



Research Article

The Effect of a Period of Resistance Training on BDNF Gene Depletion and Poor Memory of Rats Poisoned with Anabolic Steroid Stanazolol

Behnam Shams¹ , Bahram Abedi^{2,*} , Seyed Ali Hosseini³ 

¹ PhD Student in Sports Physiology, Department of Physical Education, Islamic Azad University, Mahallat, Iran

² Professor, Department of Physical Education, Mahallat Branch, Islamic Azad University, Mahallat, Iran

³ Associate Professor of Sports Physiology, Department of Physical Education and Sports Science, Islamic Azad University, Marvdasht, Iran

* **Corresponding author:** Bahram Abedi, Professor, Department of Physical Education, Mahallat Branch, Islamic Azad University, Mahallat, Iran. E-mail: abedi@iaumahallat.ac.ir

DOI: [10.52547/nkums.13.4.59](https://doi.org/10.52547/nkums.13.4.59)

How to Cite this Article:

Shams B, Abedi B, Hosseini SA. The Effect of a Period of Resistance Training on BDNF Gene Depletion and Poor Memory of Rats Poisoned with Anabolic Steroid Stanazolol. *J North Khorasan Univ Med Sci*. 2021;**13**(4):59-65. DOI: [10.52547/nkums.13.4.59](https://doi.org/10.52547/nkums.13.4.59)

Received: 07 Apr 2021

Accepted: 30 May 2021

Keywords:

Resistance Training, BDNF, Memory, Stanazolol

Abstract

Introduction: Nowadays, the use of energy substances has become a complex problem in sports, in which the role of anabolic-androgenic steroids is undeniable. The aim of this study was to evaluate the effect of a period of resistance training on BDNF gene expression and poor memory in rats poisoned with anabolic steroid stanazolol.

Methods: In this experimental study, 18 Sprague-Dawley rats with a weight range of 150 to 200 g and an average age of 8 weeks were randomly divided into three groups of 6 series including 1) sham (normal saline intake), 2) stanazole, 3) Stanazol was administered with resistance training. For eight weeks, the stanazol and resistance training + stanazole groups received 5 mg / kg of stanazole peritoneally daily, and the resistance training + stanazol group performed three sessions per week of resistance training. BDNF was measured in hippocampal tissue by ELISA and retention memory using shuttle box test. Kolmogorov-Smirnov test was used to evaluate the normality of the distribution of findings and one-way analysis of variance with Tukey post hoc test in SPSS software was used to analyze the results ($P \geq 0.05$).

Results: Stanazolol had a significant effect on reducing BDNF gene expression and nausea memory ($P \leq 0.001$). However, resistance training increased BDNF ($P \leq 0.001$) and nausea memory ($P \leq 0.006$) in mice. Field poisoned with stanazolol.

Conclusions: According to the results of the present study, it seems that resistance training has synergistic effects on improving BDNF and laziness in rats poisoned with stanazolol.



تأثیر یک دوره تمرینات مقاومتی بر بیان ژن BDNF و حافظه احتزاری موش‌های صحرایی مسموم شده با آستروئید آنابولیک استانازول

بهنام شمس^۱ ID، بهرام عابدی^{۲*} ID، سید علی حسینی^۳ ID

^۱ دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزشی، گروه تربیت بدنی، دانشگاه آزاد اسلامی، محلات، ایران

^۲ استاد، گروه تربیت بدنی، واحد محلات، دانشگاه آزاد اسلامی، محلات، ایران

^۳ دانشیار فیزیولوژی ورزشی، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی، مرودشت، ایران

* نویسنده مسئول: بهرام عابدی، استاد، گروه تربیت بدنی، واحد محلات، دانشگاه آزاد اسلامی، محلات، ایران. ایمیل:

abedi@iaumahallat.ac.ir

DOI: 10.52547/nkums.13.4.59

چکیده مقدمه: امروزه بهره گیری از مواد نیروزا به معضل پیچیده‌ای در ورزش تبدیل شده است که در این بین نقش آستروئیدهای آنابولیک -آندروژنیک غیر قابل انکار می‌باشد. هدف از مطالعه حاضر بررسی تأثیر یک دوره تمرینات مقاومتی بر بیان ژن BDNF و حافظه احتزاری موش‌های صحرایی مسموم شده با آستروئید آنابولیک استانازول بود.	تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۱/۱۸ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۳/۰۹
روش کار: در این مطالعه تجربی ۱۸ سر موش صحرایی از نژاد اسپراک-دوالی با محدوده وزن ۱۵۰ تا ۲۰۰ گرم و میانگین سنی ۸ هفته به طور تصادفی به سه گروه ۶ سری شامل (۱) شم (مصرف نرمال سالیین)، (۲) استانازول، (۳) مصرف استانازول همراه با تمرین مقاومتی تقسیم شدند. در مدت هشت هفته گروه‌های استانازول و تمرین مقاومتی + استانازول روزانه ۵ mg/kg استانازول به صورت صفاقی دریافت نمودند و گروه تمرین مقاومتی + استانازول سه جلسه در هفته تمرین مقاومتی را انجام دادند. اندازه گیری BDNF در بافت هیپوکامپ به روش الایزا و حافظه احتزاری با استفاده از آزمون شاتل باکس صورت گرفت. جهت بررسی طبیعی بودن توزیع یافته‌ها از آزمون کولموگروف-اسمیرنوف و جهت تجزیه و تحلیل یافته‌ها از آزمون آماری آنالیز واریانس یک طرفه همراه با آزمون تعقیبی توکی در نرم افزار SPSS استفاده شد ($P \leq 0.05$).	واژگان کلیدی: تمرین مقاومتی، BDNF، حافظه، استانازول
یافته‌ها: استانازول اثر معناداری بر کاهش بیان ژن BDNF و حافظه احتزاری ($P=0.001$) داشت. باین وجود تمرین مقاومتی منجر به افزایش BDNF ($P=0.001$) و حافظه احتزاری ($P=0.006$) در موش‌های صحرایی مسموم شده با استانازول شد. نتیجه گیری: با توجه به نتایج مطالعه حاضر به نظر می‌رسد تمرین مقاومتی دارای اثرات سینرژیستی بر بهبود BDNF و حافظه احتزاری در موش‌های صحرایی مسموم شده با استانازول می‌باشد.	

مقدمه

ورزشکار با هدف بهتر شدن وضعیت ظاهری از AAS استفاده می‌کنند (۲). استانازول یکی از مهم‌ترین AAS است که فراوان از سوی انسان‌ها و اسب‌های مسابقه‌ای استفاده می‌شود. استانازول موجب افزایش اندازه عضلات از طریق تحریک سنتز پروتئین و کاهش تخریب آن می‌شود (۳). اکسیداسیون استروئیدهای آنابولیک به ویژه استانازول در بدن منجر به تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS)، و پراکسیداسیون چربی ها شده و زمینه را برای آسیب سلولی فراهم می‌آورد (۴). همچنین مطالعات نشان داده‌اند که مصرف طولانی مدت AAS، یک نفر از هر سه نفر مصرف کننده را با اختلالات جسمی مواجه می‌کند، به عبارتی مصرف AAS برای یک دوره طولانی مدت و با دوز بالا منجر به اختلالات محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-گونا می‌شود و اختلالات سنتز هورمون‌های جنسی را در بدن در پی دارند (۵). همچنین سوء مصرف استانازول به عنوان یکی از اعضای خانواده AAS موجب اختلالات

استروئیدهای آنابولیک-آندروژنیک (AAS)، مشتقات مصنوعی مربوط به هورمون جنسی مردانه (تستوسترون) هستند که نقش مهمی در رشد بدن ایفا می‌کنند. این ترکیبات در برخی کاربردهای بالینی از جمله آتروفی عضلانی، عقب ماندگی رشدی، آنمی، هیپوگوناדיسم و کاهش مواد معدنی استخوان استفاده می‌شوند (۱). باتوجه به خواص آنابولیک AAS، یکی از رایج‌ترین داروهایی است که در میان ورزشکاران خواستار و جایگاه ویژه‌ای دارد. ترکیب AAS با تمرین مقاومتی به بهتر شدن عملکرد جسمانی، توده بدون چربی، اندازه عضله، قدرت، متابولیسم پروتئین، متابولیسم استخوان و سنتز کلاژن منجر می‌شود (۲). اگرچه به نظر می‌رسد در برخی شرایط پاتولوژیایی استفاده از AAS می‌تواند به بهتر شدن وضعیت فرد کمک کند، با این حال، اغلب ورزشکاران رقابتی با هدف افزایش توده عضلانی و بهتر شدن عملکرد ورزشی از AAS استفاده می‌کنند. در برخی موارد نیز افراد غیر

ورزشی استقامتی بوده است که نتایج این مطالعات بهبود در ارزیابی عملکردهای اجرایی، توجه و حافظه را گزارش کرده‌اند (۱۶، ۱۷). با توجه به مصرف گسترده استروئیدهای آنابولیک-اندروژنیک از سوی ورزشکاران و آثار جانبی آن بر بافت هیپوکامپ و تجویز وسیع و بدون نظارت این داروها به ورزشکاران و جوانان توسط افراد بی صلاحیت (۱۸)، و از آنجایی که اثرات تخریبی AAS بر سیستم عصبی و نقش محافظتی تمرین مقاومتی در مطالعات پیشین به صورت جداگانه مورد بررسی قرار گرفته و همچنین عدم مشاهده مطالعه‌ای که به بررسی تمرین مقاومتی بر نوروتروفیک‌های هیپوکامپ در افراد مصرف کننده استانازول پرداخته باشد، مطالعه حاضر باهدف بررسی اثر تمرین مقاومتی بر بیان ژن BDNF و حافظه احتزاری در بافت هیپوکامپ موش‌های صحرایی در معرض استانازول صورت گرفت.

روش کار

در این مطالعه تجربی ۱۸ سر موش صحرایی از نژاد اسپراگ-دوالی با محدوده وزن ۱۵۰ تا ۲۰۰ گرم و میانگین سنی ۸ هفته خریداری و به مدت یک هفته در محیط آزمایشگاه جهت سازگاری به محیط جدید در شرایط استاندارد و در دمای اتاق $22 \pm 1/4$ درجه سانتی گراد با رطوبت ۶۵ تا ۷۵ درصد نگهداری شدند. همچنین موش‌ها طبق چرخه ۱۲ ساعت خواب و بیداری و در دسترس بودن آب و غذا نگهداری شدند. در ادامه موش‌های صحرایی به صورت تصادفی در سه گروه ۶ سری شامل (۱) شم (نرمال سالین)، (۲) استانازول، و (۳) استانازول + تمرین تقسیم شدند. گروه استانازول + تمرین به مدت هشت هفته تمرین مقاومتی را انجام دادند (۱۹). همچنین گروه هایپاستانازول و استانازول + تمرین روزانه 5 mg/kg استانازول به صورت صفاقی دریافت نمودند (۱۸). ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی و تزریق استانازول موش‌های صحرایی به وسیله کتامین و زایلازین بیهوش شدند و بافت هیپوکامپ موش‌های صحرایی توسط متخصصین آزمایشگاه جداسازی و در ادامه بلافاصله در ایزت مایع فریز شده و در دمای -70°C نگهداری شد. ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی و تزریق استانازول، اندازه‌گیری بیان ژن عامل نوروتروفیک مشتق شده از مغز (BDNF) به روش الایزا و آزمون شاتل باکس جهت ارزیابی حافظه احتزاری بعمل آمد.

پروتکل تمرین مقاومتی

موش‌های صحرایی گروه تمرینی بعد از یک هفته اشنایی با محیط آزمایشگاه و نحوه اجرای تمرین، به مدت هشت هفته تمرینات مقاومتی را انجام دادند. تمرین روی یک نردبان عمودی با ارتفاع یک متر، فاصله بین پله‌ها ۴ سانتی متر و شیب ۸۵ درجه نسبت به سطح زمین انجام شد، به طوری که با استفاده از حمل وزنه‌ای با وزن ۳۰ درصد از وزن بدن در هفته اول شروع و به ۱۰۰ درصد وزن بدن موش‌های صحرایی در هفته هشتم خاتمه یافت. وزنه‌ها بر اساس وزن بدن به قانده دم حیوان بسته شدند و برای بالا رفتن حیوان از نردبان فقط از تحریک نوک دم استفاده شد و از هیچ گونه تحریک الکتریکی استفاده نشد. موش‌های صحرایی تمرینات مقاومتی را یک جلسه در روز، پنج روز در

رفتاری مانند افسردگی، اضطراب، پرخاشگری طی دوره مصرف می‌شود (۶). مطالعات محدودی در ارتباط با تأثیر AAS بر سیستم عصبی مرکزی وجود دارد، اما به نظر می‌رسد مصرف AAS با تحریک مسیر مرگ خارج سلولی، کاهش نوروتروفین‌ها در هیپوکامپ و قشر پیش حرکتی، سیستم عصبی را در معرض آسیب قرار می‌دهند (۶). همچنین استانازول با کاهش گیرنده‌های کم میل کورتیکواستروئیدها در هیپوکامپ منجر به افزایش سطوح کورتیکواستروئیدهای پلاسمایی شده و در نهایت اختلالات شناختی در فرد در پی دارد (۶). نوروتروفین‌ها دسته‌ای از عوامل نوروتروفیکی هستند که نقش مهمی در توسعه بقا، تمایز، عملکرد و ترمیم نورونی ایفا می‌کنند (۷). فاکتور نوروتروفیک مشتق شده از مغز (BDNF) یکی از فاکتورهای رشد عصبی است که نقش تنظیمی را در تفکیک نورون‌ها، شکل پذیری سیناپس‌ها و آپوپتوزیس ایفا می‌کند (۸). شواهد زیادی نشان می‌دهند که BDNF نقش‌های مهمی در حافظه، یادگیری، اختلال رفتاری، جذب غذا و متابولیسم انرژی ایفا می‌کند (۹). از طرفی تمرینات ورزشی منظم موجب بهبود عملکرد مغزی نظیر ادراک، سیستم ضد اکسایشی و تنظیم افزایشی نوروتروفین‌ها می‌شود (۱۰). تحقیق روی موش‌ها نشان داد که دودیدن به نورون زایی، افزایش شکل پذیری عصبی و رگ‌های خونی مغز و هیپوکامپ منجر می‌شود (۱۱). از این میان عامل نوروتروفیک مشتق شده از مغز (BDNF) به دلیل نقش مهمی که در شکل پذیری سیناپسی، حافظه و نورون زایی ایفا می‌کند بسیار مورد توجه قرار گرفته است و به عنوان مهم‌ترین عاملی که در این رخدادها در اثر ورزش تنظیم مثبت می‌شود شناخته شده است (۱۲). شواهد نشان می‌دهند که تغییرات در سیگنالینگ BDNF برای اثر گذاری ورزش بر شکل پذیری هیپوکامپی ضروری است و می‌تواند شکل‌پذیری و انتقال سیناپسی را تعدیل کند، چرا که بلوکه کردن این مسیر سیگنالینگ حافظه و یادگیری ناشی از ورزش را در جوندگان مهار می‌کند (۱۲). نتایج تحقیقات نشان داد که غلظت BDNF محیطی به وسیله تمرینات هوازی با فشار پایین و طولانی مدت افزایش می‌یابد (۱۳). در ارتباط با فعالیت ورزشی مقاومتی اطلاعات موجود در زمینه تأثیر تمرین بر سطوح پایه و سطوح پس از فعالیت ورزشی BDNF متناقض است. در همین راستا جعفر زاده و همکاران (۲۰۱۹)، در تحقیقی نشان دادند که تمرینات مقاومتی باعث افزایش بیان ژن BDNF در موش‌های نر نژاد ویستار شد (۱۲). یارو و همکاران (۲۰۱۰)، در تحقیقی گزارش کردند که پنج هفته تمرین مقاومتی موجب افزایش موقتی در سطوح BDNF پس از فعالیت ورزشی در افراد سالم غیر فعال می‌شود (۱۴). از طرفی مردانی سلمی و همکاران (۲۰۱۹)، در تحقیقی گزارش کردند که هشت هفته تمرین مقاومتی بر میزان فاکتور نوروتروفیک مشتق شده از مغز (BDNF) در موش‌های سوری نر اثر معناداری ندارد (۸). همچنین گوکینت و همکاران (۲۰۱۰)، دریافتند که ده هفته تمرین مقاومتی تأثیری بر سطوح پایه و سطوح پس از فعالیت ورزشی BDNF در افراد جوان سالم نداشت (۱۵). علاوه بر این تحقیقات مداخله‌ای روی تأثیرات ورزش بر عملکردهای شناختی به ویژه حافظه، بیشتر در زمینه‌های فعالیت

گرم به ازای کیلوگرم به صورت داخل صفاقی وبا سرنگ انسولین تزریق و بیهوش شدند و بافت هیپوکامپ موش‌ها توسط متخصصین آزمایشگاه جداسازی و در ادامه بلافاصله در ازت مایع فریز شده و در دمای -70°C نگهداری شد. جهت بررسی‌های مولکولی در سطح بیان ژن BDNF، ابتدا استخراج RNA از بافت هیپوکامپ طبق پروتکل شرکت سازنده (سیناژن، ایران)، انجام گرفت، سپس با استفاده از خاصیت جذب نور در طول موج ۲۶۰ نانومتر و با کمک رابطه زیر غلظت و درجه خلوص نمونه RNA به صورت کمی بدست آمد.

$$C (\mu\text{g}/\mu\text{l}) = A_{260} \times \epsilon \times d/1000$$

پس از استخراج RNA با خلوص و غلظت بسیار بالا از تمامی نمونه‌های مورد مطالعه مراحل سنتز cDNA طبق پروتکل شرکت سازنده انجام گرفت و سپس cDNA سنتز شده جهت انجام واکنش رونویسی معکوس مورد استفاده قرار گرفت. ابتدا پرایمرهای طراحی شده، مربوط به ژن مورد بررسی قرار گرفت، و سپس بررسی بیان ژن BDNF با استفاده از روش کمی q-RT PCR انجام پذیرفت. اندازه‌گیری بیان ژن موردنظر از بافت هیپوکامپ به وسیله تکنیک Real time-PCR سنجش و تمام پرایمرها توسط نرم افزار Allele IDv ۷,۸ طراحی شد و از ژن $\beta 2m$ (بتا ۲ میکروگلوبولین) به عنوان کنترل داخلی استفاده گردید. مقادیر بیان ژن با استفاده از فرمول $2^{-\Delta\Delta Ct}$ تجزیه و تحلیل شد.

تجزیه و تحلیل آماری

جهت بررسی طبیعی بودن توزیع یافته‌ها از آزمون شاپیروویلک و جهت تجزیه و تحلیل یافته‌ها از آزمون آماری آنالیز واریانس یک طرفه همراه با آزمون تعقیبی توکی در نرم افزار SPSS نسخه ۲۲ و جهت رسم نمودارها از نرم افزار Excel ویرایش ۲۰۰۷ استفاده شد ($P \leq 0.05$).

یافته‌ها

وزن موش‌های صحرایی در گروه‌های سه گانه تحقیق در جدول ۱ ارائه شده است. سطوح عامل نروتروفین مشتق شده از مغز (BDNF) و حافظه احتزازی گروه‌های تحقیقی به ترتیب در شکل‌های ۱ و ۲ ارائه شده است. نتایج آزمون آنالیز واریانس یک طرفه نشان داد تفاوت معناداری در سطوح BDNF ($F=23/19$, $P=0/001$) و حافظه احتزازی ($F=26/16$, $P=0/001$) بافت هیپوکامپ موش‌های صحرایی گروه‌های سه گانه تحقیق وجود دارد. نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد سطوح BDNF در گروه استانازول به طور معناداری کمتر از گروهش بود ($P=0/001$)، با این وجود سطوح BDNF در گروه تمرین مقاومتی + استانازول به طور معناداری بالاتر از گروه استانازول بود ($P=0/001$)، همچنین با وجود کاهش سطوح BDNF در گروه تمرین مقاومتی + استانازول نسبت به گروهش، با این حال اختلاف بین دو گروه از نظر آماری معنادار نبود (شکل ۱). همچنین سطوح حافظه احتزازی در گروه استانازول به طور معناداری نسبت به گروهش کاهش داشت ($P=0/001$)، با این وجود سطوح حافظه احتزازی در گروه تمرین مقاومتی + استانازول به طور معناداری بالاتر از گروه استانازول بود ($P=0/006$)، با این حال اختلاف معناداری بین حافظه احتزازی گروه تمرین مقاومتی + استانازول و گروهش مشاهده نشد (شکل ۲).

هفته و به مدت هشت هفته انجام دادند. همچنین تمرینات در هر جلسه شامل چهار ست (ست اول ۵۰ درصد، ست دوم ۷۵ درصد، ست سوم ۹۰ درصد و ست چهارم ۱۰۰ درصد وزنه تعیین شده برای آن هفته) و دو تکرار (دو بار بالا رفتن از پله‌ها) را انجام می‌دادند. فاصله بین هر ست ۲ تا ۳ دقیقه و فاصله بین هر تکرار ۴۰ تا ۶۰ ثانیه در نظر گرفته می‌شد (۲۰).

ارزیابی حافظه احتزازی

آزمون حافظه احتزازی ۲۴ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی در محل آزمایشگاه رفتاری حیوانات آزمایشگاه فیزیولوژی ورزشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد مرودشت طی دو روز و دو مرحله متوالی انجام شد. جلسهٔ خوگرفتن: تمام نمونه‌ها حداقل ۳۰ دقیقه قبل از شروع آزمایش در محیط آزمایشگاه قرار داده شدند. سپس هر موش در محفظهٔ روشن قرار داده شد و بعد از ۵ ثانیه در گیوتینی باز شد و به حیوان اجازه داده شد وارد محفظهٔ تاریک شود. زمان تأخیر اولیه یعنی زمانی که طول کشید تا حیوان از محفظهٔ روشن وارد محفظهٔ تاریک شود، یادداشت شد. ملاک ورود حیوان به محفظهٔ تاریک وارد شدن پاهای عقبی به محفظه بود و در این هنگام درب گیوتینی بسته شد. پس از گذشت ۱۰ ثانیه حیوان به قفس خود بازگردانده شد. حیواناتی که زمان تأخیر ورودی بیش از ۱۰۰ ثانیه داشتند از آزمایش حذف شدند (۲۱). که در تحقیق حاضر ۲ سر موش صحرایی در گروهش پس از ۱۰۰ ثانیه وارد خانه تاریک نشده و حذف شدند.

آموزش اکتساب حافظه: ۳۰ دقیقه بعد موش مجدداً در محفظهٔ روشن قرار می‌گرفت و بعد از ۵ ثانیه درب گیوتینی باز می‌شد و به محض این که حیوان وارد محفظهٔ تاریک می‌شد، درب گیوتینی بسته شده و از طریق میله‌های کف محفظه به حیوان شوک داده می‌شد (۵۰ هرتز، ۱ میلی‌آمپر، ۳ ثانیه) و بعد از ۱۵ تا ۲۰ ثانیه به قفسش باز گردانده می‌شد. ۲ دقیقه بعد، بار دیگر حیوان در محفظهٔ روشن قرار داده می‌شد. اگر حیوان دوباره وارد محفظهٔ سیاه می‌شد، مجدداً شوک می‌گرفت. اما اگر یادگیری داشت و تا دو دقیقه وارد محفظهٔ تاریک نمی‌شد، آزمون خاتمه داده می‌شد و موش به قفسش بازگردانده می‌شد (۲۱).

آزمون بازیابی حافظه: ۲۴ ساعت بعد از آموزش، آزمون بازیابی انجام شد تا حافظهٔ بلندمدت حیوان بررسی شود. در این مرحله هر حیوان در محفظهٔ روشن قرار می‌گرفت و بعد از ۲۰ ثانیه درب گیوتینی باز می‌شد و زمانی که طول کشید تا حیوان وارد محفظهٔ تاریک شود (STL) برای هر موش در مدت زمان آزمون یادداشت می‌گردید، مدت زمان آزمون ۵ دقیقه در نظر گرفته شد (۲۱). و پس از اتمام آزمون موش‌های صحرایی به قفس بازگردانده شدند.

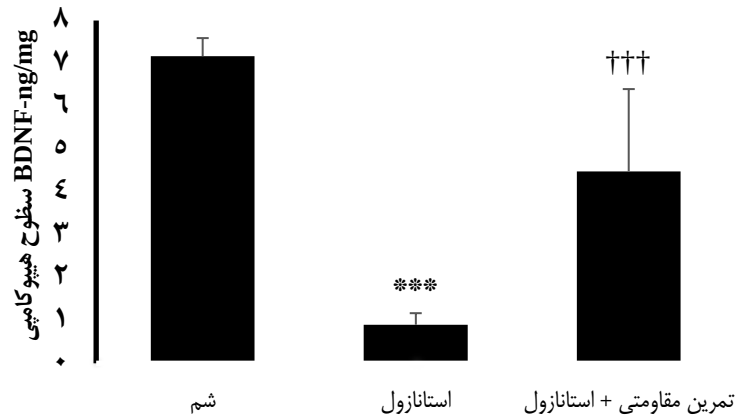
مراحل نمونه گیری بافت و اندازه گیری تغییرات BDNF

در بافت هیپوکامپ

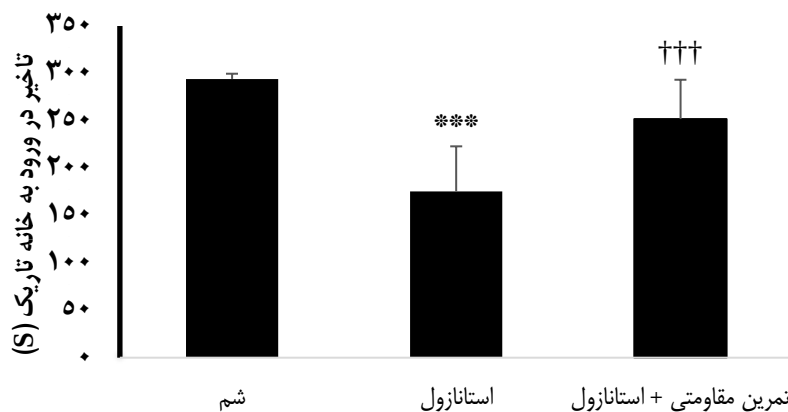
موش‌ها ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی و تزریق استانازول به وسیله کتامین با دوز ۹۵ میلی گرم / کیلوگرم و زایلازین با دوز ۵ میلی

جدول ۱. سطوح پیش آزمون و پس آزمون وزن موش‌های صحرایی در گروه‌های مورد مطالعه

گروه	پیش آزمون (گرم)	پس آزمون (گرم)
میانگین و انحراف استاندارد	میانگین و انحراف استاندارد	میانگین و انحراف استاندارد
شم	۱۷۴/۳۴±۲/۳۶	۱۷۵/۱۳±۲/۴۹
استانازول	۱۷۴/۱۴±۳/۵۹	۱۸۰/۲۳±۲/۴۱
استانازول + تمرین	۱۷۴/۱۴±۳/۶۷	۱۹۰/۲۵±۴/۳۵



شکل ۱. سطوح BDNF در گروه‌های سه گانه تحقیق

*** تفاوت معنا دار نسبت به گروه‌های Sham $P < 0.001$ +++ تفاوت معنا دار نسبت به گروه مصرف استانازول $P < 0.001$ 

شکل ۲. سطوح حافظه احتزاری در گروه‌های سه گانه تحقیق

*** تفاوت معنا دار نسبت به گروه‌های Sham $P < 0.001$ +++ تفاوت معنا دار نسبت به گروه مصرف استانازول $P < 0.001$

برساختار مغز نشان می‌دهند قرار گرفتن در معرض این داروهای آنابولیک می‌تواند با مکانیسم افزایش آمیلوئید بتا و افزایش استرس اکسیداتیو منجر به القای مسیر خارجی آپوپتوز شده و اختلالات ساختاری در قسمت‌های مختلف مغز بوجود آورد (۲). همچنین محققین اشاره نمودند که سوء مصرف AAS با مکانیسم استرس اکسیداتیو منجر به اختلال در گیرنده‌های دوپامین، افزایش ترشح دوپامین از بخش‌های مختلف مغز و ناحیه C1 هیپوکامپ می‌گردند، در همین حال شبه گیرنده‌های D1 دوپامین را مهار می‌کنند، در نتیجه این اتفاقات منجر به کاهش عملکرد دوپامینرژیک شده و موجب اختلال در سیستم بازسازی آندروژن‌ها می‌گردند، همه این اتفاقات منجر به کاهش انعطاف پذیری نورونی می‌شوند و یادگیری و حافظه را تحت تأثیر قرار می‌دهند

بحث

هدف از پژوهش حاضر بررسی تأثیر تمرینات مقاومتی بر بیان ژن BDNF و حافظه احتزاری در بافت هیپوکامپ موش‌های صحرایی مسموم شده با آستروئید آنابولیک استانازول بود. نتایج مطالعه حاضر نشان داد مصرف استانازول باعث کاهش سطوح BDNF و حافظه در بافت هیپوکامپ موش‌های صحرایی مسموم شده با آستروئید آنابولیک استانازول می‌شود. باین وجود ضمن بررسی‌های صورت گرفته مطالعه‌ای مبنی بر بررسی تأثیر تمرینات مقاومتی بر بیان ژن BDNF و حافظه احتزاری هیپوکامپ مسموم شده با استروئیدهای آنابولیک یافت نشد، از این رو مقایسه مطالعه حاضر با مطالعات مشابه دچار محدودیت بود. اما مطالعات انجام شده در ارتباط با سوء مصرف AAS

عملکردهای مغزی مانند یادگیری و حافظه (۲۸) و عملکرد شناختی (۲۹) را بررسی و تأیید نموده‌اند. مطالعات ثابت کرده‌اند کاهش بیان ژن BDNF باعث مشکلاتی در نحوه عملکرد سیناپس می‌شود و در نتیجه موجب کاهش حافظه می‌شود (۱۲). از طرف دیگر، فعالیت کولینرژیک با تمرین بدنی افزایش می‌یابد و تنظیم سیستم کولینرژیک در اثر ورزش در شکل پذیری نورونی ناشی از ورزش دخالت دارد (۳۰). در نتیجه تمرینات ورزشی، میزان جریان خون در مغز، تعداد سلول‌های مغز در ناحیه هیپوکامپ و ترشح مولکول‌های حفاظتی مانند BDNF را افزایش می‌دهد. مجموعه این فرایندها می‌تواند موجب بهبود حافظه شوند (۱۲). از طرفی مطالعات نشان می‌دهند میزان آسیب‌های سیستم عصبی در ورزشکاران مصرف کننده AAS کمتر مشاهده گردید، به نظر می‌رسد فعالیت‌های ورزشی با افزایش متابولیسم بدن، و تعامل با آستروئیدهای آنابولیک تا حدی به افزایش گیرنده‌های آندروژنی می‌گردند، این عامل می‌تواند به بهبود متابولیسم لیپوپروتئین‌های عروق خونی گردند و میزان آسیب AAS را نسبت به افراد غیر ورزشکار کاهش دهند (۳۱). ولی تأثیر فعالیت مقاومتی بر حافظه و یادگیری در مدل‌های انسانی و حیوانی در معرض استانازول هنوز به طور کامل شناخته نشده است. با این حال تأیید این موضوع به پژوهش‌های بیشتری نیاز دارد و به پژوهشگران پیشنهاد می‌شود اثر تعاملی تمرین استقامتی و مصرف استانازول با دوزهای مختلف را بر سطوح BDNF و حافظه احتیاری مورد مطالعه قرار داده و مقایسه کنند.

نتیجه گیری

بر اساس نتایج مطالعه حاضر مشخص شد استانازول موجب کاهش BDNF در بافت هیپوکامپ و حافظه شده و به نظر می‌رسد تمرین مقاومتی دارای اثرات سینرژستی بوده و باعث افزایش سطوح BDNF و حافظه در موش‌های صحرایی مسموم شده با استانازول می‌شود.

تشکر و قدردانی

این پژوهش با تأیید کمیته اخلاقی در پژوهش زیست پزشکی در دانشگاه آزاد اسلامی واحد محلات با کد (۱۳۹۹،۰۳۳) IR.IAU.M.REC. و در دانشگاه آزاد اسلامی واحد مرودشت انجام شد. بدین وسیله از کلیه افرادی که در انجام تحقیق حاضر همکاری داشته‌اند، تشکر و قدردانی می‌شود.

تعارض منافع

تعارض منافع وجود ندارد.

(۲۲). در همین راستا، محققین نشان دادند که مصرف طولانی مدت AAS منجر به کاهش تعداد سلول‌های سالم در کورتکس، مخچه و هیپوکامپ می‌گردد (۲۳)، همچنین تزریق $7/5 \text{ mg/kg}$ تستوسترون به مدت ۱۴ روز موجب اختلال در یادگیری موش‌های صحرایی گردید، و میزان آسیب و اختلالات شناختی را افزایش داد (۲۲)، غلامی برمی و همکاران (۲۰۱۸) در مطالعه خود به این نتیجه رسیدند مصرف AAS از نوع بولدنون، موجب تغییرات ساختاری مهمی از جمله تغییرات نورون‌های هرمی، پیکنوز، نکروز و برخی پرخونی هیپوکامپ گردیده است (۲۴) که می‌توانند با یافته‌های مطالعه حاضر همسو باشند. همچنین نتایج مطالعه حاضر نشان داد ۸ هفته تمرین مقاومتی تأثیر معنادار بر افزایش بیان ژن BDNF و حافظه احتیاری بافت هیپوکامپ در موش‌های صحرایی مسموم شده با استانازول داشت. در این راستا، غلامی برمی (۲۰۱۸) در تحقیقی به این نتیجه رسیدند که تمرین مقاومتی باعث کاهش آسیب‌های نورولوژیک ناشی از مسمومیت بولدنون در بافت هیپوکامپ موش‌های صحرایی می‌شود (۲۵)، در مطالعه‌ای دیگر آذربایجانی و همکاران (۲۰۱۸)، در تحقیقی بر روی اثر تمرین استقامتی بر تغییرات هیستوپاتولوژی بافت هیپوکامپ در موش‌های صحرایی نر مسموم شده با آستروئید آنابولیک به این نتیجه رسیدند این تمرینات بر کاهش آسیب‌های نورولوژیک ناشی از دریافت بولدنون مؤثر بوده و اثر سینرژستی دارد (۲۴). یحیایی و همکاران (۲۰۱۸)، در مطالعه‌ای بر روی تأثیرات ناشی از مصرف بولدنون همراه با هشت هفته تمرین هوازی بر تغییرات هیستوپاتولوژیک بافت مخچه موش‌های صحرایی نژاد ویستار به این نتیجه رسیدند که تمرینات استقامتی و هوازی به مدت ۸ هفته می‌تواند اثر داروی بولدنون بر بافت مخچه موش‌های صحرایی را کاهش دهد (۲۶). همچنین مجتهدی و همکاران (۲۰۱۴) تأثیر ۸ هفته تمرین مقاومتی بر سطوح پروتئینی نروتروفین مشتق شده از مغز در هیپوکامپ رت‌های نر بالغ را بررسی کردند و نتایج نشان داد که تمرین مقاومتی سطوح پروتئینی BDNF را در هیپوکامپ رت‌ها افزایش می‌دهد (۲۷). یارو و همکاران (۲۰۱۰) گزارش کردند ۵ هفته تمرین مقاومتی موجب افزایش موقتی در سطح BDNF پس از فعالیت ورزشی در افراد سالم غیر فعال می‌شود (۱۴)، که با نتایج مطالعه حاضر همسو می‌باشند. از آنجایی که اکثر تحقیقات بیشتر بر روی تأثیر فعالیت ورزشی انجام شده و مطالعه‌ای مبنی بر بررسی تأثیر فعالیت ورزشی همراه با مسمومیت AAS بر سطوح نروتروفین مشتق شده از مغز در هیپوکامپ و حافظه احتیاری یافت نشد لذا منابع برای مقایسه با سایر تحقیقات محدود است. مطالعات مختلف و متعددی اثرات مفید فعالیت فیزیکی و ورزش بر روی

References

- Hernandez-Guerra AI, Tapia J, Menendez-Quintanal LM, Lucena JS. Sudden cardiac death in anabolic androgenic steroids abuse: case report and literature review. *Forensic Sci Res*. 2019;4(3):267-273. doi: 10.1080/20961790.2019.1595350 pmid: 31489392
- Galderisi M, Cardim N, D'Andrea A, Bruder O, Cosyns B, Davin L. Atlet kalbine çoklu modaliteli kardiyak görüntüleme yaklaşımı: Avrupa Kardiyovasküler Görüntüleme Derneği Uzman Uzlaşısı. *Türk Kardiyol Dern Ars*. 2016;1:1.
- Marocolo M, Katayama PL, Meireles A, Barbosa Neto O. Combined effects of exercise training and high doses of anabolic steroids on cardiac autonomic modulation and ventricular repolarization properties in rats. *Can J Physiol Pharmacol*. 2019;97(12):1185-1192. doi: 10.1139/cjpp-2019-0286 pmid: 31505126
- Tabor J, Collins R, Debert CT, Shultz SR, Mychasiuk R. Neuroendocrine Whiplash: Slamming the Breaks on Anabolic-Androgenic Steroids Following Repetitive Mild Traumatic Brain Injury in Rats May Worsen Outcomes. *Front Neurol*. 2019;10:481. doi: 10.3389/fneur.2019.00481 pmid: 31133974
- Silva DK, Esteves A, Guerra FDR, Soares EA, NOGUEIRA D, MARQUES P. Chronic Use of Anabolic Steroids and the Effects on the Neuronal Density of the Cerebral Cortex and Hippocampus in Mice. *America J Sport Sci*. 2018;6(3):122-129. doi: 10.11648/j.ajss.20180603.18

6. Karimooy FN, Bideskan AE, Pour AM, Hoseini SM. Neurotoxic Effects of Stanozolol on Male Rats' Hippocampi: Does Stanozolol cause apoptosis? *Biomol Concepts*. 2019;10(1):73-81. doi: 10.1515/bmc-2019-0009 pmid: 31026221
7. Kikusui T, Kanbara N, Ozaki M, Hirayama N, Ida K, Tokita M, et al. Early weaning increases anxiety via brain-derived neurotrophic factor signaling in the mouse prefrontal cortex. *Sci Rep*. 2019;9(1):3991. doi: 10.1038/s41598-019-40530-9 pmid: 30850750
8. Mardani Salmi M, Reisi J, Esfarjani F, Zamani S. Effect of 8 Weeks Resistance Training and Irisin Injection on BDNF and Spatial Memory of Male Mice. *Sport Physiol*. 2020;12(46).
9. Ricci S, Viggiano D, Cimmino I, Perruolo G, Cabaro S, Liotti A, et al. Prep1 Deficiency Affects Olfactory Perception and Feeding Behavior by Impairing BDNF-TrkB Mediated Neurotrophic Signaling. *Mol Neurobiol*. 2018;55(8):6801-6815. doi: 10.1007/s12035-018-0873-7 pmid: 29349576
10. Hajirezaii B, Barari A, Abbassi Dalooi A. Consumption of Ginkgo biloba extract and swimming training on nmda and bdnf plasma in untrained girls. *J Med Plant*. 2015;14(54):183-190.
11. van Praag H. Exercise and the brain: something to chew on. *Trends Neurosci*. 2009;32(5):283-290. doi: 10.1016/j.tins.2008.12.007 pmid: 19349082
12. Jafarzadeh G, Shakeryan S, Farbood Y, Ghanbarzadeh M. Effect of One Session of Resistance Exercises on Expression of BDNF Gene and TrkB Receptor in Alzheimer Model Male Wistar Rats. *J Fasa Univ Med Sci*. 2019;8(4):1167-1176.
13. Huang T, Larsen KT, Ried-Larsen M, Moller NC, Andersen LB. The effects of physical activity and exercise on brain-derived neurotrophic factor in healthy humans: A review. *Scand J Med Sci Sports*. 2014;24(1):1-10. doi: 10.1111/sms.12069 pmid: 23600729
14. Yarrow JF, White LJ, McCoy SC, Borst SE. Training augments resistance exercise induced elevation of circulating brain derived neurotrophic factor (BDNF). *Neurosci Lett*. 2010;479(2):161-165. doi: 10.1016/j.neulet.2010.05.058 pmid: 20553806
15. Goekint M, Roelands B, De Pauw K, Knaepen K, Bos I, Meeusen R. Does a period of detraining cause a decrease in serum brain-derived neurotrophic factor? *Neurosci Lett*. 2010;486(3):146-149. doi: 10.1016/j.neulet.2010.09.032 pmid: 20854879
16. Hotting K, Schauenburg G, Roder B. Long-term effects of physical exercise on verbal learning and memory in middle-aged adults: results of a one-year follow-up study. *Brain Sci*. 2012;2(3):332-346. doi: 10.3390/brainsci2030332 pmid: 24961197
17. Malmberg Gavelin H, Eskilsson T, Boraxbekk CJ, Josefsson M, Stigsdotter Neely A, Slunga Jarvholm L. Rehabilitation for improved cognition in patients with stress-related exhaustion disorder: RECO - a randomized clinical trial. *Stress*. 2018;21(4):279-291. doi: 10.1080/10253890.2018.1461833 pmid: 29693483
18. Arjmand A, Abedi B, Hosseini SA. The Effect of Resistance Training on Malondialdehyde and Protein Carbonyl Concentration in the Heart Tissue of Rats Exposed to Stanozolol. *Pharmaceut Biomed Res*. 2020;6(4):261-268. doi: 10.18502/pbr.v6i4.5112
19. de Lima Sant'Anna M, Casimiro-Lopes G, Boaventura G, Marques STF, Sorenson MM, Simão R. Anaerobic exercise affects the saliva antioxidant/oxidant balance in high-performance pentathlon athletes. *Human Move*. 2016;17(1):50-55. doi: 10.1515/humo-2016-0003
20. Hassanpour G, Nikbakht H, Azarbayjani MA, Shakeri N, Natanzi HA. Effect of Interval and Continued Exercises with Crocin on Bax/Bcl-2 in Diabetic Obese Rats. *Iran J Diabet Obesit*. 2020. doi: 10.18502/ijdo.v11i3.2614
21. Zavvari F, Karimzadeh F. A review on the behavioral tests for learning and memory assessments in rat. *Neurosci J Shefaye Khatam*. 2017;5(4):110-124. doi: 10.18869/acadpub.shefa.5.4.110
22. De la Rosa A, Solana E, Corpas R, Bartres-Faz D, Pallas M, Vina J, et al. Long-term exercise training improves memory in middle-aged men and modulates peripheral levels of BDNF and Cathepsin B. *Sci Rep*. 2019;9(1):3337. doi: 10.1038/s41598-019-40040-8 pmid: 30833610
23. Bjornebekk A, Walhovd KB, Jorstad ML, Due-Tonnessen P, Hullstein IR, Fjell AM. Structural Brain Imaging of Long-Term Anabolic-Androgenic Steroid Users and Nonusing Weightlifters. *Biol Psychiatry*. 2017;82(4):294-302. doi: 10.1016/j.biopsych.2016.06.017 pmid: 27616036
24. Gholami T, Azarbayjani MA, Matinhomae H. Simultaneous Study On the effects of jujube alcohol extract, Gallic acid, and endurance training on histopathology changes of the hippocampus in male rats which had been poisoned by anabolic steroids. *Yafteh*. 2018;20(2):32-40.
25. Gholami T, Azarbayjani MA, Matinhomae H. Simultaneous effect of jujube alcoholic extract and resistance training on histopathology of hippocampal tissue in male rat hair poisoned with anabolic steroid. *Sci J Med Sys Organiz Islam Repub Iran*. 2017;35(1):61-67.
26. Yahyaei B, Nouri M, RAMEZANI M. The Effects of Anabolic Steroids Boldenone with Eight Weeks Aerobic Exercise on Histopathological Changes in Cerebellum Male Wistar Rats. 2019.
27. Mojtahedi S, Shabkhiz F, Akbarnejad A, Salehian O. Effect of 8 weeks resistance training on BDNF and TrkB in the hippocampus of adult male rats. *Armaghane Danesh*. 2014;19(5):380-389.
28. Panagiotou M, Vyazovskiy VV, Meijer JH, Deboer T. Differences in electroencephalographic non-rapid-eye movement sleep slow-wave characteristics between young and old mice. *Sci Rep*. 2017;7:43656. doi: 10.1038/srep43656 pmid: 28255162
29. Maejima H, Kanemura N, Kokubun T, Murata K, Takayanagi K. Exercise enhances cognitive function and neurotrophin expression in the hippocampus accompanied by changes in epigenetic programming in senescence-accelerated mice. *Neurosci Lett*. 2018;665:67-73. doi: 10.1016/j.neulet.2017.11.023 pmid: 29129676
30. Cotman CW, Berchtold NC, Christie LA. Exercise builds brain health: key roles of growth factor cascades and inflammation. *Trends Neurosci*. 2007;30(9):464-472. doi: 10.1016/j.tins.2007.06.011 pmid: 17765329
31. Hartgens F, Kuipers H. Effects of androgenic-anabolic steroids in athletes. *Sports Med*. 2004;34(8):513-554. doi: 10.2165/00007256-200434080-00003 pmid: 15248788