

تاثیر ۸ هفته تمرین مقاومتی همراه با مصرف عصاره شیرین بیان و بولدنون بر سلول های اسپرmatوئید، سرتولی و لیدیک بافت بیضه رت های نر

مهناز شاهرخیان کرمانی^۱، عبدالعلی بنائی فر^۲، سجاد ارشدی^۳، بهرام عابدی^۴

۱-دانشجوی دکتری گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران جنوب، تهران، ایران.

۲-دانشیار، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران جنوب، تهران، ایران. Alibanaeifar@yahoo.com

۳-استادیار، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران جنوب، تهران، ایران.

۴-دانشیار، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد محلات، محلات، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۸/۷ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۱/۷

چکیده

زمینه و هدف: استروئیدهای آنابولیک- آندروژنیک محبوب بین ورزشکاران آثار مفید و مضر زیادی بر بدن دارند. لذا هدف از انجام تحقیق حاضر تبیین تاثیر ۸ هفته تمرین مقاومتی با شدت متوسط همراه با مصرف عصاره شیرین بیان و بولدنون بر سلول های اسپرmatوئید، سرتولی و لیدیک بافت بیضه رت های نر بود.

روش کار: برای انجام تحقیق آزمایشی حاضر ۴۰ سر رت صحرایی نر ۸ هفته ای با وزن ۲۰-۲۲۰ گرم انتخاب و به ۸ گروه ۵ تایی کنترل سالم، تمرین مقاومتی، بولدنون، شیرین بیان، بولدنون + شیرین بیان، بولدنون، تمرین مقاومتی، تمرین مقاومتی + شیرین بیان و تمرین مقاومتی + بولدنون + شیرین بیان تقسیم شدند. سپس گروه های تمرین مقاومتی ۸ هفته و هفته ای سه بار تمرینات با شدت متوسط را انجام دادند، گروه های بولدنون هفته ای یک بار ۵ (میلی گرم/کیلوگرم) بولدنون دریافت کردند و گروه های شیرین بیان هفته ای سه بار ۵۰۰ (میلی گرم/کیلوگرم) شیرین بیان دریافت کردند. ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین، رت ها با تزریق کتامین (۷۰ میلی گرم/کیلوگرم) و زایلارین (۱۰ میلی گرم/کیلوگرم) بیهوش شده و بعد از برش در قسمت جلویی دیواره شکم، بافت بیضه خارج و جهت انجام آزمایشات در یخچال ۸۰- سانتی گراد نگهداری شد. نهایتاً داده ها با استفاده از آزمون های آنوا سه راهه و تعقیبی توکی تجزیه و تحلیل شدند.

یافته ها: نتایج نشان داد بین میانگین های سلول های اسپرmatوئید، سرتولی و لیدیک بافت بیضه رت های نر در گروه های مختلف اختلاف معنی داری وجود دارد.

نتیجه گیری: با توجه به نتایج تحقیق حاضر و تاثیر تمرین و شیرین بیان توصیه می شود ورزشکاران از این تمرینات و شیرین بیان با مشورت پزشک استفاده کنند.

واژه های کلیدی: بولدنون، عصاره شیرین بیان، تمرین مقاومتی، سلول های اسپرmatوئید، سرتولی، لیدیک.

مقدمه

دهند که در کوتاه مدت، تجویز استروئیدهای آنابولیک-آندروژنیک توسط ورزشکاران می تواند قدرت و وزن بدن را افزایش دهد. با این حال، از آن جا که استروئیدهای آندروژنیک- آنابولیک از تستوسترون مشتق می شوند، اثرات مهمی بر روی هورمون های جنسی و دستگاه تناسلی اعمال می کنند. این استروئیدها، محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-گناد که به

استروئیدهای آندروژنیک-آنابولیک ترکیباتی مشتق شده از تستوسترون، هورمون اصلی مردانه می باشند. این ترکیبات، داروهای نسخه ای با مصارف پزشکی محدود هستند که گاهی اوقات به طور غیر قانونی برای افزایش توده عضلانی و بهبود عملکرد ورزشی مصرف می شوند که سبب عوارض جانبی جدی و اعتیاد می گردند (۲۳، ۱۲). تحقیقات نشان می

عنوان یک سیستم بازخوردی عمل می کند را سرکوب می کنند. در نتیجه، استفاده برون زاد از استروئیدهای آنابولیک-آندروژنیک، تولید درون زای تستوسترون و گنادوتروپین را مختل می نماید. در مردان، سرکوب تولید هورمون گنادوتروپین باعث آتروفی بیضه می شود (۱۳). بولدنون، استروئید آندروژنیک-آنابولیکی است که دارای خواص آنابولیکی بالا و آندروژنیک متوسط می باشد. اخیراً مشاهده شده است بولدنون توسط ورزشکاران پرورش اندام در خارج از فصل و قبل از مسابقات مورد استفاده قرار می گیرد. توسون و همکاران (۲۰۱۱) نشان داده اند ۹ هفته مصرف بولدنون سبب تخریب کبد، کلیه و بیضه در خرگوش ها می شود (۲۲). اگر چه بولدنون دارای اثرات مثبتی از جمله افزایش توده عضلانی اسکلتی (هیپرتروفی)، افزایش عملکرد بدنی، افزایش قدرت عضله و افزایش تولید گلبول های قرمز خون در بیماران دچار آنمی می گردد (۲۲، ۲۵)، دارای اثرات مضر جانبی نیز می باشد که شامل آتروفی بیضه، آکنه شدید، تقویت صدا، ژنیکوماستی، رشد سینه و طاسی در مردان می باشد (۲۲). در همین راستا، در مطالعات انجام شده کاهش معنی دار در وزن بیضه ها (۲۲)، کاهش معنی دار در سطح تستوسترون سرم، وجود ضایعات شدید در بیضه (۱۹، ۲۵) را در اثر استفاده از بولدنون نشان داده است. پژوهشگران بدنبال مداخلاتی هستند که بتواند از آثار سوء استروئیدهای آنابولیک-آندروژنیک پیشگیری کنند. در همین راستا، استفاده از گیاهان دارویی جهت حفاظت از سلول های برخی اندام ها در مقابل التهاب و سمیت مورد توجه قرار گرفته است (۱۹، ۲). در این میان، گیاه شیرین بیان با نام علمی *Glycyrrhiza glabra* L گیاهی از خانواده بقولات است که به واسطه دارا بودن ترکیبات دارویی و غذایی مهم در ریشه و ریزوم آن در دنیا حائز اهمیت بوده و مورد توجه صنایع

دارویی، غذایی و حتی دخانیات قرار گرفته است (۵). ریشه شیرین بیان دارای ترکیبات متعددی نظیر قندهای مختلف (تا ۱۸ درصد)، فلاونوئیدها، استرول ها، اسیدهای آمینه، صمغ و نشاسته، اسانس های روغنی و ساپونین ها می باشد. عمده ترین ساپونین (تری ترین ۵ حلقه ای) آن اسید گلیسرینیک یا گلیسرین می باشد که از واحد اسید گلوکورونیک و یک مولکول اسید گلیسرینیک (آگلیکون) تشکیل شده است (۱۶). نمک گلیسرینیک می تواند به صورت پتاسیم یا کلسیم باشد (۱). این ماده به عنوان مهم ترین ماده مؤثره موجود در ریشه شیرین بیان حدود ۵۰ مرتبه از شکر شیرین تر است (۲۴). از شیرین بیان در طب سنتی آسیا و اروپا برای درمان بیماری های گوارشی، عفونت های تنفسی و زخم های معدوی استفاده می شود (۱۴، ۱۱). در طب سنتی چین نیز در درمان هپاتیت و بیماری های قلبی کاربرد دارد. در طب سنتی ایران، گیاه شیرین بیان به عنوان درمان ورم معده و ضدسرفه کارایی داشته است (۶). هم چنین گیاه شیرین بیان به عنوان داروی مسکن در التهاب های پوستی و برای درمان اسپاسم، تورم و رماتیسم کاربرد دارد. خواص ضدسرطانی، وجود ترکیبات کاهش دهنده چربی و فلاونوئیدها با فعالیت آنتی اکسیدان قوی نیز برای این گیاه گزارش شده است (۳، ۲۱). مکانیسم های مختلفی برای چگونگی تاثیر تمرین برای کاهش میزان تاثیر گذاری بولدنون گزارش شده است. در مطالعه ای که توسط صادقی و همکاران بر روی ۳۰ سررت ویستار ۶ هفته ای انجام شد، مشخص شده که ۱۲ هفته تمرین مقاومتی به همراه مصرف مکمل بولدنون سبب افزایش بیان ژن های ۵-آلفا ردوکتاز و آروماتاز در بافت بیضه می شود (۲۰). آنزیم ۵-آلفا ردوکتاز با تبدیل استروئیدهای آنابولیک-آندروژنیک به دی هیدروتستوسترون نقش مهمی در اندام های هدف مانند غده پروستات مردان ایفا می کند.

مواد و روش ها

تحقیق حاضر از نوع کاربردی و نیمه آزمایشی است. برای انجام این تحقیق که پروتکل آن با کد اخلاق IR.IAU.K.REC.1398.091 به تصویب رسیده است. ۴۰ سررت صحرایی نر نژاد ویستار با سن ۸ هفته و وزن ۲۰۰-۲۲۰ گرم از انستیتو پاستور ایران خریداری و به محل نگهداری حیوانات آزمایشگاهی شرکت دانش بنیان بافت و ژن پاسارگاد منتقل و به مدت یک هفته در محیط آزمایشگاهی و تحت شرایط مناسب (۱۲:۱۲ ساعت تاریکی و روشنایی) نگهداری شدند. رت ها پس از آشناسازی با محیط جدید به طور تصادفی به ۸ گروه ۵ تایی کنترل سالم (بدون هیچگونه مداخله ای)، تمرین مقاومتی (۸ هفته تمرین مقاومتی با شدت متوسط)، بولدنون (دریافت بولدنون با دوز ۵ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن هفته ای یک مرتبه بر اساس وزن کشتی هفتگی و به صورت تزریق عضلانی)، شیرین بیان (مصرف عصاره شیرین بیان در دوز ۵۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن سه بار در هفته و به صورت خوراکی)، بولدنون + شیرین بیان (دریافت بولدنون با دوز ۵ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن هفته ای یک مرتبه به صورت تزریق عضلانی و عصاره شیرین بیان با دوز ۵۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن سه بار در هفته) (۲)، بولدنون، تمرین مقاومتی (تیمار به مدت ۸ هفته و هفته ای یک بار با بولدنون، انجام تمرین ورزشی با شدت متوسط به مدت ۸ هفته و هفته ای ۳ مرتبه)، تمرین مقاومتی + شیرین بیان (تجویز عصاره شیرین بیان با دوز ۵۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن رت سه بار در هفته، انجام تمرین ورزشی با شدت متوسط به مدت ۸ هفته و هفته ای ۳ مرتبه) و تمرین مقاومتی + بولدنون + شیرین بیان (تجویز بولدنون با دوز ۵ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن یک بار دی هفته و عصاره شیرین بیان با دوز ۵۰۰ میلی گرم

این آنزیم در بسیاری از بافت ها از جمله دستگاه تناسلی شامل بیضه و تخمدان در هر دو جنس نر و ماده تولید می شود و یکی از سوسترهای ویژه آن تستوسترون است (۱۰). یکی دیگر از روش هایی که همیشه جهت کاهش آثار منفی داروهای و مکمل ها مورد توجه محققین بوده استفاده از تمرینات ورزشی است. به طوری که تاکنون مطالعاتی در ارتباط با بررسی ارتباط انجام تمرین های ورزشی و کاهش اثرات سوء مصرف استروئیدهای آنابولیک-آندرژنیک از جمله بولدنون صورت گرفته است و تاثیرات مثبت فعالیت های ورزشی بر روند اسپرم زایی نشان داده شده است (۱۸). اما این که چه تمرینی؟ با چه شدتی؟ و با چه مدتی بیشترین تاثیر را دارد سوالی است که ذهن محققین را به خود جلب کرده است. به طور کلی با توجه به عوارض جانبی استروئیدها و عدم نظارت بر مصرف آن ها در ایران و هم چنین تجویز آن ها توسط افراد بدون صلاحیت به ورزشکاران و جوانان در سطح وسیع، استفاده از مداخلاتی طبیعی و بدون عوارض مانند مصرف گیاهان دارویی جهت کاهش عوارض این دسته از استروئیدها مانند بولدنون اهمیت دارد. برخی از عوارض جانبی مصرف استروئیدهای آنابولیک-آندرژنیک را می توان با ورزش یا با مصرف داروهای مکمل کاهش داد (۹، ۱۵). با این حال اطلاعات اندکی در ارتباط با نحوه اثر تمرینات ورزشی بر پاسخ ساختار بافت بیضه هنگام مصرف استروئید بولدنون وجود دارد. از طرف دیگر، با توجه به استفاده از گیاه شیرین بیان در طب سنتی ایرانی و اثرات ضد التهابی و ضد اکسایشی گیاه شیرین بیان می توان به عنوان مکمل در بررسی برگشت اثرات تخریبی مصرف بولدنون بر بافت بیضه پرداخت. در همین راستا، با توجه به خواص و از آن جا که استفاده از این گیاه در ایران نیز مرسوم است، انجام این پژوهش اهمیت و ضرورت می یابد.

بر کیلوگرم ۳ بار در هفته و انجام تمرین مقاومتی با شدت متوسط (۳ بار در هفته، به مدت ۸ هفته) تقسیم شدند. هم چنین برنامه تمرین مقاومتی به این صورت بود که ابتدا یک هفته تمرین جهت آشناسازی حیوانات با وسایل و نردبان و آموختن بالا رفتن از پله های نردبان در نظر گرفته شد. برنامه تمرین مقاومتی اصلی شامل هشت هفته صعود از نردبان (یک متر ارتفاع و شیب ۸۵ درجه) به صورت سه جلسه تمرین در هفته، پس از بستن وزنه به دم حیوانات بود. هر جلسه سه ست با پنج تکرار انجام شد. در فاصله هر تکرار یک دقیقه و در فاصله بین هر ست دو دقیقه استراحت گنجانده شد. در هفته اول میزان وزنه های بسته شده به رت ها صحرایی نر ۵۰ درصد وزن بدن آن ها بود و به صورت هفتگی تنظیم شد. رت های گروه کنترل نیز در طول دوره ۸ هفته ای هیچ گونه فعالیتی انجام ندادند. از شروع هفته دوم هر هفته وزنه هایی به میزان ۳۰٪ وزن اولیه رت های صحرایی نر به دم آن ها بسته شد که این مقدار در پایان هفته آخر به ۲۰٪ وزن آن ها رسید. این برنامه تمرینی الگویی از تمرین مقاومتی است (۱۷). لازم به ذکر است که به منظور کنترل وزن، وزن کشی رت ها در ابتدا، وسط و انتهای تمرینات، با استفاده از ترازوی دیجیتالی (مدل: Metler ساخت کشور: آلمان) با دقت ۴ صفر انجام شد. هم چنین روش عصاره گیری شیرین بیان در محل آزمایشگاه شرکت دانش بنیان بافت و ژن پاسارگاد بدین صورت بود که: ابتدا ۵۰۰ گرم عصاره گیاه شیرین بیان به منظور حذف آفت کش ها، مواد سمی، ضایعات و غیره شستشو داده شده و پس از شستشو با آب مقطر در دمای ۴۰ درجه سانتی گراد به مدت یک هفته خشک شد. نهایتاً به منظور تبدیل اجزاء گیاه به ذرات کوچک تر به منظور افزایش مساحت سطح تماس ذره با حلال و بازدهی استخراج، از گیاه پودر تهیه و عصاره به روش میکسینگ بدین صورت

تهیه شد. که ابتدا مقدار ۵۰۰ گرم از پودر گیاهی داخل بشر ریخته شده و مقدار ۵۰۰ سی سی حلال (۷۰ درصد الکل/۳۰ درصد آب) به پودر افزوده در دمای ۴۰ درجه سانتی گراد قرار گرفت. بعد از گذشت ۴۸ ساعت با استفاده از پمپ خلا و قیف بوخنر، محلول نهایی صاف و به بالن ۲۵۰ سی سی منتقل و به وسیله بخار چرخشی در دمای ۵۰ درجه سانتی گراد با استفاده از سیستم تقطیر محلول نهایی تغلیظ گردید. عصاره در ۵۰۰ میلی گرم در میلی لیتر آب مقطر حل شده و به صورت خوراکی در دوز ۵۰۰ میلی گرم در کیلوگرم از وزن رت ۶ها مصرف شد (۱۰). نهایتاً ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین، رت های صحرایی نر با تزریق کتامین (۷۰ میلی گرم/کیلوگرم) و زایلارین (۱۰ میلی گرم/کیلوگرم) بیهوش و بافت بیضه خارج شد. وزن بافت بیضه اندازه گیری و سپس بخشی از بافت های برداشت شده برای آزمایشات سلولی و مولکولی بلافاصله در نیتروژن مایع منجمد شده و جهت انجام آزمایشات سلولی ملکولی در یخچال ۸۰- نگهداری گردید. بخش دیگری از بافت بیضه برای بررسی های تصویربرداری و مطالعات هیستوپاتولوژی داخل فرمالین قرار گرفت. بعد از گذشت ۲۴ ساعت از مرحله تثبیت اولیه، برش ۵ میکرومتری از ناحیه بافت قلبی تهیه و با روش H&E رنگ آمیزی (۱۱، ۵) و با میکروسکوپ نوری (ZEISS®) مورد بررسی قرار گرفتند. جمعیت سلول های مختلف زایا، قطر داخلی لوله سمی نفروس، جمعیت سلول های سرتولی و جمعیت سلول های لایدیک در عکس های میکروسکوپی با استفاده از نرم افزار Image J (Image J Software, NIH) ثبت شد. در انتها از آمار توصیفی (میانگین و انحراف معیار)، آزمون های شاپیروویلک، تی مستقل، آنوا سه راهه و تعقیبی توکی با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۲۲ و سطح معنی داری $p < 0.05$ برای تجزیه و تحلیل داده ها

بیان ($p < 0.01$) افزایش معنی داری یافتند. بر اساس نتایج بین میانگین های سلول های لیدیک در بافت بیضه در گروه های مختلف تفاوت معنی داری وجود دارد ($p = 0.001$ و $F = 23/48$). نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد سلول های لیدیک نسبت به گروه کنترل، در گروه بولدنون کاهش معنی دار ($p < 0.001$) و در گروه تمرین + شیرین بیان افزایش معنی دار ($p < 0.01$) یافت. هم چنین میانگین سلول های لیدیک در گروه های بولدنون ($p < 0.001$) و بولدنون+شیرین بیان ($p < 0.01$) کاهش نسبت به گروه تمرین ورزشی کاهش معنی داری یافت. نهایتاً نسبت به گروه بولدنون نیز میانگین سلول های لیدیک در گروه های شیرین بیان، بولدنون+تمرین، تمرین+شیرین بیان و گروه ترکیبی افزایش معنی داری یافت ($p < 0.001$). همان طور که در شکل های ۴-۱ مشاهده می شود، ساختار بافت بیضه در گروه کنترل به صورت طبیعی و سالم است. یکنواختی و نظم در کل بافت قابل مشاهده است. انواع سلول های روند اسپرماتوژنز شامل اسپرماتوسیت، سلول های لیدیک، اسپرماتید، سلول های سرتولی و اسپرماتوگونیا وجود دارند. سلول ها با فلش و نام گذاری مشخص شده اند. هم چنین مشخص شد به میزان کمی از یکنواختی بافت بیضه در گروه تمرین مقاومتی کاسته شده است. در نمونه های مربوط به گروه تیمار شده با بولدنون، تصاویر میکروسکوپی نشان دهنده آن است که یکنواختی بافت بیضه به صورت چشمگیری کاهش یافته و تغییرات مختلف همراه با افزایش بی نظمی مشاهده می شود. در نمونه های مربوط به گروه تیمار شده با شیرین بیان، تصاویر میکروسکوپی نشان دهنده آن است که یکنواختی بافت بیضه بهبود یافته است (نسبت به گروه بولدنون). در فضای داخلی لوله های سمنیفر انواع سلول های روند اسپرماتوژنز شامل اسپرماتوسیت، اسپرماتید و اسپرماتوگونیا وجود دارند. در نمونه های مربوط به گروه

شد. لازم به ذکر است که پروتکل تحقیق با کد اخلاق IR.IAU.K.REC.1398.091 به تصویب رسیده است.

نتایج

تغییرات وزنی و سن رت ها در گروه های مختلف پژوهش در جدول ۱ نشان داده شده است. نتایج نشان داد بین میانگین های سلول های اسپرماتوژنیک (اسپرماتوگونی) در بافت بیضه در گروه های مختلف پژوهش اختلاف معنی داری وجود دارد ($p = 0.001$ و $F = 57/76$). هم چنین نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد میانگین های سلول های اسپرماتوژنیک گروه های تمرین ($p < 0.01$)، بولدنون ($p < 0.001$)، بولدنون+تمرین ($p < 0.05$) کاهش و گروه تمرین+شیرین بیان ($p < 0.001$) نسبت به کنترل سالم افزایش معنی داری یافت. نسبت به گروه تمرین نیز گروه های بولدنون کاهش معنی دار ($p < 0.001$) و گروه های شیرین بیان، بولدنون+شیرین بیان و تمرین+شیرین بیان افزایش معنی داری یافتند ($p < 0.001$). هم چنین نسبت به گروه بولدنون تنها نیز تمام گروه های شیرین بیان ($p < 0.001$)، شیرین بیان + بولدنون ($p < 0.001$)، تمرین + بولدنون ($p < 0.05$)، تمرین + شیرین بیان ($p < 0.001$) و گروه ترکیبی ($p < 0.01$) افزایش معنی داری یافتند. در رابطه با سلول های سرتولی نتایج نشان داد بین میانگین سلول های سرتولی در بافت بیضه گروه های مختلف تفاوت معناداری وجود دارد ($p = 0.029$) و هم چنین نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد در مقایسه با گروه کنترل سالم تنها گروه تمرین+شیرین بیان افزایش معنی داری یافت ($p < 0.05$). تغییرات گروه تمرین ورزشی نسبت به سایر گروه های تحقیق در متغیر سلول های سرتولی معنی دار نبود ($p > 0.05$). در بررسی گروه بولدنون با سایر گروه ها مشاهده شد که سلول های سرتولی تنها در گروه های شیرین بیان ($p < 0.05$) و گروه تمرین+شیرین

تیمار شده با شیرین بیان و بولدنون، یکنواختی بافت بیضه کاهش یافته است و تغییرات مختلف همراه با افزایش بی نظمی مشاهده می شود (نسبت به گروه های کنترل سالم و شیرین بیان تنها). در فضای داخلی لوله های سمینفر انواع سلول های روند اسپرماتوژنز شامل اسپرماتوسیت، اسپرماتید، و اسپرماتوگونیا وجود دارند و نسبت به کنترل تغییر نشان می دهد. هم چنین قطر داخلی لوله های سمینفر کاهش یافته است. در نمونه های مربوط به گروه تیمار شده با شیرین بیان و تمرین مقاومتی، تا حدود کمی یکنواختی بافت بیضه کاهش و بی نظمی افزایش یافته است. قطر داخلی و خارجی لوله های سمینفر کاهش یافته است. در فضای داخلی لوله های سمینفر انواع سلول های روند اسپرماتوژنز شامل اسپرماتوسیت، اسپرماتید و اسپرماتوگونیا وجود دارند و شمار آن ها نسبت به کنترل تغییر نشان می دهد. در نمونه های مربوط

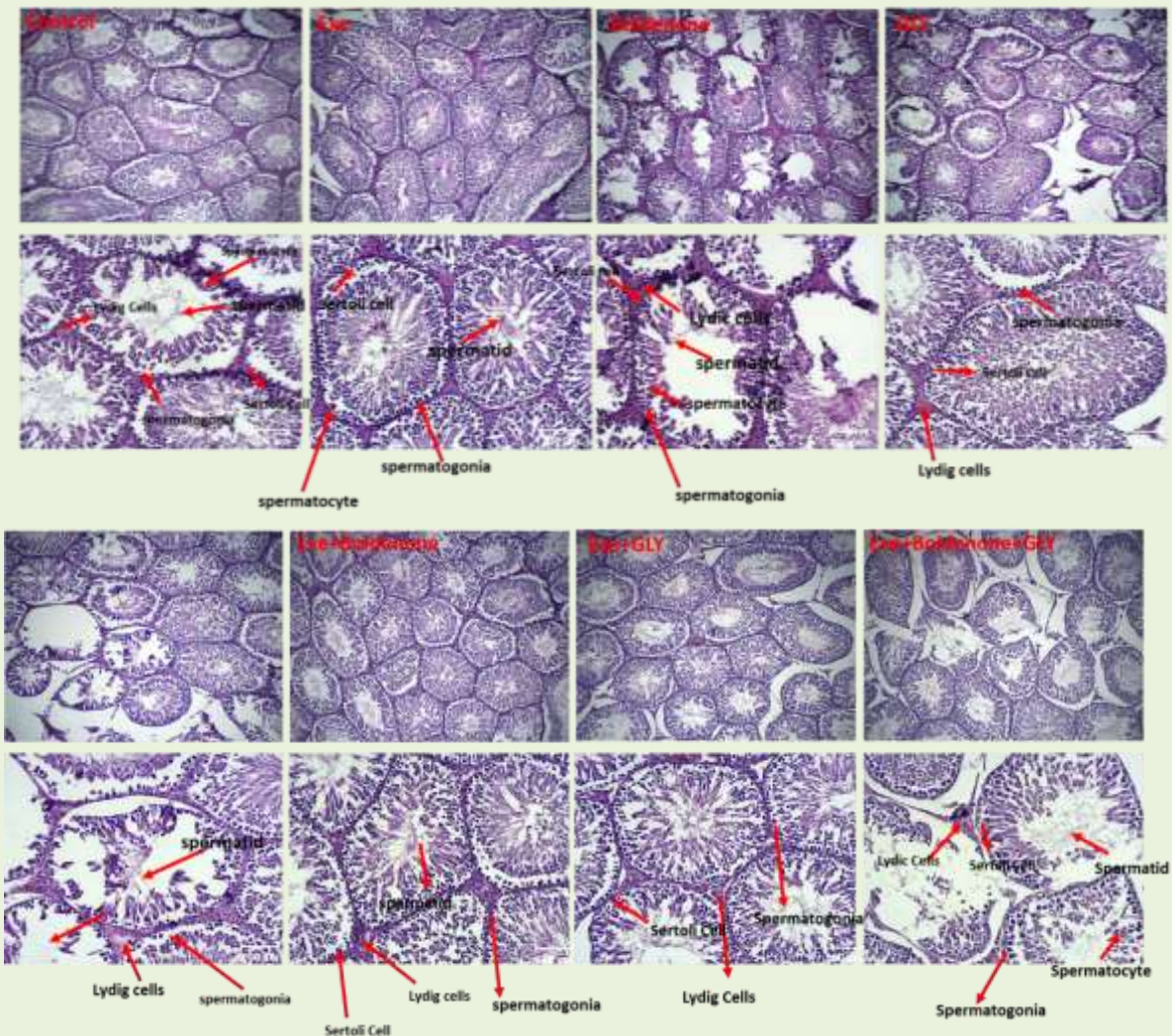
به گروه تیمار شده با بولدنون و تمرین مقاومتی، تا حدود کمی یکنواختی بافت بیضه کاهش و بی نظمی افزایش یافته است. قطر داخلی و خارجی لوله های سمینفر کاهش یافته است. در فضای داخلی لوله های سمینفر انواع سلول های روند اسپرماتوژنز شامل اسپرماتوسیت، اسپرماتید، و اسپرماتوگونیا وجود دارند و شمار آن ها نسبت به کنترل تغییر نشان می دهد. در نمونه های مربوط به گروه تیمار شده با شیرین بیان + بولدنون و تمرین مقاومتی، تا حدود کمی یکنواختی بافت بیضه کاهش و بی نظمی افزایش یافته است. قطر داخلی و خارجی لوله های سمینفر کاهش یافته است (نسبت به گروه کنترل سالم). در فضای داخلی لوله های سمینفر انواع سلول های روند اسپرماتوژنز شامل اسپرماتوسیت، اسپرماتید، و اسپرماتوگونیا وجود دارند و شمار آن ها نسبت به کنترل تغییر نشان می دهد.

جدول ۱- تغییرات وزن حیوانات در گروه های مختلف

سن (هفته)	وزن (گرم)	نام گروه
۸	۲۳۴ ± ۱۳	کنترل
۸	۲۴۱ ± ۱۷	تمرین ورزشی
۸	۲۲۷ ± ۲۱	بولدنون
۸	۲۳۸ ± ۱۵	شیرین بیان
۸	۲۳۰ ± ۱۵	بولدنون+شیرین بیان
۸	۲۴۲ ± ۱۹	تمرین+بولدنون
۸	۲۳۶ ± ۱۷	تمرین+شیرین بیان
۸	۲۲۹ ± ۲۷	تمرین+بولدنون+شیرین بیان

جدول ۲- نتایج آزمون آنوا برای متغیرهای تحقیق در گروه های مختلف پژوهش

Sig.	F	میانگین مربعات	درجه آزادی	مجموع مربعات	تغییرات	
.۰۰۰۰۱	۵۷.۷۶	۳۵۸.۶	۷	۲۵۱۰	بین گروهی	اسپرما توگونی
		۶.۲۰۸	۱۶	۹۹.۳۳	درون گروهی	
			۲۳	۲۶۰.۹	کل	
.۰۰۰۲۹	۵.۲۴۹	۱۳۹.۳	۷	۹۷۵.۳	بین گروهی	سرتولی
		۲۶.۵۴	۱۶	۴۲۴.۷	درون گروهی	
			۲۳	۱۴۰.۰	کل	
.۰۰۰۰۱	۵۱.۷۱	۱۵۴۹	۷	۱۰۸۴۵	بین گروهی	اسپرما تید
		۲۹.۹۶	۱۶	۴۷۹.۳	درون گروهی	
			۲۳	۱۱۳۲۴	کل	



شکل ۱- تغییرات بافتی در گروه های مختلف پژوهش

(H&E)، بزرگنمایی ۱۰۰ μm . تغییرات در مجاری و لوله ها با فلش قرمز نشان داده شده است. Control: کنترل، Exe: تمرین ورزشی، Boldenone:

بولدنون، GLY: شیرین بیان.

بحث و نتیجه گیری

هدف این پژوهش بررسی روند کاهش میزانی آسیب وارده به بافت بیضه بر اثر مصرف بولدنون در موش های صحرایی نر با استفاده از تمرین ورزشی و مصرف عصاره ی شیرین بیان بود. بولدنون، استروئید آنابولیک آندروژنیک است که سبب افزایش وزن بافت بیضه می شود. ادا و همکاران (۲۰۱۲) در تحقیقی نشان دادند که تجویز بولدنون در دو دوز ۴/۵ میلی گرم و ۹ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن موش های صحرایی نر طی سه بار در فاصله زمانی ۳ هفته منجر به افزایش معنی دار در وزن بدن می شود (۱۷). اما مطالعه توسون (۲۰۱۶) به بررسی تاثیر مخرب مصرف بولدنون بر تغییرات بافت بیضه خرگوش های نر پرداخت. نتایج این مطالعه حاکی از این مورد بوده است که مصرف بولدنون در دوزهای بالا سبب کاهش وزن بافت بیضه و تخریب چرخه ی اسپرم زایی می شود (۲۲). نتایج بافت شناسی مطالعه حاضر نشان داد که با مسمومیت بولدنون عمده تغییرات ایجاد شده در بافت بیضه به صورت بی نظمی در غشای پایه دیواره لوله های اسپرم ساز و اختلال در اتصالات بین سلولی در برخی سلول های سرتولی می باشد. از میزان سلول های لیدیک کاسته شده بود. هم راستا با مطالعه این پژوهش، در مطالعه زادان و همکاران (۲۰۱۶) که برای بررسی تغییر ایجاد شده توسط استروئید بولدنون بر بافت بیضه ۶۰ موش صحرایی طراحی شده بود، یافته های بافت شناسی تفاوت بسیار زیادی بین گروه کنترل و سایر تیمارها از نظر قطر لوله های سمینفر، تخریب شدید سلول های سمی نیفر (اسپرم ساز)، بی نظمی در سطوح مختلف غشا پایه، آپوپتوز نامنظم سلول های زاینده داخلی، کاهش سلول های لیدیک و ادم بافت بینابینی را نشان دادند (۲۶). بررسی بافت شناسی بیضه در موش های صحرایی نری تحت تیمارهای مختلف نشان داد که در

موش های تیمار شده با داروی انابولیک بولدنون با درجات مختلفی از تغییرات لایه های مختلف بافت بیضه در گروه های آزمایش در مقایسه با گروه کنترل همراه است و این در حالی است که استفاده از تمرین مقاومتی و مصرف عصاره ی شیرین بیان همراه استروئید بولدنون تا حدود زیادی مانع ایجاد و بروز این تغییرات می شود. آثار تعاملی تمرین مقاومتی، بولدنون و عصاره شیرین بیان بر شمار سلول های لیدیک بافت بیضه نشان داد که در گروه تیمار ترکیبی ورزش + بولدنون + شیرین بیان تعداد این سلول ها نسبت به گروه کنترل تغییر معنی داری ندارند در حالی که در گروه تمرین مقاومتی بولدنون شمار این سلول ها نسبت به کنترل افزایش معنی دار یافته است. مصرف بولدنون سبب ایجاد استرس اکسیداتیو در سلول های بافت بیضه، می گردند که در نهایت موجب آتروفی بافت بیضه می شود. استرس اکسیداتیو با تعداد اسپرم، عملکرد و تحرک آن ارتباط منفی دارد و بر عواقب همجوشی مورد نیاز برای لقاح موفق تأثیر منفی می گذارد. در مقابل، گابینی و همکاران با بررسی شاخص اکسایشی مالون دی آلدئید و شاخص آسیب سلولی کراتین کیناز نشان دادند که دو ماه تمرین هوازی تأثیری بر شاخص های ذکر شده ندارد (۸). از دلایل عمده تناقضات مشاهده شده مطالعات، شدت و مدت تمرینات ورزشی و سازگاری های آنتی اکسیدانی مرتبط با افزایش حداکثر اکسیژن مصرفی (VO₂max) در نتیجه تمرینات ورزشی می باشد (۷). دلیل این موضوع می تواند در ارتباط با این باشد که، در تمرینات مقاومتی شدید، فرآیند ایسکمی خون رسانی مجدد و بارهای مکانیکی وارد شده بر بافت های نرم درگیر، در ایجاد پراکسیداسیون لیپیدی و تولید بنیان های آزاد نقش موثر دارند. در طی ورزش، انحراف خون به سمت پوست و عضلات فعال باعث

پروتئین های آپوپتوزی نظیر کاسپاز ۳ و گلیکوزن سنتتاز کیناز در این سلول ها سبب اختلال آنزیمی و در نتیجه باعث کاهش در غلظت هورمون تستوسترون می شود (۲۲). اما در گروه های درمانی روند این دو پروتئین کاهش داشته است و سبب افزایش غلظت هورمون تستوسترون توسط عصاره شیرین بیان و تمرین ورزشی داشته است. گزارش شده است که تستوسترون دارای اثرات آنابولیک مستقیمی بر ساخت پروتئین در تمام اندام ها و بافت های بدن می باشد، که این امر موجب افزایش توده ماهیچه و استخوان در جنس نر می شود بنابر این افزایش ترشح هورمون تستوسترون با افزایش دوز عصاره بدیهی به نظر می رسد. بر اساس نتایج این مطالعه آثار تعاملی تمرین مقاومتی، بولدنون و عصاره شیرین و هم چنین استفاده توام شیرین بیان با بولدنون می تواند آثار منفی مصرف بولدنون در بافت بیضه می شود را کاهش دهد بنابراین استفاده از تمرین مقاومتی و شیرین بیان جهت کاهش آثار منفی بولدنون با مشورت پزشک به ورزشکاران توصیه می شود.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله محقق و همکاران از تمام کسانی که در به ثمر رسیدن این مقاله همکاری نموده اند تشکر و قدردانی می کنند.

منابع

1. Abtahi froushani, S., Esmaeili Gouvarchin Ghaleh, H., Rezapour, R., Mansori Motlagh, B., Rostaie, A. (2014). Immunomodulatory effects by hydroalcoholic liquorice root extracts. *Journal of Advances in Medical and Biomedical Research*, 22(95); 112-21.
2. Ahmadi, M., Abbassi-Dalooi, A., Ziaolhagh, S.J., Yahyaie, B. (2018). Structural changes of cardiac tissue in response to boldenone supplementation with or without alcoholic extract of jujuba fruit during resistance training in male Wistar rats. *Feyz Journal of Kashan University of Medical Sciences*, 21(6); 534-542.

هیپوکسی زود گذر بافتی و عدم هماهنگی اکسیژن مصرفی و اکسیژن مورد نیاز در بافتهای فعال حین شدت های بالای تمرینی می شود. به دنبال اکسیژن رسانی مجدد این بافت ها و قطع یا کاهش شدت فعالیت، افزایش می یابد. از این رو، زمینه آسیب به ساخت های سلولی در پی افزایش پراکسیداسیون لیپیدی و کاهش عملکرد سلولی، فراهم می شود. در مطالعه بیهاری و همکاران (۲۰۲۰) بررسی پاتولوژیکی بافت بیضه در این مطالعه نشان از کاهش قابل توجه تعداد سلول های سرتولی و سلول های لیدیگ در اثر مصرف بولدنون داشته است یافته دیگر محققین فوق افزایش معنادار تعداد اسپرم های غیر طبیعی و کاهش تستوسترون سرمی و هم چنین افزایش شاخص های استرس اکسیداتیو نظیر مالون دی آلدئید در بافت بیضه نشان داد. به نحوی که در تیمار با تمرین ورزشی و عصاره شیرین بیان پیوستگی لایه های سلولی اسپرماتوژنز در مقایسه با سایر تیمارها نشان دهنده تأثیر بهبود دهنده عصاره شیرین بیان و تمرین ورزشی بوده است (۴). با توجه به اهمیت سلول های سرتولی در تقسیم و تمایز سلول ها، افزایش تعداد آن ها سبب برگشت روند طبیعی تکامل سلول های جنسی نر می گردد. حال با توجه به این که سلول های لیدیگ بیشترین منبع ترشح هورمون تستوسترون در بافت بیضه می باشند، فعالیت

3. Al-Snafi, AE. (2018). *Glycyrrhiza glabra*: A phytochemical and pharmacological review. *IOSR Journal of Pharmacy*, 8(6); 1-17.
4. Behairy, A., El-Sharkawy, NI., Saber, TM., Soliman, MM., Metwally, MM., El-Rahman, A. (2020). The modulatory role of vitamin c in boldenone undecylenate induced testicular oxidative damage and androgen receptor dysregulation in adult male rats. *Antioxidants*, 9(11); 1053.
5. Ebrahimi, S., Sadeghi, H., Pourmahmoudi, A., Tabeshfar, Z. (2015). Protective effect of *Zizphus vulgaris* extract, on liver toxicity in laboratory rats. *Biomedical and Pharmacology Journal*, 8(2); 779-84.

6. Eng, AT., Heng, MY., Ong, ES. (2007). Evaluation of surfactant assisted pressurized liquid extraction for the determination of glycyrrhizin and ephedrine in medicinal plants. *Analytica Chimica Acta*, 583(2); 289-95.
7. Finaud, J., Lac, G., Filaire, EJSm. (2006). Oxidative stress. *Sports Me*, 36(4); 327-58.
8. Gaeini, A., Hamedinia, M. (2016). The effect of aerobic training on oxidative stress in students of physical education. *Journal of Kashan University of Medical Sciences*, December, 20,(5); 427-434.
9. Gomes, FGN., Fernandes, J., Campos, DV., Cassilhas, RC., Viana, GM., D'Almeida, V. (2014). The beneficial effects of strength exercise on hippocampal cell proliferation and apoptotic signaling is impaired by anabolic androgenic steroids. *Psycho neuro endo crinology*, 50;106-17.
10. Hartgens, F., Kuipers, H. (2004). Effects of androgenic-anabolic steroids in athletes. *Sports medicine . Auckland, NZ*, 34(8); 513-54.
11. Jiang, Y., Lu, HT., Chen, F. (2004). Preparative purification of glycyrrhizin extracted from the root of liquorice using high-speed counter-current chromatography. *Journal of Chromatography A*, 1033(1);183-6.
12. Keitz, B., Bronson, H., Boolani, A. (2015). The effects of anabolic androgenic steroids on performance and its adverse side effects in athletes. *Medical Research Archives*, 2; 1-8.
13. Kanayama, G., Pope, Jr HG. (2018). History and epidemiology of anabolic androgens in athletes and non-athletes. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 464; 4-13.
14. Karkanis, A., Martins, N., Petropoulos, S., Ferreira, IC. (2018). Phytochemical composition, health effects, and crop management of liquorice (*Glycyrrhiza glabra* L.): A Medicinal Plant. *Food Reviews International*, 34(2); 182-203.
15. Kassa, RM., Bonafede, R., Boschi, F., Bentivoglio, M., Mariotti, R. (2017). Effect of physical exercise and anabolic steroid treatment on spinal motoneurons and surrounding glia of wild-type and ALS mice. *Brain Research*, 1657; 269-78.
16. Lalam, R. (2020). Qualitative phytochemical analysis and antibacterial activity evaluation of *Glycyrrhiza glabra* against some human pathogenic bacteria. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*, 12(2); 113-7.
17. Oda, SS., El-Ashmawy, IM. (2012). Adverse effects of the anabolic steroid, boldenone undecylenate, on reproductive functions of male rabbits. *International Journal Of Experimental Pathology*, 93(3);172-8.
18. Pereira, E., Moyses, SJ., Ignácio, SA., Mendes, DK., da Silva DS, Carneiro E, et al. Anabolic steroids among resistance training practitioners. *PloS one*. 2019;14(10):e0223384.
19. Ranjbar, K., Matin Homaie, H., Azarbayjani, MA., Piri, M. (2020). The effect of gallic acid supplement and resistance exercise on the bio-markers of liverin intoxicated male rats of anabolic steroid. *Medical Laboratory Journal*, 14(1); 44-9.
20. Sadeghi, M., Abbassi Dalooi, A., Ziaolhagh, S. (2017). Effect of 6 weeks of resistance training and boldenone supplementation on 5-alpha reductase and aromatase gene expression in testes tissue of male wistar rats. *The Horizon of Medical Sciences*, 23(3); 193-8.
21. Sharma, V., Katiyar, A., Agrawal, R. (2018). *Glycyrrhiza glabra*: chemistry and pharmacological activity. *Sweeteners*, 87-100.
22. Tousson, E. (2013). Histopathological alterations after a growth promoter boldenone injection in rabbits. *Toxicology and Industrial Health*, 32(2); 299-305.
23. Tousson, E., El-Moghazy, M., Massoud, A., El-Atrash, A., Sweef, O., Akel, A. (2013). Physiological and biochemical changes after boldenone injection in adult rabbits. *Toxicology and Industrial Health*, 32(1); 177-82.
24. Vlitos, AJH., Parker, C.A.M. (1979). *Developments in sweeteners 1*. LTD London, 140 - 3.
25. Vorona, E., Nieschlag, E. (2018). Adverse effects of doping with anabolic androgenic steroids in competitive athletics, recreational sports and bodybuilding. *Minerva Endocrinologica*, 43(4); 476.
26. Zedan, N., Tousson, E., Massoud, A., El-Saeed, A., editors. (2014). 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*, 23(2); 18-34.

The Effect of 8 Week of Resistance Training with Licorice and Boldenone Extract on Sperm Cells, Sertoli and Leydig Testicular Tissue of Male Rats

M. Shahrokhian Kermani¹, A.Banaeifar², S. Arshadi³, B. Abedi⁴

1.PhD Student of Exercise Physiology, Islamic Azad University, South Tehran Branch, Tehran, Iran.

2.Associate of Exercise Physiology, Islamic Azad University, South Tehran Branch, Tehran, Iran.

Alibanaeifar@yahoo.com

3.Assistant Professor of Exercise Physiology, Islamic Azad University, South Tehran Branch, Tehran, Iran.

4.Associate, Islamic Azad University, Mahalat Branch, Mahallat, Iran.

Received:2021.29.10

Accepted: 2021.28.12

Abstract

Introduction & Objective: Anabolic-androgenic steroids popular among athletes have many beneficial and harmful effects on the body. Therefore, the aim of this study was to explain the effect of 8 hours of moderate intensity resistance training with licorice and Boldenone extract on sperm cells, Sertoli and Leydig testicular tissue of male rats.

Materials and Methods: For the present experimental study, 40 8-week-old male rats weighing 20-220 g were selected and divided into 8 groups of 5, including healthy control, resistance training, and bulldon, Licorice, Boldenone + Licorice, Boldenone, Resistance Training, resistance training + licorice and resistance training + Boldenone + licorice were divided. Then, the resistance training groups performed moderate-intensity training 8 times a week and three times a week, the Boldenone groups received 5 (mg / kg) Boldenone once a week, and the licorice groups received weekly exercise. They received 500 (mg / kg) licorice three times. 48 hours after the last training session, rats were anesthetized by injection of ketamine (70 mg / kg) and xylarine (10 mg / kg) and after incision in the anterior part of the abdominal wall, testicular tissue was removed and tested Stored in refrigerator-80. Finally Data were analyzed using three-way ANOVA and Tukey post hoc tests.

Results: The results showed that there was a significant difference between the means of spermatoid, sertoli and testicular tissue of male rats in different groups.

Conclusion: According to the results of the present study and the effect of exercise and licorice, it is recommended that athletes use these exercises and licorice in consultation with a physician..

Key word: Boldenone, Licorice Extract, Resistance Training, Spermatoid Cells, Sertoli, Lydic.