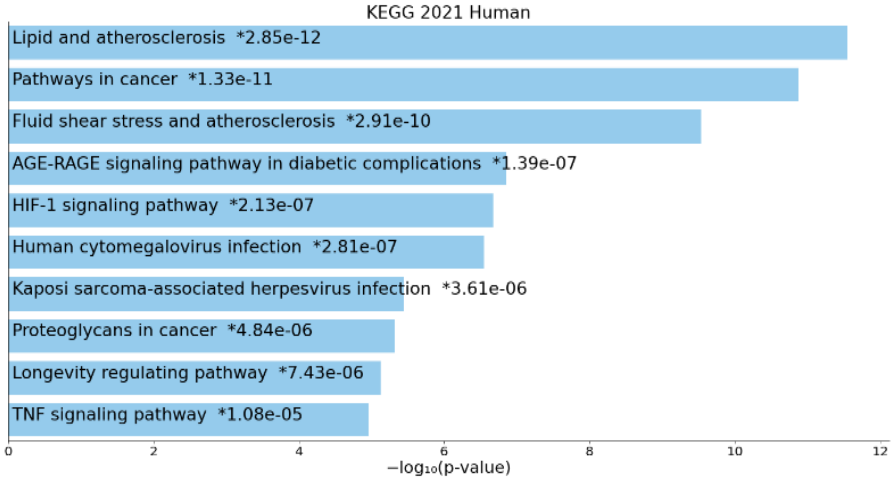
یافته‌ها

براساس آنالیز داده‌های بیوانفورماتیکی، همان‌طور که در شکل ۱ نشان داده شده است، از میان 103 ژن دخیل در ایسکمی قلب در پایگاه داده DisGeNET، 25 ژن با بیشترین درجه و مرکزیت به‌عنوان ژن‌های کلیدی دخیل در پاتوژنز بافت قلب شناسایی شد. خوشه‌بندی این ژن‌ها بر اساس ارتباطات مولکولی بین پروتئین‌ها انجام گرفته است و درسه گروه تقسیم‌بندی شده‌اند.



شکل ۱-ژن‌های کلیدی دخیل در ایسکمی بافت قلب

بر اساس داده‌کاوی متون دو ژن Cytochrome-c و CRP برای ادامه بررسی‌ها انتخاب شدند. داده‌کاوی این ژن‌ها به‌منظور مشخص کردن مسیرهای مولکولی مهم درگیر در فرایند پاتوژنز بافت قلب نشان می‌دهد که این ژن‌ها در فرآیند تصلب شرائین به‌واسطه‌ی اختلالات لیپیدی وهمچنین مرگ برنامه‌ریزی شده سلول‌ها (آپوپتوز) دخیل هستند (شکل ۲).

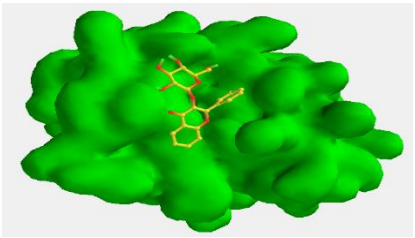


شکل ۲- داده‌کاوی ژن‌های کلیدی بر اساس پایگاه داده KEGG

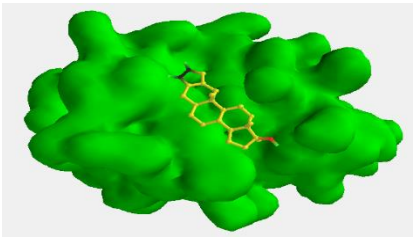
نتایج به‌دست آمده از داکینگ مولکولی که در شکل ۳ و ٤ نشان داده شده است که اتصال مولکولی ترکیبات Flavonol 3-O-D-glucoside و stanozolol بر روی پروتئین سیتوکروم-C از نوع اتصالات پایدار و قابل قبول است. انرژی اتصال این پیوندها به

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2026-03-20]

ترتیب 6.5- و 6.1- کیلوکالری بر مول محاسبه شده است. از طرفی نتایج داکینگ مولکولی جایگاه اتصال یکسانی برای این ترکیبات را شناسایی کرده است که می‌توان چنین استنباط کرد که بین Flavonol 3-O-D-glucoside و stanozolol در اتصال به پروتئین و تأثیر بر عملکرد آن رقابت وجود دارد. با توجه به محاسبات داکینگ مولکولی، قدرت اتصال و میل ترکیبی بین Flavonol 3-O-D-glucoside و پروتئین سیتوکروم-C بالاتر از stanozolol است.



شکل ۴- قدرت اتصال فلاونوئید به پروتئین سیتوکروم-C



شکل ۳- قدرت اتصال استانوزولول به پروتئین سیتوکروم-C

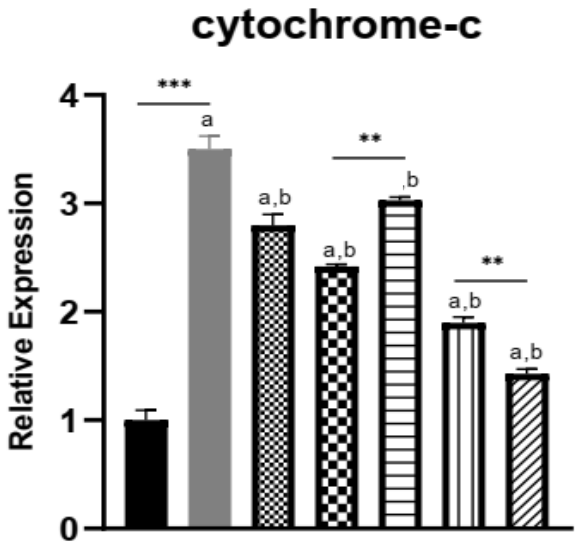
همچنین در جدول ۲ نتیجه‌ی بررسی داکینگ مولکولی شامل نام ترکیبات (لیگاندها) و شناسه PubChem آنها مشخص شده است. همچنین میل اتصال لیگاندها بر روی پروتئین سیتوکروم-C نشان داده شده است.

جدول۲- آنالیز داکینگ مولکولی ماده‌ی مؤثره‌ی خارخاسک و استانوزولول

نام ترکیب	ماده مؤثره	شناسه PubChem	میل اتصال لیگاند بر روی پروتئین سیتوکروم C- (kcal/mol)
خارخاسک	Flavonol 3-O-D-glucoside	11953828	-6.5
استروئیدهای آنابولیک-آندروژنیک	stanozolol	25249	-6.1

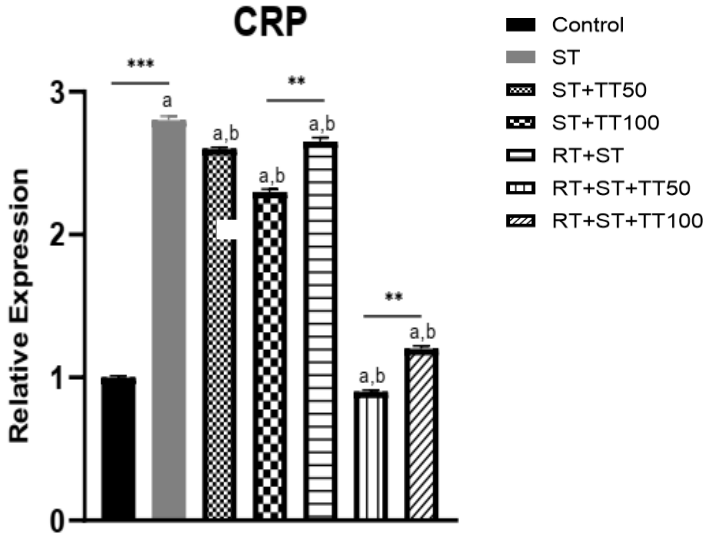
با توجه به نمودار ۱ و ۲ نتایج به‌دست آمده از آزمون تحلیل واریانس یک طرفه مشخص شده است که میزان بیان ژن CRP و Cytochrome-c در گروه تحت تیمار داروی استانوزولول نسبت به سایر گروه‌ها به‌طور معنی‌داری افزایش یافته است ($P<0.05$). از سویی، گروهی که تحت تیمار استانوزولول و داروی گیاهی خارخاسک با غلظت ۱۰۰ mg/kg و ۵۰ mg/kg شده‌اند میزان بیان ژن CRP و Cytochrome-c نسبت به گروه تحت تیمار داروی استانوزولول کاهش یافته است. از نکات برجسته‌ی این مطالعه عدم تأثیر تمرینات مقاومتی بر روی بیان میزان بیان ژن CRP و Cytochrome-c در گروه تمرین مقاومتی و تحت تیمار استانوزولول نسبت به گروه تحت تیمار داروی استانوزولول است ($P=0.2$). همچنین، کاهش قابل توجه بیان ژن‌های CRP و Cytochrome-c در گروهای تمرین مقاومتی و تحت تیمار با داروی استانوزولول و داروی گیاهی خارخاسک با غلظت ۱۰۰ mg/kg و ۵۰ mg/kg مشاهده شد ($P<0.05$). علاوه بر این، در این مطالعه مشاهده شده که در گروه تمرین مقاومتی و تحت تیمار با داروی استانوزولول و داروی گیاهی خارخاسک با غلظت ۱۰۰ mg/kg نسبت به سایر گروه تأثیر فزاینده‌ای بر روی کاهش بیان ژن‌های CRP و Cytochrome-c ($P<0.05$) داشته است و گیاه دارویی خارخاسک با غلظت ۱۰۰ mg/kg تأثیر بیشتری بر روی عملکرد ورزشکاران مقاومتی دارد.

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2026-03-20]



نمودار ۱- میزان بیان ژن Cytochrome-c در بافت قلب موش‌های صحرایی در گروه‌های مختلف

حروف مشابه نشان دهنده‌ی معنی‌داری است



نمودار ۲- میزان بیان ژن CRP در بافت قلب موش‌های صحرایی در گروه‌های مختلف

حروف مشابه نشان دهنده‌ی معنی‌داری است

بحث

در این مطالعه مشاهده شد که انجام تمرینات مقاومتی همراه با مصرف عصاره‌ی داروی گیاهی خارخاسک سبب کاهش معنی دار بیان ژن‌های CRP و Cytochrome-c می‌گردد. ورزش طولانی مدت باعث تحریک و تنظیم سنتز آنتی اکسیدان‌های آنزیمی در قلب می‌شود. با تحریک اندک استرس اکسیداتیو از طریق فعال‌سازی عوامل رونویسی تنظیم اکسیداسیون اکسیداسیون، باعث کاهش فاکتورهایی مانند سوپراکسید دیسموتاز، گلوتاتیون پراکسیداز و کاتالاز در بافت قلب می‌شود [۱۳]. همچنین، انجام تمرینات ورزشی با بهبود متابولیسم اسیدهای چرب، لاکتات، گلوکز و کاهش گونه‌های اکسیژن فعال، منجر به افزایش سازِکار رگ‌زایی و افزایش فاکتور رشد

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2026-03-20]

اندوتلیال عروقی (VEGF) در قلب می‌گردد [۱٤]. از سوی دیگر، اگرچه ورزش عملکرد قلب را بهبود می‌بخشد اما استفاده از ترکیبات آنابولیکی همراه با تمرینات ورزش یکی از شایع‌ترین علل نارسایی قلبی در ورزشکاران است [۱۵]. بنابراین، به نظر می‌رسید که نوع و شدت ورزش و میزان مصرف ترکیبات آنابولیکی می‌تواند تأثیرات متفاوتی بر آپوپتوز و سازِکارهای استرس اکسیداتیو داشته باشد [۱٦]. علاوه بر این، مصرف ۲ میلی‌گرم/کیلوگرم در روز استانوزولول، فلوکسی استرون، متاندروستنولون ممکن است باعث نقص در عملکرد آنزیم های زنجیره انتقال الکترون در کبد موش‌های صحرایی شود [۱۷]. همچنین، ورزش و مصرف ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در هفته ناندرلون دکانوآت باعث افزایش کاسپاز ۳ و محرک‌های آپوپتوز در سلول‌های اسپرماتوژنز موش‌ها شد [۱۸].

نتایج نشان داد که مصرف عصاره‌ی خارخاسک بیان ژن CRP و Cytochrome-c را در بافت قلب موش‌های صحرایی در معرض stanozolol کاهش می‌دهد. علاوه بر این، داده ها نشان داده است که این اثرات وابسته به دوز هستند به‌طوری که دوز ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم خارخاسک نسبت به دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خارخاسک تأثیر مطلوب‌تری در کاهش بیان ژن‌ها و بهبود التهاب و آپوپتوز داشته است. علاوه بر این، در مطالعه‌ای نشان داده شده است که مصرف عصاره‌ی خارخاسک سطح غلظت لاکتات دهیدروژناز، کراتینین کیناز، ترانس آمیناز گلوتامیک اگزالواستیک، ترانس آمیناز گلوتامیک پیرورویک و آنزیم‌های وابسته به سوخت و ساز بدن را تغییر داده است [۱۹]. عصاره‌ی خارخاسک، از طریق برخی از مسیرهای پیام‌رسانی مانند گیرنده‌های بتا آدرنرژیک، ممکن است مولکول‌های التهابی را سرکوب کرده و فسفوریلاسیون گیرنده‌های التهابی را کاهش دهد. این امر منجر به افزایش فعالیت ضد آپوپتوز می‌شود [۲۰]. در این راستا، شواهد نشان داده است که عصاره‌ی خارخاسک با غلظت های ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم باعث کاهش بیان ژن‌های Bax (B-cell lymphoma 2 Associated X)، Bad (B-cell lymphoma 2 Associated Agonist Of Cell Death)، JNK (JUN N-Terminal Kinase) و افزایش Bcl-2 (B-cell lymphoma 2) و MAPK (Mitogen-Activated Protein Kinase) شده و در نهایت آپوپتوز در بافت قلب موش‌ها را کاهش می‌دهد [۲۱]. با این حال، به‌نظر می‌رسد این اثرات ضد آپوپتوتیک عصاره‌ی خارخاسک مربوط به دوز عصاره‌ی خارخاسک و سطوح اولیه استرس اکسیداتیو در بافت قلب است.

نتایج نشان داد که تمرینات مقاومتی همراه با مصرف عصاره‌ی خارخاسک دارای اثرات فزآینده بر کاهش بیان ژن CRP وCytochrome-c در بافت قلب موش‌های صحرایی در معرض استانوزولول داشته است.

مطالعات نشان داده است که ورزش سازِکار آنتی اکسیدان‌ها را تحریک می‌کند، سوخت و ساز بدن را بهبود می‌بخشد و رگ زایی قلب را افزایش می‌دهد [۲۲ ،۱٤]. در مطالعه‌ای توسط Reshma و همکاران نشان داده شد که مصرف عصاره‌ی خارخاسک بر روی بیان ژن‌های آپوپتوزی مانند Bax, Bad, Bcl-2 نقش کلیدی داشته و از سویی عصاره‌ی خارخاسک در موش‌هایی که دچار سکته‌ی قلبی شده‌اند از طریق مسیرهای کلیدی مانند mitogen-activated protein kinases like p38 و Jnk سبب کاهش میزان آپوپتوز و بیان ژن‌های Bax و Bad شده است. بر این اساس، مصرف عصاره‌ی خارخاسک از طریق سازِکار آنتی‌اکسیدانی باعث کاهش میزان سطوح اکسیداتیو، تعدیل نشانگرهای زیستی قلب و عروقی می‌گردد [۲۱].

مطالعات محدودی در مورد اثرات متقابل تمرینات مقاومتی همراه با مصرف عصاره‌ی خارخاسک بر آپوپتوز بافت قلب ناشی از مصرف ترکیبات استروئیدی وجود دارد. با این حال، مطالعات نشان داده‌اند که ورزش و عصاره‌ی خارخاسک بر ترکیب بدن، عملکرد قلب و قدرت ماهیچه‌ها تأثیر مثبت می‌گذارد [۲۳]. همچنین، مصرف این گیاه دارویی با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم در روز به‌دلیل خواص نیمه استروژنیک آن ممکن است با افزایش فاکتورهای رشد عضلانی و کاهش استرس اکسیداتیو و عوامل التهابی از آسیب عضلانی ورزشکاران جلوگیری کند [۲٤]. بررسی بیان ژن‌ها و مولکول‌های دخیل در مسیرهای التهاب و متابولیسم و از سویی به‌کارگیری تمرینات ورزشی مقاومتی با مدت، شدت و تکرارهای مختلف. همچنین، سنجش میزان رادیکال‌های آزاد و استرس اکسیداتیو و رابطه آنها با مسیر آپوپتوز بافت قلب از دیگر محدودیت‌های این مطالعه است.

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2026-03-20]

با توجه به نتایج فوق می‌توان پیشنهاد شود که مصرف خارخاسک همراه با تمرینات مقاومتی سبب افزایش عملکرد ورزشکاران و کاهش آسیب‌های عضلانی می‌گردد. از سویی، این گیاه داروی می‌تواند جایگزین مناسبی به‌جای داروها و مکمل های استروئیدی شود و یا در کنار مصرف این مکمل‌ها، استفاده از عصاره‌ی خارخاسک سبب کاهش عوارض جانبی در ورزشکاران می‌گردد. با توجه به تأثیر استانوزولول بر اختلال متابولیسم لیپیدها و تأثیر مشخصات چربی بر شروع استرس اکسیداتیو، التهاب و آپوپتوز، عدم اندازه‌گیری این شاخص‌ها یکی از محدودیت‌های مطالعه‌ی حاضر به‌نظر می‌رسید. بنابراین، پیشنهاد می‌شود که این عوامل در مطالعات آینده اندازه‌گیری شود.

سپاسگزاری

از همکارن محترم در واحد مرودشت کمال تشکر را داریم .

مآخذ

1. Perry JC, Schuetz TM, Memon MD, Faiz S, Cancarevic I. Anabolic steroids and cardiovascular outcomes: the controversy. *Cureus* 2020; 12(7).
2. Angelini G, Pollice P, Lepera M, Favale S, Caiati C. Irreversible Dilated Cardiomyopathy After Abuse of Anabolic Androgenic Steroids-A Case Report and Literature Review. *Biomedical Journal of Scientific & Technical Research* 2019; 21(4):16106-12.
3. Vale FBC, Boroni JD, Geber G, Antunes EMG, Bretas T, Lopes GP, et al. Effect of Tribulus Terrestris in the Treatment of Female Sexual Dysfunction and Clitoral Vascularization. Results of a Randomized Study Comparing Two Different Dosage Regimes. *Journal of Sex & Marital Therapy* 2021; 1-11.
4. Bu D, Luo H, Huo P, Wang Z, Zhang S, He Z, et al. KOBAS-i: intelligent prioritization and exploratory visualization of biological functions for gene enrichment analysis. *Nucleic Acids Research* 2021;
5. PL R, RC V, KG R, NR H. Pretreatment of Tribulus terrestris L. causes anti-ischemic cardioprotection through MAPK mediated anti-apoptotic pathway in rat. *Biomed Pharmacother* 2019;111:1342-1352.
6. Garner O, Iardino A, Ramirez A, Yakoby M. Cardiomyopathy induced by anabolic-androgenic steroid abuse. *Case Reports* 2018; 2018:bcr-2017-223891.
7. Semerdjieva IB, Zheljazkov VD. Chemical constituents, biological properties, and uses of Tribulus terrestris: A Review. *Natural Product Communications* 2019; 14(8):1934578X19868394.
8. Delfani N, Peeri M, Matin Homaee H. Effect of Aerobic Exercise and Hydroalcoholic Extract of Tribulus Terrestris on Mitochondrial Oxidative Stress Markers in Heart Tissue of Rats Poisoned With Hydrogen Peroxide. *Complementary Medicine Journal* 2021; 11(1):30-43.
9. Kim J-Y, Shim SH. Medicinal herbs effective against atherosclerosis: classification according to mechanism of action. *Biomolecules & therapeutics* 2019; 27(3):254.
10. Ma Y, Guo Z, Wang X. Tribulus terrestris extracts alleviate muscle damage and promote anaerobic performance of trained male boxers and its mechanisms: Roles of androgen, IGF-1, and IGF binding protein-3. *Journal of sport and health science* 2017; 6(4):474-81.
11. Dolati S, Rostami R, Hosseini SA, Hariri Far A, Zar A. Lipid-lowering Effects of Endurance Training and Cinnamon Extract in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *Journal of Nutrition, Fasting and Health* 2021.
12. Shamsi B, Abedi B, Hosseini SA. Effect of Resistance Training and Tribulus Terrestris Consumption on Avoidance and Working Memory in Rats Exposed to Stanozolol. *Avicenna Journal of Neuro Psycho Physiology* 2021; 8(2):84-9.
13. Rahbarghazi A, Siahkouhian M, Rahbarghazi R, Ahmadi M, Bolboli L, Keyhanmanesh R, et al. Role of melatonin in the angiogenesis potential; highlights on the cardiovascular disease. *Journal of Inflammation* 2021; 18(1):1-10.
14. Hassan AF, Kamal MM. Effect of exercise training and anabolic androgenic steroids on hemodynamics, glycogen content, angiogenesis and apoptosis of cardiac muscle in adult male rats. *International journal of health sciences* 2013; 7(1):47.
15. Falqueto H, Júnior JL, Silvério MN, Farias JC, Schoenfeld BJ, Manfredi LH. Can conditions of skeletal muscle loss be improved by combining exercise with anabolic–androgenic steroids? A systematic review and meta-analysis of testosterone-based interventions. *Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders* 2021; 1-18.

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2026-03-20]

16. McCullough D, Webb R, Enright KJ, Lane KE, McVeigh J, Stewart CE, et al. How the love of muscle can break a heart: Impact of anabolic androgenic steroids on skeletal muscle hypertrophy, metabolic and cardiovascular health. *Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders* 2021; 22(2):389-405.
17. Molano F, Saborido A, Delgado J, Morán M, Megías A. Rat liver lysosomal and mitochondrial activities are modified by anabolic-androgenic steroids. *Medicine and science in sports and exercise* 1999; 31(2):243-50.
18. Shokri S, Aitken RJ, Abdolvahhabi M, Abolhasani F, Ghasemi FM, Kashani I, et al. Exercise and supraphysiological dose of nandrolone deconoate increase apoptosis in spermatogenic cells. *Basic & clinical pharmacology & toxicology* 2010; 106(4):324-30.
19. Tuncer MA, Yaymaci B, Sati L, Cayli S, Acar G, Altug T, et al. Influence of Tribulus terrestris extract on lipid profile and endothelial structure in developing atherosclerotic lesions in the aorta of rabbits on a high-cholesterol diet. *Acta histochemica* 2009; 111500-488(6).
20. Baburao B, Rajyalakshmi G, Venkatesham A, Kiran G, Shyamsunder A, Gangarao B. Anti-inflammatory and antimicrobial activities of methanolic extract of Tribulus terrestris Linn plant. *Int J Chem Sci* 2009; 7(3):1867-72.
21. Reshma P, Binu P, Anupama N, Vineetha R, Abhilash S, Nair RH, et al. Pretreatment of Tribulus terrestris L. causes anti-ischemic cardioprotection through MAPK mediated anti-apoptotic pathway in rat. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 2019; 111 :1342-52.
22. Dos Santos GB, Rodrigues MJM, Gonçalves EM, Marcondes MCCG, Areas MA. Melatonin reduces oxidative stress and cardiovascular changes induced by stanozolol in rats exposed to swimming exercise. *The Eurasian journal of medicine* 2013; 45(3):155.
23. Wang S-S, Ji Y-S, Li H, Yang S-J. Mechanisms of gross saponins of Tribulus terrestris via activating PKCepsilon against myocardial apoptosis induced by oxidative stress. *Yao Xue Xue Bao* 2009; 44(2):134-9.
24. Rogerson S, Riches CJ, Jennings C, Weatherby RP, Meir RA, Marshall-Gradisnik SM. The effect of five weeks of Tribulus terrestris supplementation on muscle strength and body composition during preseason training in elite rugby league players. *The Journal of Strength & Conditioning Research* 2007; 21(2):348-53.

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2026-03-20]

The Effect of Eight Weeks of Resistance Training with Tribulus Terrestris Extract on the Apoptosis Mechanism in the Heart Tissue of Rats Exposed To Stanozolol

Mohammad Derakhshandeh[1], Farzaneh Taghian[1*], Khosro Jalali Dehkordi[1], Seyed Ali Hosseini[2]

1. *Department of Sports Physiology, School of Sports Sciences, Isfahan (Khorasgan) Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran*
2. *Department of Sport Physiology, Marvdasht Branch, Islamic Azad University, Marvdasht, Iran*

ABSTRACT

Background: Artificial intelligence analysis based on the gene list obtained from the DisGeNET database identified the important genes involved in the heart damage process. Data enrichment highlighted the apoptosis signaling pathway as a vital pathway in cardiovascular risk. Hence, we estimated the binding affinity of chemical and plant bioactive molecules for cytochrome-c protein. Here, we performed to evaluate the effect of eight weeks of resistance training (RT) with Tribulus Terrestris (TT) consumption on the mechanism of apoptosis in the heart tissue of rats exposed to stanozolol.

Methods: Thirty-five male rats were divided into seven groups: (1) Control, (2) Stanozolol (ST), (3) ST + 100 mg / kg TT, (4) ST + 50 mg / kg TT, (5) ST + RT (SRT), (6) S + RT + 100 mg / kg T (SRTT100), and (7) ST + RT + 50 mg / kg T (SRTT50). Differential gene expression was measured by q-RT-PCR. In bioinformatics analysis, the apoptosis signaling pathway was defined as a critical process in heart damage. In addition, adverse effects of Tribulus Terrestris and stanozolol on heart tissue were detected through the apoptotic pathway by molecular docking.

Result: Resistance training along with 100 mg/kg reduced CRP and cytochrome-c Moreover, 100 mg/kg TT as a more favorable effect than 50 mg/kg TT

Conclusion: we showed the beneficial effects of Tribulus Terrestris, the plant's bioactive compound that can reduce cardiovascular risks by impairing the formation of apoptosome assemblages and inflammation.

Keywords: Exercise training, Tribulus Terrestris, Apoptosis, Heart tissue, Stanozolol

* University Blvd, Arqavanieh, Jey Street, Faculty of Sports Sciences, Isfahan (Khorasgan) Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran. Postcode: 81551-39998, Tele: +989133080241, Fax: +98031-353-54135, Email: f_taghian@yahoo.com

Copyright © 2022 Iranian Journal of Diabetes and Metabolism and Tehran University of Medical Sciences. Published by Tehran University of Medical Sciences.

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International license (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/). Non-commercial uses of the work are permitted, provided the original work is properly cited

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2026-03-20]