

“Research article”

DOI: 10.30495/JVCP.2023.1959444.1372

## **A comparative study to investigate the effect of Testosterone enanthate and Nandrolonedecanoate administration on testicular tissue and spermatogenesis coefficients in rats**

Pourali, S.<sup>1</sup>, Davasaz Tabrizi, A.<sup>2\*</sup>, Safavi Khalkhali, S.E.<sup>3</sup>

1- Graduate of Veterinary Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, Tabriz Medical Sciences, Islamic Azad University, Tabriz, Iran.

2- Assistant Professor, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Tabriz Medical Sciences, Islamic Azad University, Tabriz, Iran.

3- Assistant Professor, Department of Basic sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Tabriz Medical Sciences, Islamic Azad University, Tabriz, Iran.

\*Corresponding author's email: [davasaz@iaut.ac.ir](mailto:davasaz@iaut.ac.ir)

(Received: 2022\8\22 Accepted: 2022\12\25)

### **Abstract**

Sexually differentiating traits in males, the emergence of primary and secondary sexual traits and numerous systemic effects are controlled by the hormone testosterone, therefore testosterone and its various esters, including enanthate, are produced and supplied for medicinal, livestock and even sports purposes. Nandrolone has many similarities to testosterone in terms of its chemical structure, and nandrolone decanoate, a long acting ester, is more effective than nandrolone. On the other hand, the adverse effects of androgen abuse, such as suppression of spermatogenesis and testicular atrophy, can be seen in the long term. The similarities of these two drugs and their uses and the adverse effects of their abuse was the main reason to investigate and compare the effect of testosterone enanthate and nandrolone decanoate administration on testicular tissue and spermatogenesis coefficients in rats. For this purpose, 21 adult male rats were randomly allocated into 3 groups of control (without drug injection), treatment with nandrolone decanoate (10 mg/kg per week) and treatment with testosterone enanthate (5 mg/100 g per week). After 8 weeks, tissue samples prepared from the testicles of rats were stained with hematoxylin-eosin and subjected to histopathological study. The results showed that both drugs had a significant adverse effect on the diameter and height of the epithelium of the seminiferous tubules and the thickness of the interstitial tissue of the testis. Also, the coefficients of spermatogenesis, including tubular differentiation coefficient, spermiogenesis coefficient and regeneration coefficient, were negatively affected by both drugs, although, only the effect of testosterone enanthate was significant ( $p<0.05$ ). Overall, the administration of anabolic steroids leads to numerous histopathological changes in the male reproductive system.

**Conflict of interest:** None declared.

**Keywords:** Nandrolone Decanoate, Rat, Spermatogenesis, Testicles, Testosterone enanthate.

## بررسی مقایسه‌ای تجویز تستوسترون انانتات و ناندرولون دکانات بر بافت بیضه و ضرایب اسپرματοژنز در موش صحرائی

سجاد پورعلی<sup>۱</sup>، افشین دواسازتبریزی<sup>۲\*</sup>، سیداسماعیل صفوی خلخالی<sup>۳</sup>

۱- دانش‌آموخته دکترای حرفه‌ای دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، علوم پزشکی تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران.

۲- استادیار گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، علوم پزشکی تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران.

۳- استادیار گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، علوم پزشکی تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران.

\*نویسنده مسئول مکاتبات: [davasaz@iaut.ac.ir](mailto:davasaz@iaut.ac.ir)

(دریافت مقاله: ۱۴۰۱/۵/۳۱ پذیرش نهایی: ۱۴۰۱/۱۰/۴)

### چکیده

صفات متمایزکننده جنسی در جنس نر، پیدایش صفات اولیه و ثانویه جنسی و اثرات سیستمیک متعدد، توسط هورمون تستوسترون کنترل می‌گردد، از این رو تستوسترون و استرهای مختلف آن، از جمله انانتات برای مصارف دارویی، دامی و حتی ورزشی تولید و عرضه می‌شوند. ناندرولون هم از نظر ساختار شیمیایی شباهت‌های فراوانی به تستوسترون دارد و ناندرولون دکانات، استری طولانی‌تر از داروی ناندرولون می‌باشد. از طرفی اثرات نامطلوب سوءمصرف آندروژن‌ها مانند سرکوب اسپرματοژنز و تحلیل بیضه‌ها، در درازمدت دیده می‌شود. شباهت این دو دارو و موارد استفاده و همچنین اثرات نامطلوب سوءمصرف آن‌ها، سبب شد تا تأثیر تجویز تستوسترون انانتات و ناندرولون دکانات بر بافت بیضه و ضرایب اسپرματοژنز در موش‌های صحرائی مورد بررسی و مقایسه قرارگیرد. بدین منظور، تعداد ۲۱ سر موش صحرائی نر بالغ، به صورت تصادفی، در ۳ گروه شاهد (بدون تزریق دارو)، تیمار با ناندرولون دکانات (۱۰ میلی‌گرم برکیلوگرم در هفته) و تیمار با تستوسترون انانتات (۵ میلی‌گرم بر ۱۰۰ گرم در هفته) تقسیم شدند. بعد از طی ۸ هفته از شروع تحقیق، نمونه بافتی از بیضه موش‌ها تهیه شده و پس از رنگ‌آمیزی با رنگ‌های همتوکسیلین-ائوزین، مورد مطالعه هیستوپاتولوژیک قرار گرفتند. نتایج نشان داد که هر دو دارو، تأثیر منفی معنی‌داری بر قطر و ارتفاع اپیتلیوم لوله‌های منی‌ساز و ضخامت بافت بینابینی بیضه داشتند. همچنین ضرایب اسپرματοژنز شامل ضریب تمایز لوله‌ای، ضریب اسپرمیوژنز و ضریب بازسازی، تأثیر منفی از هر دو دارو گرفتند که البته در این بین، فقط تأثیر تستوسترون انانتات معنی‌دار بود ( $p < 0/05$ ). به‌طور کلی تجویز استروئیدهای آنابولیک منجر به تغییرات هیستوپاتولوژیک متعدد در سیستم تولیدمثل جنس نر می‌شود.

کلیدواژه‌ها: تستوسترون انانتات، ناندرولون دکانات، بیضه، اسپرματοژنز، موش صحرائی.

## مقدمه

دستگاه تناسلی جنس نر تنظیم‌کننده تمایز جنسی، نرسازی و تغییرات هورمونی مورد لزوم برای بلوغ می‌باشد که نهایتاً منجر به اسپرماتوزن و باروری می‌گردد. این دستگاه تحت کنترل هورمون‌های هیپوفیز، هورمون محرک جسم زرد ( LH; luteinizing hormone) و هورمون محرک فولیکول ( FSH; follicle-stimulating hormone)، توسط سلول‌های لیدیک بیضه‌ها، تستوسترون تولید می‌کند و سلول‌های زایا به وسیله سلول‌های سرتولی پرورش پیدا می‌کنند تا تقسیم شوند، تمایز پیدا کنند و به اسپرم بالغ تبدیل گردند (Creasy and Chapin, 2013). تستوسترون قوی‌ترین استروئید آندروژنی است و بر تمام بافت‌های بدن اثر می‌کند. بشر بسیار پیش‌تر از این‌که به وجود این ماده در بدن و اصولاً به وجود ترکیباتی به نام هورمون در بدن پی برده باشد از منابع طبیعی این هورمون برای تقویت قوای جسمی، جنسی و برای تقویت روحیه جنگندگی استفاده می‌کرده‌است (Slater and Oliver, 2000). مشخص شده که بخش عمده تستوسترون در بافت‌های هدف به هورمون فعال‌تر دی‌هیدروتستوسترون تبدیل می‌شود. روزانه در مردان به طور متوسط ۸ میلی‌گرم تستوسترون تولید می‌شود. سطح پلاسمایی تستوسترون در مردان حدود  $6/0 \mu\text{g/dl}$  بعد از بلوغ می‌باشد و ظاهراً بعد از سن ۵۰ سالگی کاهش می‌یابد. تستوسترون توسط سلول‌های میان بافتی لیدیک ساخته می‌شود، این سلول‌ها در فضاهای حذفاصل لوله‌های منی‌ساز قرار دارند و حدود ۲۰ درصد وزن بیضه افراد بالغ را تشکیل می‌دهند. در دوران بلوغ، تستوسترون موجب پیشبرد رشد بدن و تکامل

صفات ثانویه جنسی می‌شود. در افراد بزرگ‌سال تستوسترون برای اسپرماتوزن و تحریک میل جنسی و عملکرد جنسی طبیعی لازم است (O'Donnell et al., 2017). به‌طور کلی تستوسترون مسئول صفات متمایزکننده جنسی در جنس نر در تمام پستانداران است. تولید تستوسترون به علت اثر تحریکی گنادوتروپین‌ها به سرعت در شروع بلوغ افزایش می‌یابد. این هورمون اثرات وسیعی در بدن به‌جا می‌گذارد. پیدایش صفات اولیه و ثانویه جنسی، اثر بر پوست، افزایش رشد عضلانی و تعادل مثبت نیتروژن، اثر بر رشد استخوانی و احتباس کلسیم، تغییر شکل لگنی، افزایش متابولیسم پایه، اثر بر گلبول‌های قرمز خون و اثر بر تعادل الکترولیت‌ها قسمتی از اثرات سیستمیک این هورمون می‌باشد. (Dutta et al., 2019).

به دلیل طیف وسیع اثرات هورمون تستوسترون، امروزه از آن برای اهداف مختلف درمانی در دام و انسان استفاده می‌شود که از جمله اهداف درمانی مصرف تستوسترون، می‌توان به درمان جایگزینی آندروژن در جنس نر اشاره کرد (Jockenhövel, 2004). درمان با آندروژن برای برقراری سطح طبیعی تستوسترون و اصلاح تظاهرات کمبود آندروژن ضروری است. جایگزینی، میل جنسی را بهبود می‌بخشد و فعالیت جنسی را در کل افزایش می‌دهد، انرژی را بیشتر می‌کند، توده عضلانی بدون چربی و تراکم استخوانی را افزایش می‌دهد و احساس سلامتی بهتر و بیشتری به بیمار می‌بخشد. از اهداف دیگر درمانی می‌توان به استفاده در بعضی از اختلالات زنانه اشاره کرد. کاهش احتقان پستان در دوره پس از زایمان، درمان آندومتریوز و حتی به مواردی از شیمی‌درمانی زنان مبتلا به

تستوسترون دارد، با این تفاوت که در موقعیت پانزده خود یک اتم کربن نسبت به تستوسترون کم دارد و همین تفاوت ساختاری نیز به پایین بودن قدرت آندروژنی این دارو در قیاس با خود تستوسترون ختم شده است، به گونه‌ای که با مبنا قرار دادن تستوسترون قدرت آندروژنی این دارو را ۳۷ و قدرت آنابولیکی آن را ۱۲۵ ارزیابی کرده‌اند. ناندرولون دکانات برای اولین بار در سال ۱۹۶۲ و از سوی شرکت ارگانون (Organon) به بازار عرضه شد. این دارو در حقیقت استر دکانات از داروی شناخته‌شده ناندرولون بوده و دارویی طولانی اثر می‌باشد. به این معنی که به آهستگی در بدن آزاد شده و اثرات آن نیز تا ۳ الی ۴ هفته در بدن ادامه می‌یابد. سطح سرمی دارو در روز دوم به بالاترین سطح خود می‌رسد ولی سپس رفته‌رفته سیر نزولی را طی می‌کند تا جایی که بعد از ۲ هفته عملاً به پایین‌ترین سطحی که قبلاً در آن قرار داشت، برمی‌گردد (Patanè *et al.*, 2020).

مصرف غیرمجاز استروئیدهای آندروژنی به منظور تقویت کارایی ورزشی، به شکل گسترده‌ای در میان ورزشکاران رایج است. رایج‌ترین استروئیدهای آندروژنی که بکار می‌روند عبارت‌اند از استرهای تستوسترون، ناندرولون، استانوزولون، متاندی‌انول و متونولول. اثرات نامطلوب سوءمصرف آندروژن‌ها عبارت‌اند از کاهش قابل ملاحظه HDL (high-density lipoprotein) و افزایش LDL (low-density lipoprotein) در پلاسمای خون، تغییرات فاکتورهای انعقادی، سرکوب اسپرماتوژنز که سبب کاهش قدرت باروری می‌شود و اثر مستقیم روی بیضه‌ها که باعث

تومورهای پستان پیش از یائسگی اشاره کرد (Vegunta *et al.*, 2020). همچنین درمان با آندروژن را می‌توان همراه با اقدامات تغذیه‌ای و ورزش، برای کاهش از دست رفتن پروتئین بعد از تروما، جراحی یا عدم تحرک طولانی و در بیماران ناتوان، بکار برد (Gervasio *et al.*, 2000). حتی از روش فوق برای درمان کم‌خونی‌های آپلاستیک، فانکونی (Paustian *et al.*, 2016)، کم‌خونی داسی‌شکل (Huang and Muneyyirci-Delale, 2017)، میلوفیروز و کم‌خونی همولیتیک (King and Ness, 2005) و نیز برای درمان آنژیوادم ارثی (Riedl, 2015) نیز استفاده می‌شود.

امروزه استرهای مختلفی از هورمون تستوسترون برای مصارف دارویی و در برخی موارد هم برای مصارف دامی و حتی ورزشی تولید و عرضه می‌شوند. البته در این خصوص باید توجه کرد، هنگامی که تستوسترون از طریق خوراکی مصرف می‌شود، سریعاً جذب می‌گردد، اما به سرعت به متابولیت‌های غیرفعال تبدیل می‌شود و فقط یک‌ششم دوز مصرف‌شده به شکل فعال در دسترس بدن قرار می‌گیرد (Jockenhövel, 2004). ولی زمانی که تستوسترون به صورت استرهای پروپیونات، انانتات، آندکانوات یا سیپیونات باشد، جذب طولانی‌تر و فعالیت بیشتری دارد. این مشتقات را می‌توان به صورت تزریقی به کار برد که در محل تزریق به تستوسترون آزاد هیدرولیز می‌شوند. در مردان بالغ مقادیر زیاد تستوسترون یا مشتقات آن، ترشح گنادوتروپین‌ها را متوقف می‌کنند و در نتیجه مقداری آتروفی در بافت بینابینی و مجاری بیضه ایجاد می‌گردد (Windfeld-Mathiasen *et al.*, 2021). ناندرولون از نظر ساختار شیمیایی شباهت‌های فراوانی به هورمون

تحلیل بیضه‌ها در درازمدت می‌شود ( de Ronde and Smit, 2020).

شبهات دو داروی فوق و موارد متعدد استفاده درمانی آن‌ها در انسان و دام و همچنین اثرات نامطلوب سوءمصرف آن‌ها، ما را بر آن داشت تا در مطالعه حاضر، تأثیر تجویز تستوسترون انانتات و ناندرولون دکانات بر بافت بیضه و ضرایب اسپرماتوزنز در موش‌های صحرا را مورد بررسی و مقایسه قرار دهیم.

### مواد و روش‌ها

تحقیق حاضر از نوع تجربی مداخله‌ای می باشد که در سال ۱۳۹۸ در دانشگاه آزاد اسلامی علوم پزشکی تبریز به انجام رسیده است. برای انجام این پژوهش از تعداد ۲۱ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با وزن تقریبی  $250 \pm 20$  گرم استفاده گردید. حیوانات تحت مطالعه از مرکز پرورش و نگهداری حیوانات آزمایشگاهی دانشکده دامپزشکی تهیه شده و در سالن مطالعات آزمایشگاهی همین دانشکده با شرایط دمایی  $23 \pm 2$  درجه سلسیوس، برنامه نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و جیره غذایی طبیعی یکسان پلت با دسترسی آزاد به آب و غذا، نگهداری شدند. در واقع قبل از گروه‌بندی، ابتدا موش‌های صحرایی به محیط آزمایشگاه منتقل شدند تا قبل از شروع کار تجربی، به مدت ۱۰ روز در دوره عادت‌پذیری جایگاه برای حیوانات باشند. همچنین در طی مدت مذکور حیوانات از لحاظ تغذیه‌ای و در رابطه با اشتها و این که همه موش‌ها بر طبق جیره تعیین شده تغذیه کرده‌باشند، تحت نظر قرار گرفتند و نیز کنترل

شدند که هیچ مشکلی از لحاظ سلامت جسمی پیدا نکرده‌باشند.

در ادامه و پس از طی شدن دوره عادت‌پذیری، ۲۱ سر موش صحرایی نر مورد مطالعه، به صورت تصادفی به ۳ گروه مساوی به شرح زیر تقسیم شدند:

الف) گروه شاهد شامل حیواناتی بود که طی دوره تحقیق تجربی، هیچ دارویی دریافت نکردند.

ب) گروه تیمار ۱ شامل حیواناتی بود که داروی ناندرولون دکانات (ابوریحان، ایران) را به میزان ۱۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن در هفته، به صورت تزریق داخل صفاقی و به مدت ۸ هفته دریافت کردند.

ج) گروه تیمار ۲ شامل حیواناتی بود که تستوسترون انانتات (ابوریحان، ایران) را به میزان ۵ میلی‌گرم به ازای هر ۱۰۰ گرم وزن بدن در هفته، به صورت تزریق داخل صفاقی و به مدت ۸ هفته دریافت کردند.

لازم به ذکر است که همه کارهای تجربی ذکر شده، با رعایت نکات اخلاقی و رعایت حقوق حیوانات آزمایشگاهی انجام گرفته‌است ( de Melo Neto et al., 2015).

پس از پایان دوره درمان تجربی، بعد از بی‌هوش کردن حیوانات با کتامین هیدروکلراید ۱۰ درصد (آلفاسان، هلند) با دوز ۸۰ میلی‌گرم و زایلازین (آلفاسان، هلند) با دوز ۸ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن، قطع نخاع در حالت بیهوشی انجام شده و بعد از کالبدشکافی، غدد وزیکول سمینال و پروستات از لحاظ ماکروسکوپی بررسی شدند. در ادامه هم، جهت انجام مطالعات میکروسکوپی مورد نظر، نمونه‌ها در محلول پایدارکننده فرمالین ۱۰ درصد (مرک، آلمان)

برای بررسی اختلافات مشاهده‌شده در بین گروه‌های مورد مطالعه از آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه (ANOVA) با اندازه‌گیری‌های تکراری و جهت مقایسه داخلی بین گروه‌ها از آزمون تعقیبی توکی (Tukey) در سطح اطمینان ۹۵ درصد ( $p < 0/05$ )، استفاده به عمل آمد.

### یافته‌ها

نتایج حاصله از بررسی‌های هیستولوژیک بافت بیضهٔ موش‌های مورد آزمایش در گروه‌های مورد مطالعه در جدول ۱ ارائه شده‌است. در مورد قطر لوله منی‌ساز همان‌طور که در جدول مذکور مشخص شده، در حیوانات گروه‌های تیمار شده با هر ۲ هورمون استفاده شده در تحقیق، قطر لوله‌های منی‌ساز کاهش معنی‌داری پیدا کرده‌است. همچنین نتایج گویای آن است که قطر لوله منی‌ساز میان ۲ گروه تیمار، اختلاف آماری معنی‌داری را از خود نشان می‌دهد ( $p < 0/05$ ). در مورد ارتفاع اپیتلیوم لوله‌های منی‌ساز هم، تفاوت آماری معنی‌داری در هر ۲ گروه تیمار با گروه شاهد به دست آمده و کاهش واضح در ارتفاع اپیتلیوم لوله‌های منی‌ساز ملاحظه گردید ( $p < 0/05$ )، البته کاهش مذکور بین گروه‌های تیمار اختلاف آماری معنی‌داری نداشت. از سوی دیگر در مورد ضخامت بافت بینابینی، حیوانات هر ۲ گروه تیمار، افزایش آماری معنی‌داری نسبت به گروه شاهد نشان دادند که این تفاوت در بین موش‌های گروه‌های تیمار نیز معنی‌دار بود ( $p < 0/05$ ).

قرار گرفته و سپس به روش استاندارد تهیه مقاطع، مقاطع پشت سر هم و به ضخامت میکرومتر تهیه و با استفاده از رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-ئوزین (Hematoxylin & Eosin) (Rana et al., 2020)، لوله‌های اسپرم‌ساز مورد بررسی هیستوپاتولوژی قرار گرفتند (Feldman and Wolfe, 2014). از طرف دیگر، برای ارزیابی ضرایب اسپرماتوژنز در لوله‌های منی‌ساز، از ۳ فاکتور شامل ضریب تمایز لوله‌ای (Tubule differentiated index; TDI)، ضریب اسپرمیوژنز (Spermiogenesis index; SI) و ضریب بازسازی (Repopulation index; RI) استفاده گردید. بدین منظور، برای محاسبه ضریب تمایز لوله‌ای (TDI) درصد لوله‌های منی‌ساز که شامل ۳ و یا بیش از ۳ رده از سلول‌های اسپرماتوژنز تمایز یافته از سلول اسپرماتوگونی نوع A بودند، استفاده گردید (این سلول‌ها شامل اسپرماتوگونی بینابینی، اسپرماتوگونی تیپ B، اسپرماتوسیت و اسپرماتید می‌باشد). برای محاسبه ضریب اسپرمیوژنز (SI) هم نسبت لوله‌های منی‌ساز که حاوی اسپرم بودند، به لوله‌های فاقد اسپرم محاسبه گردید. همچنین برای محاسبه ضریب بازسازی (RI)، نسبت سلول‌های اسپرماتوگونی فعال به سلول‌های اسپرماتوگونی غیرفعال در لوله‌های منی‌ساز محاسبه گردید. تمامی ضرایب مذکور در تعداد ۱۰۰ مقطع لوله منی‌ساز، به صورت تصادفی شمارش و تعیین شد.

-تحلیل آماری داده‌ها: داده‌های حاصله به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار بیان گردید و جهت واکاوی آماری آن‌ها از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۲ استفاده شد.

جدول ۱- نتایج بررسی بافت‌شناسی بیضه\* موش‌های مورد آزمایش در گروه‌های مورد مطالعه

پارامتر بررسی شده	گروه مورد مطالعه	گروه شاهد	گروه تیمار با ناندرولون دکانات	گروه تیمار با تستوسترون انانتات
قطر لوله منی‌ساز (میکرومتر)	۲۴۴/۵۶ ± ۱۹/۱۲ <sup>a</sup>	۱۹۷/۱۲ ± ۳۰/۴۶ <sup>ab</sup>	۱۵۵/۰۴ ± ۲۹/۷۲ <sup>c</sup>	
ارتفاع اپیتلیوم لوله منی‌ساز (میکرومتر)	۹۵/۳۷ ± ۸/۶۵ <sup>a</sup>	۸۵/۶۵ ± ۹/۳۴ <sup>b</sup>	۴۷/۴۳ ± ۷/۶۸ <sup>b</sup>	
ضخامت بافت بینابینی بیضه (میکرومتر)	۱۴/۵۳ ± ۴/۸۲ <sup>a</sup>	۲۹/۸۳ ± ۹/۵۳ <sup>ab</sup>	۳۹/۲۷ ± ۱۱/۴۷ <sup>c</sup>	

a, b, c: حروف متفاوت در هر ردیف، وجود اختلاف آماری معنی‌دار را نشان می‌دهد ( $p < 0.05$ ).

نتایج حاصله از بررسی ضرایب اسپرماتوژنز در موش‌های گروه‌های تحت بررسی هم در جدول شماره ۲ ارائه شده است. همان‌طور که در جدول مذکور مشخص شده، در مورد هر سه ضریب اسپرماتوژنز شامل TDI، SI و RI در مورد گروه موش‌های تیمار شده با ناندرولون دکانات، گرچه کاهش ضرایب نسبت به گروه شاهد وجود دارد ولی این اختلاف معنی‌دار نیست ( $p < 0.05$ ). این در حالی است که در حیوانات تیمار شده با تستوسترون انانتات، در مورد هر ۳ ضریب ذکر شده، کاهش نسبت به گروه شاهد صورت گرفته و اختلاف آماری معنی‌داری هم در مقایسه با مقادیر فاکتورهای فوق در موش‌های گروه شاهد، ملاحظه می‌گردد ( $p < 0.05$ ).

نتایج حاصله از بررسی ضرایب اسپرماتوژنز در موش‌های گروه‌های تحت بررسی هم در جدول شماره ۲ ارائه شده است. همان‌طور که در جدول مذکور مشخص شده، در مورد هر سه ضریب اسپرماتوژنز شامل TDI، SI و RI در مورد گروه موش‌های تیمار شده با ناندرولون دکانات، گرچه کاهش ضرایب نسبت به گروه شاهد وجود دارد ولی این اختلاف معنی‌دار نیست ( $p < 0.05$ ).

جدول ۲- اثر ناندرولون دکانات و تستوسترون انانتات بر ضرایب اسپرماتوژنز (بر حسب درصد)

ضریب اسپرماتوژنز	گروه مورد مطالعه	گروه شاهد	گروه تیمار با ناندرولون دکانات	گروه تیمار با تستوسترون انانتات
ضریب تمایز لوله‌ای	۹۵/۷ ± ۴/۵ <sup>a</sup>	۹۰/۴ ± ۶/۲ <sup>a</sup>	۷۶/۸ ± ۹/۳ <sup>b</sup>	
ضریب اسپرمیوژنز	۹۳/۹ ± ۵/۲ <sup>a</sup>	۹۰/۵ ± ۶/۴ <sup>a</sup>	۷۱/۲ ± ۵/۷ <sup>b</sup>	
ضریب بازسازی	۹۳/۸ ± ۷/۲ <sup>a</sup>	۸۹/۲ ± ۳/۵ <sup>a</sup>	۶۹/۵ ± ۸/۹ <sup>b</sup>	

a, b, c: حروف متفاوت در هر ردیف، وجود اختلاف آماری معنی‌دار را نشان می‌دهد ( $p < 0.05$ ).

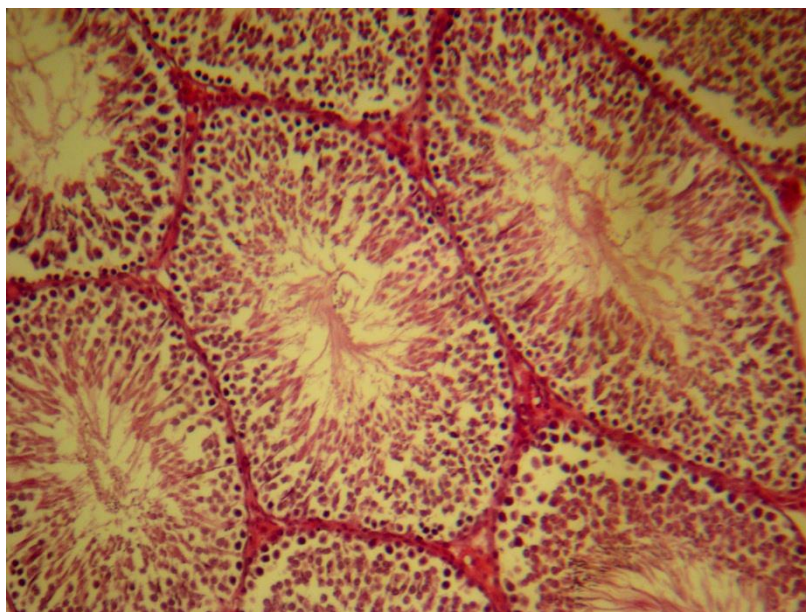
در مقاطع بافتی بیضه در گروه شاهد، لوله‌های منی‌ساز با قطر زیاد دیده شد و اکثر سلول‌های رده اسپرماتوژنز قابل مشاهده بودند. پهنای بافت بینابینی بسیار کم بوده و در حفره میانی اکثر لوله‌ها، توده‌های اسپرم مشاهده می‌شد (شکل ۱). در مقاطع بافتی بیضه موش‌های تیمار شده با ناندرولون دکانات نیز قطر لوله‌های منی‌ساز کاهش یافته بود و در حفره میانی لوله‌های مذکور، اسپرم کمتری دیده می‌شد. همچنین گسترش بافت بینابینی مشهود بود (شکل ۲). در مقاطع بافتی بیضه در موش‌های تیمار شده با ناندرولون دکانات تعداد سلول‌های زایای دیواره لوله‌های منی‌ساز در مقایسه با گروه شاهد به شدت کاهش یافته بود. بافت بینابینی نیز توسعه پیدا کرده بود (شکل ۳). در مقاطع بافتی بیضه در موش‌های تیمار شده با تستوسترون انانتات قطر لوله‌های منی‌ساز و ضخامت اپیتلیوم لوله‌های مذکور، به‌طور محسوسی کاهش یافته بود.

در مقاطع بافتی بیضه در گروه شاهد، لوله‌های منی‌ساز با قطر زیاد دیده شد و اکثر سلول‌های رده اسپرماتوژنز قابل مشاهده بودند. پهنای بافت بینابینی بسیار کم بوده و در حفره میانی اکثر لوله‌ها، توده‌های اسپرم مشاهده می‌شد (شکل ۱). در مقاطع بافتی بیضه موش‌های تیمار شده با ناندرولون دکانات نیز قطر لوله‌های منی‌ساز کاهش یافته بود و در حفره میانی لوله‌های مذکور، اسپرم کمتری دیده می‌شد. همچنین

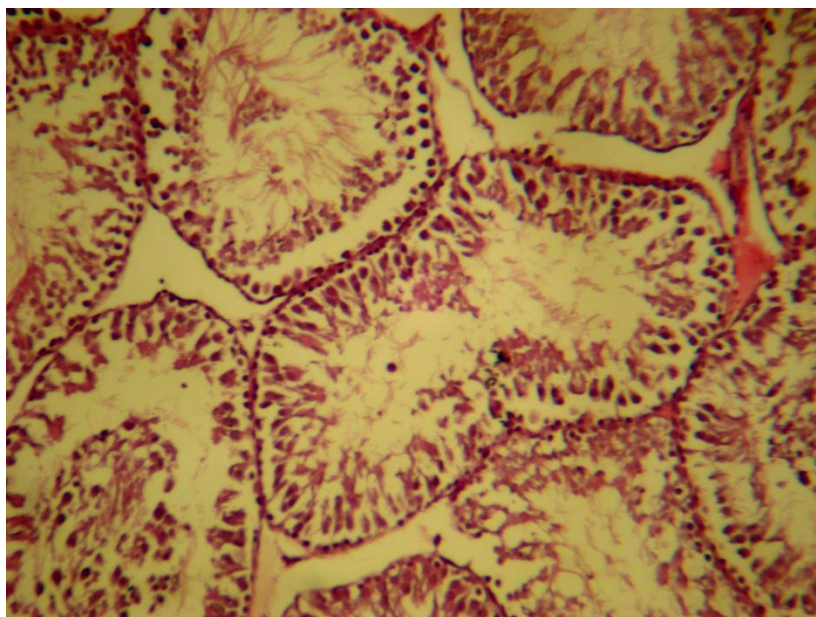
منی‌ساز در بیضه موش‌های تیمارشده با ناندرولون دکانات نشان می‌داد و تجمعی از سلول‌های اسپرماتید به صورت نابالغ در حفره میانی لوله‌های منی‌ساز مشاهده می‌شد که نشانگر اختلال در روند طبیعی اسپرماتوژنز در دیواره لوله‌های مذکور می‌باشد (شکل ۶).

بافت بینابینی نیز به شدت توسعه پیدا کرده بود (شکل ۴). در مقاطع بافتی لوله‌های منی‌ساز در بیضه موش‌های تیمارشده با تستوسترون انانتات تعداد سلول‌های زایای اپیتلیوم به شدت کاهش یافته بود و فقط سلول‌های اسپرماتوگونی و تعداد محدودی از سایر سلول‌های زایا مشاهده می‌شدند (شکل ۵). مقاطع عرضی لوله‌های

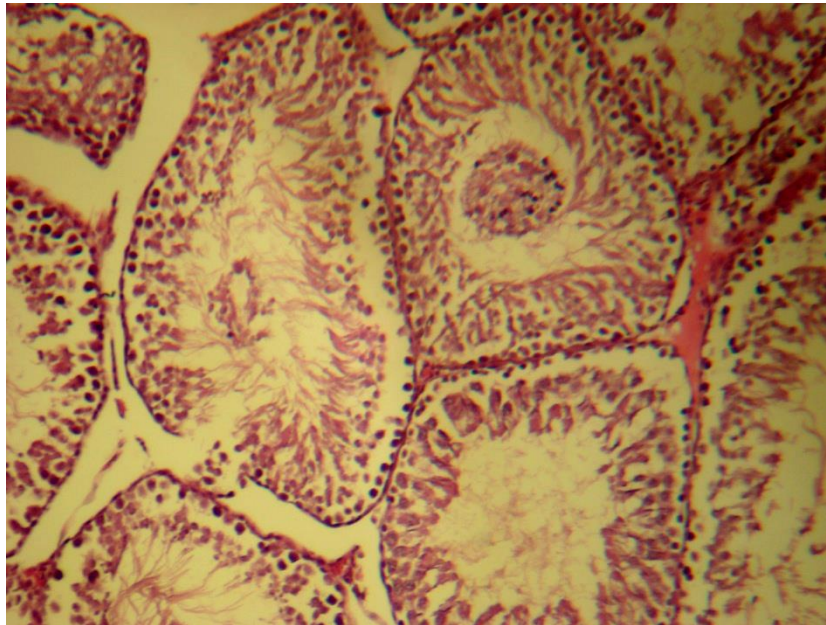




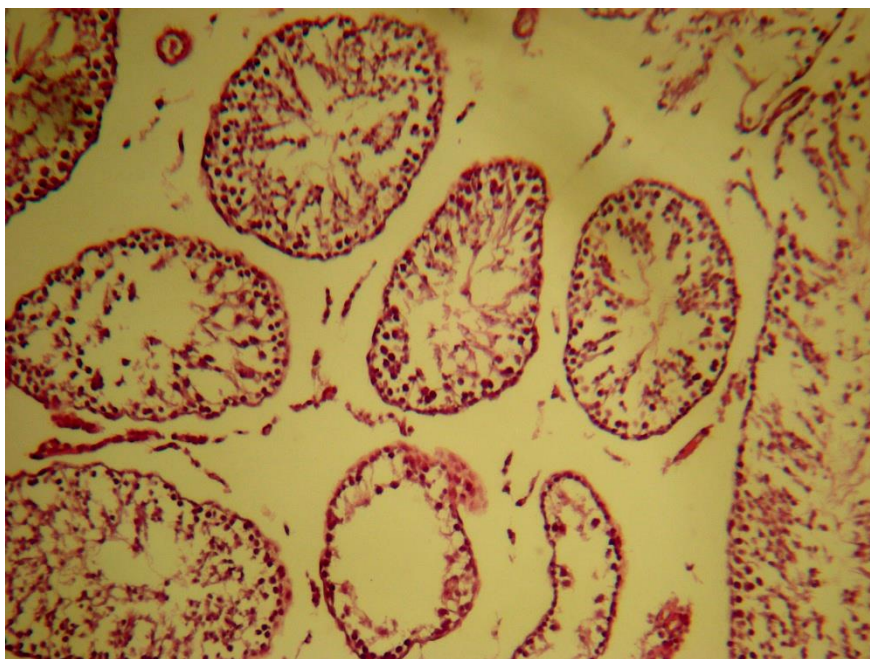
شکل ۱- مقطع بافتی بیضه در گروه شاهد (رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-انوزین، درشت‌نمایی  $\times 100$ ).



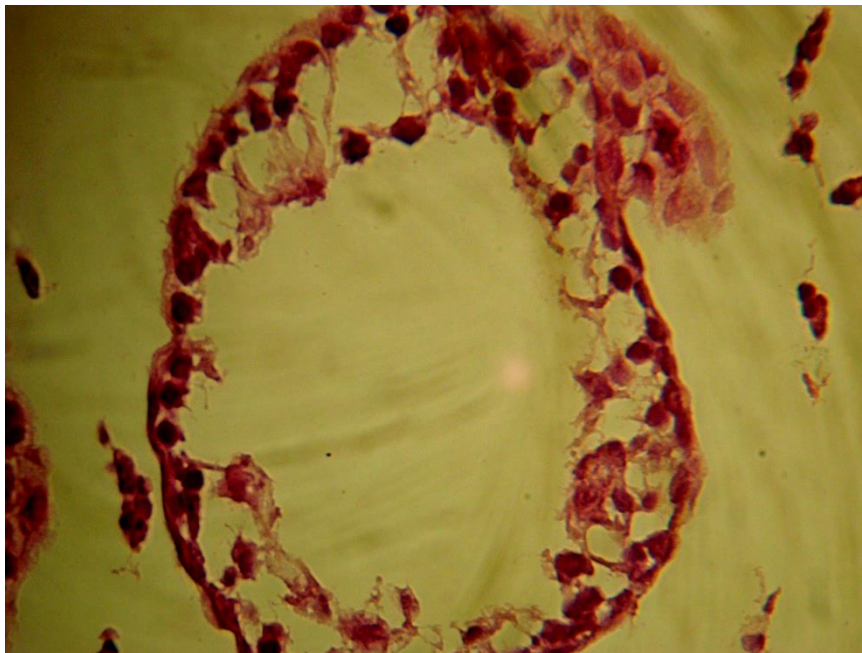
شکل ۲- مقطع بافتی بیضه موش‌های تیمارشده با ناندرولون دکانات (رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-انوزین، درشت‌نمایی  $\times 100$ ).



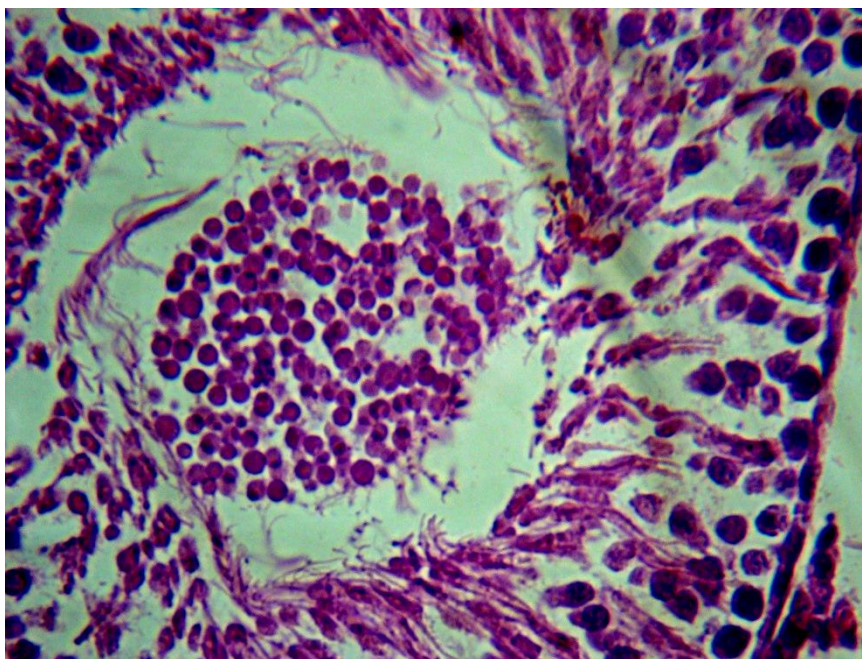
شکل ۳- مقطع بافتی بیضه در موش‌های تیمارشده با ناندرولون دکانات (رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-اوتوزین، درشت‌نمایی  $\times 100$ ).



شکل ۴- مقطع بافتی بیضه در موش‌های تیمارشده با تستوسترون انانتات (رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-اوتوزین، درشت‌نمایی  $\times 100$ ).



شکل ۵- مقطع بافتی لوله‌های منی‌ساز در بیضه موش‌های تیمار شده با تستوسترون انانتات (رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین، درشت‌نمایی ۱۰۰×).



شکل ۶- مقطع عرضی لوله‌های منی‌ساز در بیضه موش‌های تیمار شده با ناندرولون دکانات (رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین، درشت‌نمایی ۱۰۰×).

## بحث و نتیجه‌گیری

نتایج به‌دست‌آمده در مطالعه حاضر نشان داد که داروی ناندرولون دکانات با وجود اثر منفی بر ضرایب اسپرماتوزنز، اما نمی‌تواند تأثیر معنی‌داری بر آن‌ها داشته باشد (جدول ۲). این در حالی است که تستوسترون انانات نسبت به ناندرولون دکانات اثر منفی بیشتری روی ضرایب اسپرماتوزنز داشت و این تأثیر کاملاً معنی‌دار بود (جدول ۲) و استفاده از آن می‌تواند ریسک بالاتری از نظر کاهش باروری را موجب می‌شود. همچنین تحقیق ما نشان داد که اثرات تخریبی تستوسترون انانات در درازمدت نسبت به ناندرولون دکانات بر بافت بیضه و تولید اسپرم به‌مراتب بیشتر است. به‌گونه‌ای که هر دو دارو باعث اثر منفی معنی‌داری بر قطر لوله منی‌ساز و ارتفاع اپیتلیوم لوله منی‌ساز نسبت به گروه شاهد شدند (جدول ۱). گفتنی است تفاوت میزان تأثیر منفی دو گروه دارویی بر قطر لوله منی‌ساز دارای اختلاف معنی‌دار ولی بر ارتفاع اپیتلیوم لوله منی‌ساز فاقد اختلاف معنی‌دار بود (جدول ۱). همچنین تأثیر داروها بر ضخامت بافت بینابینی در تحقیق حاضر نیز منفی و به‌صورت افزایش کاملاً معنی‌دار ضخامت مذکور بود (جدول ۱).

نتایج پژوهش مطالبی و همکاران که در سال ۲۰۱۳ در مورد تغییرات هیستولوژیک بیضه در موش‌های صحرایی درمان شده با تستوسترون، ناندرولون و استانوزولول صورت گرفته، نشان داده که کاهش معنی‌داری در وزن مطلق بیضه‌ها در تمام گروه‌های تجربی به‌جز در گروه درمان‌شده با ناندرولون با دوز ۲/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم در هفته مشاهده شده است. همچنین بافت‌شناسی بیضه موش‌های تحت

درمان با داروهای فوق نیز تغییرات جزئی در یکنواختی آرایش لوله‌های اسپرم‌ساز را در همه گروه‌ها نشان داد (Mutalip *et al.*, 2013) که نتایج مذکور با یافته‌های مطالعه حاضر همخوانی دارد (شکل ۶). جنتی‌فر و همکاران در سال ۲۰۱۵ در بررسی اثر دوز فوق فیزیولوژیک ناندرولون دکانات بر بافت بیضه و غلظت تستوسترون ۴۰ سر موش صحرایی بالغ دریافتند که در تمام گروه‌های تجربی، اندازه بیضه و قطر لوله‌های اسپرم‌ساز در استفاده طولانی‌مدت از دارو کاهش یافته و در نهایت تعداد اسپرم هم در همه گروه‌های مذکور نسبت به گروه کنترل کاهش شدیدی پیدا کرده‌است (Jannatifar *et al.*, 2015) که نتایج مذکور کاملاً مشابه با یافته‌های مطالعه ما است (شکل ۲).

نتایج مطالعه محمد و محمد در سال ۲۰۱۵ که تأثیر دوزهای مختلف ناندرولون دکانات، بر پراکسیداسیون لیپیدی، قطعه‌قطعه شدن DNA، ناهنجاری اسپرم و هیستوپاتولوژی بیضه موش‌های صحرایی نر را بررسی می‌کردند، در گروه تیمار شده با دوز بالا، سلول‌های اپیتلیال ژرمینال تحلیل رفته در لومینای لوله‌های اسپرم‌ساز را مشخص کرد و حتی لوله‌های منی‌ساز فاقد اسپرماتید و اسپرم در مقایسه با گروه شاهد و گروه تحت درمان با دوز پایین بودند. همچنین فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و غلظت تستوسترون در ۲ گروه تیمار در مقایسه با گروه شاهد، به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. با توجه به اینکه تجویز ناندرولون دکانات در دوزهای بالا و پایین منجر به بدتر شدن پارامترهای اسپرم، قطعه‌قطعه شدن DNA و آپوپتوز بیضه شد، در نتیجه، نامبردگان اعلام کردند که تجویز آن در دوزهای بالا بر پراکسیداسیون لیپیدی، فعالیت آنزیم‌های

(شکل ۶). همچنین مین و همکاران در سال ۲۰۱۸ طی مطالعه‌ای در مورد اثرات ناندرولون دکانات بر بیضه موش صحرایی، نشان دادند که درمان با داروی مذکور، منجر به تخلیه سلول‌های لیدینگ و ریزش سلول‌های زیای بیضه می‌شود و اثرات مخرب ناندرولون دکانات بر بیضه با دوز بالاتر در دوره طولانی‌تر درمان، آشکارتر بود (Min and Lee, 2018). اثرات مشاهده‌شده بر سلول‌های زیای بیضه در مطالعه حاضر همخوانی کامل با یافته‌های فوق دارد (شکل ۶). همچنین تورس‌کالیجا و همکاران در سال ۲۰۰۱ گزارش کرده‌اند که در ورزشکارانی که ناندرولون دکانات را به مدت طولانی مصرف کرده بودند، اولیگواسپرمی شدید و حتی آزواسپرمی در مورد این افراد، مشاهده شده‌است (Torres-Calleja et al., 2001). اختلالات اسپرماتوزن در شکل ۶ کاملاً با این یافته‌ها همخوانی دارد.

با توجه به یافته‌های تحقیق حاضر، به‌طور کلی می‌توان گفت که تجویز استروئیدهای آنابولیک در دوزهای معمول در طولانی‌مدت و در دوزهای فوق فیزیولوژیکی در کوتاه‌مدت، منجر به تغییرات هیستوپاتولوژیک متعددی در سیستم تولیدمثلی حیوانات نر گروه‌های تحت تیمار می‌شود. از آنجایی که تستوسترون یا مشتقات آن مانند ناندرولون دکانات معمولاً مورد استفاده سوء قرار می‌گیرند، لذا توجه به تأثیرات آن‌ها بر سیستم تولیدمثلی ضروری به نظر می‌رسد.

### سپاسگزاری

مقاله حاضر مستخرج از پایان‌نامه دکترای حرفه‌ای رشته دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی علوم پزشکی

آنتی‌اکسیدانی، ناهنجاری اسپرم، هیستوپاتولوژی، آپوپتوز و تغییرات DNA در مقایسه با گروه کنترل مؤثرتر است (Mohamed and Mohamed, 2015) که یافته‌های ذکر شده، همخوانی با مطالعه حاضر را نشان می‌دهد (شکل ۳). همچنین تهتمونی و همکاران در سال ۲۰۱۰ در بررسی اثرات تجویز ناندرولون دکانات بر سیستم تولیدمثل موش‌های صحرایی نر نشان دادند که تعداد مطلق سلول‌های اسپرماتوگونی و سرتولی نیز در موش‌ها به‌طور قابل‌توجهی کاهش یافت. نامبردگان اعلام کردند که تجویز استروئیدهای آنابولیک همچون تستوسترون یا مشتقات آن مانند ناندرولون دکانات در دوزهای فوق فیزیولوژیکی، منجر به تغییرات پاتولوژیک متعدد در سیستم تولیدمثل موش‌های تحت درمان می‌شود (Tahtamouni et al., 2010) که همخوانی با نتایج مطالعه ما را در شکل‌های ۴ و ۵ به‌طور کامل نشان می‌دهد.

گارسیا-مانسو و همکاران در سال ۲۰۱۶ در مطالعه پیامدهای استفاده از استروئیدهای آنابولیک-آندروژن بر مردان ورزشکار، دریافتند که مصرف استروئیدهای آنابولیک آندروژنیک (Anabolic Androgenic Steroids; AAS) مانند ناندرولون اثرات مضر بالقوه‌ای بر اندام‌های جنسی مردان و به‌ویژه بیضه‌ها دارد. نامبردگان گزارش کردند که تغییر اسپرماتوزن (الیگوزواسپرمی، آزواسپرمی، استنوزواسپرمی و تاراتوزواسپرمی)، آتروفی بیضه، ناتوانی جنسی و سایر عواقب با توجه به نحوه استفاده (نوع استروئید، دوز و زمان استفاده) تشدید می‌شوند (García-Manso and Valverde Esteve, 2016). اختلالات اسپرماتوزن در مطالعه حاضر نیز کاملاً مشابه یافته‌های این مطالعه است

تبریز می‌باشد. نویسندگان مقاله بر خود لازم می‌دانند که از مساعدت‌های مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز نیز تشکر و قدردانی نمایند.

### تعارض منافع

نویسندگان اعلام می‌دارند که هیچ‌گونه تضاد منافع ندارند.

### منابع

- Creasy, D.M. and Chapin, R.E. (2013). Male reproductive system. Haschek and Rousseaux's handbook of Toxicologic Pathology, pp: 2493-2598.
- De Melo Neto, J.S., De Campos Gomes, F., Pinheiro, P.F.F., Pereira, S., Scaran, W.R., Favaro, W.J. *et al.* (2015). The effects of high doses of nandrolone decanoate and exercise on prostate microvasculature of adult and older rats. *Life sciences*, 121: 16-21.
- De Ronde, W. and Smit, D.L. (2020). Anabolic androgenic steroid abuse in young males. *Endocrine Connections*, 9(4): 102-111.
- Dutta, S., Sengupta, P. and Muhamad, S. (2019). Male reproductive hormones and semen quality. *Asian Pacific Journal of Reproduction*, 8(5): 189-194.
- Feldman, A.T. and Wolfe, D. (2014). Tissue processing and hematoxylin and eosin staining. *Histopathology ,Methods and Protocols*: 31-43.
- García-Manso, J.M. and Valverde Esteve, T. (2016). Consequences of the use of anabolic-androgenic steroids for male athletes' fertility. *Exercise and human reproduction: induced fertility disorders and possible therapies*, 153-165.
- Gervasio, J.M., Dickerson, R.N., Swearingen, J., Yates, M.E., Yuen, C., Fabian, T.C., *et al.* (2000). Oxandrolone in trauma patients. *Pharmacotherapy: The Journal of Human Pharmacology and Drug Therapy*, 20(11): 1328-1334.
- Huang, A.W. and Muneyyirci-Delale, O. (2017). Reproductive endocrine issues in men with sickle cell anemia. *Andrology*, 5(4): 679-690.
- Jannatifar, R., Shokri, S., Farrokhi, A. and 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.
- Jockenhövel, F. (2004). Testosterone therapy-what, when and to whom? *The Aging Male*, 7(4): 319-324.
- King, K.E. and Ness, P.M. (2005). Treatment of autoimmune hemolytic anemia. In *Seminars in hematology*, 42(3): 131-136.
- Min, T. and Lee, K.H. (2018). Effects of nandrolone decanoate on expression of steroidogenic enzymes in the rat testis. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 31(5): 658-672.
- Mohamed, H.M. and Mohamed, M.A.H. (2015). Effect of different doses of nandrolone decanoate on lipid peroxidation, DNA fragmentation, sperm abnormality and histopathology of testes of male Wister rats. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 67(1): 1-11.

- Mutalip, S.S.M., Singh, G.K.S., Shah, A.M., Mohamad, M., Mani, V. and Hussin, S.N. (2013). Histological changes in testes of rats treated with testosterone, nandrolone, and stanozolol. *Iranian Journal of Reproductive Medicine*, 11(8): 653-658.
- O'Donnell, L., Stanton, P., and De Kretser, D.M. (2017). Endocrinology of the male reproductive system and spermatogenesis. In *Endocrinology of Male Reproduction* (pp: 1-69). Endotext. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK279031/>
- P Patanè, F.G., Liberto, A., Maria Maglito, A.N., Malandrino, P., Esposito, M., Amico, F., *et al.* (2020). Nandrolone decanoate: use, abuse and side effects. *Medicina*, 56(11): 606.
- Paustian, L., Chao, M.M., Hanenberg, H., Schindler, D., Neitzel, H., Kratz, C.P., *et al.* (2016). Androgen therapy in Fanconi anemia: a retrospective analysis of 30 years in Germany. *Pediatric Hematology and Oncology*, 33(1): 5-12.
- Rana, A., Lowe, A., Lithgow, M., Horback, K., Janovitz, T., Da Silva, A. *et al.* (2020). Use of deep learning to develop and analyze computational hematoxylin and eosin staining of prostate core biopsy images for tumor diagnosis. *JAMA network open*, 3: e205111-e205111.
- Riedl, M.A. (2015). Critical appraisal of androgen use in hereditary angioedema: a systematic review. *Annals of Allergy, Asthma & Immunology*, 114(4): 281-288.
- Slater, S., and Oliver, R.T.D. (2000). Testosterone: its role in development of prostate cancer and potential risk from use as hormone replacement therapy. *Drugs & aging*, 17(6): 431-439.
- Tahtamouni, L.H., Mustafa, N.H., Hassan, I.M., Ahmad, I.M., Yasina, S.R. and Abdallaa, M.Y. (2010). Nandrolone decanoate administration to male rats induces oxidative stress, seminiferous tubules abnormalities, and sperm DNA fragmentation. *Jordan Journal of Biological Sciences*, 3(4): 165-174.
- Torres-Calleja, J., Gonzalez-Unzaga, M., DeCelis-Carrillo, R., Calzada-Sanchez, L. and Pedron, N. (2001). Effect of androgenic anabolic steroids on sperm quality and serum hormone levels in adult male bodybuilders. *Life Sciences*, 68(15): 1769-1774.
- Vegunta, S., Kling, J.M. and Kapoor, E. (2020). Androgen therapy in women. *Journal of Women's Health*, 29(1): 57-64.
- Windfeld-Mathiasen, J., Dalhoff, K.P., Andersen, J.T., Klemp, M., Horwitz, A. and Horwitz, H. (2021). Male fertility before and after androgen abuse. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 106(2): 442-449.
-