



**Original Article**

**The Protective Effect of Chicory Over Eight Weeks of Resistance Training on the expression of TNF- $\alpha$  and IL-6 Genes in the Kidney Tissue of Female Wistar Rats Consuming Testosterone Enanthate**

**Kh. Molaei<sup>1</sup>, S. Mirzayan Shanjani<sup>2\*</sup>, A. Gorzi<sup>3</sup>, Y. Kazemzadeh<sup>4</sup>, A. Banaeifar<sup>5</sup>**

1. Department of Exercise Physiology, Islamshahr Branch, Islamic Azad University, Islamshahr, Iran.
2. Department of Exercise Physiology, Islamshahr Branch, Islamic Azad University, Islamshahr, Iran., (Corresponding Author).
3. Department of Sport Sciences, University of Zanjan, Zanjan, Iran.
4. graduate of kharazmi University, Tehran, Iran.
5. Department of Exercise Physiology, South Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

**Received: 31/05/2023, Revised: 26/04/2024, Accepted: 21/05/2024**

**Abstract**

The aim of this study was to evaluate the protective effect of chicory against the damages caused by testosterone enanthate on the genes expression levels of cytokines tumor necrosis factor-alpha (TNF- $\alpha$ ) and interleukin-6 (IL-6) in the kidney tissue of female wistar rats during eight weeks of resistance training. In this experimental research, 22 female wistar rats were randomly divided into three groups: 1) training group + placebo (sham), 2) training group + testosterone enanthate, and 3) training group + testosterone enanthate + chicory. All three groups performed resistance training for eight weeks. Rats in groups 2 and 3 received a 20 mg/kg intramuscular injection of testosterone enanthate three days a week. Further, group 3 received chicory extract at the rate of 6 grams per kilogram of body weight via gavage three times a week. Gene expression in kidney tissue was measured using Real-Time PCR method. The data was analyzed using SPSS 21 software, employing one-way analysis of variance and Bonferroni's post hoc test ( $p \leq 0.05$ ). The expression of TNF- $\alpha$  and IL-6 genes in the training group + testosterone enanthate was significantly higher than in the training group + placebo ( $P < 0.0001$ ). The training group + testosterone enanthate + chicory showed a significant decrease in the expression of TNF- $\alpha$  and IL-6 genes compared to the training group + testosterone ( $P < 0.0001$ ). It seems that the consumption of chicory has an effective role in reducing the side effects caused by the consumption of testosterone enanthate in rats.

**Keywords:** Anabolic Steroids, Resistance Training, Chicory, Testosterone Enanthate.



\* Corresponding Author: S. Mirzayan Shanjani, Tel: +98- 9114438998, E-mail:

**How to Cite:** Molaei, Kh; Mirzayan Shanjani, S; Gorzi, A; Kazemzade, Y; Banaeifar, A. (2024). Investigating the method of calculating and correlating the practical entrance exam scores of physical education candidates with their performance in undergraduate practical courses. *Sport Shysiology*, 15(59), 71-86. In Persian.

## Extended Abstract

### Background and Purpose

Anabolic androgenic steroids (AAS) are a group of chemical compounds used to increase the performance and structure of the body's muscles. Testosterone enanthate is one of the drugs derived from anabolic steroids, which is used more often than other androgenic compounds such as testosterone propionate due to its long-lasting effect (1). The use of testosterone enanthate in female resistance athletes has increased in recent years. The use of exogenous testosterone, such as testosterone enanthate, in women to increase muscle growth and athletic performance can lead to significant androgenic side effects, including male characteristics and disturbances in menstrual cycle (2). Long-term use of anabolic steroids can cause problems such as damage to the kidneys, chronic kidney disease and issues in the renin-angiotensin-aldosterone system. It can also cause or exacerbate pro-fibrotic and pro-apoptotic substances, as well as inflammatory cytokines (3). Testosterone may also play a role in the production of pro-inflammatory cytokines such as tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) and interleukin-6 (IL-6). Among the inflammatory markers, TNF- $\alpha$  and IL-6 play an essential role in promoting inflammation. The production of such cytokines can lead to kidney inflammation and the development of kidney diseases (4). Repeated efforts to raise awareness of the harmful effects of using these substances have not been completely successful in convincing all athletes to refrain from using steroids (5). In addition, a significant percentage of female athletes also tend to use anabolic steroids (6). For this reason, research has begun to reduce the side effects of using anabolic steroids, and the use of medicinal plants in these issues is under investigation by researchers. Among these plant materials is chicory from Asteraceae family, which is utilized for treating certain medical conditions (7). Plant compounds found in chicory include sucrose, cellulose, proteins, caffeic acid derivatives, flavonoids, polyphenols, and carotenoids (8). It has been reported that chicory plays a protective role in the early stages of kidney fibrosis. In the later stages, when the activity of anti-inflammatory molecules decreases, chicory blocks the signaling pathways of inflammation (9). For this purpose, it is necessary to investigate the detrimental effects of testosterone enanthate on the production of pro-inflammatory cytokines in the kidney tissue, as well as the potential role of chicory in reducing inflammation. The purpose of this study is to investigate the effect of chicory consumption during eight weeks of resistance training on inflammatory indicators in the kidney tissue of female rats consuming testosterone enanthate.

### Material and Methods

This experimental study was conducted on 22 female Wistar rats, aged 8 weeks and weighing  $208.22 \pm 14.17$  grams, obtained from Pasteur Institute (Iran). The animals were randomly divided into three groups: training + placebo (olive oil) (sham) (n=6), training + testosterone enanthate (n=8) and training + testosterone enanthate + chicory (n=8). The animals were kept in transparent polycarbonate cages under a 12-hour light/12-hour dark cycle, at a temperature of  $22 \pm 2^\circ\text{C}$  and humidity of  $45 \pm 5\%$ . They had free access to water provided in a dedicated 500 ml bottle for laboratory animals. The training lasted for one week to familiarize the animals with climbing a specialized resistance ladder. The animals underwent resistance training for eight weeks, with five sessions per week. The

resistance training protocol involved training five days a week, with each session consisting of four sets of climbing a 1-meter ladder with 26 steps, interspersed with 60-90 seconds of rest between sets. Additionally, weights were attached to the animals' tails during the training sessions. The animals had weights attached to their tails, starting at 40% of their body weight in the first week. Every subsequent week, an additional 20% of the body weight was added to the weights. Additionally, two sessions per week of weight stretching were conducted. (18). Rats in the exercise + testosterone enanthate group received testosterone steroid at a dose of 20 mg/kg body weight (10) three times a week for eight weeks. In the training group + testosterone enanthate + chicory, chicory extract (6 grams per kilogram of body weight) was administered three times a week via gavage (11). After implementing the current research protocol, to minimize the acute effects of training, animals were fasted for 12 to 14 hours and anesthetized 48 hours after the last training session, during the second stage of estrus. Anesthesia was induced by intraperitoneal injection of a combination of ketamine (30-50 mg/kg) and xylazine (3-5 mg/kg). Expression levels of TNF- $\alpha$  and IL-6 genes in kidney tissue were assessed using Real-Time PCR. Descriptive statistics of the data were analyzed using SPSS21 software as mean  $\pm$  standard deviation. The significance level was set at  $P < 0.05$ . To compare between groups, one-way analysis of variance (ANOVA) was utilized to compare the means of the three groups. If the ANOVA test yielded significant results, Bonferroni's post hoc test was employed to compare the means of pairs of groups.

### Findings

The results indicated that supplementation with testosterone significantly increased the levels of inflammatory markers TNF- $\alpha$  and IL-6 in rats compared to the training + placebo group ( $P < 0.0001$ ). Additionally, the consumption of chicory along with testosterone supplementation not only significantly decreased the levels of these markers compared to rats consuming testosterone alone ( $P < 0.0001$ ), but also brought these inflammatory indicators back to levels comparable to those in the training + placebo group. There was a significant difference between the average levels of these indicators in the training + placebo rats and those in the training + testosterone + chicory rats, where no significant difference was Conclusion

Abuse of testosterone enanthate, by increasing the production of pro-inflammatory markers, leads to disorders and heightened inflammation in the kidney tissues of female rats receiving testosterone enanthate. While the consumption of chicory, due to its antioxidant and anti-inflammatory compounds, reduces the side effects of testosterone enanthate consumption in the kidney tissue of female rats. Nevertheless, confirmation of the protective effects of chicory along with the consumption of testosterone enanthate in the kidney tissue of female rats requires more extensive experimental studies.

**Keywords:** Anabolic steroids, Resistance training, Chicory, Testosterone enanthate.

### Article Message

Consuming chicory, by inhibiting pro-inflammatory cytokines, can be effective and efficient approach to mitigate inflammation and the side effects caused by testosterone enanthate consumption in kidney tissue of rats.

### Funding

This study received no funding from public, commercial, or non-profit organizations

### Authors' Contributions

All authors participated in designing, implementing and writing all parts of the present study.

### Conflicts of Interest

The authors declared no conflict of interest.


### References

1. Bond P, Smit DL, de Ronde W. Anabolic-androgenic steroids: How do they work and what are the risks? *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2022 Dec 19;13:1059473. doi: 10.3389/fendo.2022.1059473. PMID: 36644692; PMCID: PMC9837614.
2. 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. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23839634/>
3. Davani-Davari D, Karimzadeh I, Khalili H. The potential effects of anabolic-androgenic steroids and growth hormone as commonly used sport supplements on the kidney: a systematic review. *BMC nephrology*. 2019;20:1-12. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31151420/>
4. Zhao JV, Schooling CM. The role of testosterone in chronic kidney disease and kidney function in men and women: a bi-directional Mendelian randomization study in the UK Biobank. *BMC medicine*. 2020;18(1):1-10. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32493397/>
5. Sadowska-Krępa E, Kłapcińska B, Nowara A, Jagsz S, Szołtysek-Bołdys I, Chalimoniuk M, et al. High-dose testosterone supplementation disturbs liver pro-oxidant/antioxidant balance and function in adolescent male Wistar rats undergoing moderate-intensity endurance training. *PeerJ*. 2020;8:e10228. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33240609/>
6. Sagoe D, Molde H, Andreassen CS, Torsheim T, Pallesen S. The global epidemiology of anabolic-androgenic steroid use: a meta-analysis and meta-regression analysis. *Annals of epidemiology*. 2014;24(5):383-98. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24582699/>
7. 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. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27774898/>
8. Singh R, Chahal KK. *Cichorium intybus L: A review on phytochemistry and pharmacology*. *International Journal of Chemical Studies*. 2018;6(3):1272-80. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8913551/>
9. Jin Y-N, Lin Z-J, Zhang B, Bai Y-F. Effects of chicory on serum uric acid, renal function, and GLUT9 expression in hyperuricaemic rats with renal injury and in vitro verification with cells. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2018;2018. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30622589/>
10. 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 immunohistochemical study. *Histol Histopathol*. 2017;4(10). <https://www.hoajonline.com/histology/2055-091X/4/10>
11. 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. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26389883/>



نوع مقاله: پژوهشی

اثر محافظتی کاسنی در طی هشت هفته تمرین مقاومتی بر بیان ژن های  $TNF-\alpha$  و  $IL-6$  در بافت کلیه موش های صحرایی ماده مصرف کننده تستوسترون انانتات

خدیجه مالایی<sup>۱</sup>، ساناز میرزایان شانجانی<sup>۲\*</sup> , علی گزری<sup>۳</sup>، یاسر کاظم زاده<sup>۴</sup>، عبدالعلی بنائی فر<sup>۵</sup>

۱. دانشجوی دکتری / گروه فیزیولوژی ورزشی / واحد اسلامشهر، دانشگاه آزاد اسلامی، اسلامشهر، ایران.

۲. استادیار، گروه فیزیولوژی ورزشی / واحد اسلامشهر، دانشگاه آزاد اسلامی، اسلامشهر، ایران.

۳. دانشیار، گروه علوم ورزشی / دانشگاه زنجان، زنجان، ایران.

۴. استادیار / دانش آموخته دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران.

۵. دانشیار، گروه فیزیولوژی ورزشی / واحد تهران جنوب، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۳/۱۱، تاریخ اصلاح: ۱۴۰۳/۰۲/۰۷، تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۳/۰۱

چکیده

زمینه و هدف: هدف از این مطالعه بررسی اثر محافظتی کاسنی در برابر آسیب های ناشی از تستوسترون انانتات بر سطوح بیان ژن سایتوکین های فاکتور نکروز تومور-آلفا و اینترلوکین-۶ در بافت کلیه موش های صحرایی ماده در طول هشت هفته تمرین مقاومتی است. مواد و روش ها: در این پژوهش تجربی، ۲۲ سر موش صحرایی ماده نژاد ویستار به طور تصادفی به ۳ گروه (۱) گروه تمرین + دارونما (شم)، (۲) گروه تمرین + تستوسترون انانتات، (۳) گروه تمرین + تستوسترون انانتات + کاسنی تقسیم و سه گروه به مدت هشت هفته تمرین مقاومتی انجام دادند. موش های گروه ۲ و ۳، تستوسترون انانتات به میزان ۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم را به صورت تزریق عضلانی سه روز در هفته دریافت نمودند. همچنین گروه ۳، عصاره کاسنی به میزان ۶ گرم به ازای هر کیلوگرم از وزن بدن به شکل گاواژ سه بار در هفته دریافت کردند. بیان ژن ها در بافت کلیه به روش Real-Time PCR اندازه گیری شد. داده ها با استفاده از نرم افزار SPSS 21 و با آزمون تحلیل واریانس یک راهه و آزمون تعقیبی بونفرونی مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت ( $p \leq 0/05$ ). یافته ها: بیان ژن های  $TNF-\alpha$  و  $IL-6$  در گروه تمرین + تستوسترون انانتات به میزان معناداری بالاتر از گروه تمرین + دارونما بود ( $P < 0/0001$ ). گروه تمرین + تستوسترون انانتات + کاسنی موجب کاهش معنادار بیان ژن های  $TNF-\alpha$  و  $IL-6$  نسبت به گروه تمرین + تستوسترون انانتات شد ( $P < 0/0001$ ). نتیجه گیری: به نظر می رسد مصرف کاسنی در کاهش عوارض ناشی از مصرف تستوسترون انانتات در ب موش ها نقش مؤثری داشته باشد.

واژگان کلیدی: استروئیدهای آنابولیک، تمرین مقاومتی، کاسنی، تستوسترون انانتات



\* Corresponding Author: S. Mirzayan Shanjani, Tel: +98- 9114438998, E-mail:

**How to Cite:** Molaei, Kh; Mirzayan Shanjani, S; Gorzi, A; Kazemzade, Y; Banaeifar, A. (2024). Investigating the method of calculating and correlating the practical entrance exam scores of physical education candidates with their performance in undergraduate practical courses. *Sport Shysiology*, 15(59), 71-86. In Persian.

## مقدمه

استروئیدهای آندروژنی آنابولیک<sup>۱</sup> (AAS)، گروهی از ترکیبات شیمیایی هستند که برای افزایش عملکرد و ساختار عضلات بدن، به طور روزافزون استفاده می‌شوند. تستوسترون انانات یکی از داروهای برگرفته از استروئیدهای آنابولیک می‌باشد که به دلیل تاثیر طولانی آن نسبت به سایر ترکیبات آندروژنی مثل تستوسترون پروپیونات، بیشتر مصرف می‌شود (۱). این ترکیبات در اصل نوعی هورمون آندروژن هستند که به صورت مصنوعی تولید می‌شوند و در برخی موارد برای درمان بیماری‌هایی مانند کم‌خونی و آسم هم استفاده می‌شوند. در عرصه ورزش، به خصوص بدن‌سازی، به علت افزایش سنتز پروتئین برای افزایش حجم و قدرت عضله و بهبود عملکرد بدن مصرف می‌شود (۲، ۳). استفاده از تستوسترون انانات در زنان ورزشکار مقاومتی در این سال‌ها افزایش یافته است. استفاده از تستوسترون آگزوزن، مانند تستوسترون انانات، در زنان به منظور افزایش رشد عضلات و عملکرد ورزشی می‌تواند منجر به عوارض جانبی قابل توجه آندروژنی، از جمله ایجاد ویژگی‌های مردانه مانند ضخیم شدن موهای صورت، عمیق شدن صدا، و اختلال در چرخه قاعدگی شود (۴). همچنین سطوح تقویت شده تستوسترون می‌تواند چندین سیستم فیزیولوژیکی از جمله کلیه‌ها را تحت فشار قرار دهد (۵).

استفاده بلند مدت از استروئیدهای آنابولیک می‌تواند باعث بروز مشکلاتی مثل آسیب به کلیه‌ها، بیماری مزمن کلیه و مشکلاتی در سیستم رنین-آنژیوتانسین-آلدوسترون شود. همچنین می‌تواند باعث افزایش بیش از حد مواد پروفیبروتیک و پرو آپوپتوتیک و همچنین سایتوکاین‌های التهابی شود یا این مشکلات را تشدید کند (۵). یافته‌های یک مطالعه افزایش حجم کلیه، ضخامت قشر کلیه را در گروه‌های مصرف کننده استروئیدهای آنابولیک در مقایسه با گروه کنترل نشان داد (۶). یک مطالعه تجربی در موش‌های صحرایی ارتباط معنی‌داری بین مصرف تستوسترون و دفع ادراری نشانگرهای سمیت کلیوی مانند لوسین آمینوپتیداز را نشان داد (۷). همچنین تستوسترون ممکن است در تولید سایتوکاین‌های پیش التهابی مانند فاکتور نکروز تومور-آلفا<sup>۲</sup> (TNF- $\alpha$ ) و اینترلوکین-۶<sup>۳</sup> (IL-6) نقش داشته باشد.

در بین نشانگرهای التهابی، TNF- $\alpha$  و IL-6 نقش اساسی در ایجاد التهاب دارند. تولید چنین سایتوکاین‌هایی می‌تواند منجر به التهاب کلیه و پیشرفت بیماری‌های کلیوی شود (۸). TNF- $\alpha$  یک سایتوکاین پیش التهابی است که از ماکروفاژهای نفوذی و سلول‌های توبولار کلیوی ساکن کلیه در طی اختلالات کلیوی آزاد می‌شود. در مطالعه‌ای نقش TNF- $\alpha$  به عنوان یک سایتوکاین کلیدی که در آسیب کلیوی مرتبط با AAS دخیل است روشن شده است (۹). مطالعات افزایش در تولید TNF- $\alpha$ ، فراخوانی پرو آپوپتوز و فیبروز در طول انسداد کلیه را مرتبط با تستوسترون بیان کرده‌اند (۱۰).

1. Anabolic androgenic steroids
2. Tumor necrosis factor-alpha
3. Interleukin-6

استفاده از استروئیدهای آنابولیک و پدیده دوپینگ در جامعه ورزشی، به غیر از تاثیرات منفی بر اخلاق ورزشی در وضعیت بهداشت و سلامت افراد نیز تاثیر منفی داشته است. تلاش های مکرر متخصصان فیزیولوژی ورزشی و بهداشت برای آگاه سازی از اثرات مضر استفاده از این مواد، به موفقیت کامل در متقاعد کردن همه ورزشکاران برای استفاده نکردن از استروئیدها نرسیده است (۱۱). علاوه بر این همچنان درصد قابل توجهی از زنان ورزشکار نیز تمایل به استفاده از استروئیدهای آنابولیک دارند (۱۲). به همین دلیل، تحقیقاتی برای کاهش عوارض استفاده از استروئیدهای آنابولیک آغاز شده است و استفاده از گیاهان دارویی برای تنظیم این موارد در دستور کار پژوهشگران قرار گرفته است.

از جمله این مواد گیاهی، کاسنی<sup>۱</sup> از راسته ی گل مینا است که در برخی بیماری های پزشکی از آن برای درمان کمک می گیرند (۱۳). کاسنی از قرن هفدهم در طب سنتی برای درمان اختلالات گوارشی و کبدی و همچنین التهاب استفاده می شد. ترکیبات گیاهی گزارش شده در کاسنی عبارت از ساکارز، سلولز، پروتئین ها، مشتقات اسید کافئیک، فلاونوئیدها، پلی فنول ها، کاروتنوئیدها، آنتوسیانین ها، تانن ها، کومارین ها، سسکوئی ترپن لاکتون ها، اسیدهای چرب، پکتین، ویتامین ها، کولین ها، اسیدهای آمینه و کولینیس می باشد (۱۴). با توجه به وجود چنین ترکیبات گوناگون در قسمت های مختلف گیاه کاسنی، تحقیقات نقش های کاهش چربی، آنتی اکسیدانی و ضد التهابی آن را تایید و تا حدودی سازوکارهای اساسی اثر آن را روشن کرده اند (۱۵). برخی پژوهشگران معتقدند که کاسنی در حفاظت از سلول های کلیه و اندوتلیال عروق نیز مؤثر است. گزارش شده که کاسنی در مراحل ابتدایی فیبروز کلیوی نقش محافظتی دارد و در مرحله پایانی آن که فعالیت مولکول های ضدالتهابی کاهش می یابد، مسیرهای پیام رسانی التهاب را مسدود می کند (۱۶). در مطالعه ای که بر روی سلول های سرطان روده بزرگ در انسان صورت گرفت، نشان داده شد که عصاره کاسنی منجر به مهار TNF- $\alpha$  می شود (۱۷). بدین منظور بررسی آثار مخرب تستوسترون انانتات بر تولید سایتوکاین های پیش التهابی بافت کلیه و همچنین نقش کلیدی کاسنی بر کاهش التهاب ضروری است. هدف از این پژوهش بررسی اثر مصرف کاسنی در طول هشت هفته تمرین مقاومتی بر شاخص های التهابی در بافت کلیه موش های صحرایی ماده مصرف کننده تستوسترون انانتات می باشد.

### مواد و روش ها

این مطالعه تجربی بر روی ۲۲ موش صحرایی ماده از نژاد ویستار با سن ۸ هفته و وزن  $14/17 \pm 20/8$  گرم که از انستیتو پاستور (ایران) تهیه شده بودند انجام پذیرفت. حیوانات به طور تصادفی به سه گروه تمرین + دارونما (روغن زیتون) (شش) (n=6) و تمرین + تستوسترون انانتات (n=8) و گروه تمرین + تستوسترون انانتات + کاسنی (n=8) تقسیم شدند. آنها در قفس های پلی کربنات شفاف به ابعاد  $15 \times 15 \times 30$  سانتی متر تولید شده در شرکت رازی راد (چهار حیوان در هر قفس) قرار گرفتند و در چرخه نور ۱۲ ساعت/ تاریکی ۱۲ ساعت، دمای  $22 \pm 2$  درجه سانتی گراد و رطوبت  $45 \pm 5$  درصد نگهداری شدند. غذای مورد نیاز آنها از شرکت خوراک دام به صورت پلت تهیه شد. همچنین دسترسی به آب مورد نیاز، به صورت آزاد در بطری ۵۰۰ میلی لیتری ویژه حیوانات آزمایشگاهی در اختیار آنان قرار گرفت. تمرینات به مدت یک هفته برای آشناسازی حیوانات با بالا رفتن از نردبان مخصوص مقاومتی انجام شد و به مدت هشت هفته و پنج جلسه در هفته تمرین مقاومتی انجام دادند. در پژوهش حاضر پروتکل تمرین مقاومتی شامل پنج روز تمرین در هفته (چهار نوبت شش تایمی با استراحت ۶۰ الی ۹۰ ثانیه) با صعود از نردبان ۱ متری با ۲۶ پله و بستن وزنه به دم حیوانات که در آن وزنه ها، هفته اول ۴۰ درصد وزن بدن موش های

<sup>۱</sup> Chicory

ماده بود و هر هفته ۲۰ درصد وزن بدن، به وزنه‌ها اضافه شد و دو جلسه در هفته وزن کِشی انجام شد. برای جلوگیری از بیش‌تر تمرینی و فرصت بازیافت حیوانات، جهت اجرای تمرینات سنگین در سه هفته پایانی و همچنین رعایت اصل اضافه بار نوسانی، در هفته پنجم، یک هفته کاهش بار، یعنی ۲۰ درصد نسبت به هفته قبل داشتیم، اما در هفته ششم ۴۰ درصد وزن بدن موش‌ها به حجم کار اضافه شد. در دو هفته بعد ۲۰ درصد وزن بدن موش‌ها به بار در هفته اضافه شد (۱۸). در این آزمایش هرگز از تقویت کننده‌های منفی مانند شوک الکتریکی، پمپ فشار هوا و غیره استفاده نشد و فقط از تحریک دستی و تکان دادن دم حیوانات برای اجرای تمرینات استفاده شد.

موش‌های گروه تمرین + تستوسترون انانتات، استروئید تستوسترون با دوز ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن (۱۹) را سه بار در هفته و به مدت هشت هفته دریافت کردند. در گروه تمرین + تستوسترون انانتات + کاسنی، عصاره کاسنی (۶ گرم به ازای هر کیلوگرم از وزن بدن) (به شکل گاوژ) سه بار در هفته انجام شد (۲۰). پس از انجام پروتکل پژوهش حاضر، به منظور از بین بردن اثرات حاد تمرین، به دنبال ۱۲ تا ۱۴ ساعت ناشتایی و ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین، تزریق تستوسترون و مصرف کاسنی به شکل گاوژ از تمام آزمودنی‌ها و پس از تعیین سیکل فحلی (مرحله دوم فحلی)، حیوانات با تزریق درون صفاقی ترکیبی از کتامین (۳۰-۵۰ mg/kg) و زایلازین (۳-۵ mg/kg) بیهوش شدند. با توجه به زمان‌بندی از پیش تعیین شده، نمونه‌برداری بافت کلیه از گروه‌های آزمودنی انجام شد که پس از شستشو با سرم فیزیولوژیک در میکروتیوپ‌های مخصوص آزمایشگاه قرار داده شدند. بافت‌ها بلافاصله در نیتروژن مایع (دمای ۱۹۶- درجه سانتی‌گراد) منجمد و ضمن انتقال به آزمایشگاه، در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان اجرای سنجش آزمایشگاهی نگهداری شدند.

### ارزیابی چرخه فحلی

سیتولوژی (سواب واژینال) برای ارزیابی چرخه فحلی استفاده شد. نمونه‌ها بین ساعت ۹ تا ۱۱ صبح با استفاده از سرم فیزیولوژیکی جمع‌آوری و پس از تثبیت با استفاده از رنگ کریستال بنفش، رنگ‌آمیزی و زیر میکروسکوپ مورد ارزیابی قرار گرفتند. مراحل چرخه به شرح زیر بود: مرحله ۱. دوره پیش فحلی<sup>۱</sup> با ۲ نوع سلول شامل سلول‌های شاخی و اپیتلیال، مرحله ۲: دوره فحلی<sup>۲</sup> با یک نوع سلول شامل سلول‌های شاخ، مرحله ۳: دوره تخمک‌گذاری<sup>۳</sup> با ۲ نوع سلول شامل سلول‌های شاخ و لکوسیت و مرحله ۴: دوره غیر فحلی<sup>۴</sup> با جمعیت سلولی متشکل از لکوسیت‌ها (۲۱). سطوح بیان ژن‌های TNF- $\alpha$  و IL-6 در بافت کلیه با استفاده از Real-Time PCR تعیین شد. برای این منظور یک کیت استخراج -DQ383 (Cat. No., RNA (40h)، یک کیت سنتز 5X RT Pre-Mix, BioFACT™, 5X RT Pre-Mix (Cat. No. BR441-096, cDNA) و ۲ X Real-Time PCR (Master Mix™ (BioFACT® h در غلظت نهایی ۲.۵ میلی مولار برای MgCl<sub>2</sub>، شامل SYBR Green I و رنگ مرجع w/o Rox، استفاده شد.

آمار توصیفی داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS21 به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار ارائه گردید و سطح معناداری  $P < 0.05$  در نظر گرفته شد. پس از اطمینان از عدم وجود داده دور افتاده<sup>۵</sup>، طبیعی بودن توزیع داده‌ها با استفاده از آزمون شاپیرو-

1. Proestrus
2. Estrus
3. Metestrus
4. Diestrus
5. Outliers



ویلیک و همگنی واریانسها با استفاده از آزمون لَوْن، بررسی و تایید گردید. به منظور مقایسه بین گروهی، آزمون تحلیل واریانس یک راهه برای مقایسه میانگینهای سه گروه مورد استفاده قرار گرفت و در صورت معناداری این آزمون، برای مقایسه میانگین ۲ به ۲ گروهها، آزمون تعقیبی بونفرونی به کار گرفته شد. تجزیه و تحلیل دادهها و نیز ترسیم نمودارها با استفاده از نرم افزار آماری گراف پد پریسم<sup>۱</sup> نسخه ۹.۴.۰ انجام شد.

## یافتهها

جدول ۱ میانگین و انحراف معیار سطح شاخص های TNF- $\alpha$  و IL-6 موشهای ماده را در سه گروه تمرین + دارونما، تمرین + تستوسترون و تمرین + تستوسترون + کاسنی به همراه نتایج مقایسه میانگین گروهها با استفاده از آزمونهای تحلیل واریانس یک راهه و بونفرونی نشان می دهد.

جدول ۱- میانگین $\pm$ انحراف معیار سطوح TNF- $\alpha$ و IL-6			
Table1- Mean $\pm$ SD of TNF- $\alpha$ and IL-6 Levels.			
IL-6 ( $\times 10^{-3}$ ) <sup>a b</sup>	TNF- $\alpha$ ( $\times 10^{-4}$ ) <sup>a b</sup>	N	گروهها Groups
1.50 $\pm$ 0.26 <sup>c</sup>	1.40 $\pm$ 0.13 <sup>c</sup>	6	تمرین+دارونما Training+Placebo
5.10 $\pm$ 1.41 <sup>c d</sup>	4.14 $\pm$ 0.81 <sup>c d</sup>	8	تمرین+تستوسترون Training+Testosterone
2.25 $\pm$ 0.36 <sup>d</sup>	1.99 $\pm$ 0.73 <sup>d</sup>	8	تمرین+تستوسترون+کاسنی Training+Testosterone+Chicory

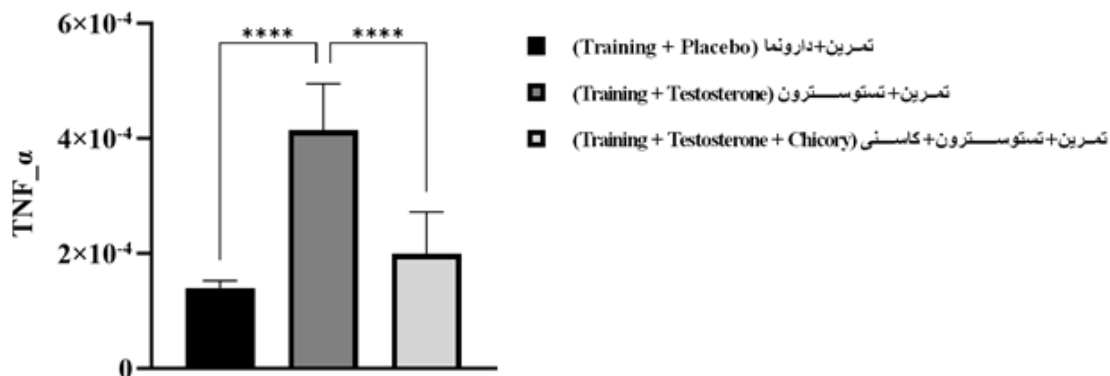
<sup>a</sup> مقادیر به صورت  $M \pm SD$  نشان داده شده اند.

<sup>b</sup>  $P < 0.001$ ، اختلاف معنادار میانگین سه گروه (تحلیل واریانس یک راهه).

<sup>c</sup>  $P < 0.001$ ، تمرین+دارونما در مقابل تمرین+تستوسترون (بونفرونی).

<sup>d</sup>  $P < 0.001$ ، تمرین+تستوسترون در مقابل تمرین+تستوسترون+کاسنی (بونفرونی).

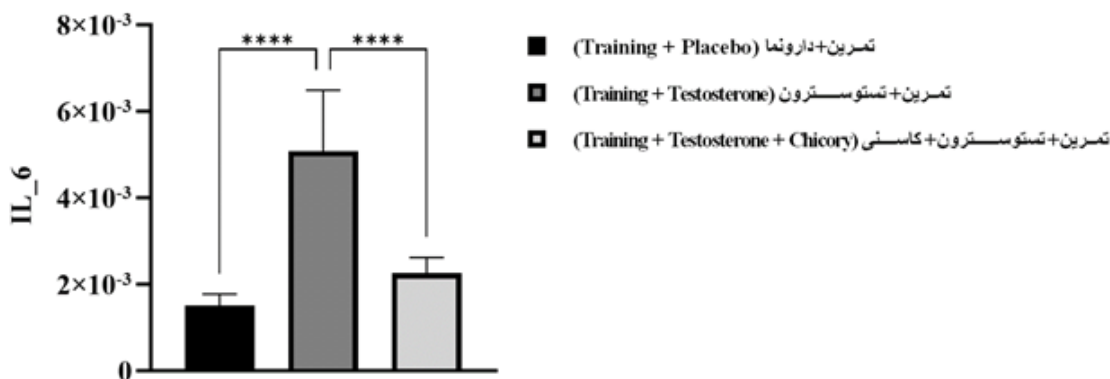
نتایج آزمون تحلیل واریانس نشان داد که میانگین سطح TNF- $\alpha$  موشهای سه گروه یکسان نبود ( $P < 0.001$ )،  $t(12) = 34/568$ ،  $F(2, 19) = 1/644$ ،  $P = 0/350$ ، معنادار نبود. با مقایسه میانگین سطح TNF- $\alpha$  دوبه دوی گروهها با استفاده از آزمون تعقیبی بونفرونی مشاهده گردید اختلاف میانگین گروههای تمرین + دارونما و تمرین + تستوسترون + کاسنی به لحاظ آماری معنادار نبود ( $P = 0/350$ )،  $t(12) = 1/644$ ،  $F(2, 19) = 1/644$ ،  $P = 0/350$ ، معنادار نبود. اما با توجه به نتایج آزمون بونفرونی و مقادیر اختلاف میانگین گروهها در جدول ۱، مشاهده شد میانگین سطح TNF- $\alpha$  گروه تمرین + تستوسترون به میزان معناداری بالاتر از گروههای تمرین + دارونما ( $P < 0.001$ )،  $t(12) = 7/628$ ،  $F(2, 19) = 7/628$ ،  $P < 0.001$ ،  $t(12) = 6/463$ ،  $P < 0.001$ ، معنادار نبود. و نیز تمرین + تستوسترون + کاسنی ( $P < 0.001$ )،  $t(12) = 6/463$ ،  $F(2, 19) = 6/463$ ،  $P < 0.001$ ، معنادار نبود. (شکل ۱).



شکل ۱- اثر مصرف کاسنی بر سطح TNF- $\alpha$  بافت کلیه موش‌های صحرایی ماده و بیستار مصرف‌کننده تستوسترون انانات طی ۸ هفته تمرین مقاومتی

\*اختلاف معنادار میانگین سطح TNF- $\alpha$  دو گروه به لحاظ آماری با استفاده از آزمون تعقیبی بونفرونی، با علامت \*\*\*\* برای  $P < 0.0001$  نشان داده شده است.

همچنین، نتایج آزمون تحلیل واریانس نشان داد که میانگین سطح IL-6 موش‌های سه گروه یکسان نبود ( $P < 0.0001$ )،  $F(2, 19) = 32/41$ . با مقایسه میانگین سطح IL-6 دوه‌دوی گروه‌ها با استفاده از آزمون تعقیبی بونفرونی مشاهده گردید اختلاف میانگین گروه‌های تمرین + دارونما و تمرین + تستوسترون + کاسنی به لحاظ آماری معنادار نبود ( $P = 0/42$ )،  $t(12) = 1/540$  (Mean Diff. =  $0/0074$ )؛ اما با توجه به نتایج آزمون بونفرونی و مقادیر اختلاف میانگین گروه‌ها در جدول ۱، مشاهده شد میانگین سطح IL-6 گروه تمرین + تستوسترون به میزان معناداری بالاتر از گروه‌های تمرین + دارونما ( $t(12) = 7/365$ ،  $P < 0/0001$ ) و نیز تمرین + تستوسترون + کاسنی ( $t(14) = 6/292$ ،  $P < 0/0001$ )،  $t(14) = 6/292$ ،  $P < 0/0001$ ) بود (شکل ۲).



شکل ۲- اثر مصرف کاسنی بر سطح IL-6 بافت کلیه موش‌های صحرایی ماده و بیستار مصرف‌کننده تستوسترون انانات طی ۸ هفته تمرین مقاومتی

اختلاف معنادار میانگین سطح IL-6 دو گروه به لحاظ آماری با استفاده از آزمون تعقیبی بونفرونی، با علامت \*\*\* برای  $P < 0.001$  نشان داده شده است. بنابراین به‌طور خلاصه می‌توان چنین نتیجه گرفت که مصرف مکمل تستوسترون سبب افزایش معنادار سطح شاخص‌های التهابی TNF- $\alpha$  و IL-6 موش‌ها نسبت به گروه تمرین + دارونما شد و مصرف کاسنی همراه با مکمل تستوسترون، علاوه بر اینکه موجب کاهش معنادار سطح این شاخص‌ها نسبت به موش‌های مصرف‌کننده تستوسترون گردید، توانست سبب بازگشت سطح این شاخص‌های التهابی به حدود سطح آن‌ها در گروه تمرین + دارونما شود، به‌طوری که تفاوت معناداری بین میانگین سطح شاخص‌های مذکور در موش‌های تمرین + دارونما و تمرین + تستوسترون + کاسنی وجود نداشت.

### بحث و نتیجه‌گیری

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که هشت هفته تمرین مقاومتی موجب افزایش سطوح بیان ژن‌های TNF- $\alpha$  و IL-6 در بافت کلیه موش‌های صحرائی ماده نسبت به گروه دارونما شد که نشان‌دهنده افزایش التهاب در پی مصرف تستوسترون در بافت کلیه موش‌های صحرائی ماده می‌باشد. همسو با این یافته پژوهش متکالف<sup>۱</sup> و همکاران نیز افزایش تولید TNF- $\alpha$  و به دنبال آن اختلال عملکرد کلیه در موش‌های صحرائی نر را بر اثر مصرف تستوسترون نشان داد (۱۰). همچنین پاتیل<sup>۲</sup> و همکاران (۲۰۱۶) نیز گزارش کردند مصرف تستوسترون با دوز بالا با افزایش TNF- $\alpha$  و سلول‌های T داخل کلیوی همراه بود و نتوانست اثر محافظتی در برابر آسیب ایسکمی کلیوی القا شده ایجاد کند (۲۲).

---

1. Metcalfe PD  
2. Patil CN

مطالعات نشان می‌دهد که تستوسترون ممکن است از طریق افزایش بیان پروتئین‌های سیگنال دهنده مرتبط با التهاب، در هر دو جنسیت موش‌های ماده و نر التهاب را افزایش دهد (۲۳). علاوه بر این، تجویز تستوسترون ممکن است باعث افزایش مقاومت عروق کلیوی، افزایش میزان مرگ و میر و افزایش میزان آسیب کلیوی در پاسخ به آسیب ایسکمی-ریوسکلزیون کلیوی شود (۲۴). بیان بیش از حد TNF- $\alpha$  منجر به اتصال آن به گیرنده نوع ۱ می‌شود و باعث پاسخ التهابی و تکثیر سلولی می‌شود. در این فرآیند، NF-kB فعال می‌شود و رونویسی ژن‌های دخیل در بقا و تکثیر سلولی را القا می‌کند. برای اینکه NF-kB فعال شود، پس از اتصال TNF- $\alpha$  به گیرنده نوع ۱، فاکتور ۲ مرتبط با گیرنده ۲ TNF<sup>۲</sup>، که با گیرنده TNF- $\alpha$  مرتبط است، به پروتئین دومین مرگ وابسته به گیرنده شماره ۱ فاکتور نکروز توموری<sup>۳</sup> متصل می‌شود. به دنبال جذب پروتئین تعامل گیرنده<sup>۴</sup> در نهایت، هر دو پروتئین تعامل گیرنده و فاکتور ۲ مرتبط با گیرنده TNF به فعال شدن بازدارنده کینازهای فاکتور هسته ای (IkB) کمک می‌کنند (۲۵). این کینازها IkB را فسفریله کرده و NF-kB آزاد می‌کنند و NF-kB رونویسی ژن‌های دخیل در التهاب مانند مولکول‌های چسبندگی اندوتلیال، IL-6 و سایر واسطه‌های التهابی را تحریک می‌کند (۲۶). بنابراین، TNF- $\alpha$  با فعال کردن NF-kB بیان خود را تقویت می‌کند و این سیتوکین‌ها منجر به التهاب کلیه و پیشرفت CKDs می‌شود (۲۷). علاوه بر این، سیتوکین‌های التهابی مانند TNF- $\alpha$  و IL-6 می‌توانند فعالیت گیرنده‌های آندروژن را افزایش دهند (۱۲). همچنین مطالعات نشان داده که در موش‌های صحرایی نر میزان سطوح TNF- $\alpha$  پروپتوز، سیگنال‌دهی پروفیبروتیک، لوله‌ای را افزایش می‌دهد (۱۰). از طرفی پژوهش حاضر با مطالعه محمد و همکاران همسو نبود (۲۸). علت این موضوع می‌تواند در تفاوت جنسیت و سن آزمودنی‌ها باشد. پاسخ تستوسترون در جنس نر و با افزایش سن با پاسخ در جنس ماده متفاوت است. گزارش شده است تجویز تستوسترون در مردان با بهبود بیماری‌های قلبی عروقی و دیابت همراه است در صورتی که در زنان این پاسخ متفاوت است و می‌تواند باعث اثر منفی بر سلامت قلب و عروق و دیابت شود (۲۹،۳۰). یافته مهم پژوهش حاضر این است که مصرف هشت هفته عصاره کاسنی همراه با مصرف تستوسترون انانتات و تمرین مقاومتی موجب کاهش بیان ژن‌های TNF- $\alpha$  و IL-6 در بافت کلیه نسبت به گروه تمرین + تستوسترون شد. ریزوی<sup>۵</sup> و همکاران گزارش کردند مصرف ۵۰۰ mg/kg کاسنی در موش‌هایی که با استفاده از کاراگینان دارای التهاب شده بودند باعث کاهش سطوح سرمی TNF- $\alpha$  و IL-6 گردید که نشان می‌دهد که فعالیت ضد التهابی و آنتی اکسیدانی ریشه کاسنی ممکن است از طریق مهار سایتوکاین‌ها انجام شود (۳۱). نتایج مطالعه شارما<sup>۶</sup> و همکاران نشان داد مصرف مکمل کاسنی به طور قابل توجهی سطوح سرمی TNF- $\alpha$  و IL-6 را کاهش داد و اثر محافظتی روی بافت قلب را از طریق مهار فشار اکسایشی و سایتوکین‌های پیش التهابی اعمال کرد (۳۲). مطالعه غفاری و همکاران نشان داد که مصرف مکمل بذر کاسنی به مدت ۱۲ هفته باعث کاهش معنی دار سطح TNF- $\alpha$  شد. سطح IL-6 در شرکت‌کنندگانی که مکمل‌های زردچوبه و دانه کاسنی را نیز دریافت کردند، به‌طور معنی‌داری کاهش یافت (۳۳). از طرفی رضاقلی زاده و همکاران گزارش کردند مصرف ۱۲۵ mg/kg کاسنی در موش

1. Tumor Necrosis Factor Receptor 1
2. Tumor necrosis Factor Receptor 2
3. TNF Receptor-associated Death Domain
4. Receptor Interacting Protein (RIP)
5. Rizvi W
6. Sharma M

های صحرایی نژاد ویستار دیابتی از طریق کاهش بیان NF-kB باعث کاهش سطوح سرمی TNF- $\alpha$  گردید (۳۴). در مطالعه حاضر نیز مصرف عصاره کاسنی در موش های تمرین کرده و مصرف کننده تستوسترون انانتات منجر به کاهش معنادار این شاخص ها در بافت کلیه تا نزدیک به سطوح موش های تمرین کرده بدون مصرف تستوسترون انانتات شد، که ممکن است از این طریق اثرات ضد التهابی خود را برای پیشگیری از التهاب سلول های بافت کلیه و آسیب کلیوی اعمال نموده باشد.

کاسنی یک گیاه دارویی است که در طب سنتی از آن به عنوان یک داروی ضد التهابی استفاده می شود. مطالعات نشان داده است که عصاره کاسنی حاوی ترکیباتی مانند پلی فنول ها، فلاونوئیدها، استرول ها، گلیکوزیدها، تانن ها و ترپنوئیدها است که می تواند در کاهش التهاب بدن مؤثر باشد (۳۵). ریشه کاسنی همچنین غنی از گلیکوزیدها، استرول ها و پلی فنول ها است که گزارش شده با کاهش واسطه های مختلف التهاب مانند پروستاگلاندین ها، نیتریک اکساید، TNF- $\alpha$ ، IL-6 دارای فعالیت ضد التهابی هستند (۳۶). یکی از سازوکارهای اثر کاسنی در کاهش التهاب، اثرات آنتی اکسیدانی آن است. ترکیبات فلاونوئیدهای موجود در کاسنی می توانند به عنوان آنتی اکسیدان عمل کنند و در برابر رادیکال های آزاد که در التهاب ایجاد می شوند، محافظت کنند. این رادیکال های آزاد می توانند باعث تخریب سلول های بدن شوند و به افزایش التهاب در بدن منجر شوند. به طوری که، با کاهش تعداد این رادیکال های آزاد، می توان از تخریب سلولی جلوگیری کرد و در نتیجه، التهاب را کاهش داد (۳۵). همچنین در مطالعه اپوره<sup>۱</sup> و همکاران نشان داده شده که عصاره کاسنی دارای فعالیت محافظتی از نفرون است مشخص شده است که از آسیب کلیه ناشی از فشار اکسایشی و التهاب محافظت می کند. این اثر ممکن است به دلیل وجود لاکتون های سسکوی ترین باشد که نشان داده شده است که دارای خواص ضد التهابی هستند (۳۶). علاوه بر این، تانن های موجود در کاسنی می توانند به عنوان ضد التهاب عمل کنند. تانن ها در سلول های بدن به گیرنده های اختصاصی برای کاهش التهاب عمل می کنند و می توانند به عنوان مهارکننده های آنزیم های التهابی نیز عمل کنند. این آنزیم ها باعث ترشح سیتوکین های التهابی مانند TNF- $\alpha$  و اینترلوکین-۱ (IL-1) می شوند. با مهار این آنزیم های التهابی، ترشح سیتوکین های التهابی کاهش می یابد (۳۷). با جمع بندی یافته های مطالعه حاضر چنین بر می آید که سوء مصرف تستوسترون انانتات، به واسطه افزایش تولید شاخص های پیش التهابی موجب اختلالات و افزایش التهاب در بافت کلیه موش های ماده دریافت کننده تستوسترون انانتات می شود. در حالی که مصرف کاسنی به دلیل داشتن ترکیبات آنتی اکسیدانی و ضد التهابی عوارض ناشی از مصرف تستوسترون انانتات را در بافت کلیه موش های ماده کاهش می دهد. با این وجود، تایید اثرات محافظتی کاسنی همراه با مصرف تستوسترون انانتات در بافت کلیه موش های ماده، نیازمند کارهای مطالعاتی تجربی گسترده تر می باشد.

### تشکر و قدردانی

این مقاله بخشی از رساله دکتری فیزیولوژی ورزشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد اسلامشهر می باشد و تمامی موازین اخلاقی در ارتباط با کار با حیوانات آزمایشگاهی به طور کامل رعایت شده است (کد اخلاق IR.IAU.TMU.REC.1399.347). با تشکر از تمام کسانی که در انجام این پژوهش با ما همکاری داشته اند.

## References

1. Bond P, Smit DL, de Ronde W. Anabolic-androgenic steroids: How do they work and what are the risks? *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2022 Dec 19;13:1059473. doi: 10.3389/fendo.2022.1059473. PMID: 36644692; PMCID: PMC9837614.
2. Chen J, Yu J, Yuan R, Li N, Li C, Zhang X. mTOR inhibitor improves testosterone-induced myocardial hypertrophy in hypertensive rats. *The Journal of Endocrinology*. 2022;252(3):179. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34874016/>
3. Lemiński A, Kubis M, Kaczmarek K, Gołab A, Kazimierzczak A, Koffis K, et al. When bodybuilding goes wrong—bilateral renal artery thrombosis in a long-term misuser of anabolic steroids treated with AngioJet rheolytic thrombectomy. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 2022;19(4):2122. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8872588/>
4. 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. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23839634/>
5. Davani-Davari D, Karimzadeh I, Khalili H. The potential effects of anabolic-androgenic steroids and growth hormone as commonly used sport supplements on the kidney: a systematic review. *BMC nephrology*. 2019;20:1-12. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31151420/>
6. MEDICA EM. Evaluation of anabolic steroid induced renal damage with sonography in bodybuilders. *The Journal of Sports Medicine and Physical Fitness*. 2017. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29148625/>
7. Tsuji S, Sugiura M, Tsutsumi S, Yamada H. Sex differences in the excretion levels of traditional and novel urinary biomarkers of nephrotoxicity in rats. *J Toxicol Sci*. 2017;42:615–27
8. Zhao JV, Schooling CM. The role of testosterone in chronic kidney disease and kidney function in men and women: a bi-directional Mendelian randomization study in the UK Biobank. *BMC medicine*. 2020;18(1):1-10. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32493397/>
9. Misseri R, Meldrum DR, Dagher P, Hile K, Rink RC, Meldrum KK. Unilateral ureteral obstruction induces renal tubular cell production of tumor necrosis factor- $\alpha$  independent of inflammatory cell infiltration. *The Journal of urology*. 2004;172(4):1595-9. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15507546/>
10. Metcalfe PD, Leslie JA, Campbell MT, Meldrum DR, Hile KL, Meldrum KK. Testosterone exacerbates obstructive renal injury by stimulating TNF- $\alpha$  production and increasing proapoptotic and profibrotic signaling. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*. 2008;294(2):E435-E43. <https://journals.physiology.org/doi/pdf/10.1152/ajpendo.00704.2006>
11. Sadowska-Krepa E, Kłapcińska B, Nowara A, Jagsz S, Szoltysek-Boldys I, Chalimoniuk M, et al. High-dose testosterone supplementation disturbs liver pro-oxidant/antioxidant balance and function in adolescent male Wistar rats undergoing moderate-intensity endurance training. *PeerJ*. 2020;8:e10228. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33240609/>
12. Sagoe D, Molde H, Andreassen CS, Torsheim T, Pallesen S. The global epidemiology of anabolic-androgenic steroid use: a meta-analysis and meta-regression analysis. *Annals of epidemiology*. 2014;24(5):383-98. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24582699/>
13. 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. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27774898/>
14. Singh R, Chahal KK. *Cichorium intybus* L: A review on phytochemistry and pharmacology. *International Journal of Chemical Studies*. 2018;6(3):1272-80. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8913551/>
15. Xiao H, Xie G, Wang J, Hou X, Wang X, Wu W, et al. Chicoric acid prevents obesity by attenuating hepatic steatosis, inflammation and oxidative stress in high-fat diet-fed mice. *Food research international*. 2013;54(1):345-53. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7657699/>

16. Jin Y-N, Lin Z-J, Zhang B, Bai Y-F. Effects of chicory on serum uric acid, renal function, and GLUT9 expression in hyperuricaemic rats with renal injury and in vitro verification with cells. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. 2018;2018. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30622589/>
17. Cavin C, Delannoy M, Malnoe A, Debeve E, Touché A, Courtois D, et al. Inhibition of the expression and activity of cyclooxygenase-2 by chicory extract. Biochemical and Biophysical Research Communications. 2005;327(3):742-9. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15649409/>
18. Gorzi A, Rajabi H, Qarakanlu R, Dehkoda M, Hedayati M. The effect of eight weeks of resistance training on total acetylcholinesterase activity and type A12 in the horseshoe muscles of rats. Research in Sports Medicine and Technology. 1396(13):7. [http://feyz.kaums.ac.ir/browse.php?a\\_id=1327&sid=1&slc\\_lang=en](http://feyz.kaums.ac.ir/browse.php?a_id=1327&sid=1&slc_lang=en)
19. 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 immunohistochemical study. Histol Histopathol. 2017;4(10). <https://www.hoajonline.com/histology/2055-091X/4/10>
20. 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. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26389883/>
21. Mahjabeen S, Hatipoglu MK, Benbrook DM, Kosanke SD, Garcia-Contreras D, Garcia-Contreras L. Influence of the estrus cycle of the mouse on the disposition of SHetA2 after vaginal administration. Eur J Pharm Biopharm. 2018 Sep;130:272-280. doi: 10.1016/j.ejpb.2018.07.004. Epub 2018 Jul 4. PMID: 30064701; PMCID: PMC6092953.
22. Patil CN, Wallace K, LaMarca BD, Moulana M, Lopez-Ruiz A, Soljancic A, et al. Low-dose testosterone protects against renal ischemia-reperfusion injury by increasing renal IL-10-to-TNF- $\alpha$  ratio and attenuating T-cell infiltration. American Journal of Physiology-Renal Physiology. 2016;311(2):F395-F403. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27252490/>
23. Bianchi VE. The Anti-Inflammatory Effects of Testosterone. J Endocr Soc. 2018 Oct 22;3(1):91-107. doi: 10.1210/js.2018-00186. PMID: 30582096; PMCID: PMC6299269.
24. Banaei S, Rezagholizadeh L. The role of hormones in renal disease and ischemia-reperfusion injury. Iran J Basic Med Sci. 2019 May;22(5):469-476. doi: 10.22038/ijbms.2019.34037.8095. PMID: 31217925; PMCID: PMC6556504.
25. Hayden MS, Ghosh S. Regulation of NF- $\kappa$ B by TNF family cytokines. Semin Immunol. 2014 Jun;26(3):253-66. doi: 10.1016/j.smim.2014.05.004. Epub 2014 Jun 21. PMID: 24958609; PMCID: PMC4156877.
26. Liu T, Zhang L, Joo D, Sun SC. NF- $\kappa$ B signaling in inflammation. Signal Transduct Target Ther. 2017;2:17023-. doi: 10.1038/sigtrans.2017.23. Epub 2017 Jul 14. PMID: 29158945; PMCID: PMC5661633.
27. White S, Lin L, Hu K. NF- $\kappa$ B and tPA Signaling in Kidney and Other Diseases. Cells. 2020 May 29;9(6):1348. doi: 10.3390/cells9061348. PMID: 32485860; PMCID: PMC7348801.
28. Mohamad NV, Wong SK, Wan Hasan WN, Jolly JJ, Nur-Farhana MF, Ima-Nirwana S, et al. The relationship between circulating testosterone and inflammatory cytokines in men. Aging Male. 2019;22(2):129-40. [PubMed ID: 29925283]. <https://doi.org/10.1080/13685538.2018.1482487>.
29. Kaur H, Werstuck GH. The Effect of Testosterone on Cardiovascular Disease and Cardiovascular Risk Factors in Men: A Review of Clinical and Preclinical Data. CJC Open. 2021 May 17;3(10):1238-1248. doi: 10.1016/j.cjco.2021.05.007. PMID: 34888506; PMCID: PMC8636244.
30. Khaw KT, Dowsett M, Folkard E, et al. Endogenous testosterone and mortality due to all causes, cardiovascular disease, and cancer in men: European prospective investigation into cancer in Norfolk (EPIC-Norfolk) prospective population study. Circulation. 2007;116:2694-2701.

31. Rizvi W, Fayazuddin M, Shariq S, Singh O, Moin S, Akhtar K, Kumar A. Anti-inflammatory activity of roots of *Cichorium intybus* due to its inhibitory effect on various cytokines and antioxidant activity. *Anc Sci Life*. 2014 Jul-Sep;34(1):44-9. doi: 10.4103/0257-7941.150780. PMID: 25737610; PMCID: PMC4342649.
32. Sharma M, Afaq A, Dwivedi S, Jairajpuri ZS, Shamsi Y, Khan MF, et al. attenuates streptozotocin induced diabetic cardiomyopathy via inhibition of oxidative stress and inflammatory response in rats. *Interdisciplinary toxicology*. 2019;12(3):111-9. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32210699/>
33. Ghaffari A, Rafrat M, Navekar R, Sepehri B, Asghari-Jafarabadi M, Ghavami S-M. Turmeric and chicory seed have beneficial effects on obesity markers and lipid profile in non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). *International Journal for Vitamin and Nutrition Research*. 2019. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31017556/>
34. Rezagholizadeh, L., Pourfarjam, Y., Nowrouzi, A. et al. Effect of *Cichorium intybus* L. on the expression of hepatic NF- $\kappa$ B and IKK $\beta$  and serum TNF- $\alpha$  in STZ- and STZ+ niacinamide-induced diabetes in rats. *Diabetol Metab Syndr* 8, 11 (2016). <https://doi.org/10.1186/s13098-016-0128-6>
35. Abbas ZK, Saggu S, Sakeran MI, Zidan N, Rehman H, Ansari AA. Phytochemical, antioxidant and mineral composition of hydroalcoholic extract of chicory (*Cichorium intybus* L.) leaves. *Saudi journal of biological sciences*. 2015;22(3):322-6. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25972754/>
36. Epure A, Pârnu AE, Vlase L, Benedec D, Hanganu D, Gheldiu A-M, et al. Phytochemical profile, antioxidant, cardioprotective and nephroprotective activity of romanian chicory extract. *Plants*. 2020;10(1):64. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33396775/>
37. Kawano M, Saika K, Takagi R, Matsui M, Matsushita S. Tannic acid acts as an agonist of the dopamine D2L receptor, regulates immune responses, and ameliorates experimentally induced colitis in mice. *Brain, Behavior, & Immunity-Health*. 2020;5:100071. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8474654/>