



تأثیر یک دوره مصرف استروئید آنابولیک بولدنون، عصاره عناب و تمرین بر نشانگرهای آسیب بافت بیضه در موش‌های صحرایی نژاد ویستار

مجید عباس زاده^۱، حسن متین همائی^{۱*}، پروین فرزانی^۲

۱- گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکز، تهران، ایران

۲- گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساری، ساری، ایران

چکیده

مقدمه

مصرف استروئیدهای آنابولیک - آندروژنیک توسط ورزشکاران آثار سوئی بر ساختار و عملکرد ارگان‌های بدن مانند دستگاه تناسلی دارد. هدف از این تحقیق مطالعه تأثیر یک دوره مصرف بولدنون، تمرین استقامتی و مقاومتی بر نشانگرهای آسیب بافت بیضه در موش‌های ویستار بود.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه، ۷۷ سر موش صحرایی نر در ۱۱ گروه کنترل، شم، بولدنون، اسیدگالیک-تمرین مقاومتی- بولدنون، مقاومتی- بولدنون، گالیک- استقامتی- بولدنون، عناب- استقامتی- بولدنون، استقامتی- بولدنون، عناب- مقاومتی- بولدنون، گالیک- بولدنون، عناب- بولدنون تقسیم شدند. برنامه تمرین مقاومتی شامل هشت هفته صعود از نردبان سه جلسه در هفته با شدت ۵۰-۱۲۰ درصد وزن بدن و برنامه تمرینات استقامتی هم دویدن روی تردمیل، سه روز در هفته، هر روز ۳۰ دقیقه با سرعت ۱۲ متر در دقیقه بود. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها توسط تحلیل واریانس دو راهه محاسبه گردید.

یافته‌ها

همه گروه‌ها نسبت به شروع دوره افزایش وزن معنی‌داری داشتند. در گروه بولدنون، بیشترین میزان آسیب به لحاظ از هم گسیختگی بافتی و تغییرات دژنراتیو مشاهده گردید. در گروه بولدنون- عناب و بولدنون- تمرین مقاومتی قطر و اندازه لوله‌های اسپرم ساز تقریباً برابر یکدیگر بوده و غشای پایه نیز دارای مشخصات طبیعی می‌باشد. اما در گروه بولدنون- استقامتی، قطر لوله‌های سمینفر با یکدیگر متفاوت بودند.

نتیجه‌گیری

به نظر می‌رسد بولدنون موجب آسیب به ساختار بافت بیضه و تغییرات دژنراتیو می‌شود و احتمالاً مصرف همزمان عناب، تمرین مقاومتی باعث کاهش آسیب‌های بافت بیضه ناشی از تزیق بولدنون نسبت به تمرینات استقامتی می‌شود.

کلیدواژه‌ها

استروئید آنابولیک، تمرین مقاومتی و استقامتی، بافت بیضه، رت

مقاله پژوهشی اصیل

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۹/۱۷

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۱۰/۳۰

*نویسنده مسئول: حسن متین همائی،

گروه فیزیولوژی ورزشی دانشگاه آزاد

اسلامی واحد تهران مرکز، تهران، ایران

تلفن:

پست الکترونیک:

hasanmatinhomaee@gmail.com



مقدمه

بیضه‌ها به عنوان غدد جنسی در جنس نر دارای ترشحات اگزوکراین یا در واقع همان سلول‌های جنسی (اسپرم) و هم ترشحات اندوکراین یعنی تستوسترون یا همان هورمون جنسی مردانه می‌باشند (۱). بافت بیضه یکی از بافت‌های حساس در برابر عوامل خطرزای محیطی می‌باشد. تغییر در ساختار سلولی این بافت با بروز درجات مختلفی از ناباروری همراه می‌باشد. بروز اختلالات ساختاری یا عملکردی سلول‌ها می‌تواند باعث تغییر در فرآیند اسپرم‌زایی گردد. استروئید آنابولیک اغلب جهت توسعه هایپر تروفی عضلانی مورد سوء مصرف قرار گرفته می‌شود (۲). سوء مصرف استروئیدهای آنابولیک می‌تواند موجب تغییرات نامطلوب شامل کوچک شدن اندام تناسلی در مردان، طاسی با الگوی مردانه، عقیمی در زنان، رشد سینه، آسیب‌های قلبی عروقی و آسیب‌های نرولوژیک گردد (۳).

یکی از این استروئیدهای که مصرف آن در بین ورزشکاران ایرانی رایج است، بولدنون می‌باشد. در این ارتباط توسون^۱ و همکاران گزارش کردند ۹ هفته مصرف بولدنون سبب تخریب بیضه، کلیه و کبد خرگوش‌ها می‌شود (۴). آسیب‌های سیستم تولید مثل به دنبال مصرف استروئید آنابولیک بولدنون عبارتند از: کاهش ضخامت اپیتلیوم لوله‌های سیمینفر، مجرای لوله‌های سیمینفر خالی از اسپرماتوئید بالغ، تغلیظ و جداسازی هسته‌های اسپرماتوسیت‌ها، کاهش تعداد اسپرم (۵) و نیز آسیب‌های ساختاری مانند کاهش قطر لوله‌های اسپرم ساز، تحلیل رفتگی در غشای پایه لوله‌های سیمینفر، کاهش سلول‌های لیدیک می‌باشد (۶ و ۷). در طب سنتی از عناب^۲ به عنوان داروی آرام بخش، تصفیه کننده خون، مقوی معده، ملین، ضد

سرفه و مدر استفاده شده و از جمله خواص درمانی آن می‌توان به اثر ضد التهابی، ضد سرطانی، بهبود دهنده نیمرخ لیپیدی، ضد صرعی، ضد دیابتی و خواص آنتی‌اکسیدانی آن اشاره کرد. از طرفی با تخلیص هشت نوع فلاونوئید از عناب، بخشی از ویژگی‌های دارویی آن را به خواص آنتی‌اکسیدانی این ترکیبات نسبت داده اند (۸ و ۹). همچنین عناب یکی از گیاهان سرشار از اسیدگالیک^۳ (۳ و ۴ و ۵- تری هیدروکسی بنزوئیک اسید) بوده که محصول طبیعی هیدرولیزتانن‌ها است (۱۰). اسیدگالیک آنتی‌اکسیدان قوی بوده که به دلیل نفوذ از سد خونی - مغزی از طریق مهار فعالیت تیروزین، فعالیت ضدالتهابی و آنتی‌اکسیدانی خود را اعمال می‌نماید. از طرفی فعالیت‌های ورزشی و تمرین باعث افزایش بیان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی شده و بنابراین باید به عنوان یک آنتی‌اکسیدان مورد توجه قرار گیرد (۱۱).

از آنجا که بولدنون دارویی است که توسط ورزشکاران رشته‌های مختلف از جمله ورزشکاران استقامتی، قدرتی و سرعتی در دوره‌های آمادگی عمومی، افزایش وزن و نزدیک به مسابقات مورد استفاده قرار می‌گیرد بنابراین می‌تواند به عنوان نمونه خوبی از استروئیدهای آنابولیکی مصرفی توسط ورزشکاران مورد مطالعه قرار گیرد. از طرفی، با توجه به مصرف گسترده استروئیدهای اندروژنیک آنابولیک توسط ورزشکاران و اثرات جانبی آن روی ساختار بافت بیضه (۵) و اینکه این داروها بدون هیچ نظارتی توسط افراد فاقد صلاحیت به ورزشکاران و جوانان تجویز می‌شوند نتایج این تحقیق می‌تواند به شناخت بهتر ورزشکاران از اثرات این داروها کمک نماید. همچنین اطلاعات کمی در مورد اثرات استروئیدهای اندروژنیک آنابولیک بر پاسخ ساختار بافت بیضه طی تمرین

^۳ Gallic Acid

^۱ Tousson

^۲ Jujube



استقامتی و مقاومتی وجود دارد. لذا با توجه به اثرات درمانی به ویژه اثر آنتی اکسیدانی گیاه عناب و ماده موثر اسیدگالیک و همچنین تأثیر تمرینات جسمانی بر عملکرد بافت بیضه و تغییرات ساختاری آن، هدف از پژوهش حاضر بررسی تأثیر یک دوره فعالیت ورزشی استقامتی و مقاومتی همراه با مصرف مکمل بولدنون، عصاره عناب بر نشانگرهای آسیب بافت بیضه در موش‌های صحرایی نژاد ویستار بود.

مواد و روش‌ها

در مطالعه حاضر که به صورت تجربی انجام گردید. ۷۷ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با سن ۱۲ هفته و وزن اولیه $213/30 \pm 6/94$ گرم از حیوان خانه دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساری تهیه و به روش نمونه‌گیری انتخابی هدف‌دار با توجه به شرایط وزنی و سنی به عنوان نمونه آماری انتخاب شدند. حیوانات در شرایط کنترل شده محیطی و با میانگین دمای (22 ± 2) درجه سانتی‌گراد، چرخه روشنایی-تاریکی (۱۲:۱۲) ساعت و با دسترسی آزاد به آب و غذای ویژه موش نگهداری شدند. همچنین پس از دو هفته آشناسازی و سازگاری حیوانات با محیط جدید به صورت تصادفی به ۱۱ گروه ۷ تایی تقسیم شدند. ۱- گروه کنترل سالم (نه تمرین، نه دارو)، ۲- گروه شم (مصرف روغن زیتون)، ۳- گروه کنترل مسموم شده با استروئید آنابولیک بولدنون با نام تجاری Equipoise ساخت شرکت Meditech آلمان به میزان ۵ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن که به صورت هفته‌ای یکبار و داخل عضلانی تزریق گردید، ۴- گروه اسیدگالیک، بولدنون (بدون تمرین)، ۵- گروه عناب، بولدنون (بدون تمرین)، ۶- گروه عناب، تمرین استقامتی، بولدنون، ۷- گروه اسیدگالیک، تمرین استقامتی، بولدنون، ۸- تمرین استقامتی، بولدنون، ۹- تمرین مقاومتی، بولدنون، ۱۰- گروه اسیدگالیک، تمرین مقاومتی، بولدنون، ۱۱- گروه عناب، تمرین مقاومتی، بولدنون.

موش‌های صحرایی به صورت هفتگی وزن‌کشی شده و غلظت بولدنون و عصاره عناب با توجه به وزن جدید تنظیم گردید. این مطالعه بر طبق راهنمای استفاده و مراقبت از حیوانات آزمایشگاهی اجرا گردید (۱۲).

پروتکل تمرین مقاومتی

برای گروه مقاومتی تمرینات شامل سه جلسه در هفته و به مدت هشت هفته صعود از نردبان یک متری با ۲۶ پله و شیب ۸۵ درجه بود. هر جلسه شامل سه ست با پنج تکرار می‌شد، در فاصله هر تکرار یک دقیقه و در فاصله بین هر ست دو دقیقه استراحت گنجانده شده بود. تمرین پس از بستن وزنه به دم موش صحرایی انجام می‌شد. در هفته اول میزان وزنه‌های بسته شده به دم موش‌ها ۵۰ درصد وزن بدن آن‌ها بود که ۱۰ درصد در هر هفته افزایش یافته، به ۱۲۰ درصد در هفته پایانی رسید. حیوانات در طول هفته‌های قبل از شروع تمرینات با صعود از نردبان آشنا شدند که در صورت امتناع با تحریک دستی وادار به صعود می‌شدند. گروه کنترل نیز جهت تجربه کلیه شرایط موجود در محل تمرینات حضور داشتند (۱۳) (جدول ۱).

پروتکل تمرین استقامتی

تمرینات گروه استقامتی به مدت هشت هفته، روی تردمیل جوندگان انجام شد. تمرینات در آغاز شامل سه روز در هفته، هر جلسه ۳۰ دقیقه با سرعت ۱۲ متر در دقیقه و در پایان دوره، هر جلسه تمرین ۶۰ دقیقه روی تردمیل جوندگان (ساخت ایران) و با سرعت حداکثر ۳۰ متر در دقیقه بود که مطابق جدول زیر شدت و مدت تمرینی افزایش یافت (۱۴). به منظور تحریک موش‌های صحرایی برای دویدن، از محرک صوتی (ضربه به دیواره نوارگردان) استفاده شد. بدین صورت که در جلسات اول، از محرک الکتریکی با ولتاژ کم، همراه با محرک صوتی استفاده شد و پس از شرطی نمودن موش‌های



صحرائی به همراه بودن دو محرک، در سایر جلسات به منظور رعایت نکات اخلاقی کار با حیوان آزمایشگاهی، فقط از محرک صوتی استفاده شد.

تهیه عصاره عناب و اسیدگالیک

میوه عناب شسته شده و در دمای ۴۶ درجه سانتی‌گراد به مدت یک هفته خشک شد. سپس هسته از میوه جدا گشته و پودر شد. عصاره از پودر به دست آمده به وسیله عصاره اتانول ۲۶ درصد استحصال گشت. عصاره در داخل مواد نیمه جامد به وسیله بخار چرخشی در دمای حدود ۵۶ درجه سانتی‌گراد تغلیظ گشت. عصاره در آب مقطر ۶۰۰ میلی گرم در میلی لیتر حل گشته و به صورت خوراکی در دوز ۶۰۰ میلی گرم در کیلوگرم از وزن توسط رت‌ها مصرف گردید (۱۵). همچنین اسیدگالیک ساخت شرکت (سیگما آمریکا) با دوز ۵۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن و هفته‌ای سه بار به صورت خوراکی (محلول در آب) به موش‌ها داده می‌شد.

مراحل نمونه‌گیری بافت و اندازه‌گیری تغییرات ساختاری در بافت بیضه

پس از ۵۶ روز نگهداری حیوانات در پایان مطالعه آنها به مدت ۱۲ ساعت ناشتا نگهداشته شدند. سپس نمونه‌ها وزن شده و برای نمونه‌گیری بیهوش شدند. بیهوشی با استفاده از محفظه شیشه‌ای درب‌دار (دسیکاتور^۱)، محتوی پنبه آغشته به کلروفرم (محصول شرکت مرک آلمان) انجام شد. پس از گذشت ۴۰-۵۰ ثانیه حیوان در بیهوشی مناسب قرار می‌گرفت. پس از بیهوشی با ثابت کردن حیوان روی تخته جراحی جوندگان، کالبد شکافی انجام شده و بلافاصله بافت بیضه برداشته شد. نمونه‌ها پس از جداسازی در فرمالین ۱۰ درصد ثابت و سپس جهت انجام روش‌های معمول بافت شناسی آماده شدند.

نمونه‌ها برای ۴۸ ساعت در محلول نگهداری شدند. پس از ۲۴ ساعت اولیه فرمالین تازه، با فرمالین قبلی جایگزین گردید. سپس بعد از تثبیت، با الکل آب‌گیری شده و قالب‌گیری با پارافین انجام شد. بعد از این مراحل، توسط میکروتوم مقاطع با ضخامت ۵ میکرون به صورت نمونه‌گیری تصادفی و با فواصل منظم و یکنواخت تهیه شد. مقاطع میکروسکوپی انتخاب شده، پس از رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین و آئوزین ۵ توسط میکروسکوپ نوری با بزرگنمایی ۱۰۰۰ مورد مطالعه قرار گرفته و عکسبرداری انجام شد. نمونه‌گیری بافت بیضه از ۱۱ گروه پس از مداخله متغیرهای مستقل انجام و تغییرات ساختاری در بافت بیضه آن‌ها مطالعه و سپس مورد مقایسه قرار گرفت.

در این تحقیق اصول اخلاقی در مورد نحوه کار با حیوانات آزمایشگاهی از جمله در دسترس بودن آب و غذا، شرایط نگهداری مناسب و عدم اجبار در تمرینات مد نظر قرار گرفت. همه آزمایشات بر اساس خط مشی‌های قرارداد هلسینکی اجرا شد و توسط کمیته اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکز بررسی و تأیید گردید. معیارهای ارزیابی ضایعات هیستوپاتولوژی بیضه در جدول ۲ ذکر شده است.

بررسی آماری داده‌ها

از آزمون کالموگراف - اسمیرنف جهت تعیین توزیع طبیعی داده‌ها و از آزمون لون برای همگنی واریانس‌ها استفاده گردید. سپس میانگین مربوط به تمامی مقادیر به دست آمده در گروه‌ها با آنالیز واریانس دو راهه (two-way ANOVA) باهم مقایسه و سطح معنی‌داری آماری $P \leq 0.05$ در نظر گرفته شد. به منظور بررسی تغییرات بافتی، مطالعه با استفاده از میکروسکوپ نوری به صورت توصیفی روی لام‌های تهیه شده از نمونه‌ها عکس‌برداری شد.

^۱ Desiccator



یافته‌ها

تغییرات وزن

گروه‌های دریافت کننده بولدنون به همراه گروه تمرین افزایش وزن معنی‌داری را نسبت گروه کنترل و شم داشتند. اطلاعات مربوط به وزن آزمودنی‌ها در جدول ۳ آمده است.

نتایج نشان داد که همه گروه‌ها نسبت به وزن خود در شروع دوره افزایش وزن (با میانگین ۶۵/۶۷) معنی‌داری داشتند.

جدول ۱- برنامه تمرین مقاومتی

متغیر هفته	جلسات در هفته	تکرار هر ست	استراحت بین تکرار (دقیقه)	تعداد ست	استراحت بین ست (دقیقه)	بار (درصد وزن بدن)
هفته اول	۳	۵	۱	۳	۲	۵۰
هفته دوم	۳	۵	۱	۳	۲	۶۰
هفته سوم	۳	۵	۱	۳	۲	۷۰
هفته چهارم	۳	۵	۱	۳	۲	۸۰
هفته پنجم	۳	۵	۱	۳	۲	۹۰
هفته ششم	۳	۵	۱	۳	۲	۱۰۰
هفته هفتم	۳	۵	۱	۳	۲	۱۱۰
هفته هشتم	۳	۵	۱	۳	۲	۱۲۰

جدول ۲- تفکیک و درجه بندی تغییرات پدید آمده در متغیرهای مورد ارزیابی بافت بیضه

گروه	قطر لوله‌های سمینفر	بافت بینابینی	سلول‌های اسپرماتوژنیک	سلول‌های سرتولی	سلول‌های لیدیگ	پر خونی
کنترل	۰	۰	۰	۰	۰	۰
شم	۰	۰	۰	۰	۰	۰
بولدنون دوز ۵ میلی گرم بر کیلوگرم	۲	۲	۲	۲	۲	۰
بولدنون+اسید گالیک	۰	۱	۱	۱	۱	۱
بولدنون+عنا	۰	۲	۰	۰	۲	۲
بولدنون+تمرین مقاومتی	۰	۲	۱	۱	۲	۰
بولدنون+تمرین استقامتی	۱	۲	۱	۱	۲	۲
بولدنون+اسید گالیک+تمرین مقاومتی	۰	۲	۱	۰	۱	۰
بولدنون+اسید گالیک+تمرین استقامتی	۱	۲	۱	۰	۲	۱
بولدنون+عنا+تمرین مقاومتی	۲	۲	۱	۰	۱	۰
بولدنون+عنا+تمرین استقامتی	۲	۲	۱	۰	۲	۰

* تغییرات پدید آمده و مشاهده شده از عدد ۰-۳ درجه بندی گردیده است. درجه ۰ بیانگر عدم مشاهده تغییر، درجه ۱ بیانگر تغییرات خفیف، درجه ۲ بیانگر تغییرات متوسط و درجه ۳ بیانگر تغییرات شدید می‌باشند.

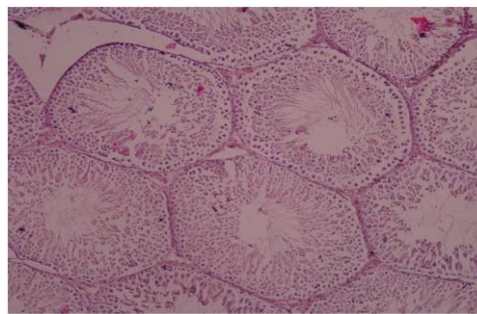


جدول ۳- توصیف وزن موش‌های صحرایی در گروه‌های پژوهش

نام گروه	پیش از آزمون (گرم)	پس از آزمون (گرم)	تغییرات وزنی (گرم)
کنترل	$185 \pm 12/26$	۲۷۹	۹۴
شم	$186 \pm 2/9$	۲۸۲	۹۶
بولدنون+اسیدگالیک	$241/43 \pm 29/6$	۲۸۳/۲۹	۴۱/۸۶
بولدنون+عناّب+تمرین استقامتی	$217/17 \pm 16/1$	۲۸۴	۶۶/۸۳
بولدنون+اسیدگالیک+تمرین استقامتی	$242/57 \pm 39/6$	۳۱۱/۴۳	۶۸/۸۶
بولدنون دوز ۵ میلی گرم بر کیلو گرم	$232/17 \pm 26/8$	۲۷۶/۸۳	۴۴/۶۶
بولدنون+عناّب	$248/14 \pm 29/6$	۲۸۵/۷۱	۳۷/۵۷
بولدنون+تمرین استقامتی	$157/6 \pm 11/87$	۲۵۰	۹۲/۴
بولدنون+تمرین مقاومتی	$163 \pm 6/47$	۲۳۳/۷۱	۷۰/۷۱
بولدنون+عناّب+تمرین مقاومتی	$232/71 \pm 46/4$	۲۸۶/۵۷	۵۳/۸۶
بولدنون+اسیدگالیک+تمرین مقاومتی	$241/14 \pm 28/5$	۲۹۱/۷۱	۵۰/۵۷

تحلیلی و تخریبی وجود ندارد. نسبت سلول‌های روند اسپرماتوژنیک و اسپرماتوزوئیدها طبیعی و مناسب است. در گروه شم نیز علایم بافت بیضه کاملاً طبیعی و همانند گروه کنترل می‌باشد و هیچ گونه تغییر خاصی در بافت قابل رویت نیست (شکل ۱).

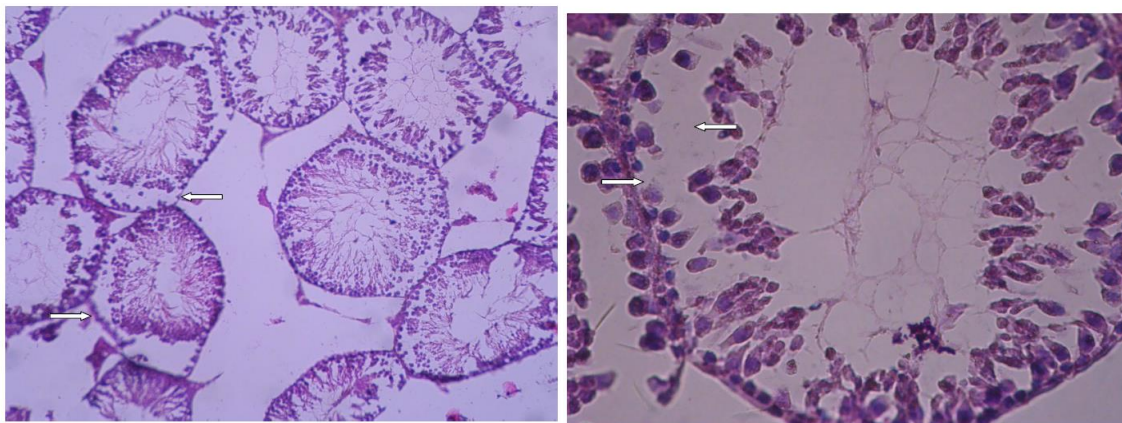
رنگ‌آمیزی بخش‌های بیضه گروه اول (کنترل) با هماتوکسیلین و ائوزین نشان می‌دهد، قطر لوله‌های اسپرم ساز (سمینیفِر) کاملاً هم اندازه و متناسب با یکدیگر بوده و بافت بینابینی کاملاً یکنواخت در تمامی نواحی پخش شده است. مشخصات بافت کاملاً طبیعی می‌باشد و هیچ روند



شکل ۱- تغییرات قطر دیواره و ساختار لوله در گروه‌های کنترل و شم

سمینیفِر دچار جدا شدگی و یا تحلیل رفتگی می‌باشند (شکل ۲).

در نمونه‌های مربوط به گروه بولدنون دوز ۵ میلی گرم بر کیلوگرم از هم گسیختگی بافتی و تغییرات دژنراتیو مشهود است. قطر لوله‌ها اغلب تحلیل رفته و غشای پایه لوله‌های



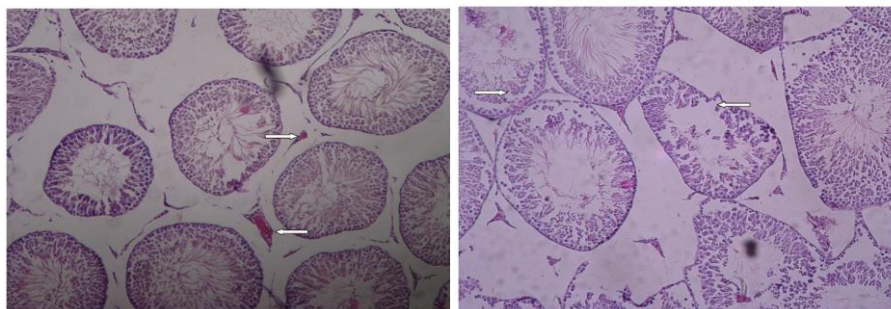
شکل ۲- تحلیل قطر لوله‌ها، غشای پایه و از هم گسیختگی لوله‌های سیمینفر

اسپرماتوزئیک و سرتولی نیز در اغلب لوله‌ها در حالت نرمال قرار دارند ولیکن از میزان بافت بینابینی و سلول‌های لیدیگ کاسته شده است. تعداد سلول‌های اسپرماتوزوئید داخل لوله‌ها نیز طبیعی می‌باشد. در گروه بولدنون و تمرین استقامتی قطر لوله‌های اسپرم ساز با یکدیگر متفاوت است و در بافت جدا شدگی و تحلیل دیده می‌شود. از میزان سلول‌های اسپرماتوزئیک و سرتولی کاسته شده و همچنین بافت بینابینی و سلول‌های لیدیگ نیز بشدت دچار تقلیل و دژنراسانس هستند. پرخونی در فضای بینابینی زیاد بوده و تعداد اسپرماتوزوئیدها نیز حداقل ممکن است. در گروه بولدنون، اسید گالیک و تمرین مقاومتی تغییرات موجود بیشتر در بافت بینابینی دیده می‌شود و از میزان آن کاسته شده است. در روند اسپرماتوزئیز نیز اندکی تقلیل و از هم گسیختگی قابل رویت است. در گروه بولدنون، اسید گالیک و تمرین استقامتی غشای پایه لوله‌های اسپرم‌ساز در اغلب نواحی از هم گسیختگی دارد. در بافت بینابینی دژنراسانس و کاهش سلول‌های لیدیگ مشهود بوده و کمی تجمع خون نیز دیده می‌شود. سلول‌های روند اسپرماتوزئیک نیز تغییرات اندکی را نشان می‌دهند و سیتوپلاسم آن‌ها بشدت اسیدیوفیل می‌باشد. میزان اسپرماتوزوئید داخل لوله‌ها نیز اندک می‌باشد.

بافت بینابینی کاهش قابل توجهی داشته و متعاقبا از میزان سلول‌های لیدیگ کاسته شده است. در تصویر دوم کاهش سلول‌های روند اسپرماتوزئیک و از هم جدا شدگی و تقلیل در آن‌ها کاملاً واضح و مشخص بوده و از میزان سلول‌های سرتولی نیز کاسته شده است. در فضای داخل لوله‌ها میزان بسیار کمی اسپرماتوزوئید دیده می‌شود. در گروه بولدنون و اسید گالیک قطر لوله‌های اسپرم ساز با یکدیگر برابر و مناسب می‌باشد. بافت بینابینی در حال ترمیم بوده و کمی پرخونی مشهود است. غشای پایه مناسب است. سلول‌های اسپرماتوزئیک و سرتولی در اکثر نواحی حالت طبیعی داشته اما در برخی نقاط یک از هم گسیختگی و تحلیل حداقلی دیده می‌شود. از میزان سلول‌های اسپرماتوزوئید در داخل لوله‌ها کاسته شده است. در بولدنون و عناب قطر لوله‌های سیمینفر مناسب و برابر است اما بافت بینابینی تقلیل رفته و از میزان سلول‌های لیدیگ به شدت کاسته شده است. فواصل لوله‌ها از همدیگر طبیعی نبوده و پرخونی بینابینی نیز مشاهده می‌گردد. سلول‌های اسپرماتوزئیک و میزان اسپرماتوزوئیدهای تولید شده در میزان مناسبی می‌باشند. در گروه بولدنون و تمرین مقاومتی قطر و اندازه لوله‌های اسپرم ساز تقریباً برابر یکدیگر بوده و غشای پایه نیز دارای مشخصات طبیعی می‌باشد. سلول‌های

می‌دهند. در گروه بولدنون، عنب و تمرین استقامتی تغییرات در نمونه‌های این گروه شبیه گروه بولدنون، عنب و تمرین مقاومتی می‌باشد با این تفاوت که تقلیل سلول‌های لیدیگ بیشتر است (شکل ۳).

در گروه بولدنون و عنب و تمرین مقاومتی لوله‌های اسپرم ساز دارای حالت‌های مختلف با کاهش قطر و از هم گسیختگی هستند. بافت بینابینی در تمام نواحی به صورت اندک قابل رویت بوده و از تعداد سلول‌های لیدیگ کاسته شده است. در فضای داخل لوله‌ها نظم مناسبی برقرار نیست و سلول‌های اسپرم‌ساز و سلول‌های پشتیبان کاهش محسوسی را نشان



شکل ۳- قطر لوله‌های سیمینیفیر و تغییرات غشای پایه در گروه‌های تمرین قدرتی + عصاره الکلی عنب + بولدنون و تمرین استقامتی + عصاره الکلی عنب + بولدنون

تستوسترون می‌تواند در کاهش آسیب‌های تخریبی نقش بسزایی را نشان دهد. از طرف دیگر، بسیاری از پژوهشگران تاثیر استفاده از مکمل‌های با خاصیت ضد اکسایشی را به همراه فعالیت بدنی بررسی کرده‌اند. در این بین با توجه به عوارض احتمالی مکمل‌های شیمیایی شواهد و تحقیقات چندی در زمینه مکمل‌های گیاهی و طبیعی انجام شده است که می‌توان اثرات مفید این مکمل‌ها را در تعدیل فشار اکسایشی ناشی از فعالیت بدنی به وضوح مشاهده کرد. نتایج تحقیقات نیز اثر ضد اکسایشی میوه عنب را بر فشار اکسایشی ناشی از فعالیت بدنی نشان دادند.

در این راستا، تاتی^۱ و همکاران اثر ضد اکسایشی عصاره آبی میوه عنب را بر فشار اکسایشی ناشی از مصرف اتانول را بررسی کرده و گزارش کرده‌اند که عصاره میوه عنب باعث افزایش فعالیت آنزیم گلوکاتایون پراکسیداز و سوپر اکسید دیسموتاز و

بحث

هدف این پژوهش بررسی میزان آسیب وارده به بافت بیضه بود، در نتیجه تصاویر میکروسکوپی مطالعه حاضر نشان داد که با مسمومیت بولدنون عمده تغییرات ایجاد شده در بافت بیضه به صورت بی‌نظمی در غشای پایه دیواره لوله‌های اسپرم ساز، اختلال در اتصالات بین سلولی و تغییر شکل میتوکاندری-ها در برخی سلول‌های سرتولی می‌باشد. بافت بینابینی کاهش قابل توجهی نشان داد و همچنین از میزان سلول‌های لیدیگ کاسته شده بود. همچنین نتایج نشان می‌دهد مصرف عصاره عنب به همراه تمرین مقاومتی در رت‌های مسموم شده با استروئید آنابولیک بولدنون، تأثیر بیشتری بر تعدیل آسیب-های ساختاری بافت بیضه دارد. زیرا اغلب مطالعات نشان دادند تمرین مقاومتی موجب افزایش هورمون‌های تستوسترون FSH, LH می‌شود و از آنجایی که هورمون‌های آنابولیکی مانند

^۱ Taati



کاهش مقادیر MDA می‌شود (۹). با وجود نتایج فوق که به نحوی تاثیر میوه عناب بر حمایت از دستگاه دفاعی ضد اکسایشی بدن پس از تمرینات شدید مقاومتی را تایید می‌نماید. نتایج این تحقیق با یافته‌های دیگر محققان از جمله تاپسون^۱ و همکاران روی بولدنون در خرگوش بدون تمرین (۲۱) و کیک من^۲ که نشان دادند، استروئیدهای آنابولیک عوارض جانبی روی سیستم‌های قلبی - عروقی، کبدی و غدد درون ریز دارد، همسوست (۲۲).

از طرفی با پژوهش کاتو^۳ و همکاران در یک دوره ۱۲ هفته‌ای همراه با تمرین استقامتی و مصرف استروئیدها مغایرت وجود داشت (۲۳) و شاید شدت تمرین و طولانی بودن دوره ممکن است عامل این اختلاف باشد. طبق اکثر گزارش‌ها، کیفیت اسپرم در طی ۴-۱۲ ماه پس از قطع شدن به طور خودبه خودی بهبود می‌یابد. با این حال، اثر منفی بر کیفیت مایع منی ممکن است برای دوره‌های طولانی مدت ادامه یابد. حالت هیپوگنادیسم هیپوگنادوتروفیک با کاهش غلظت تستوسترون سرم، آتروفی بیضه و اختلال اسپرماتوژنز موجب کاهش عملکرد می‌شود. این اثرات ناشی از بازخورد منفی آندروژنها بر محور هیپوتالاموس-هیپوفیز و احتمالاً اثرات سرکوبگر موضعی آندروژن‌های خارجی در بیضه‌ها می‌باشد. علاوه بر این، در طول استفاده از AAS، غلظت آندروژن سرم ممکن است از لحاظ فیزیولوژیایی بالا باشد، اما وضعیت هیپوگنادوتروپیک تستوسترون درون بیضه‌ای که غلظت لازم برای حفظ اسپرماتوژنز طبیعی است را کاهش می‌دهد. هیستوپاتولوژی آزمایش‌های مدل حیوانی عمدتاً از تغییرات سلول لیدیک ناشی از AAS گزارش می‌کنند، اما ناهنجاری‌های مورفولوژی این سلول نیز گزارش شده است. یافته‌های

ایمونوهیستوشیمیایی سبب کاهش استروئیدوژن در بافت بیضه شده است، با این حال، مرحله پایانی اختلال اسپرماتوژنز، با فقدان اشکال پیشرفته اسپرماتید، توصیف شده است. بعد از قطع مصرف AAS، سلول‌های لیدیک تمایل به تکثیر دارند، اما حتی بعد از دوره‌های طولانی کمتر از تعداد منظم هستند (۱۵).

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که وزن بدن در گروه‌های دریافت کننده بولدنون افزایش یافت. بولدنون، استروئید آنابولیک آندروژنیک می‌باشد که سبب افزایش وزن بافت بیضه (۱۶) و اغلب باعث تحلیل قطر لوله‌ها و جدا شدگی غشای پایه لوله‌های سمینفر و یا تحلیل رفتگی می‌باشد. به مانند دیگر استروئیدهای آنابولیک آندروژنیک بولدنون نیز جزء مواد غیرمجاز می‌باشد که باعث اختلالات پیش‌رونده در بافت بیضه و روند اسپرماتوژنز، متناسب با افزایش مقدار و مدت زمان تجویز بوده است (۱۷). افزایش ضخامت غشای پایه می‌تواند منجر به افزایش ضخامت دیواره لوله‌های اسپرم ساز گردد (۱۸).

امروزه مشخص شده است که افزایش ضخامت دیواره لوله‌های منی ساز که به دلیل افزایش حجم رشته‌های کلاژن به وجود می‌آید، باعث اختلال در فرآیند اسپرم زایی می‌گردد. این افزایش حجم رشته‌های کلاژن نشان دهنده اختلال در فعالیت سلول‌های فیبروبلاست موجود در اطراف لوله‌های منی ساز و بافت همبند بینابینی است (۱۹). بر اساس مطالعه آیدوس^۴ و همکاران، افزایش ضخامت دیواره لوله‌ها و تغییر شکل و ضخامت رشته‌های کلاژن سبب اختلال در آزاد شدن طبیعی اسپرماتوزوآ از اپیتلوم زایگر به داخل لومن لوله‌های اسپرم ساز شده و از این طریق در کاهش باروری نقش دارد (۲۰). در

^۳ Kato
^۴ Aydos

^۱ Tousson
^۲ Kicman



نتیجه کاهش جمعیت سلول‌های رده اسپرم‌زا در دیواره لوله-های اسپرم ساز تغییرات ساختاری نیز قابل مشاهده خواهد بود که از جمله مهم‌ترین این تغییرات کاهش ارتفاع اپیتلیوم زایگر و از هم گسیختگی نظم و آرایش اتصالات بین سلولی است. از هم گسیختگی اتصالات بین سلولی می‌تواند باعث آزاد شدن سلول‌ها به حفره داخلی لوله‌های اسپرم ساز شود که این امر باعث کاهش شاخص تمایز لوله‌ای خواهد شد. بنابراین کاهش این شاخص می‌تواند نشان دهنده اختلال در اتصالات بین سلولی باشد.

در فرآیند اسپرم‌زایی طبیعی، معمولاً سلول‌ها به صورت ردیفی از بخش قاعده‌ای و لوله‌های اسپرم ساز به طرف حفره داخلی لوله‌ها کشیده می‌شوند. این امر نشان دهنده طبیعی بودن فرآیند تقسیم سلولی است. هر گونه اختلال در فرآیند تقسیم سلولی نظیر حذف و از بین رفتن سلول‌های رده اسپرم‌زا می‌تواند شاخص تمایز لوله‌ای را کاهش دهد. بنابراین، کاهش شاخص مذکور می‌تواند به دلیل کاهش جمعیت سلولی ناشی از حذف غیرطبیعی در سلول‌های رده اسپرم‌زا باشد. در این میان باید به این نکته توجه کرد که کاهش جمعیت سلولی می‌تواند به دلیل کاهش قدرت تقسیم و یا افزایش میزان از بین رفتن سلول‌ها باشد (۲۲) سلول سرتولی در روند اسپرماتوژنیز نقش اصلی را به عهده دارد بطوریکه تمایز سلول‌های زایا، میوز و تغییر شکل آن‌ها به اسپرم بالغ با عملکرد سلول سرتولی ارتباط مستقیم دارد (۲۳).

بنابراین در این پژوهش با تأثیر استروئیدهای آنابولیک بولدنون قطر لوله‌ها اغلب تحلیل رفته و غشای پایه لوله‌های سمینوفر دچار جداشدگی و یا تحلیل رفتگی می‌باشند و بافت بینابینی در تمام نواحی به صورت اندک قابل رویت بوده و از تعداد سلول‌های لیدیک کاسته شده است. همچنین از میزان سلول‌های سرتولی نیز کاسته شده و در فضای داخل لوله‌ها

میزان بسیار کمی اسپرماتوزوئید دیده می‌شود. در تمرینات مقاومتی شدید، فرآیند ایسکمی - خون رسانی مجدد و بارهای مکانیکی وارد شده بر بافت‌های نرم درگیر، در ایجاد پراکسیداسیون لیپیدی و تولید بنیان‌های آزاد نقش موثر دارند. در طی ورزش، انحراف خون به سمت پوست و عضلات فعال باعث هیپوکسی زود گذر بافتی و عدم هماهنگی اکسیژن مصرفی و اکسیژن مورد نیاز در بافت‌های فعال حین شدت‌های بالای تمرینی می‌شود. به دنبال اکسیژن رسانی مجدد این بافت‌ها و قطع یا کاهش شدت فعالیت، افزایش می‌یابد. از این-رو، زمینه آسیب به ساخت‌های سلولی در پی افزایش پراکسیداسیون لیپیدی و کاهش عملکرد سلولی، فراهم می‌شود (۲۴).

یافته‌های ما نشان می‌دهد با وجود تمرین مقاومتی، استفاده از مقادیر کم و فرم تزریقی نیز استروئید آنابولیک موجب آسیب‌های بافتی و آزارهای سلولی از جمله تجمع خون، دژنراسیون، التهاب در بافت بیضه می‌شود.

کاهش تعداد سلول‌های زایا می‌تواند به دلایل مختلف باشد، فرآیند اسپرماتوژنز، تکثیر و تمایز و بلوغ سلول‌های زایا یک فرآیند وابسته به تستوسترون است در نتیجه با کاهش سطح تستوسترون ممکن است این فرآیند دچار اختلال شده و میزان تکثیر (تعداد سلول‌ها) کاهش یابد. از سوی دیگر می‌توان این احتمال را مطرح نمود که تمایز سلول‌های زایا نیز می‌تواند دچار نقصان شده و با طولانی شدن این زمان در مجموع از تعداد رده‌های مختلف سلولی کاسته شود. احتمال دیگری که می‌تواند مطرح شود، از بین رفتن بیش از حد این سلول‌ها در نتیجه دژنراسیون سلولی و یا فرآیند آپوپتوزیس می‌باشد. آپوپتوزیس در حالت طبیعی نیز در سلول‌های زایا رخ می‌دهد (۲۵) ولی افزایش میزان آن نسبت به میزان تولید سلول‌ها در نتیجه کاهش سطح تستوسترون می‌تواند باعث



تفاوت‌های ژنتیکی در پاسخ به فعالیت‌های ورزشی می‌توان نام برد.

نتیجه‌گیری

به طور خلاصه، نتایج تحقیق حاضر نشان داد بولدونون موجب آسیب به بافت بیضه و تحلیل قطر لوله‌ها و جدا شدگی غشای پایه لوله‌های سمینوفر و یا تحلیل رفتگی شد. با توجه به یافته‌های پژوهش حاضر، انجام تمرین مقاومتی به همراه مصرف عصاره عناب نسبت به تمرینات استقامتی می‌تواند موجب کاهش آسیب‌های ساختاری و بافتی به دنبال تزریق بولدونون شود.

کاهش تعداد سلول‌ها شود. کاهش تعداد سلول‌ها نیز خود می‌تواند منجر به جمع شدن و در نتیجه منجر کوچک شدن لوله‌های منی ساز شود. کاهش قطر لوله‌های منی ساز در مطالعاتی که بر روی مواد آنتی اسپرماتوژنیک مختلف انجام شده به دنبال کاهش جمعیت سلول‌های زایا نیز گزارش شده است. تعداد سلول‌های لیدیگ نیز ارتباط مستقیمی با توانایی باروری دارد. به این معنی که با کاسته شدن از تعداد آن از میزان باروری نیز کاسته می‌شود (۱۶). با این حال جهت ارائه نتایج قطعی‌تر نیاز به مطالعات گسترده‌تری در این زمینه می‌باشد. از محدودیت‌های این پژوهش وجود تفاوت‌های فردی و ژنتیکی در پاسخ به متابولیسم هورمون و همچنین وجود

References

1. Aitken RJ, Roman SD. Antioxidant systems and oxidative stress in the testes. *Oxid Med Cell Longev* 2008;1(1):15-24.
2. Qadampour Vahed Z, Rashidlamir A, Moosavi Z, Raji A. The effects of anabolic steroid stanozolol along with eight weeks of resistance training on structural changes in male rats' liver. *Sport Biosciences* 2013;5(2):115-32. [Persian]
3. Bjornebekk, A. Structural Brain Imaging of long-term anabolic-androgenic steroid users and nonusing weightlifters. *Biol Psychiatry* 2017;82(4):294-302.
4. Tousson E, El-Gerbed M, Shleby S. Effect of maturity on histopathological alteration after growth promoter boldenone injection in rabbits. *AJS* 2011;7:1074-80.
5. Serpil C, Selli J. The effect of estrogen usage on eccentric exercise-induced damage in rat testes. *Iran Red Crescent Med J* 2015;17(4):e22521.
6. Zedan NS, Tousson E, Massoud A and El-Saeed A. Biochemical and histopathological alterations in rat testes after injection with the growth promoter Equigan with reference to the ameliorating role of Proplis. *Proceeding of 2nd International Conference for Nutrition and Growth*. 2014 Jun. 29, 2014 Feb. 2, Barcelona, Spain.
7. Fazelpour S, Hadipour JM, Tootian Z, Kiaei SB, Sheibani MT, Talaee N. The effect of chronic administration of Methylphenidate on morphometric parameters of testes and fertility in male Mice. *J Reprod Infertil* 2012;13(4):232-6.
8. Ebrahimi S, Sadeghi H, Pourmahmoudi A, Askariyan S, Askari S. protective effect of zizphus vulgaris extract, on liver toxicity in laboratory rats. *Armaghane danesh* 2011;16(2):172-80. [Persian]
9. Taati M, Alirezaei M, Meshkatsadat MH, Rasoulia B, Kheradmand A, Neamati Sh. Antioxidant effects of aqueous fruit extract of Ziziphus jujuba on ethanol-induced oxidative stress in the rat testes. *J Vet Res* 2011; 34:39-45.
10. Rafiei S, Bazayr Y, Edalatmanesh MA. Effect of gallic acid and endurance exercise training on BDNF in a model of hippocampal degeneration. *Shefaye Khatam* 2016;4(1):1-6. [Persian]
11. Bancroft JD and Cook HC. *Manual of histological techniques and their diagnostic application*. 2^{ed}. Churchill Livingstone; 1994.

12. Ranjbar K, Matinhomae H, Azarbayjani MA, Peeri M. Effect of zizyphus jujube extract and resistance exercise on liver damaging biomarkers in male toxicated by anabolic steroid. *Metabolism and Exercise* 2015;5(1):35-44. [Persian]
13. Sukho L, Roger PF. Resistance training, muscle mass and function in the rat. *ASEP* 2003;6(2):1097-975.
14. Joo Y, Sone T. Effects of endurance exercise on three-dimensional trabecular bone microarchitecture in young growing rats. *Bone* 2003;33(4):485-93.
15. Niakani A, Farokhi F, Tukmechi A. The effects of Decapeptyl on morphology and quantity of neurons in hippocampus of mice treated with cyclophosphamide. *Jornal of Isfahan Medical School* 2012;30(182):1-9 [Persian]
16. Zhang H, Jiang L, Ye S, Ye Y, Ren F. Systematic evaluation of antioxidant capacities of the ethanolic extract of different tissues of jujube (*Ziziphus jujuba* Mill.) from China. *J Food Chem Toxicol* 2010;48:1461-5.
17. Satoh K, Ohyama K, Nakagomi Y, Ohta M, Shimura Y, Sano T, Ishikawa H, *et al.* Effects of growth hormone on testicular dysfunction induced by cyclophosphamide (CP) in GH-deficient rats. *Endocr J* 2002;49(6):611-9.
18. Cameron DF, Rountree J, Schultz RE, Repetta D, Murray FT. Sustained hyperglycemia results in testicular dysfunction and reduced fertility potential in BBWOR diabetic Rats. *Am J Physiol* 1990;259(6 Pt 1):881-9.
19. Cameron DF, Murray FT, Drylie D. Interstitial compartment pathology and spermatogenic disruption in testes from impotent diabetic men. *Anat Rec* 1985;213(1):53-62.
20. Aydos K, Guven MC, Can B, Ergun A. Nicotine toxicity to the ultrastructure of the testis in rats. *BJU Int* 2001;88(6):622-6.
21. Tousson E, El-Gerbed MSA, and Shleby S. Effect of maturity on histopathological alteration after growth promoter boldenone injection in rabbits. *J Am Sci* 2011; 7: 1074-1080.
22. Kicman AT. Pharmacology of anabolic steroids. *British Journal of Pharmacology* 2008; 154: 502–521.
23. Kato M, Makino S, Kimura H, Ota T, Furuhashi T, Nagamura Y. Sperm motion analysis in rats treated with adriamycin and its applicability to male reproductive toxicity studies. *J Toxicol Sci* 2001;26(1):51-9.
24. Talebi Grakani E, Memar Moghaddam M. Comparison of total antioxidant capacity, oxidative stress status and lipoprotein profile athletes cycling with non athletic people. *J Sport Bio Sci* 2010;2(4):19-29. [Persian]
25. Jahnukainen k, Chrysis D, Hou M, parvinen M, Eksborg S, Soder O. Increased apoptosis occurring during the first wave of spermatogenesis is stage- specific and primarily affects midpachytene spermatocytes in the rat testis. *Biol Reprod* 2004;70(2):290-6.



The effect of anabolic steroid Boldenone, endurance and resistance training on testicular tissue damage in Wistar rats

Majid Abbaszadeh¹, Hasan Matinhomae^{*1, 2}, Parvin Farzanegi²

1. Department of Exercise Physiology, Central Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
2. Department of Exercise Physiology, Sari Branch, Islamic Azad University, Sari, Iran

Original Article

Received: Dec 8, 2018

Accepted: Jun 20, 2019

***Corresponding Author:**

Hasan Matinhomae, Department of exercise Physiology, Central Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

TEL:

Email:

hasanmatinhomae@gmail.com

ABSTRACT

Introduction

The use of anabolic-androgenic steroids by athletes has some effects on the structure and function of the organs of the body, such as the genital system. The purpose of this study was to investigate the effect of anabolic steroid Boldenone, endurance and resistance training on testicular tissue damage in Wistar rats

Materials and Methods

77 Wistar rats were randomly divided into the eleven equal groups: control, sham, Boldenone, Gallic acid + Resistance training + Boldenone, Resistance training + Boldenone, Gallic acid + Endurance training + Boldenone, zizyphus jujube + Endurance training + Boldenone, Endurance training + Boldenone, zizyphus jujube + Resistance training + Boldenone, Gallic acid + Boldenone, zizyphus jujube + Boldenone. The resistance exercise protocol consisted of three exercise sessions per week of the climbing ladder for eight weeks, and endurance training for each session 30 minutes at a speed of 12 m / min. Data analysis was performed by two way analysis of variance.

Results

The highest rate of tissue failure and degenerative changes were observed in the Boldenone group. The diameter and size of the Seminiferoustubules are equal and the base membrane is normal in the Boldenone + zizyphus jujube and Boldenone + Resistance training groups. However, the diameter of the tubes was different for each other in the Boldenone+ endurance training group.

Conclusion

Boldonone can damage testicular tissue structure and degenerative changes. It is possible that resistance training with jujube supplementation to endurance training can reduce the testicular tissue damage-induced the boldonone injection.

Keywords

anabolic steroid, resistance and endurance training, testicular tissue, rat

► **Please cite this article as:** Abbaszade M, Matinhomae H, Farzanegi P. The effect of anabolic steroid Boldenone, endurance and resistance training on testicular tissue damage in Wistar rats. J Neyshabur Univ Med Sci 2019;7(1):144-56.