

بررسی اثر سوستانون بر بیان ژن گیرنده آندروژن، تغییرات هیستولوژیک بیضه و هورمون‌های گنادوتروپین در موش صحرایی

فاطمه کمالی حسین‌زاده^۱، جینا خیاط‌زاده^{۱*}، محمد مهدی فرقانی فرد^۲، آرمین عطاران‌زاده^۳

۱- گروه زیست‌شناسی، واحد مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی، مشهد، ایران

۲- گروه زیست‌شناسی، واحد دامغان، دانشگاه آزاد اسلامی، دامغان، ایران

۳- فلوشیپ پاتولوژی مولکولی و سیتوژنتیک، بیمارستان امام رضا (ع)، مرکز ناباروری میلاد، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، ایران
*مسئول مکاتبات: j.khayatzadeh@mshdiau.ac.ir

DOI: 10.22034/ascij.2021.687840

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۵/۱۲

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۲/۳۰

چکیده

سوستانون دارویی آنابولیک-آندروژنیک استروئیدی تزریقی مبتنی بر روغن است که شامل چهار استر مختلف تستوسترون است. تستوسترون، آندروژن اصلی در بیضه است که توسط گیرنده آندروژن عمل می‌کند. مطالعه حاضر با هدف بررسی بیان ژن AR، تغییرات هیستولوژیک بیضه و هورمون‌های گنادوتروپین در موش صحرایی پس از استفاده از دوزهای مختلف سوستانون انجام شد. در این مطالعه ۲۴ موش نر بالغ به ۴ گروه تقسیم بندی شدند. گروه اول (شاهد) به صورت تزریق عضلانی حلال سوستانون (روغن بادام زمینی) دریافت کردند. به گروه‌های دوم، سوم و چهارم به ترتیب دوزهای ۱۰، ۲۰ و ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سوستانون به مدت ۸ هفته به صورت هفتگی تزریق شد. یک هفته پس از آخرین تزریق خونگیری به منظور تعیین غلظت هورمون‌ها انجام شد. بیضه‌ها برای بیان بررسی ژن و مطالعات هیستولوژیک برداشته شدند. Real-Time PCR برای اندازه‌گیری بیان ژن AR با استفاده از cDNA سنتز شده انجام شد. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها توسط نرم‌افزار SPSS و آنالیز واریانس انجام شد. با توجه به یافته‌های به دست آمده، نشان داده شد که سوستانون تعداد سلول‌های لیدیک و سرتولی را به طور قابل توجهی کاهش می‌دهد در نتیجه منجر به کاهش قابل توجه غلظت FSH و LH می‌شود. بیان ژن AR وابسته به دوز بود و در مقایسه با گروه کنترل در دوز ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم افزایش معنادار و در دوز ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کاهش معنادار داشت. سوستانون با یک ساختار منحصر به فرد متمایز می‌شود. این دارو آسیب‌های بیوشیمیایی و هیستولوژیک ایجاد کرده و باعث تغییر در بیان ژن AR را در موش‌های صحرایی می‌شود که ممکن است باعث ناباروری شود.

کلمات کلیدی: سوستانون، ژن AR، سرتولی، لیدیک، گنادوتروپین.

مقدمه

تستوسترون پروپیونات، فنیل پروپیونات، ایزوکاپروات و دکانات تشکیل شده است. ساختار و ویژگی‌های منحصر به فردی برای سوستانون در مقایسه با سایر داروهای AAS شناسایی شده است. این دارو باعث

دسته‌بزرگی از مشتقات مصنوعی تستوسترون شامل داروهای آنابولیک-آندروژنیک استروئید (AAS) است. سوستانون به عنوان AAS تزریقی مبتنی بر روغن از چهار استر تستوسترون مختلف، شامل

یک هورمون مهم اسپرماتوژنیک شناخته می‌شود که از طریق فعال کردن گیرنده G پروتئین روی سلول‌های لیدیگ باعث تولید تستوسترون می‌شود. آندروژن‌ها از طریق مهار ترشح گنادوتروپین‌ها باعث کاهش عملکرد سلول‌های لیدیگ می‌شوند، در نتیجه غلظت تستوسترون داخل بیضه‌ای کاهش می‌یابد و حتی می‌تواند باعث آرواسپرمی شوند (۲۱، ۲۳).

سلول‌های سرتولی با هسته‌های مثلی نقش اصلی در سازماندهی سلول‌های سوماتیک و تعیین ساختار بیضه دارند. سلول‌های سرتولی فاکتورهای لازم برای تولید اسپرم را فراهم می‌کنند (۱۴، ۲۴). علاوه بر این، گیرنده‌های تستوسترون و هورمون تحریک‌کننده فولیکول (FSH) در سلول‌های سرتولی شناسایی شده اند. FSH تکثیر سلول‌های سرتولی را تنظیم می‌کند (۷).

استفاده نادرست از داروهای AAS بر برخی از سیستم‌های هورمونی مانند محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-آدرنال، محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-تیروئید و محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-گناد اثر می‌گذارد. دوزهای بالای آندروژن‌های آگروژن از طریق فیدبک منفی در محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-گناد که به اختصار HPG نامیده می‌شود، منجر به کاهش سطح FSH و LH می‌شود (۲۴). با این وجود، تا به امروز، اطلاعات محدودی در مورد اثرات سوستانون بر سیستم تولیدمثل وجود داشته است. بنابراین، مطالعه حاضر با هدف ارزیابی آنالیزهای بافت‌شناسی و بیوشیمیایی و مطالعه بیان ژن AR در موش‌های صحرایی پس از تزریق دوزهای مختلف سوستانون انجام شد.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه ۲۴ موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار محدوده وزنی ۲۵۰-۲۰۰ گرم از دانشگاه فردوسی

آزاد شدن مداوم تستوسترون در خون و تأمین سطح ثابت تستوسترون به مدت ۴-۳ هفته می‌شود. این دارو برای درمان بیماری‌هایی مانند هیپوگنادیسم و ناباروری استفاده می‌شود.

گرچه برخی از داروهای AAS می‌توانند در برخی از بیماری‌های بیماری‌زا مفید باشند، اما گاهی اوقات توسط ورزشکاران برای ایجاد توده عضلانی و تقویت بدن مورد سو استفاده قرار می‌گیرد (۱، ۴، ۱۶).

اسپرماتوژن یک فرایند پیچیده و چند مرحله‌ای، شامل تکثیر و تمایز سلول‌های بنیادی، تراکم شدید کروماتین و تقسیم میوز است. اسپرماتوژن به وجود تستوسترون بستگی دارد. علاوه بر این، تستوسترون توسط گیرنده آندروژن (AR) عمل می‌کند (۱۵، ۱۷).

AR متعلق به خانواده گیرنده‌های استروئید/هسته‌ای است که از هشت آگزون تشکیل شده و در بازوی بلند کروموزوم X قرار گرفته است (Xq11-12). AR توسط یک پروتئین ۱۱۰ کیلودالتونی، شامل یک دومین فعال‌سازی N ترمینال، یک دومین مرکزی متصل شونده به DNA و یک دومین C ترمینال متصل شونده به لیگاند، رمزگذاری می‌شود (۱۹، ۳۰). AR برای تنظیم اسپرماتوژن در پستانداران، کامل شدن تقسیم میوز، تمایز اسپرماتیدها و آزادسازی آنها از اپیتلیوم اسپرم‌ساز مورد نیاز است (۱، ۱۰). در بیضه، وجود AR در سلول‌های سوماتیکی لیدیگ، پری‌توبولار و سرتولی مشاهده می‌شود (۳۰).

تستوسترون توسط سلول‌های لیدیگ تولید می‌شود. تستوسترون، مشابه سایر هورمون‌های استروئیدی، از کلسترول سنتز می‌شود. سلول‌های لیدیگ به صورت خوشه‌ای در فضای بینابینی بیضه بین لوله‌های اسپرم‌ساز، همراه با ماکروفاژها و سلول‌های اندوتلیال عروقی مشاهده می‌شوند و دارای هسته‌های کروی و بیضی شکل هستند. علاوه بر این، هورمون LH سنتز تستوسترون را افزایش می‌دهد (۲۹). LH به عنوان

محلول فوق را روی لام نئوبار قرار داده و با شمارش اسپرم‌ها در مربع‌های ۵ خانه در زیر میکروسکوپ نوری و ضرب آنها در 10^7 تعداد کل اسپرم‌ها در میلی‌لیتر به دست آمد (۱۸، ۱۹).

بیضه‌ها نیز وزن کشتی شدند و بیضه راست برای بیان ژن و بیضه چپ برای مطالعات بافتی استفاده شد. RNA نمونه بیضه با استفاده از کیت استخراج RNA (پارس توس، ایران) و بر اساس دستورالعمل سازنده، استخراج و در دمای -70°C برای اقدامات بعدی ذخیره شد. ارزیابی کمی RNA استخراج شده با استفاده از دستگاه نانودراپ انجام شد. سپس از نمونه‌های RNA توسط کیت سنتز cDNA (پارس توس، ایران) و بر اساس دستورالعمل سازنده، سنتز cDNA انجام شد. پرایمرها با نرم افزار AlleleID (نسخه ۶) طراحی شدند (جدول ۱).

Real-Time PCR برای اندازه‌گیری بیان ژن AR با استفاده از cDNA سنتز شده انجام شد. ژن GAPDH به عنوان ژن خانه‌دار (Housekeeping Gene) برای تعیین کمیت بیان ژن AR استفاده شد.

بیضه چپ به منظور تهیه لام‌های بافتی فیکس و وارد مراحل پاساژ بافتی نموده و در نهایت برش‌های بافتی با ضخامت ۵ میکرومتر تهیه شد و با رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-ئوزین لام‌های مورد نظر آماده شدند. سپس سلول‌های سرتولی و لیدینگ شناسایی و تعداد آنها در ۲۰ لوله اسپرم ساز شمارش گشت. در پایان میانگین تعداد آنها در هر گروه به دست آمد. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها توسط نرم‌افزار SPSS (نسخه ۱۶) و همچنین آنالیز واریانس انجام شد.

مشهد تهیه شد و در اتاق حیوانات دانشگاه آزاد مشهد نگهداری شدند. پس از آن حیوانات به صورت تصادفی به چهار گروه مساوی (۶ موش در هر گروه) تقسیم شدند. تمام مراحل آزمایش مطابق اصول کمیته اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی انجام شده است (کد اخلاق IR.IAU.MSHD.REC.1398.214). موش‌ها در اتاق حیوانات در شرایط کنترل شده (۱۲ ساعت روشنایی ۱۲ ساعت تاریکی و دمای 24°C درجه سانتی-گراد) و دسترسی آزاد به آب و غذا نگهداری شدند. در این مطالعه از آمپول‌های سوستانون استفاده شد. هر آمپول حاوی ۱ میلی‌لیتر از محلول سوستانون می‌باشد. گروه اول به عنوان گروه شاهد به صورت عضلانی حلال سوستانون (روغن بادام زمینی) دریافت نمودند. گروه‌های دوم، سوم و چهارم تحت مطالعه به ترتیب دوزهای مختلف سوستانون ۱۰، ۲۰ و ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم را به مدت ۸ هفته دریافت کردند (۴، ۸).

یک هفته پس از پایان تزریق‌ها، موش‌ها بیهوش و با باز کردن شکم خونگیری از قلب آنها انجام گرفت. با استفاده از دستگاه سانتریفیوژ با سرعت ۲۵۰۰ دور و به مدت ۱۵ دقیقه، سرم خون جدا و در مجاورت یخ به آزمایشگاه ارسال گردید. اندازه‌گیری هورمون LH و FSH به روش کمی لومینسانس (دستگاه ومگلومی ۴۰۰۰) انجام شد (۱، ۲۵). پس از خونگیری، بیضه‌ها و اپیدیدم خارج شدند. برای شمارش اسپرم، ۵ میلی‌متر دم اپیدیدم در ۲ میلی‌لیتر محیط Hams F10 قطعه قطعه و در دمای 37°C درجه سلسویس انکوبه کردیم. ۵۰ میکرولیتر از اسپرم به دست آمده به ۱ میلی‌لیتر Hams F10 اضافه شد تا نسبت رقت ۱:۲۰ به دست آمد. ۱۰ میکرولیتر از

جدول ۱- توالی پرایمرهای مورد استفاده در Real time PCR

ژن	(5'-3') توالی
AR	F: AACTCTAGGATGCTCTAC R: ACTGGAATAATGCTGAAG

GAPDH

F: AGTGCCAGCCTCGTCTCATA
R: GATGGTGATGGGTTTCCCGT

نتایج

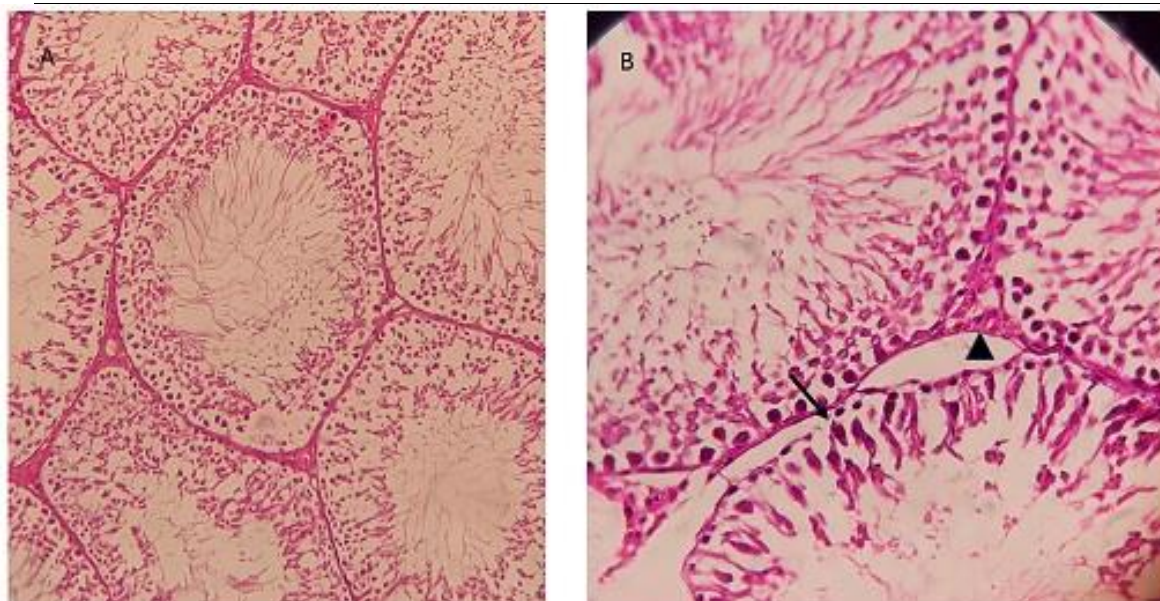
به طور قابل توجهی بالاتر از مقدار گزارش شده برای گروه دریافت‌کننده سوستانون با دوز ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بود. با این وجود، سوستانون در دوز ۲۰ با دوزهای ۱۰ و ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم تفاوت چشمگیری نداشت (شکل ۲ و نمودار ۲). جدول ۲ بیان می‌کند که میانگین هورمون LH در گروه کنترل نسبت به گروه گزارش شده برای گروه‌های دریافت‌کننده سوستانون با دوزهای ۱۰، ۲۰ و ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، به طور قابل توجهی بالاتر است ($p < 0/05$). اما تفاوت معناداری بین گروه‌های تحت درمان با استفاده از دوزهای مختلف مشاهده نشد (نمودار ۳). سطح FSH در گروه کنترل به طور معناداری در مقایسه با سطح گروه‌های دریافت‌کننده سوستانون در دوزهای ۱۰، ۲۰ و ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بالاتر بود ($p < 0/05$). تفاوت قابل توجهی در بین گروه‌های موش تحت درمان با استفاده از دوزهای مختلف وجود ندارد (نمودار ۴). بیان AR در مقایسه با گروه کنترل در دوز ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم افزایش یافته و در دوز ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کاهش می‌یابد ($0/05 < p$) (نمودار ۵).

جدول ۲، کاهش معناداری در وزن، طول و قطر بیضه در گروه تحت درمان با سوستانون، در مقایسه با گروه کنترل نشان می‌دهد ($p < 0/05$). همچنین تعداد اسپرم در گروه تحت درمان به طور قابل توجهی کمتر از گروه کنترل گزارش شد ($p < 0/05$). در گروه کنترل در لوله‌های اسپرم ساز انواع سلول‌های زایا شامل اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت‌ها، اسپرماتیدها و اسپرماتوزوئیدها و همچنین سلول‌های سرتولی مشاهده شد. در بافت بینابینی، سلول‌های لیدیگ به صورت تکی یا تجمعات سلولی قابل مشاهده بودند (شکل ۱). در گروه تحت درمان با سوستانون فضا‌های بینابینی وسیع‌تر و توبول‌های اسپرم ساز آسیب دیده نشان داده شد. همچنین کاهش در فراوانی سلول‌های لیدیگ مشاهده شد ($p < 0/05$). اما تفاوت معنی‌داری در دوزهای مختلف بین گروه‌های تحت درمان مشاهده نشد (شکل ۲ و نمودار ۱). ضخامت اپیتلیوم ژرمینال به طور معناداری کاهش داشت (شکل ۳). علاوه بر این، کاهش در فراوانی سلول‌های سرتولی مشاهده شد ($p < 0/05$). میانگین سلول‌های سرتولی در گروه تحت درمان با دوز ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم

جدول ۲- میانگین تغییرات در طول، قطر و وزن بیضه و پارامترهای بافت‌شناسی و بیوشیمیایی در گروه‌ها

کنترل	دوز ۱۰ سوستانون	دوز ۲۰ سوستانون	دوز ۳۰ سوستانون	
۱۹/۶	۱۶/۰۴	۱۶/۰۲	۱۵/۴۹	میانگین طول بیضه (mm)
۱۱/۳۸	۸/۴۷	۷/۷۴	۷/۳	میانگین قطر بیضه (mm)
۱/۴۸۲	۰/۷۳۲	۰/۶۷۲	۰/۶۷۵	میانگین وزن بیضه (g)
۱/۲۹۸	۰/۶۵۵	۰/۶۱۷	۰/۶۰۸	ضخامت لایه اپیتلیال (μm)
۴/۵۱	۳/۱۹	۳/۱۶	۳/۲۲	قطر لوله سمی نفروس (μm)
۳۹/۳۳۳	۲۴/۰۳۳	۱۶/۶۵	۱۵/۳	تعداد اسپرم
۱۲/۶۶۷	۸/۳۶۷	۸/۱۶۷	۷/۳	تعداد سلول سرتولی
۲۱/۲۳	۱۵/۲	۱۵/۶۳	۱۵/۵	تعداد سلول لیدیگ

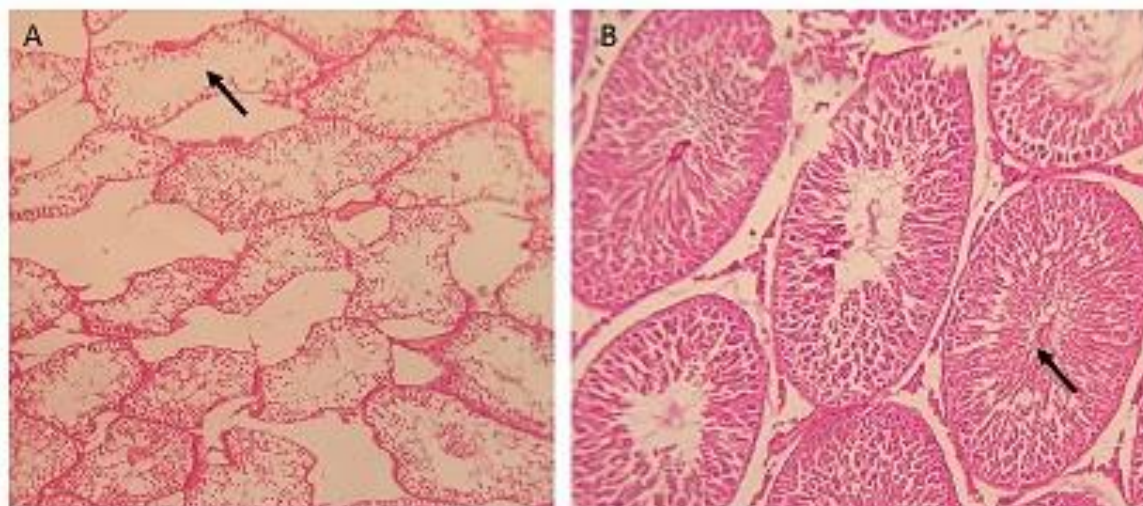
۰/۲۲	۰/۲۱	۰/۲۲	۰/۲۹	FSH (IU/I)
۰/۲۱	۰/۲۳	۰/۲	۰/۲۶	LH (IU/I)



شکل ۱- مقطع بافت بیضه موش در گروه کنترل (رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین)

A. توبول‌های اسپرم ساز ظاهر طبیعی و اسپرماتوژنز فعال را نشان می‌دهند (X100)

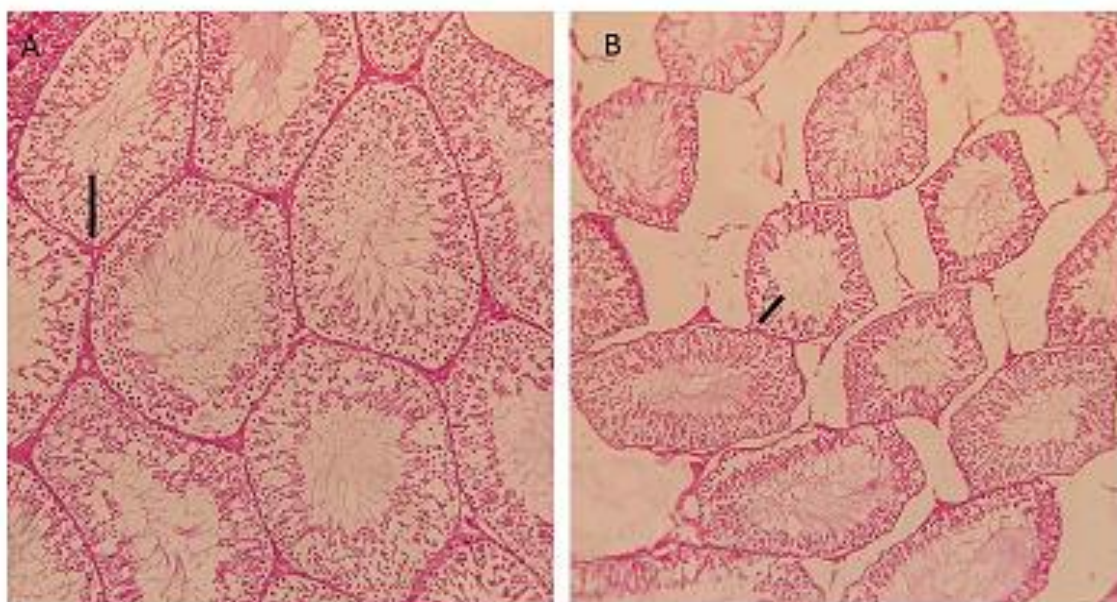
B. شاخص نشان دهنده سلول‌های سرتولی و مثلث نشان دهنده سلول‌های لیدیگ در بافت بینابینی می‌باشد (X400)



شکل ۲- مقطع بافت بیضه موش در گروه تیمار شده با سوستانون (رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین) (X100).

A. تزریق سوستانون باعث تخریب لوله‌های اسپرم ساز، کاهش ضخامت لوله اسپرم‌ساز و اپیتلیوم زایا می‌شود. بیشتر لوله-

های اسپرم ساز از اسپرم تخلیه می‌شوند (فلش)، برخی لوله‌های اسپرم‌ساز فاقد اسپرماتوژنز می‌باشند (فلش).



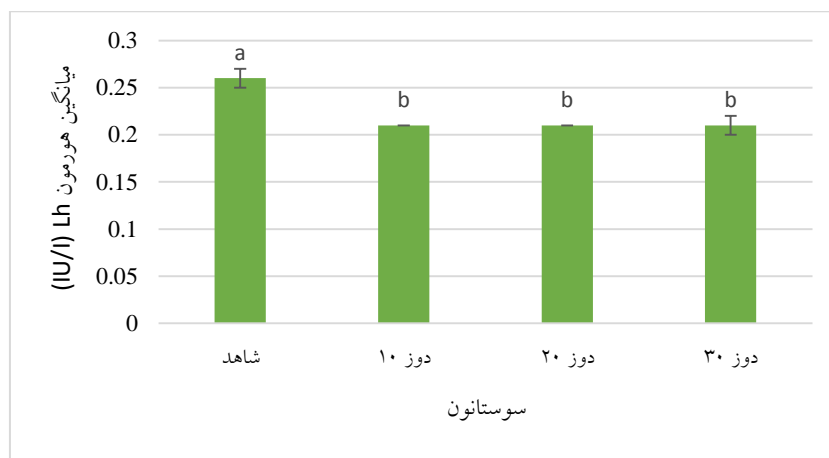
شکل ۳- ضخامت اپیتلیوم زایا (X100) در گروه کنترل (A) و گروه تیمار با سوستانون (B)



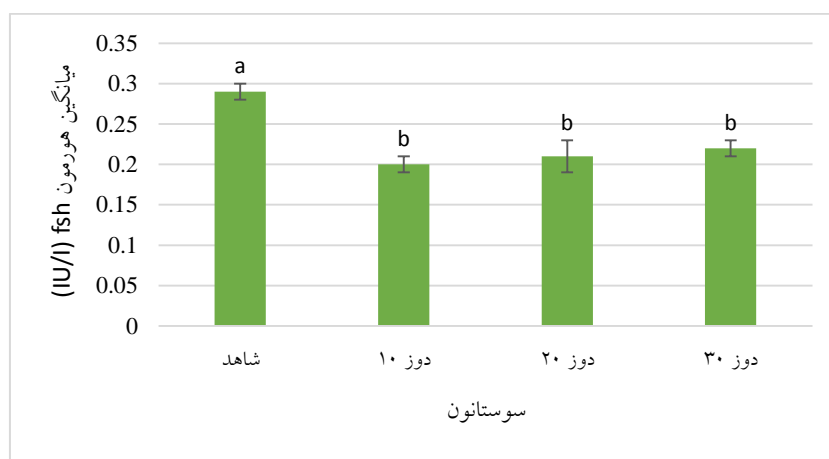
نمودار ۱- میانگین تعداد سلول‌های سرتولی در گروه کنترل و تیمار شده با دوزهای مختلف سوستانون ($p < 0/05$)



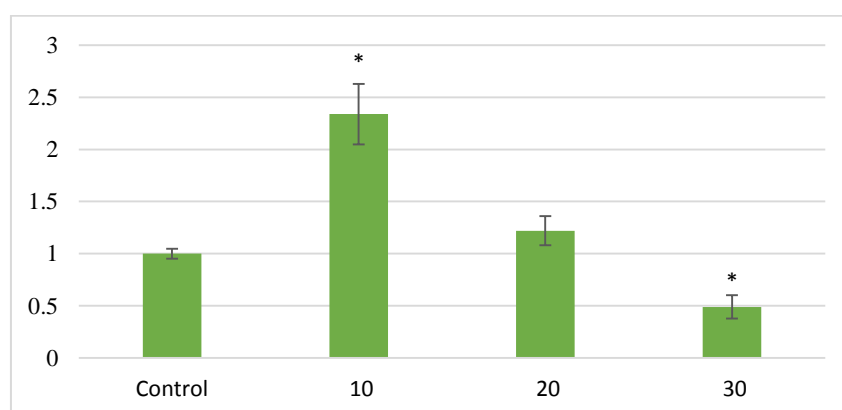
نمودار ۲- میانگین تعداد سلول‌های لیدیگ در گروه کنترل و تیمار شده با دوزهای مختلف سوستانون ($p < 0/05$)



نمودار ۳- سطح LH سرمی در گروه کنترل و تیمار شده با دوزهای مختلف سوستانون ($p < 0/05$)



نمودار ۴- سطح FSH سرمی در گروه کنترل و تیمار شده با دوزهای مختلف سوستانون ($p < 0/05$)



نمودار ۵- بیان گیرنده آندروژن در بیضه موش در گروه کنترل و تیمار شده با دوزهای مختلف سوستانون

* اختلاف معنی دار ($p < 0/05$)

بحث

AAS ها به عنوان گروهی از هورمون‌ها متشکل از تستوسترون و مشتقات مصنوعی آن در نظر گرفته می‌شوند. ورزشکاران از سوستانون به منظور افزایش اندازه ماهیچه و بهبود شکل ظاهری استفاده می‌کنند و استفاده از آن در حال افزایش است. گاهی این داروها به دلایل نامعتبر مورد سو استفاده قرار می‌گیرند (۲).

سطوح بالای تستوسترون ممکن است بر روی گیرنده‌های گلوکوکورتیکوئید تأثیر آنتاگونیستی داشته باشد که منجر به مهار سنتز گلوکز و کاتابولیسم پروتئین می‌شود. در واقع، دوز بالای AAS ها ممکن است گلوکوکورتیکوئیدها را از گیرنده‌های خود جابجا کنند، تجزیه پروتئین در عضلات را کاهش دهند و منجر به افزایش توده و قدرت عضلانی شوند. در واقع تستوسترون با اتصال به AR باعث تولید بیشتری از IGF-1 و کاهش بیان میوستاتین می‌شود. این مکانیسم‌ها باعث افزایش سنتز و کاهش تجزیه پروتئین و تشکیل میوتیوپ‌های جدید و در نتیجه افزایش توده عضلانی می‌شود (۲).

در مطالعه حاضر، دوزهای ۱۰، ۲۰ و ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سوستانون، به عنوان دوزهای مورد استفاده ورزشکاران، از طریق تزریق عضلانی به موش‌ها تزریق شد. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که سوستانون می‌تواند اثرات نامطلوبی بر روی سیستم تولیدمثل مردان و کاهش باروری ایجاد کند.

وزن بافت تولیدمثلی به عنوان شاخصی از اثرات غدد درون ریز AAS در نظر گرفته می‌شود. کاهش قابل توجهی در اندازه بیضه در گروه‌های تحت درمان مشاهده شد ($p < 0.05$). نتایج فوق‌الذکر با یافته‌های مطالعه Chang و همکاران سازگار است (۶). موتالیپ و همکاران در مطالعه خود کاهش قابل توجهی در

وزن بیضه‌ها در دو گروه موش صحرایی نر، با تزریق تستوسترون در یک گروه و استروئیدهای آنابولیک در گروه دیگر، به مدت شش هفته گزارش کردند که با نتایج مطالعه حاضر همخوانی دارد. این مطالعه کاهش قابل توجهی در میانگین وزن بیضه در موش‌های صحرایی تحت درمان با سوستانون در مقایسه با گروه شاهد گزارش کرد ($p < 0.05$) که با نتایج سایر مطالعات در این زمینه مطابقت دارد (۲۲، ۳۱). علاوه بر این، García و همکاران تغییرات کمی در تعداد، قطر و ضخامت لوله‌های اسپرم ساز پس از تجویز AAS در موش‌های صحرایی آلبینو نشان دادند. (۹). تستوسترون اگر وزن اثر فیدبک منفی بر محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-گناد دارد و منجر به مهار تستوسترون اندوژن می‌شود. هورمون آزاد کننده گنادوتروپین هیپوتالاموس بیوستتوز و ترشح هورمون-LH و FSH را کنترل می‌کند. FSH بر روی سلول‌های سرتولی عمل می‌کند و باعث ترشح اینهیبین و فاکتور رشد شبه انسولین می‌شود و فیدبک منفی روی آزادسازی FSH دارد (۲۶).

مطالعات قبلی حاکی از آن بود که دوز ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ناندرولون دکوانات هفتگی می‌تواند ترشح LH و FSH را در حیوانات تحت درمان سرکوب کند. سلول‌های سرتولی در نتیجه کاهش سطح FSH توسعه نیافته‌اند که با یافته‌های مطالعه حاضر مطابقت دارد (۶، ۲۵). نتایج به دست آمده از مطالعه حاضر نشان داد که سوستانون منجر به کاهش تعداد سلول‌های سرتولی می‌شود که احتمالاً ناشی از پاسخ سلول‌های سرتولی به کاهش سطح تستوسترون است.

فاینبرگ و همکاران در مطالعه خود نشان داد که پروپیونات تستوسترون در دوزهای بالا منجر به کاهش تعداد سلول‌های لیدیگ در موش‌های

اسپرمتوزن می‌شود. یافته‌های فوق با نتایج تحقیقات فعلی در دوز ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم مطابقت دارد (۱۳). در نتیجه می‌توان گفت که بیان AR وابسته به دوز می‌باشد.

نتیجه‌گیری

به طور خلاصه نتایج مطالعه حاضر نشان داد که تزریق دوزهای ۱۰، ۲۰ و ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سوستانون، باعث کاهش اسپرمتوزن و همچنین تغییرات کمی پارامترهای بیضه می‌شود. بنابراین احتمال می‌رود که سوستانون با آسیب‌های بیوشیمیایی و هیستوپاتولوژیک در بافت بیضه و تغییر در بیان ژن AR باعث ناباروری شود.

نتایج این مطالعه، دانش کنونی درباره مکانیسم اثر سوستانون بر بافت بیضه و کاهش تعداد اسپرم را به عنوان یکی از علت‌های ناباروری مردان گسترش می‌دهد. به همین دلیل، آموزش به پزشکان ورزشی و ورزشکاران درباره خطرات استفاده گسترده از این ترکیبات ضروری می‌باشد. به هر صورت، انجام مطالعات کامل‌تر برای بررسی تاثیر سوستانون در انسان پیشنهاد می‌شود.

منابع

1. Adibi A., Khoshvaghti A. 2019. A comparative study on the effects of *Linum usitatissimum* and *Rosa damascena* hydro-alcoholic extracts on body weight, thyroid hormones, and lipids profiles in rats. *Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences*, 27(2): 1290-1301 [In Persian]
2. Albano G.D., Amico F., Cocimano G., Liberto A., Maglietta F., Esposito M., Rosi, G.L., Di Nunno N., Salerno M., Montana A. 2021. Adverse Effects of Anabolic-Androgenic Steroids: A Literature Review. *Healthcare*, 9(1): 97.
3. Aquila S., Middea E., Catalano S., Marsico S., Lanzino M., Casaburi I. 2007.

صحرايي می‌شود (۱۴). همچنین Tahtamouni و همکاران گزارش کردند که تعداد سلول‌های سرتولی در لوله‌های اسپرم‌ساز حیوانات تحت درمان با ناندرولون دکانات کمتر از موش‌های کنترل است که با یافته‌های مطالعه حاضر مطابقت دارد (۲۷).

اسپرمتوزن بستگی زیادی به ارتباطات اتوکراین و پاراکراین در میان انواع مختلف سلول، مانند عمل تستوسترون بر روی سلول‌ها از طریق AR، دارد. در دو دهه گذشته نقش محوری AR در تنظیم باروری مردان تحقیقات زیادی را به خود جلب کرده است. مطالعات قبلی نشان داده است که حذف ژن AR می‌تواند منجر به اسپرمتوزن ناقص و کاهش سطح تستوسترون سرم در موش‌ها و در نتیجه آزواسپرمی و ناباروری شود (۳۰). وقتی AR در سلول‌های سرتولی بیان نشود، رشد سلول‌های زایا در مراحل اسپرماتوسیت یا مراحل اولیه اسپرماتید پایان می‌یابد (۷). عدم موفقیت AR در فعال‌سازی ژن‌های هدف در حضور آندروژن‌ها، منجر به نقص عمده‌ای در تمایز جنسیتی و فنوتیپ مردانه می‌شود (۱۱). در موش‌های فاقد AR، رشد ناقص سلول‌های زایا و کاهش میزان تستوسترون سرم دیده شد، که باعث آزواسپرمی و ناباروری می‌شود. همانطور که توسط چانگ و همکاران نشان داده شده است، موش‌های نر بدون AR در سلول‌های سرتولی دارای اسپرمتوزن ناقص هستند و ممکن است نابارور شوند (۲۶، ۳۰). سوستانون با دوز ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بیان AR را افزایش می‌دهد که با یافته‌های مطالعه انجام شده توسط Cadwallader و همکاران با استفاده از دوزهای ۱، ۵۰ و ۱۰۰ نانومتر ناندرولون سازگار است (۵). با این حال، دوز ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بیان AR را کاهش می‌دهد. هولد کرافت و براون نشان دادند که ناندرولون دکانات باعث از دست دادن فعالیت AR در سلول‌های سرتولی و در نتیجه باعث کاهش

11. Gustavo M.E., da Rosa L., da Silveira E.L. 2014. Mechanisms of hormonal regulation of sertoli cell development and proliferation: a key process for spermatogenesis. *Current Molecular Pharmacology*, 7(2): 96-108.
12. Handelsman D.J. 2021. Androgen Misuse and Abuse. *Endocrine Review*, 42(4): 457-501
13. Holdcraft R.W., Braun R.E. 2004. Androgen receptor function is required in Sertoli cells for the terminal differentiation of haploid spermatids. *Development*, 131(2): 459-467.
14. Jannatifar R., Shokri S., Farrokhi A., Nejatbakhsh R. 2015. Effect of supraphysiological dose of Nandrolone Decanoate on the testis and testosterone concentration in mature and immature male rats: A time course study. *International Journal of Reproductive BioMedicine*, 13(12): 779-867.
15. Jan S.Z., Vormer T.L., Jongejan A., Roling M.D., Silber S.J., de Rooij D.G. 2017. Unraveling transcriptome dynamics in human spermatogenesis. *Development*, 144(20): 3659-3673.
16. Jan T., Jurásek M., Huml L., Rimpelová S. 2021. Medicinal Use of Testosterone and Related Steroids Revisited. *Molecules*, 26(4): 1032.
17. Khanlarkhani N., Pasbakhsh P., Mortezaee K., Naji M., Amidi F., Najafi A. 2016. Effect of human recombinant granulocyte colony-stimulating factor on rat busulfan-induced testis injury. *Journal of Molecular Histology*, 47(1): 59-67.
18. kheradmand A. 2014. Improvement of Sperm Evaluation Parameters Following Ghrelin Treatment in Cadmium-Induced Testicular Injury in Rats. *Isfahan Journal of Medical Sciences*, 265(31). [In Persian]
19. Lucio R.A., Tlachi-Lopez J.L., Eguibar J.R., Agmo A. 2013. Sperm count and sperm motility decrease in old rats. *Physiology & Behavior*, 110-111:73-79.
- Human sperm express a functional androgen receptor: effects on PI3K/AKT pathway. *Human Reproduction*, 22(10): 2594-2605.
4. Arazi H., Rahmati S., Ghafoori H. 2017. The interaction effects of resistance training and sustanon abuse on liver antioxidant activities and serum enzymes in male rats. *Interventional Medicine and Applied Science*, 9(3): 178-183.
5. Cadwallader A.B., Lim C.S., Rollins D.E., Botrè F. 2011. The androgen receptor and its use in biological assays: looking toward effect-based testing and its applications. *Journal of Analytical Toxicology*, 35(9): 594-607
6. Chang C., Chen Y.T., Yeh S.D., Xu Q., Wang R.S., Guillou F. 2004. Infertility with defective spermatogenesis and hypotestosteronemia in male mice lacking the androgen receptor in Sertoli cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101(18): 6876-6881.
7. Dimitriadis F., Tsiampali C., Chaliasos N., Tsounapi P., Takenaka A., Sofikitis N. 2015. The Sertoli cell as the orchestra conductor of spermatogenesis: spermatogenic cells dance to the tune of testosterone. *Hormones*, 14(4): 479-503.
8. El-hanbuli H.M., Abo-Sief A.F., Mostafa T. 2017. Protective effect of silymarin on the testes of rats treated with anabolic androgenic steroid: A biochemical, histological, histochemical and immunohistochemical study. *Journal of Histology and Histopathology*, 4(1):10
9. García-Manso J.M., Esteve T.V. 2010. Consequences of the Use of Anabolic-Androgenic Steroids for Male Athletes' Fertility. *Springer Science+Business Media New York*, 2016: 153-165.
10. Gottlieb B., Lombroso R., Beitel L.K., Trifiro M.A. 2005. Molecular pathology of the androgen receptor in male (in) fertility. *Reproductive Biomedicine Online*, 10(1): 42-48.

26. Shokri S., Aitken R.J., Abdolvahhabi M., Abolhasani F., Ghasemi F.M., Kashani I. 2009. Exercise and Supraphysiological Dose of Nandrolone Decanoate Increase Apoptosis in Spermatogenic Cells. *Basic & Clinical Pharmacology and Toxicology*, 106(4): 324-330.
27. Tahtamouni L.H., Mustafa N.H., Hassan I.M. Nandrolone decanoate administration to male rats induces oxidative stress, seminiferous tubules abnormalities, and sperm DNA fragmentation. *Jordan Journal of Biological Sciences*, 147(616): 1-20.
28. Tang H., Chen Y., Wang L., Yin Y., Li G., Guo Y., 2018. Fertility impairment with defective spermatogenesis and steroidogenesis in male zebrafish lacking androgen receptor. *Biology and Reproduction*, 98(2): 227-238.
29. Winters S.J., Moore J.P., Clark B.J. 2018. Leydig cell insufficiency in hypospermatogenesis: a paracrine effect of activin-inhibin signaling? *Andrology*, 6(2): 262-271.
30. Yong E.L. 2003. Androgen receptor gene and male infertility. *Human Reproduction Update*, 9(1): 1-7.
31. Zhou X. 2009. Roles of Androgen Receptor in Male and Female Reproduction: Lessons From Global and Cell-Specific Androgen Receptor Knockout (ARKO) Mice. *Journal of Andrology*, 31(3): 235-243.
20. Melo C, Danin A, Silva D, Tacon J, Moura K, Costa E, et al. 2010. Association between male infertility and androgen receptor mutations in Brazilian patients. *Genetic and Molecular Research*, 9(1): 128-133.
21. Mills NC. Androgen effects on Sertoli cells. 1990. *International Journal of Andrology*, 13(2):123-34.
22. Mutalip S.S.M., Shah A.M., Mohamad M., Mani V., Hussin S.N., Singh G.K.S. 2018. Pubertal anabolic androgenic steroid exposure in male rats affects levels of gonadal steroids, mating frequency, and pregnancy outcome. *Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology*, 30(1): 29-36.
23. Naraghi M., Abolhasani F., Kashani I., Anarkooli I., Hemadi M., Azami A. 2010. The effects of swimming exercise and supraphysiological doses of nandrolone decanoate on the testis in adult male rats: a transmission electron microscope study. *Folia Morphologica*, 69(3): 138-146.
24. Purkayastha S., Mahanta R. 2012. Effect of Nandrolone Decanoate on Serum FSH, LH and Testosterone Concentration in Male Albino Mice. *World Journal of Life Sciences and Medical Research*, 2:123-7.
25. Shahraki M.R., Mirshekari H., Shahraki A.R. 2015. Chronic Administration of High Doses of Nandrolone Decanoate on the Pituitary-Gonadal Axis in Male Rats. *International Journal of High Risk Behaviors and Addiction*, 4(3): 1-3

