

## تأثیرات ناشی از مصرف آستروئید آنابولیک بولدنون همراه با هشت هفته تمرین هوازی بر تغییرات هیستوپاتولوژیک بافت مخچه موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار

بهرروز یحیایی<sup>۱\*</sup>، مهناز نوری<sup>۲</sup>، مائده رضانی<sup>۲</sup>

۱. گروه علوم پایه، دانشکده پزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شاهرود، شاهرود، ایران.  
۲. گروه زنان و زایمان، دانشکده پزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شاهرود، شاهرود، ایران.

### چکیده

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۴/۰۵  
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۳/۰۱

**مقدمه** داروهای استروئیدی آنابولیک امروزه به‌طور گسترده استفاده می‌شوند. ولی از آنجایی که عوارض آن‌ها به‌طور کامل مشخص نیست، از این‌رو تحقیق حاضر با هدف مطالعه تأثیرات ناشی از مصرف آستروئید آنابولیک بولدنون همراه با هشت هفته تمرین هوازی بر تغییرات بافت مخچه موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار انجام شده است.

**روش کار** این مطالعه روی موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار انجام شد. تعداد ۴۹ سر موش صحرایی به ۷ گروه کنترل، شم، بدون تمرین با دوز ۲mg/kg بولدنون، بدون تمرین با دوز ۵mg/kg بولدنون، تمرین هوازی، تمرین همراه با دوز ۲mg/kg بولدنون و تمرین همراه با دوز ۵mg/kg بولدنون تقسیم شدند. موش‌ها تحت شرایط یکسان و با تغذیه مشابه نگهداری شده و فعالیت استقامتی طبق پروتکل برای آن‌ها انجام و داروی بولدنون نیز به گروه‌های مداخله تزریق شد. در پایان هفته هشتم موش‌ها بی‌هوش شده و نمونه بافتی از مخچه آن‌ها تهیه شد. **یافته‌ها** بین گروه‌های تحت درمان با بولدنون با ورزش با گروه بدون ورزش و کنترل اختلاف مورفولوژیک وجود داشت. در گروه بولدنون همراه با ورزش مقدار و میزان تغییرات بافت مخچه به‌طور معناداری کمتر از گروه کنترل بود. و حتی بین دو گروه بولدنون با دوزهای مختلف که تحت فعالیت استقامتی هم قرار گرفته بودند تفاوت دیده شد.

**نتیجه‌گیری** نتایج این تحقیق نشان داد که فعالیت استقامتی و هوازی به مدت ۸ هفته می‌تواند تا حدود زیادی تأثیرات داروی بولدنون بر بافت مخچه موش‌های صحرایی را کاهش داده ولی با افزایش دوز بولدنون بروز این تغییرات اجتناب‌ناپذیر است.

### کلیدواژه‌ها:

بولدنون، تمرین هوازی، مخچه، هیستوپاتولوژی

### مقدمه

آنابولیک به‌منظور بهبود عملکرد ورزشی مورد سوء مصرف قرار می‌گیرند [۱]. استفاده از این داروها به‌سرعت در حال گسترش بوده، به‌طوری‌که پس از جنگ جهانی دوم، ورزشکاران آشکارا از هورمون‌های آستروئید آنابولیک برای افزایش عملکرد استفاده می‌کنند [۲]. از لحاظ فیزیولوژیکی مصرف این داروها موجب افزایش توده عضلات اسکلتی، سنتز پروتئین و بهبود

استروئیدهای آندروژنیک-آنابولیک ترکیباتی مشتق شده از تستوسترون و هورمون اصلی مردانه هستند [۱]. آندروژنیک‌ها با تحریک کارایی جنسی مرتبط بوده و مسبب بروز صفات مردانه و نیز رشد عضلات اسکلتی بدن نیز است [۲]. هورمون‌های آستروئید آنابولیک اغلب از سوی ورزشکاران به‌عنوان داروی

\* نویسنده مسئول: بهروز یحیایی  
نشانی:

تلفن:  
رایانه: behroozyahyaei@yahoo.com  
شناسه ORCID: 0000-0002-6495-2911  
دورنگار:

مصرف‌کنندگان می‌انجامد [۹-۱۰]. اکثر اختلال‌های ظاهری با قطع دارو برگشت‌پذیر بوده ولی اکثریت تغییرات، مانند تغییرات ساختاری برگشت‌ناپذیرند [۱۰]. دریافت دوزهای بالا آستروئیدها خطر بزرگ شدن و ناهنجاری‌های قلبی، فشار خون بالا، لخته شدن خون، حمله قلبی و سگته‌های مغزی را افزایش می‌دهد. تهاجم و پرخاشگری یا افسردگی که می‌تواند به خودکشی بیانجامد و همچنین احتباس آب و نمک در اندام‌ها از دیگر مضرات مصرف این داروها هستند [۱۰-۱۱]. امروزه دوپینگ و بهره‌گیری از مواد نیروزا به معضل پیچیده‌ای در ورزش تبدیل شده است که در این بین نقش آستروئیدهای آنابولیک - آندروژنیک غیرقابل انکار است [۱۲]. استفاده نابه‌جا از این ترکیبات سبب بروز تغییرات برگشت‌پذیر و برگشت‌ناپذیری در بدن می‌شود که از آن جمله می‌توان به کاهش تولید اسپرم و تحلیل بیضه‌ها اشاره کرد [۱۳]. آزمایش‌های متعددی نشان داده‌اند که دوزهای بالا و پایین آستروئیدها (از جمله آستروئید بولدنون) باعث کاهش کمی و کیفی اسپرم در موش‌های صحرایی شده است. اکثر اختلال‌های ظاهری با قطع دارو برگشت‌پذیر بوده ولی اکثریت تغییرات، مانند تغییرات ساختاری برگشت‌ناپذیرند [۱۰]. تحقیقات قلبی به بررسی بالینی آستروئیدهای آنابولیک پرداخته و اطلاعات درباره تأثیر تمرین بدنی بسیار اندک است، به طوری که تا به حال تأثیر تمرین استقامتی بر سوخت‌وساز آستروئیدها از جمله بولدنون بررسی نشده است. از طرف دیگر، روشن است تمرین استقامتی موجب تغییرات فیزیولوژیکی وسیع هنگام تمرین و بعد از آن در بدن انسان و حیوانات می‌شود و روی سوخت‌وساز مواد مختلف مانند داروها اثر می‌گذارد. همچنین تمرین مقاومتی افزایش مهمی را در سطوح تستوسترون، هورمون لوتئینی و هورمون محرک فولیکولی سرم مردان دارد. این تغییرات ناشی از تمرین استقامتی ممکن است در سوخت‌وساز کبدی بولدنون تزریقی مؤثر باشد [۱۴-۱۵]. به این ترتیب می‌توان انتظار داشت همراه کردن تمرین استقامتی با بولدنون تزریقی ممکن است در ایجاد تغییر آثار منفی بالقوه این دارو روی سیستم کبدی، عصبی و به‌ویژه مخچه مؤثر باشد [۱۵].

به طور کلی دوزهای مصرفی دارو توسط ورزشکاران برای ایجاد خواص آنابولیک ۱۰ تا حتی ۵۰ برابر مقدار مصرف پزشکی آن‌ها است. این داروها معمولاً در دوره‌های ۶ تا ۱۲ هفتگی استفاده می‌شوند و استفاده بیش از دوز مجاز آن‌ها در دوره‌هایی با مدت زمان بیشتر نه تنها بر رشد و خاصیت آنابولیک آن‌ها بی‌تأثیر است بلکه باعث کاهش برخی از

اندازه ماهیچه، توده بدن و قدرت می‌شود [۱-۳]. بسیاری از آستروئیدها به طور طبیعی در انواع هورمون‌ها و ویتامین‌ها وجود داشته و از طریق مصرف مواد خوراکی به بدن می‌رسند [۴]. داروهایی که به نام آستروئیدهای آنابولیک شناخته می‌شوند در آزمایشگاه‌ها صنعتی ساخته شده و دارای همان ساختمان شیمیایی آستروئیدهای موجود در هورمون‌های جنسی مردانه یعنی تستوسترون هستند [۳-۴]. آستروئیدهای اندروژنی آنابولیک (AAS) طبیعی به طور عمده در سلول‌های بینابینی لیدینگ بیضه‌ها تشکیل شده و با دستور غدد آدرنال ترشح می‌شوند [۵]. نقش این داروها در ساختن بافت عضلانی (اثر آنابولیک) و ایجاد ویژگی‌های مردانه (اثر اندروژنیک) سبب می‌شود که ورزشکاران و کسانی که در حوزه پرورش اندام کار می‌کنند بدان‌ها علاقه نشان دهند [۶]. آستروئیدها در دو دوز مصرف پزشکی و ورزشی استفاده می‌شوند. در دوز پزشکیان ۲ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن فرد و در دوز ورزشیان ۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن تزریق می‌شوند [۶-۷]. قرار گرفتن بولدنون در این دسته آن را به طور بالقوه برای سیستم عصبی و به‌ویژه مخچه مضر کرده است، اما استفاده از فرم تزریقی تا حدودی از این عوارض می‌کاهد [۷]. این داروها به‌ندرت برای درمان انسان‌ها تجویز شده اما گاه در درمان بلوغ دیررس، درمان کاهش وزن شدید، در بیماران مبتلا به ایدز و دیگر بیماری‌های شدیداً تضعیف‌کننده قوای بدن تجویز می‌شود [۸]. مهم‌ترین فرم آن‌ها به‌صورت آستروئیدهای آنابولیک ۱۷ - آلفایی است که در مقادیر زیاد توسط ورزشکاران مرد، بدن‌سازان و نوجوانان مورد سوء استفاده قرار می‌گیرد. مهم‌ترین آستروئیدهای این گروه شامل بولدنون، میبولرون، استانوزولول، ترنبولون و دیگر استرها و ایزومرهای مربوطه هستند [۸]. مکمل‌های آستروئیدی در بدن به تستوسترون یا دیگر ترکیبات آستروئیدی تبدیل می‌شوند [۹]. به دنبال افزایش سوء استفاده درازمدت از آستروئیدهای آنابولیک، نگرانی‌ها برای آثار مضر آن‌ها افزایش یافت. عمده نگرانی در افرادی که از آستروئیدهای اندروژنیک - آنابولیک استفاده می‌کنند، مربوط به تأثیرات آن‌ها روی کبد، قلب و عروق، کلیه‌ها، سیستم هورمونی، تولیدمثل و سیستم عصبی روانی است. پزشکان نگرانی خود را غالباً آثار جانبی این داروها روی سیستم هورمونی، متابولیسمی و عصبی عنوان کرده‌اند. استفاده طولانی‌مدت از آستروئیدهای آنابولیک سبب انباشت این داروها و یا متابولیت‌های آن‌ها در کبد و سیستم عصبی شده و به آسیب کبد یا سیستم عصبی و به‌ویژه ناحیه مخچه در

گروه ششم بدون تمرین + بولدنون به میزان ۵ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن ( $n=7$ )  
 گروه هفتم (ششم) بدون تمرین + تزریق روغن زیتون به میزان ۵ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن ( $n=7$ ) (۱۶)  
 تزریقات توسط سرنگ انسولین و به صورت عضلانی عمیق در پشت ران انجام شد. دوره آزمایشی به مدت ۸ هفته بود که برنامه تمرین استقامتی آن شامل استفاده از تردمیل بود که در نخستین هفته موش‌های صحرایی با دستگاه تردمیل آشنا شده به طوری که در روز نخست با سرعت ۱۰ متر در دقیقه برای مدت ۱۰ دقیقه، روز دوم با سرعت ۱۵ متر در دقیقه برای مدت ۱۵ دقیقه، از روز سوم الی پنجم به ازای هر روز به مدت ورزش افزوده شد به طوری که در روز پنجم مدت ورزش به ۳۵ دقیقه افزایش یافت، ولی سرعت دستگاه تردمیل ۱۵ متر در دقیقه ثابت نگاه داشته شد. در هفته دوم، سرعت به ۲۰ متر در دقیقه برای مدت ۳۰ دقیقه در روز اول افزایش داده شد که به ازای هر روز ۵ دقیقه به مدت ورزش افزوده شد. در هفته سوم، تعلیم ورزشی ۵۰ دقیقه با سرعت ۲۰ متر در دقیقه، در هفته چهارم، ۵۰ دقیقه با سرعت ۲۵ متر در دقیقه، در هفته پنجم و ششم، ۵۰ دقیقه با سرعت ۳۰ متر در دقیقه، در هفته هفتم و هشتم ۵۰ دقیقه با سرعت ۳۲/۵ متر در دقیقه اعمال شد. از هفته دوم تا انتهای کار ۵ دقیقه گرم کردن و ۵ دقیقه سرد کردن با سرعت ۱۵ متر در دقیقه در شروع و انتهای ورزش اعمال شد. از هفته نخست تا هفته پنجم شیب صفر درصد، در هفته ششم و هفتم شیب ۵ درصد و در هفته هشتم، نهم و دهم شیب ۱۰ درصد اعمال شد. در پایان دوره آزمایش حیوانات بی‌هوش و قربانی شده و سپس بافت مخچه نمونه‌ها پس از جداسازی در فرمالین ۱۰ درصد فیکس شد و پس از آن برای انجام روش‌های معمول بافت‌شناسی آماده شد. نمونه‌های حاصل برای ۴۸ ساعت در محلول نگه‌داری شدند. پس از ۲۴ ساعت اولیه فرمالین جدید جایگزین شد. بعد از فیکساسیون، آب‌گیری و شفاف‌سازی 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، توسط رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین و آئوزین ۱ رنگ و سپس توسط میکروسکوپ نوری با بزرگنمایی ۴۰، ۱۰۰ و ۴۰۰ مطالعه و عکس‌برداری شد. تمامی اصول اخلاقی در کار با حیوانات در این تحقیق به طور کامل اجرا شده است.

هورمون‌های مؤثر در رشد بدن (فیدبک منفی) شده و خواص آندروژنیک آن‌ها شبیه ریزش مو و بزرگ شدن سینه در مردان که حاصل تولید بیش از حد پروژسترون (هورمون زنانه) است و نیز آسیب‌های کبدی شده و در مراحل بعد به علت کم‌کار شدن بیضه‌ها باعث عقیم شدن می‌شود. با توجه به مصرف گسترده این دسته داروها توسط ورزشکاران استقامتی و به ویژه بدن‌سازان و اینکه در کشور بدون نظارت منسجمی توسط افراد بدون صلاحیت به ورزشکاران و جوانان در سطح وسیع تجویز شده و همچنین عدم وجود شناخت کافی از تمامی عوارض مصرف این داروها به ویژه در ساختمان‌های عصبی، مطالعه حاضر به با هدف بررسی تأثیرات ناشی از مصرف آستروئید آنابولیک بولدنون همراه با هشت هفته تمرین هوازی بر تغییرات بافت مخچه موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار به منظور شناخت هر چه بهتر آسیب‌های ساختاری نورون‌های مغزی و تغییرات سلول‌های ماده خاکستری و سفید مخچه و نیز شناخت آسیب‌های بالینی احتمالی ناشی از عدم تعادل، انجام شده است.

## مواد و روش کار

روش انجام این مطالعه روش آزمایشگاهی و تجربی بوده است. به منظور بررسی اثر بولدنون بر ساختار بافت مخچه رت‌های آزمایشی ۴۹ سر موش صحرایی با سن ۱۲ هفتگی و میانگین وزن ۲۲۰ تا ۲۵۰ گرم خریداری شد و به مدت یک هفته شرایط سازگاری با محیط روی آن‌ها اعمال شد تا موش‌های صحرایی با شرایط محیط جدید و نیز پروتکل‌های تمرینی عادت کنند. شرایط آزمایشگاهی آن‌ها استاندارد با چرخه نور متناوب ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی و دمای ۲۵ درجه تنظیم شد. سپس موش‌های صحرایی گروه‌بندی شده و در قفس‌های انفرادی نگهداری شدند. در طی دوره آزمایش از خوراک مخصوص و فشرده جوندگان و آب سالم شهری برای تغذیه همه آن‌ها به طور یکسان استفاده شد. حیوانات به طور تصادفی به ۷ گروه زیر تقسیم شدند:

گروه اول (کنترل) بدون تمرین و دارو ( $n=7$ )

گروه دوم تمرین استقامتی ( $n=7$ )

گروه سوم تمرین استقامتی + بولدنون به میزان ۲ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن ( $n=7$ )

گروه چهارم تمرین استقامتی + بولدنون به میزان ۵ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن ( $n=7$ )

گروه پنجم بدون تمرین + بولدنون به میزان ۲ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن ( $n=7$ )

## نتایج

مقاطع تهیه شده از بافت مخچه گروه‌های مختلف مداخله و کنترل، ویژگی‌های طبیعی بافت و تغییرات ایجاد شده را به خوبی نشان داد و تغییرات لایه‌های مولکولار، پورکنژ، گرانولار و ماده سفید را نمایان ساخت. مقاطع تهیه شده از مخچه گروه‌های مختلف آزمایش ویژگی‌های طبیعی و تغییرات ایجاد شده بافت را از نظر قطر لایه‌ها و سازمان‌دهی سه لایه نشان داد.

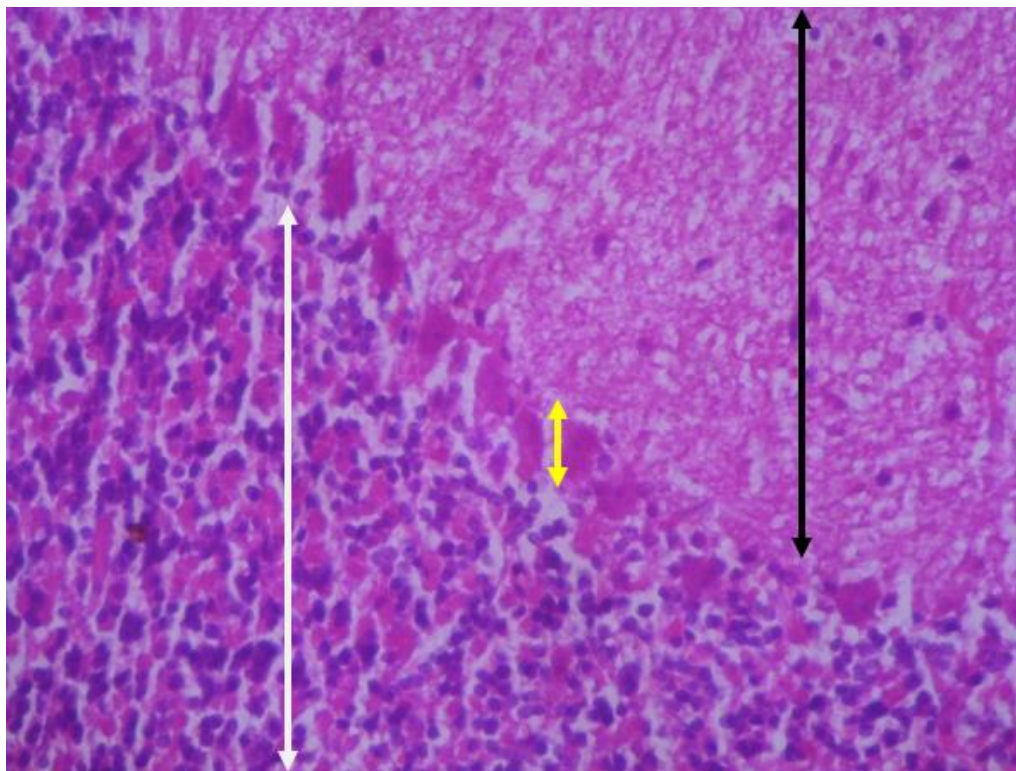
تمامی مقاطع تهیه شده از بافت مخچه موش‌های صحرایی گروه‌های مختلف به شیوه استاندارد و زیر میکروسکوپ ارزیابی شد که نتایج در ذیل ارائه می‌شود:

مقاطع تهیه شده از گروه کنترل (شکل ۱) ویژگی‌های طبیعی بافت مخچه را به خوبی نشان می‌دهد و همچنین سازمان‌دهی سه لایه مولکولار، پورکنژ و گرانولار ماده خاکستری کاملاً مشهود و مشخص است همچنین ماده سفید در مرکز هر چین‌خوردگی قابل رؤیت است.

مقاطع تهیه شده از گروه شم همانند گروه کنترل بوده و ویژگی‌های طبیعی بافتی را نشان می‌دهد. تنها تفاوت، وجود میزان اندکی پرخونی در لایه مولکولار و نیز پراکندگی ناچیز سلولی در ناحیه گرانولار است.

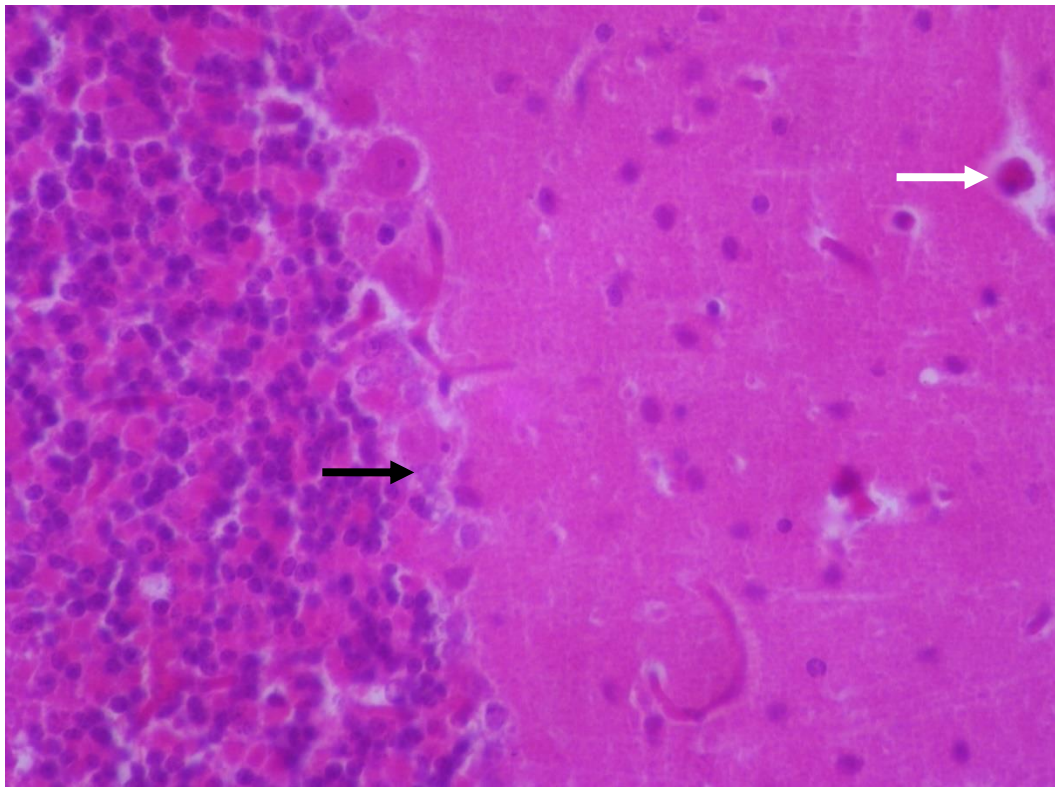
مقاطع تهیه شده از گروه بدون تمرین و بولدنون دوز ۲mg/kg (شکل ۲) نشان می‌دهد که در ناحیه مولکولار دارای مقداری پرخونی بوده و در لایه پورکنژ سلول‌ها نامنظم و با پراکندگی نسبت به هم قرار دارند. سلول‌های پورکنژ کوچک‌تر از حد طبیعی مشاهده شده و هسته آن‌ها نیز نامشخص و پیکنوزه است.

مقاطع تهیه شده از گروه بدون تمرین و بولدنون دوز ۵mg/kg (شکل ۳) تغییرات دژنراسیون بافتی از قبیل بی‌نظمی و از هم‌گسیختگی بافتی همراه با آرایش نامتعارف سلولی را نشان می‌دهد. در تمامی لایه‌ها قطر لایه در مقایسه با گروه کنترل تغییر یافته و متفاوت است. سلول‌های لایه‌ها در هم نفوذ کرده و پر خونی نیز وجود دارد. سلول‌های لایه پورکنژ کوچک و نامنظم بوده و در یک ناحیه دچار تجمع و روی هم خوابیدگی شده‌اند به طوری که حالت تک لایه را از دست داده‌اند. سیتوپلاسم آن‌ها کاملاً آنوزینوفیلیک شده و در برخی سلول‌ها هسته قابل رؤیت نیست (فلش سفید). اندازه سلول‌های (فلش سیاه دوطرفه) کاملاً غیرطبیعی بوده و هسته نیز وجود ندارد. در لایه گرانولار کاهش توده‌های سلولی و در ماده سفید نیز کاهش نسبت سلول‌ها به رشته‌ها وجود دارد.

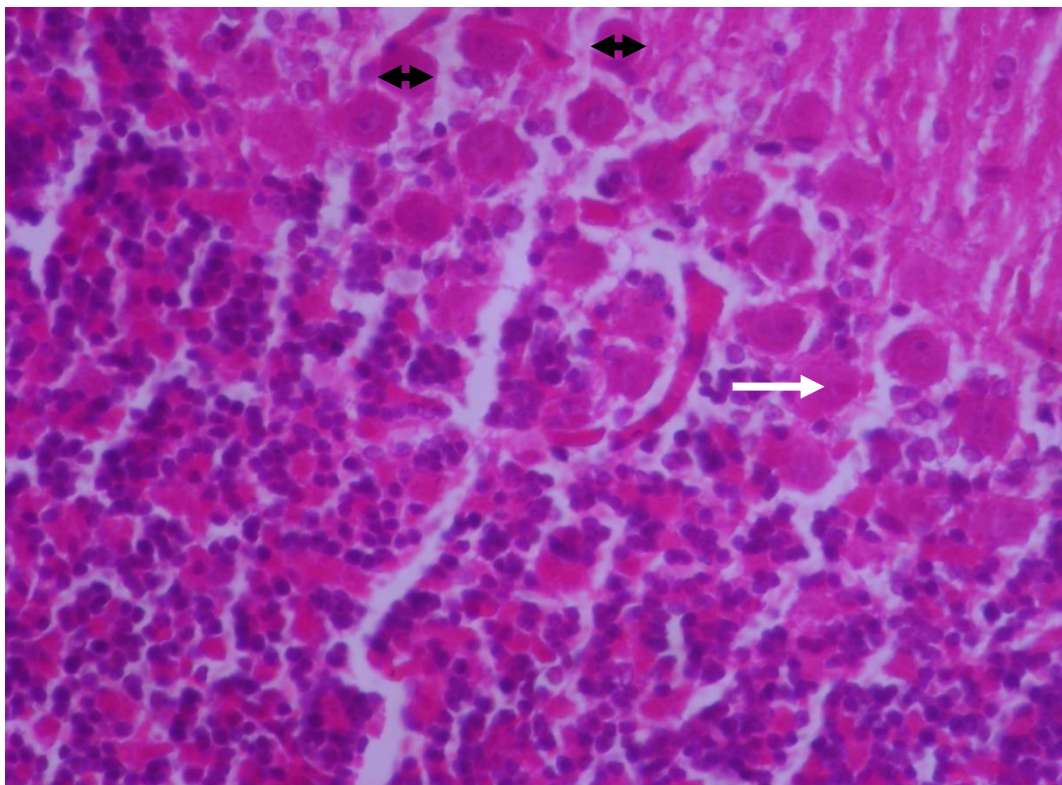


شکل ۱. فتومیکروگراف تهیه شده از مخچه موش صحرایی گروه کنترل. لایه مولکولار (فلش سیاه دوطرفه)، لایه پورکنژ (فلش زرد دوطرفه) و لایه گرانولار (فلش سفید دوطرفه). (رنگ آمیزی همانوکسیلین و ائوزین  $\times 400$ )





تصویر ۲- فتومیکروگراف تهیه شده از مخچه موش صحرائی گروه بدون تمرین و بولدنون دوز ۲ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم. فلش سفید مقداری پر خونی در لایه مولکولار و فلش سیاه بی نظمی سلولهای پورکنتر را نشان می دهدرا نشان می دهد. (رنگ آمیزی هماتوکسیلین و انوزین ۴۰۰×)



شکل ۳. فتومیکروگراف تهیه شده از مخچه موش صحرائی گروه بدون تمرین و بولدنون دوز ۵ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم. (رنگ آمیزی

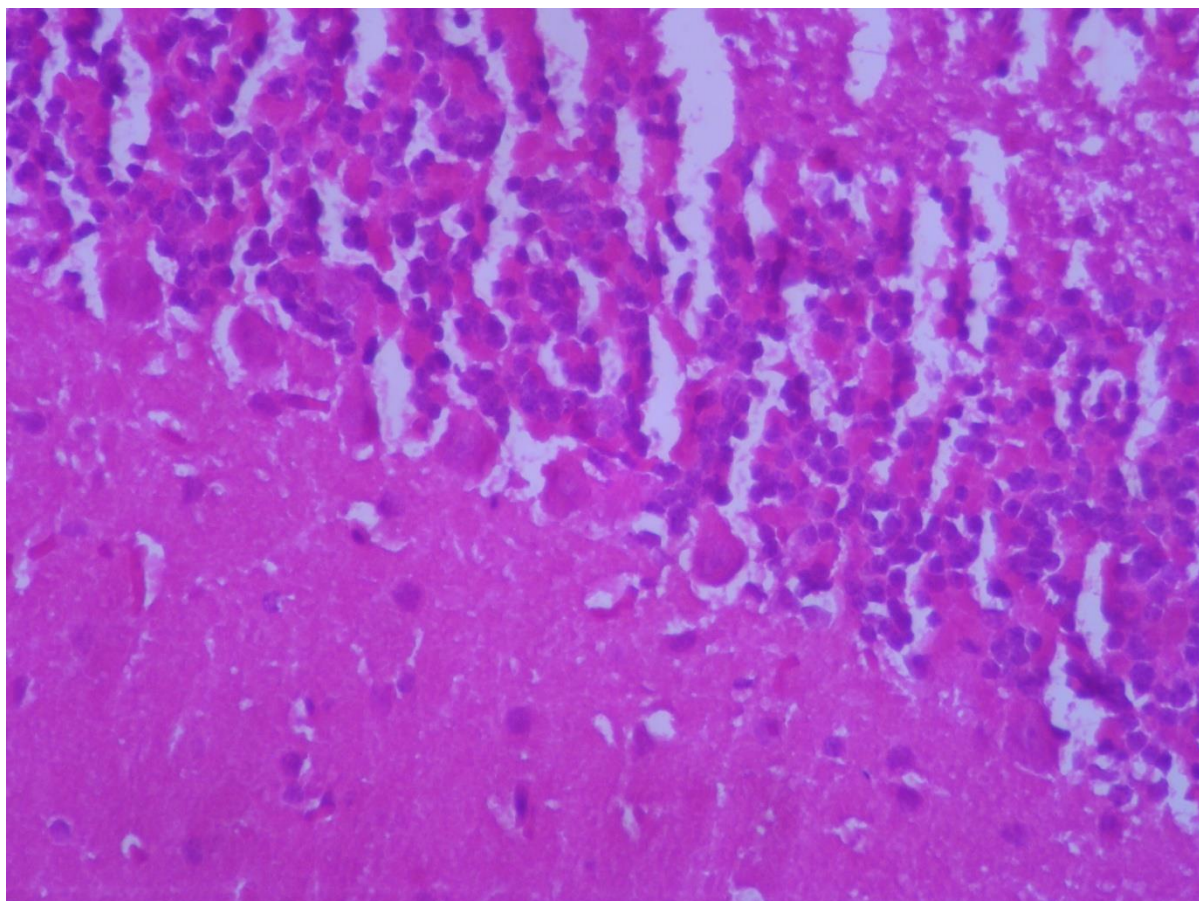
## هماتوکسیلین و ائوزین×۴۰۰)

نامنظمی مشهود است. در لایه گرانولار کاهش تراکم سلولی همراه با از هم گسیختگی و پراکندگی سلولی دیده می‌شود. در ماده سفید تعداد سلول‌ها بسیار کمتر از حد طبیعی است. سلول‌های لایه پورکنژ نیز هسته مشخص نداشته و حالت پیکنوزه بودن را از خود نشان می‌دهند.

تفکیک و درجه‌بندی تغییرات پدید آمده در بافت مخچه موش‌های صحرایی در گروه‌های مختلف در شکل ۵ نشان داده شده است. تغییرات هر سه لایه در گروه بولدنون دوز ۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم نسبت به گروه کنترل معنادار است ( $p < 0.05$ ). همچنین لایه پورکنژ و لایه مولکولار در گروه تمرین استقامتی و بولدنون دوز ۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم نیز نسبت به لایه‌های بافت مخچه در گروه کنترل تغییرات معناداری را نشان می‌دهد ( $p < 0.05$ ).

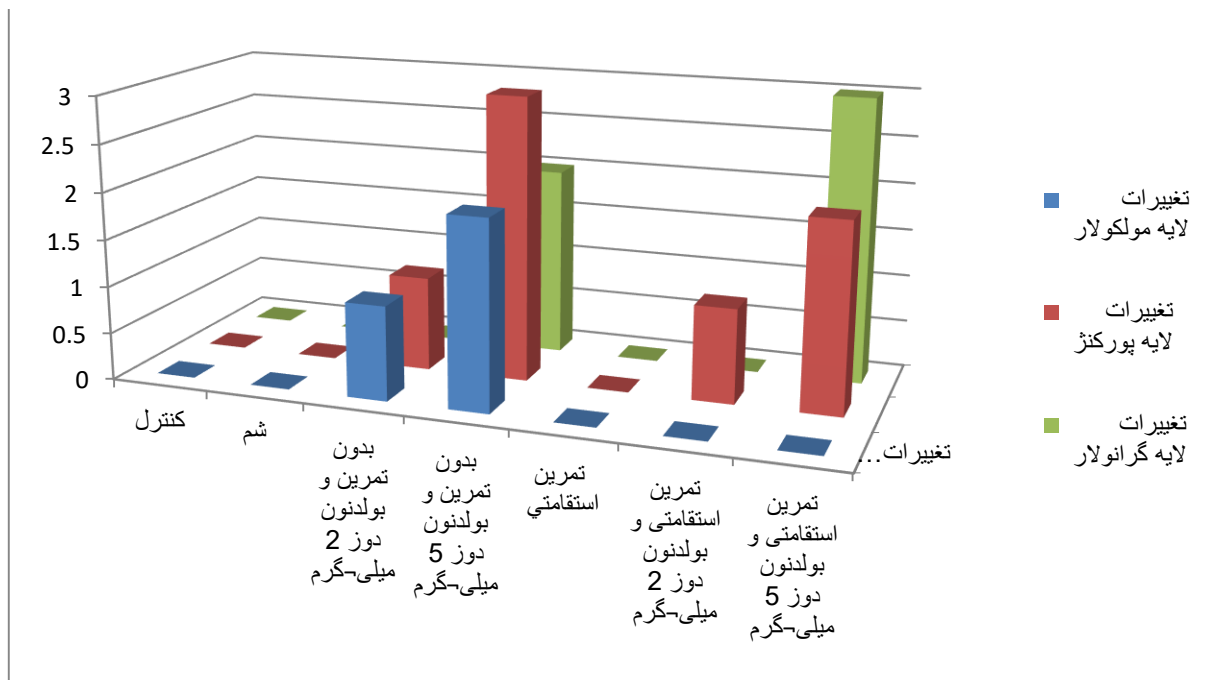
مقاطع تهیه شده از گروه تمرین استقامتی به صورت کلی دارای مشخصات طبیعی و آرایش منظم بافتی هستند. تنها آنچه در این گروه عامل تفاوت با گروه کنترل است وجود پرخونی در لایه‌های مختلف و مخصوصاً در لایه مولکولار است. مقاطع تهیه شده از گروه تمرین استقامتی و بولدنون دوز ۲mg/kg نشان می‌دهد که سلول‌های لایه پورکنژ دارای سیتوپلاسم کاهش یافته و هسته‌ها نامشخص بوده اما پراکندگی و تراکم آن‌ها مناسب است. دیگر لایه‌ها مشخصات طبیعی و نرمال بافتی را دارا هستند.

مقاطع تهیه شده از گروه تمرین استقامتی و بولدنون دوز ۵mg/kg کاهش حدت تغییرات نسبت به گروهی که تنها بولدنون دوز ۵ میلی‌گرم تزریق کرده است را نشان می‌دهد. اما در بافت همچنان تغییرات دژنراتیو و از هم گسیختگی و



شکل ۴. فتومیکروگراف تهیه شده از مخچه موش صحرایی گروه تمرین استقامتی و بولدنون دوز ۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم. (رنگ آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین×۴۰۰)





شکل ۵. تفکیک و درجه‌بندی تغییرات پدید آمده در متغیرهای مورد ارزیابی بافت مخچه موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار

با دوز ۲ و ۵ میلی‌گرم برای هر کیلوگرم وزن بدن بود که در تمام بافت مخچه گسترش یافته بود. بولدنون مصرفی همراه با جریان خون به مخچه رفته و در آنجا سبب آسیب سمی به سلول‌های بافت مخچه می‌شود. آسیب در گروه مصرف بولدنون با دوز بالا شدیدتر بود. این یافته با یافته‌های Erikson روی بولدنون در خرگوش بدون تمرین و وینسترویل خوراکی در موش صحرایی نر بدون تمرین و Feraudi روی تستوسترون آندوکانات در موش صحرایی نر با تمرین شنا هماهنگی داشت [۲۲-۲۴]

مصرف بولدنون در دوز ۵ میلی‌گرم برحسب وزن بدن دارای آثار مضر روی قسمت‌های مختلف بافت مخچه مثل لایه مولکولار، پورکنز، گرانولار و ماده سفید بوده و این احتمال وجود دارد که آثار مضر آن در دیگر قسمت‌های مغزی نیز اتفاق بیافتد که این یافته در تحقیق Mosler و Cavalari نیز به آن اشاره شده است [۲۵-۲۶].

همچنین مطالعات انجام شده توسط Friedel و Sinha- Hikim روی برخی احشای شکمی از قبیل روده‌ها، کبد و بیضه‌ها نشان می‌دهد که مصرف آستروئیدهای آنابولیک ممکن است دارای برخی آثار مضر بر روده و کبد و بیضه موش بالغ باشد و در دوزهای بالاتر ممکن است حتی عملکرد آن‌ها را تحت تأثیر قرار دهد [۲۷-۲۸]. در بیضه‌ها نیز یافته‌های

## بحث

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که استفاده از داروی آنابولیک بولدنون با درجات مختلفی از تغییرات لایه‌های مختلف نسج مخچه‌ای در گروه‌های آزمایش در مقایسه با گروه کنترل همراه است و باعث بروز تغییرات شدید تا نسبتاً شدید در لایه‌های مولکولار، پورکنز، گرانولار و ماده سفید می‌شود و این در حالی است که استفاده از ورزش‌های هوازی همراه آستروئید بولدنون حتی با دوزهای مختلف تا حدود زیادی مانع ایجاد و بروز این تغییرات شده است که با یافته‌های Chen, Chomczynski و De Souza که به ترتیب در دوره‌های ۸ و ۱۲ هفته با مصرف آستروئید دوزهای بالا و پایین با و بدون تمرین، تغییرات زیادی را نسبت به گروه شاهد مشاهده کردند، همخوانی کاملی داشته [۱۷-۱۹] اما با یافته‌های Desaulles و Diel مغایر است، چرا که در پژوهش آن‌ها فقط در یک دوره ۴ هفته‌ای همراه با تمرین استقامتی ۵ بار در هفته در زمان‌های متفاوت با مطالعه ما و مصرف آستروئیدها، تغییرات بافت مخچه همانند مطالعه حاضر مشاهده نشد. شدت کم تمرینات و کوتاه بودن دوره ممکن است عامل این اختلاف باشد [۲۰-۲۱].

تغییرات لایه پورکنز و گرانولار از برجسته‌ترین آسیب‌های مخچه‌ای مشاهده شده در گروه‌های دریافت بولدنون به ترتیب

[۳۶] نشان داد که شدت این آسیب‌ها به عوامل متعددی از جمله نوع دارو، دوره مصرف و مقدار مصرف دارو وابسته است. همچنین وین [۳۷] نشان داد که مقادیر مصرفی بیشتر این هورمون‌ها، عوارض جدی‌تر و طولانی‌تری را ایجاد می‌کند. دلیل این آسیب‌ها به احتمال زیاد، اثر تجمعی آستروئیدها در بافت‌های مختلف بدن است. یافته‌های ما نشان می‌دهد با انجام تمرین‌های هوازی و استفاده از مقادیر کم آستروئید آنابولیک بولدنون آسیب‌های بافت مخچه به حداقل رسیده ولی با این حال آسیب‌های بافتی و آزارهای سلولی از جمله پرخونی عروقی، دژنراسیون، التهاب در بافت مخچه همچنان ایجاد می‌شود که این یافته‌ها با نتایج تعداد زیادی از تحقیقات مانند Schuelke, Steele و Willoughby که روی میزان بیان زن و افزایش رسپتورهای گلوکوکورتیکوئیدی متعاقب تمرینات ورزشی مطالعه کرده بودند، تشابه دارد [۳۸-۴۰].

### نتیجه‌گیری

نتایج پژوهش حاضر نشان داد ورزش‌های هوازی در این دوره (حداقل ۸ هفته) قادر به جلوگیری از آسیب‌های ناشی از مصرف آستروئید بولدنون یا حداقل کاهش میزان آسیب به بافت مخچه بوده و می‌تواند آسیب‌های بافت مخچه را به حداقل رساند. شایان ذکر است که میزان آسیب بولدنون وابسته به دوز بوده و در دوزهای بالا ( $5\text{mg/kg}$ ) حتی با انجام فعالیت‌های ورزشی هوازی، تغییراتی در لایه پورکنز، لایه گرانولار و ماده سفید ایجاد می‌شود هر چند که شدت آن بسیار کمتر از زمانی است که همراه با ورزش‌های هوازی نباشد. ممکن است بولدنون به‌عنوان ماده شیمیایی در سلول‌های عصبی عمل کرده؛ تمامیت سلولی را تحت تأثیر قرار دهد و باعث نقص در نفوذپذیری غشاء و حجم هموستاز سلول شود. مطالعات آتی برای تعیین مکانیسم‌های احتمالی تغییرات هیستوپاتولوژیک مخچه موش صحرائی لازم است. چنانچه در مطالعات بعدی از زمان‌های متفاوت فعالیت استقامتی و دوزهای مختلف دارو استفاده شود نتایج بیشتر حاصل می‌شود که تفسیر آن می‌تواند کمک شایانی به بررسی آثار واقعی‌تر داروی مذکور کند.

### References

[1]. Ahmed F, AIDomairy MD. Histological and ultrastructural study of the effect of nandrolone on the testis of adult male albino rat. *Journal of American Science*. 2013; 35(11):102-9.  
[2]. Foss GL. Some experiences with a new anabolic steroid (methandrostrenolone). *Br Med J*. 2012; 1(5182):1300-1305.

بافت‌شناسی شواهدی نظیر هیپرتروفی سلولی، تغییرات دژنراتیو و آتروفی، تغییرات شدید را نشان داده است که ممکن است علت ناباروری در این موش‌ها باشد [۲۷]. با توجه به نتایج مطالعه حاضر اختلال در سلول‌های پورکنز و سلول‌های لایه دانه‌دار مخچه می‌تواند با تغییرات عملکردی که برای سلامت موش صحرائی مضر است؛ مرتبط باشد که این یافته با نتایج Matsakas و Lundholm هم‌خوانی کامل دارد [۳۰-۳۱].

مطالعات گذشته که بر آثار داروهای استروئیدی آنابولیک روی بافت ژنتیتال و مغزی موش‌ها صورت گرفته؛ نشان از درجات مختلفی از کاهش تغییرات دژنراتیو، هیپرتروفی سلولی و واکنول‌های متعدد درون سلولی بوده که همه این موارد به کاهش کارایی تولیدمثل و فعالیت مغزی موش‌ها انجامیده است [۳۲-۳۳].

آثار تخریب عصبی القا شده توسط مواد استروئیدی با دوز بالا، معمولاً با الگوهای مختلف همانند مرگ نورون‌ها، گلیوزیس، آکسون‌های متورم یا از بین رفته یا تخریب غلاف میلین مشخص می‌شود [۳۴]. گزارش‌های انجام شده توسط Roselli نشان داد که دژنراسیون عصبی از دو طریق آپوپتوز و نکروز به مرگ سلولی منجر می‌شود. این دو نوع به لحاظ مرفولوژیک و بیوشیمیایی متفاوت هستند. مرگ سلول پاتولوژیک یا اتفاقی که به‌عنوان نکروز در نظر گرفته شده، می‌تواند نتیجه‌عاملی خارج سلولی مانند فشار اسمزی، آثار حرارتی، سمی و ضرباتی باشد [۳۴]. مرگ سلولی در پاسخ به سموم به‌عنوان رویدادی کنترل شده رخ می‌دهد؛ در نتیجه شامل برنامه‌ای ژنتیکی است که در آن آنزیم کاسپاز فعال می‌شود. روند نکروز سلولی شامل اختلال در تمامیت غشا، ساختار و عملکرد سلول است [۳۳-۳۴]. نکروز سلولی توسط (PCD یا محرک‌های درونی سلول) مرگ سلولی برنامه‌ریزی شده ناشی نمی‌شود؛ بلکه در اثر اختلال ناگهانی محیط و خروج سلول از شرایط عادی فیزیولوژیکی اتفاق می‌افتد. مرگ سلولی گسترده در سیستم عصبی مرکزی در تمام بیماری‌های عصبی وجود دارد. نوع از دست دادن سلول‌های عصبی و بخشی از مغز تحت تأثیر نشانه‌های القا شده در ارتباط با بیماری فردی است [۳۵]. تحقیقات ویتامور

[3]. Llewellynn W. Dianabol (methandrostrenolone, methandienone). In: Llewellynn W (ed) *Anabolics*, 9th edn. Jupiter, Florida, 2009; 9: 207-211.  
[4]. Huie MJ. An acute myocardial infarction occurring in an anabolic steroid user. *Med. Sci. Sports Exerc*. 2004; 26:408-13.  
[5]. Karbalay-Doust S, Noorafshan A, Ardekani FM, Mirkhani H. The reversibility of sperm quality after discontinuing



- nandrolone decanoate in adult male rats. *Asian J. Androl.* 2010; 9(2):235-9.
- [6]. Lewis MI, Horvitz GD, Clemmons DR, Fournier M. Role of IGF-I and IGFbinding proteins within diaphragm muscle in modulating the effects of nandrolone. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 2012; 282(2):483-90.
- [7]. Louis E, Raue U, Yang Y, Iemiolo B, Trappe S. Time course of proteolytic, cytokine, and myostatin gene expression after acute exercise in human skeletal muscle. *J Appl Physiol.* 2009; 103(5):1744-1751.
- [8]. Doaaz N, ChicoJuan I, Cabrera B, Octavio P. Luzardo. Evaluation of acute and chronic hepatotoxic effects exerted by anabolic - androgenic steroid stanozolol in adult male rats *Organ Toxic Ity and Mechansims.* 2011; 23(10): 472 -465.
- [9]. Noorafshan A, Karbalay-Doust S, Ardekani FM. High doses of nandrolone decanoate reduce volume of testis and length of seminiferous tubules in rats. *Acta Pathologica Microbiologica et Immunologica Scandinavica.* 2012; 113(2):122-5.
- [10]. Parr MK, Flenker U, Schänzer W. Sports-related issues and biochemistry of natural and synthetic anabolic substances. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 2012; 39(1):45-57.
- [11]. Forbes D, Jackman M, Bishop A, Thomas M, Kambadur R, Sharma M. Myostatin auto-regulates its expression by feedback loop through Smad7 dependent mechanism. *J Cell Physiol.* 2013; 206:264-272.
- [12]. Aoki MS, Soares AG, Miyabara EH, Baptista IL, Moriscot AS. Expression of genes related to myostatin signaling during rat skeletal muscle longitudinal growth. *Muscle Nerve.* 2010; 40(6):992-999.
- [13]. Boada LD, Zumbado M, Torres S, Lopez A, Diaz-Chico BN, Cabrera JJ, et al. Evaluation of acute and chronic hepatotoxic effects exerted by anabolic-androgenic steroid stanozolol in adult male rats. *Arch Toxicol* 2009; 73:465-472.
- [14]. Bogdanovich S, Krag TO, Barton ER, Morris LD, Whittemore LA, Ahima RS, et al. Functional improvement of dystrophic muscle by myostatin blockade. *Nature.* 2010; 420:418-421.
- [15]. Bogdanovich S, Perkins KI, Krag TO, Whittemore LA, Khurana TS. Myostatin propeptide-mediated amelioration of dystrophic pathophysiology. *FASEB J.* 2010; 19(6):543-549.
- [16]. Mohammed HH, Badawi ME, El-Tarabany MS, Rania M. Effects of boldenone undecylenate on growth performance, maintenance behavior, reproductive hormones and carcass traits of growing rabbits. *Pol J Vet Sci.* 2016; 19(2):245-51
- [17]. Chen Y, Lebrun JJ, Vale W. Regulation of transforming growth factor beta- and activin-induced transcription by mammalian Mad proteins. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2011; 93:12992-12997.
- [18]. Chomczynski P, Sacchi N. Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction. *Anal Biochem.* 2012; 162(1):156-159.
- [19]. De Souza R A, Gonçalves W, Cavalcante WLG, Pai-Silva MD, Gallacci M. Nandrolone stimulates MyoD expression during muscle regeneration in the condition of myonecrosis induced by *Bothrops jararacussu* venom poisoning. *J Toxicol Environ Health* 2011; 73:934-943.
- [20]. Desaulles PA, Kraehenbuehl C, Schuler W, Bein HJ. Experimental study of dianabol, a new anabolic agent. 17 alpha-Methyl-17 beta-hydroxy-androstane-1, 4-diene-3-one. *Schweiz Med Wochenschr.* 2010; 89:1313-1318.
- [21]. Diel P, Friedel A, Geyer H, Kamber M, Laudenbach-Leschowsky U, Schänzer W, et al. Characterisation of the pharmacological profile of desoxymethyltestosterone (Madol), a steroid misused for doping. *Toxicol Lett.* 2011; 169(1):64-71.
- [22]. Diel P, Schiffer T, Geisler S, Hertrampf T, Mosler S, Schulz S, et al. Analysis of the effects of androgens and training on myostatin propeptide and follistatin concentrations in blood and skeletal muscle using highly sensitive Immuno PCR. *Mol Cell Endocrinol.* 2011; 330(1-2):1-9.
- [23]. Eriksson A, Kadi F, Malm C, Thornell LE. Skeletal muscle morphology in power-lifters with and without anabolic steroids. *Histochem Cell Biol.* 2010; 124(2):167-175.
- [24]. Feraudi M, Weicker H. Effects of training and methandrostenolone (an anabolic steroid) on energy metabolism in the guinea pig: changes in enzyme activities in gastrocnemius muscle and myocardium. *Int J Biochem.* 2011; 17(11):1191-1205.
- [25]. Mosler S, Pankratz C, Seyfried A, Piechotta M, Diel P. The anabolic steroid methandienone targets the hypothalamic-pituitary-testicular axis and myostatin signaling in a rat training model. *Arch Toxicol.* 2012 Jan; 86(1):109-19.
- [26]. Cavalari FC, de Castro AL, Fracasso Bde M, Loss Eda S . Non-classic androgen actions in Sertoli cell membrane in whole seminiferous tubules: effects of nandrolone Decanoate and catechin. *Steroids.* 2012; 77(1-2):118-25.
- [27]. Friedel A, Geyer H, Kamber M, Laudenbach-Leschowsky U, Schänzer W, Thevis M, et al. Tetrahydrogestrinone is a potent but unselective binding steroid and affects glucocorticoid signalling in the liver. *Toxicol Lett.* 2010; 164(1):16-23.
- [28]. Sinha-Hikim I, Artaza J, Woodhouse L, Gonzalez-Cadavid N, Singh AB, Lee MI, et al. Testosterone-induced increase in muscle size in healthy young men is associated with muscle fiber hypertrophy. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2012; 283(1):E154-E164.
- [29]. Chaves EA, Pereira-Junior PP, Fortunato RS, Masuda MO, de Carvalho AC, de Carvalho DP, et al. Nandrolone decanoate impairs exercise-induced cardioprotection: Role of antioxidant enzymes. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2006; 99(4-5): 223-30.
- [30]. Lundholm L, Käll K, Wallin S, Thiblin I. Use of anabolic androgenic steroids in substance abusers arrested for cecebellum tisso: *Drug and Alcohol Dependence* 2010; 111, 222-226.
- [31]. Matsakas A, Friedel A, Hertrampf T, Diel P. Short-term endurance training results in a brain-specific decrease of myostatin mRNA content in the rat. *Acta Physiol Scand* 2011; 183:299-307.
- [32]. Wheeler GD, Singh M, Pierce WD, Epling WF, Cumming DC. Endurance training decreases serum testosterone levels in rat without change in luteinizing hormone pulsatile release. *J Clin Endocrinol Metab.* 2013; 72(2):422-425.
- [33]. Yesalis CE. Kennedy NJ. Kopstein AN, Bahrke MS. Anabolic - androgenic steroid use in the United States". *Journal of American veterinary medical association.* 2003; 270(8): 1217-1221.
- [34]. Roselli CE. The effect of anabolic-androgenic steroids on aromatase activity and androgen receptor binding in the rat preoptic area. *Brain Res.* 2013; 792(2):271-276.
- [35]. Takahashi M, Tatsugi Y, Kohno T. Endocrinological and pathological effects of anabolic-androgenic steroid in male rats. *Endocr J.* 2014; 51(4):425-434.
- [36]. Whittemore LA, Song K, Li X, Aghajanian J, Davies M, Girgenrath S, et al. Inhibition of myostatin in adult mice increases skeletal muscle mass and strength. *Biochem Biophys Res Commun.* 2014; 300:965-967.
- [37]. Wynn V, Landon J. A study of the androgenic and some related effects of methandienone. *Br Med J.* 2014; 1:998-1003.
- [38]. Schuelke M, Wagner KR, Stolz LE, Hübner C, Riebel T, Kömen W, et al. Myostatin mutation associated with gross muscle hypertrophy in a child. *N Engl J Med.* 2013; 350(26):2682-2688.
- [39]. Steele RE, Didato F, Steinetz BG. Relative importance of 5alpha reduction for the androgenic and LH-inhibiting activities of delta-4-3-ketosteroids. *Steroids.* 2011; 29(3):331-348.
- [40]. Willoughby DS. Effects of heavy resistance training on myostatin mRNA and protein expression. *Med Sci Sports Exerc.* 2014; 36(4):574-582.

## The Effects of Anabolic Steroids Boldenone with Eight Weeks Aerobic Exercise on Histopathological Changes in Cerebellum Male Wistar Rats

Behrooz Yahyaei<sup>1\*</sup>, Mahnaz Nouri<sup>2</sup>, Maedeh Ramezani<sup>2</sup>

1. Department of Basic Science, Faculty of Medical Sciences, Shahrood Branch, Islamic Azad University, Shahrood, Iran
2. Department of Obstetrics and Gynecology, Faculty of Medical Sciences, Shahrood Branch, Islamic Azad University, Shahrood, Iran

### Abstract

**Introduction** Today, the anabolic steroids widely used but side effects aren't wellknown. This research aimed to study the effects of anabolic steroids Bulednon with aerobic training on cerebellar tissue changes of male Wistar rat during 2016.

**Materials & Methods** This study was conducted on mice Wistar rat. 49 rats were divided into seven groups: control (n=7), sham (n=7), no practice at a dose of 2 mg/kg Boldenone (n=7), without practicing at a dose of 5mg/kg Boldenone (n=7), group exercise (n=7), a workout at a dose of 2 mg/kg dose Boldenone (n=7) and practice 5 mg/kg Boldenone (n=7). The mice were kept under identical conditions and with the same power and endurance activities according to their protocol and drug Boldenone, the intervention groups were injected. After eight weeks, the mice were anesthetized and sacrificed. The tissue samples from the cerebellum were prepared.

**Results** There was a significant difference between the groups treated with exercise and control group without exercise. In the group exercise amount and rate of change, the cerebellum tissue is significantly lower than the control group. And even there was a significant difference between the two groups with different dosages also under endurance exercise.

**Conclusion** The results showed that endurance and aerobic activity for eight weeks can be largely Boldenone effects of the drug on mice reduces brain tissue but with increasing doses Boldenone creation these changes are inevitable.

**Received:** 2017/06/26

**Accepted:** 2018/05/22

**Keywords:** aerobic exercise, Boldenone, cerebellum, histopathology.