

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

Sadeghi M.¹ MSc, Abbasi Dalooi A.* PhD, Ziaolhagh S.J.² PhD

*Exercise Physiology Department, Sport Sciences Faculty, Ayatollah Amoli Branch, Islamic Azad University, Amol, Iran

¹Exercise Physiology Department, Physical Education Faculty, Ayatollah Amoli Branch, Islamic Azad University, Amol, Iran

²Exercise Physiology Department, Sport Sciences Faculty, Shahrood Branch, Islamic Azad University, Shahrood, Iran

Abstract

Aims: Using anabolic androgenic steroids by athletes has significant side effects on sex hormones and the reproductive system. The aim of this study was to investigate the effect of 6 weeks of resistance exercise and Boldenone supplements on the expression of 5-alpha reductase and aromatase genes of the testis tissue in Wistar rats.

Material & Methods: In this experimental study, thirty 12-week old male Wistar rats with the average weight of 195.00±7.94 grams were divided randomly into 5 groups; control, sham, Boldenone supplements (2mg per each kilogram of body weight), resistance exercise and Boldenone exercise. Resistance exercise program was 5 sessions of climbing the ladder each week (3 sets of 5 repeats) for 6 weeks that was started by 50% of one maximum repetition and reached 100% at the end. The level of 5-alpha reductase and aromatase genes expression were measured after the anesthesia and the removal of the testes tissue in the samples. Data was analyzed by paired T, ANOVA and Tukey *post hoc* tests by using SPSS 22 software.

Findings: The average weight of all groups' mice were significantly increased in week 6 comparing to the first week ($p=0.0001$). There was significant increasing in 5-alpha-reductase expression in Boldenone and Boldenone exercise than the control group and also in the Boldenone exercise than resistance exercise group after the intervention. There was significant increasing in aromatase gene expression in resistance exercise and Boldenone exercise groups than the control group ($p<0.05$).

Conclusion: Boldenone supplement along with 6 weeks of resistance exercise increases the levels of 5-alpha reductase and aromatase genes expression in testis tissue of Wistar rats.

Keywords

Resistance Training [<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh/68055070>];

Boldenone [<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh/67013915>];

5-alpha Reductase [<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh/68013741>];

Aromatase [<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh/68001141>];

Testis [<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh/68013737>]

* Corresponding Author

Tel: +98 (11) 44150949

Fax: +98 (11) 44150949

Address: Sport Sciences Faculty, Islamic Azad University, Ayatollah Amoli Branch, Old road Amol, Amol, Iran
abbasi.dalooi@gmail.com

Received: July 4, 2016

Accepted: February 15, 2017

ePublished: July 22, 2017

اثر ۶ هفته تمرین مقاومتی و مکمل بولدنون بر بیان ژن‌های ۵-آلفا ردوکتاز و آروماتاز در بافت بیضه موش‌های صحرایی ویستار

مسعود صادقی MSc

گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی، واحد آیت‌اله آملی، دانشگاه آزاد اسلامی، آمل، ایران

آسیه عباسی دلویی PhD

گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، واحد آیت‌اله آملی، دانشگاه آزاد اسلامی، آمل، ایران

سیدجواد ضیاءالحق PhD

گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، واحد شاهرود، دانشگاه آزاد اسلامی، شاهرود، ایران

چکیده

اهداف: مصرف استروئیدهای آنابولیک آندروژنیک توسط ورزشکاران، اثرات جانبی مهمی بر هورمون‌های جنسی و دستگاه تناسلی دارد. هدف این تحقیق، بررسی اثر ۶ هفته تمرین مقاومتی و مکمل بولدنون بر بیان ژن‌های ۵-آلفا ردوکتاز و آروماتاز بافت بیضه در موش‌های صحرایی ویستار بود.

مواد و روش‌ها: در این پژوهش تجربی، ۳۰ سر موش صحرایی نر ویستار ۱۲ هفته‌ای و میانگین وزن $195/00 \pm 7/94$ گرم به‌صورت تصادفی در ۵ گروه (کنترل؛ شام؛ مکمل بولدنون (۲ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن)؛ تمرین مقاومتی؛ تمرین - بولدنون) قرار گرفتند. برنامه تمرین مقاومتی، ۵ جلسه (۳ ست با ۵ تکرار) صعود از نردبان در هر هفته طی ۶ هفته بود که با ۵۰٪ یک تکرار بیشینه شروع شد و به ۱۰۰٪ رسید. پس از بیپوشی و برداشت بافت بیضه، میزان بیان ژن‌های ۵-آلفا ردوکتاز و آروماتاز در نمونه‌ها اندازه‌گیری شد. داده‌ها با استفاده از آزمون‌های T همبسته، تحلیل واریانس یک‌طرفه و تعقیبی توکی به‌کمک نرم‌افزار SPSS 22 تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: میانگین وزن موش‌ها در همه گروه‌ها در هفته ششم نسبت به هفته اول به‌طور معنی‌داری افزایش یافت ($p=0/001$). پس از مداخله، بیان ژن ۵-آلفا ردوکتاز در گروه بولدنون و تمرین - بولدنون نسبت به گروه کنترل و در گروه تمرین - بولدنون نسبت به گروه تمرین مقاومتی افزایش معنی‌دار داشت. همچنین تغییرات بیان ژن آروماتاز در گروه تمرین مقاومتی و تمرین - بولدنون نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌داری یافت ($p<0/05$).

نتیجه‌گیری: مکمل بولدنون به‌همراه ۶ هفته تمرین مقاومتی سطوح بیان ژن‌های ۵-آلفا ردوکتاز و آروماتاز را در بافت بیضه موش‌های صحرایی ویستار افزایش می‌دهد.

کلیدواژه‌ها: تمرین مقاومتی، بولدنون، ۵-آلفا ردوکتاز، آروماتاز، بافت بیضه

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۰۴/۱۴

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۱۱/۲۷

*نویسنده مسئول: abbasi.dalooi@gmail.com

مقدمه

طی دهه‌های گذشته، استروئیدهای آنابولیک آندروژنیک در میان ورزشکاران برای بهبود عملکرد و به دلایل زیبایی‌شناختی محبوبیت زیادی پیدا کرده‌اند. سوء استفاده از استروئیدهای آنابولیک آندروژنیک به ورزشکاران نخبه محدود نمی‌شود، این عمل در میان بسیاری از ورزشکاران آماتور و تفریحی نیز ثابت شده است [1]. مکانیزم عمل استروئیدهای آنابولیک آندروژنیک ممکن است بین ترکیبات آنها به‌دلیل تغییرات در مولکول استروئید و میل ترکیبی آنها به گیرنده‌های آندروژنی متفاوت باشد. چندین مسیر عمل شناخته شده است، از جمله اینکه به‌نظر می‌رسد آنزیم ۵-آلفا ردوکتاز نقش مهمی به‌وسیله تبدیل استروئیدهای آنابولیک آندروژنیک به دی‌هیدروتستوسترون که در هسته سلول اندام‌های هدف مانند غدد و پروستات مردان عمل می‌کند، ایفا نماید. ۵-آلفا ردوکتاز در بسیاری از بافت‌ها از جمله دستگاه تناسلی، بیضه و

تخمدان در هر دو جنس نر و ماده تولید می‌شود و یکی از سوبستراهای ویژه آن تستوسترون است [1]. مکانیزم دیگر شامل میانجی‌گری توسط آنزیم آروماتاز است که تبدیل استروئیدهای آنابولیک آندروژنیک در هورمون‌های جنسی زنانه (استرادیول و استرون) را انجام می‌دهد. این آنزیم عمل آنتاگونیستی روی استروژن دارد و همچنین یک آنتاگونیسم رقابتی برای گیرنده‌های گلوکوکورتیکوئید است [1].

بولدنون، یک استروئید آنابولیک آندروژنیک مشتق شده از هورمون تستوسترون است که مصرف آن با توجه به اثرات نامطلوب آن بر بدن انسان ممنوع شده است [2]. این استروئید به‌طور مستقیم برای حجیم‌شدن عضلات مورد استفاده قرار می‌گیرد. با این حال در مورد اثرات سوء آن بر بافت‌های مختلف بدن از جمله ساختار و آنزیم‌های بیضه اطلاعات کمی وجود دارد. تحقیقات نشان می‌دهند که در کوتاه‌مدت تجویز استروئیدهای آنابولیک آندروژنیک توسط ورزشکاران می‌تواند قدرت و وزن بدن را افزایش دهد. با این حال، از آنجا که استروئیدهای آنابولیک آندروژنیک از تستوسترون مشتق می‌شوند، اثرات مهمی روی هورمون‌های جنسی و دستگاه تناسلی اعمال می‌کنند. آنها محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-گناد که به‌عنوان یک سیستم بازخورد عمل می‌کند را سرکوب می‌کنند. در نتیجه، استفاده برون‌زاد از استروئیدهای آنابولیک آندروژنیک، تولید درون‌زای تستوسترون و گنادوتروپین را مختل می‌کند. در مردان، سرکوب تولید هورمون گنادوتروپین باعث آتروفی بیضه می‌شود [3]. در همین راستا، در مطالعات انجام شده کاهش معنی‌دار در وزن بیضه‌ها [4]، کاهش معنی‌دار در سطح تستوسترون سرم [5] و وجود ضایعات شدید در بیضه [6] نشان داده شده است.

همچنین در موش‌های تحت درمان با مورفین افزایش در مقادیر بیان ژن ۵-آلفا ردوکتاز در کبد و بیان ژن آروماتاز در مغز و گنادها مشاهده شده است [7]. با این حال تاثیر استروئیدهای آنابولیک بر عملکرد این آنزیم‌ها در دستگاه تناسلی مورد بررسی قرار نگرفته است. مطالعات نشان داده‌اند که تمرین استقامتی روی ترمیم بیان آروماتاز و ۵-آلفا ردوکتاز در عضلات اسکلتی موش‌های تمرین‌کرده را به‌طور معنی‌داری افزایش می‌دهد [8]. علاوه بر این، محققان در پژوهشی در مورد اثرات مهارکننده ۵-آلفا ردوکتاز و آروماتاز بر پروفایل هورمونی در ورزشکاران تمرین‌کرده مقاومتی به‌مدت ۸ هفته دریافتند که ۵۰۰ میلی‌گرم دریافت روزانه مکمل مهارکننده ۵-آلفا ردوکتاز، بر میزان تستوسترون بدن تاثیرگذار است [9]. مطالعات ممکن است اثر واقعی (نامطلوب) متعاقب استفاده از استروئید را نشان ندهند.

از طرفی، استروئیدهای آنابولیک آندروژنیک مشتقات مصنوعی متشکل از هورمون تستوسترون هستند که می‌توانند اثرات قوی بر بدن انسان اعمال کنند، به‌طوری که ممکن است برای عملکرد ورزشی مفید باشند. بیش از ۶۰ نوع مختلف استروئیدهای آنابولیک آندروژنیک به‌راحتی در بازار موجود است که برای بیماران مبتلا به بیماری‌هایی مانند هیپوگنادیسم، ضعف مرتبط با بیماری ایدز، سرطان، سوختگی، نارسایی کلیوی، کبدی و کم‌خونی همراه با سرطان خون تجویز می‌شوند [10]. صرف نظر از استفاده دارویی، استفاده غیرقانونی از استروئیدهای آنابولیک آندروژنیک طی چند دهه گذشته با قصد سوء مصرف مواد و مقاصد زیبایی‌شناختی به‌طور گسترده در کشورهای در حال توسعه و کشورهای توسعه‌یافته افزایش یافته است.

اگر چه سازمان‌های ورزشی و رسانه‌ها به سوء استفاده از استروئیدهای آنابولیک آندروژنیک توجه کمی نشان داده‌اند، اما

پروتکل تمرین مقاومتی: تمرین مقاومتی شامل ۶ هفته صعود از نردبان ۷۶ سانتی‌متر با ۴۷ پله و عرض ۱۹ سانتی‌متر با زاویه ۸۰ درجه و دارای استراحتگاه در بالا (ندای مهندسی ورزشی پارس، ژیروتک؛ ایران) بود. به‌منظور تعیین وزنه مناسب هر ۴ روز یک‌بار وزن موش‌ها اندازه‌گیری می‌شد. هر جلسه تمرین شامل ۳ ست با ۵ تکرار بود که در فاصله بین هر ست یک دقیقه استراحت گنجانده شده بود. تمرین پس از بستن وزنه به دم موش صحرایی انجام می‌شد. در هفته اول، میزان وزنه‌های بسته‌شده به دم موش‌ها ۵۰٪ یک تکرار بیشینه (1RM) هر حیوان بود که در روز قبل از شروع تمرین مقاومتی محاسبه شده بود. این مقدار در هر هفته ۱۰٪ افزایش یافت تا به ۱۰۰٪ در هفته پایانی رسید. حیوانات در طول ۲ هفته قبل از شروع تمرینات با صعود از نردبان آشنا شدند که در صورت امتناع با تحریک دستی وادار به صعود می‌شدند. بار پایانی به‌عنوان ظرفیت حمل بیشینه آن جلسه در نظر گرفته می‌شد[12].

مراحل نمونه‌گیری بافت بیضه و اندازه‌گیری بیان ژن آنزیم‌ها: در پایان مطالعه، پس از ۱۲ ساعت ناشتایی حیوانات وزن شده و برای نمونه‌گیری بی‌هوش شدند. بی‌هوشی با استفاده از محظله شیشه‌ای درب‌دار (دسیکاتور)، حاوی پنبه آغشته به کلروفورم (مرک؛ آلمان) انجام شد. پس از گذشت ۴۰ تا ۵۰ ثانیه حیوان در بی‌هوشی مناسب قرار گرفت. پس از بی‌هوشی با ثابت‌کردن حیوان روی تخته جراحی جوندگان، کالبدشکافی انجام شده و بلافاصله بافت بیضه برداشته شد. نمونه‌گیری بافت بیضه از ۵ گروه پس از مداخله متغیرهای مستقل انجام شد و تغییرات بیان ژن آنزیم‌ها در بافت بیضه آنها مطالعه شده و سپس مورد مقایسه قرار گرفت.

استخراج RNA کامل: برای استخراج RNA کامل ابتدا بافت از دمای ۸۰°C- خارج و پس از وزن‌کردن در بافر فسفات (فنیل‌متیل‌سولفونیل‌فلوراید ۱/۰٪؛ PMFS) توسط هموژنایزر به‌خوبی هم‌زنده شد و به‌وسیله کیت جداسازی با شماره کاتالوگ ۱۱۶۶۷۱۵۷۰۱ (Roche؛ آلمان) و طبق دستورالعمل آن، کلیه RNAهای بافت استخراج شد. سپس RNA استخراج‌شده در ۵۰ میکرولیتر از آب فاقد RNase حل شد و کیفیت RNA تخلیص‌شده توسط دستگاه اسپکتروفتومتر مورد ارزیابی قرار گرفت. همچنین RNA استخراج‌شده در ژل آگاروز ۰/۸٪ الکتروفورز و به‌وسیله ایندیوم‌بروماید برای بررسی و تایید کیفیت و کمیت RNA رنگ‌آمیزی شد و پس از اطمینان از صحت RNA تخلیص‌شده وارد مرحله بعدی شد.

تولید DNA مکمل (cDNA): مقدار یک میکروگرم از RNA استخراج‌شده برای تولید cDNA توسط کیت AccuPowerR CycleScriptRT PreMix (dn6) با شماره کاتالوگ ۲۰۴۴ (Bioneer؛ کره‌جنوبی) مورد استفاده قرار گرفت. به‌منظور تولید cDNA از مسترمیکس شامل آب فاقد RNase و پرایمر رندوم (۵۰ میلی‌مولار) استفاده شد. طبق دستورالعمل کیت، ابتدا مخلوط در دمای ۴۲°C به مدت ۶۰ دقیقه و پس از آن به مدت ۵ دقیقه در دمای ۹۵°C انکوبه شد (جدول ۱).

پس از تهیه cDNA به‌عنوان نمونه الگو به‌روش ریل‌تایم PCR با دستگاه مدل ۷۵۰۰ (ABI؛ ایالات متحده) تغییرات بیان ژن ($2^{-\Delta\Delta Ct}$) در آنزیم‌های ۵-آلفا ردوکتاز و آروماتاز در نمونه‌ها طبق دستورالعمل دستگاه اندازه‌گیری شد.

طی انجام تحقیق، اصول اخلاقی در مورد نحوه کار با حیوانات آزمایشگاهی از جمله دردسترس‌بودن آب و غذا، شرایط نگهداری مناسب و عدم اجبار در تمرینات مد نظر قرار گرفت. در شروع و

این مورد یک نگرانی پزشکی قابل توجه در میان ورزشکاران به‌شمار می‌رود. در سال‌های اخیر گزارش‌های بسیاری در مورد اثرات جانبی این مواد در ورزشکاران منتشر شده است[11]. بسیاری از عوارض جانبی با سوء استفاده از استروئیدهای آنابولیک آندروژنیک در ارتباط هستند، از جمله اختلال در غدد درون‌ریز و عملکرد دستگاه ایمنی بدن، تغییرات سیستم چربی و پوست، تغییرات دستگاه هموستاتیک و دستگاه تناسلی. مطالعات نشان داده‌اند که استفاده از استروئیدهای آنابولیک آندروژنیک ممکن است غلظت گنادوتروپین سرم را به‌میزان چشمگیری کاهش دهد و میزان تستوسترون سرم نیز کاهش خواهد یافت[1].

با توجه به مصرف گسترده استروئیدهای آنابولیک آندروژنیک توسط ورزشکاران و اثرات جانبی آن روی دستگاه تناسلی و اینکه در ایران این داروها بدون هیچ نظارتی توسط افراد بدون صلاحیت به ورزشکاران و جوانان در سطح وسیع تجویز می‌شوند، نتایج این تحقیق می‌تواند به شناخت بهتر ورزشکاران از این داروها کمک نماید. بنابراین انجام تحقیق در این زمینه ضروری به‌نظر می‌رسد. اگر چه تجویز استروئیدهای آنابولیک آندروژنیک ممکن است بر غلظت اریتروسیت‌ها و هموگلوبین خون تاثیر بگذارد، هیچ تاثیری بر عملکرد استقامتی مشاهده نشده است[1]. همچنین اطلاعات کمی در مورد اثرات استروئیدهای آنابولیک آندروژنیک بر پاسخ آنزیم‌های دستگاه تناسلی طی تمرین مقاومتی موجود است، بنابراین نتیجه‌گیری واضحی وجود ندارد.

با توجه به موارد یادشده، هدف از این تحقیق، بررسی اثر ۶ هفته تمرین مقاومتی و مکمل بولدنون بر بیان ژن ۵-آلفا ردوکتاز و آروماتاز بافت بیضه در موش‌های صحرایی نژاد ویستار بود.

مواد و روش‌ها

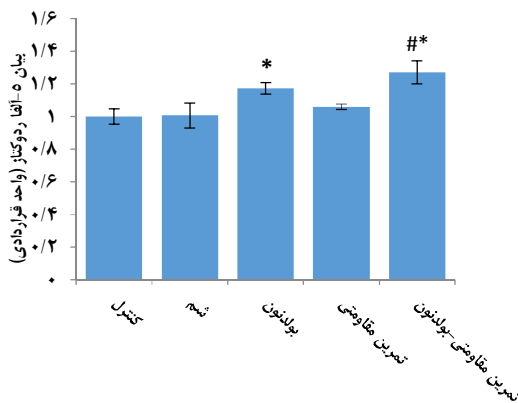
در این پژوهش تجربی، تعداد ۳۰ سر موش صحرایی نژاد ویستار با سن ۱۲ هفته و میانگین وزن اولیه ۱۹۵/۰۰±۷/۹۴ گرم از پژوهشکده علمی کاربردی دامغان تهیه شد. حیوانات در قفسه‌های مخصوص جوندگان از جنس پی‌وی‌سی با درپوش توری فلزی که کف آنها با تراشه‌های تمیز چوب پوشانده شده بود، قرار داشتند. دمای اتاق ۲۲/۰±۱/۴°C با رطوبتی معادل ۶۵-۷۵٪ بود. نمونه‌ها طبق چرخه ۱۲ ساعت خواب و بیداری، با دردسترس بودن آب و غذا که غذای مورد استفاده آنها، غذای فشرده و آماده مخصوص موش (ساخت کارخانه خوراک گرگان؛ ایران) و آب مصرفی، آب تصفیه‌شده شهری بود و در ظرف آب‌خوری از جنس پی‌وی‌سی در دسترس گروه حیوانات قرار می‌گرفت، نگهداری شدند.

به‌منظور انجام تحقیق، موش‌ها به‌صورت تصادفی در پنج گروه (۶ سر موش در هر گروه) به‌صورت زیر قرار گرفتند:

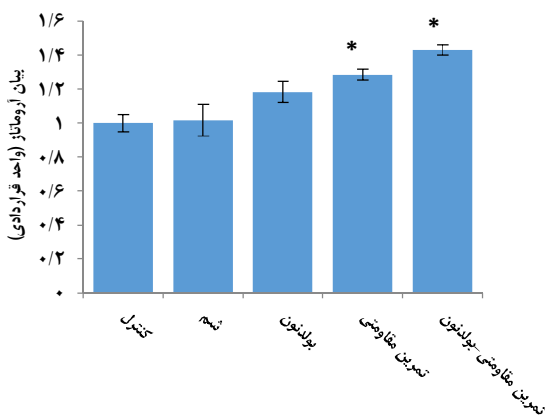
- ۱- گروه کنترل (بدون تمرین+ تزریق دارونما)
- ۲- گروه شم (بدون تمرین+ تزریق روغن زیتون)
- ۳- گروه مکمل بولدنون (بدون تمرین+ تزریق بولدنون به‌میزان ۲ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن)
- ۴- گروه تمرین مقاومتی (تمرین مقاومتی+ تزریق دارونما)
- ۵- گروه تمرین- بولدنون (تمرین مقاومتی+ تزریق بولدنون به‌میزان ۲ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن)

تزریق دارو به حیوان توسط سرنگ انسولین مدرج به‌صورت یک‌بار در هفته، راس ساعت معین (ساعت ۱۱ صبح) و در یک روز مقرر در هفته، در عضلات چهارسر و پشت ران به‌صورت عمیق انجام می‌شد. گروه کنترل نیز محلول فیزیولوژیک نرمال‌سالین یا محلول سدیم کلرید ۰/۰۹٪ را دریافت می‌کردند.

افزایش معنی‌داری یافت. با این وجود، تغییرات بیان ژن آروماتاز در گروه تمرین مقاومتی و تمرین-بولدنون نسبت به گروه بولدنون و در گروه تمرین-بولدنون نسبت به گروه تمرین مقاومتی تفاوت معنی‌داری نداشت ($p>0/05$; نمودار ۲).



نمودار ۱) تغییرات بیان ژن ۵-آلفا ردوکتاز در گروه‌های مورد مطالعه پس از دوره مداخله (تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل؛ تفاوت معنی‌دار با گروه تمرین مقاومتی)



نمودار ۲) تغییرات بیان ژن آروماتاز در گروه‌های مورد مطالعه پس از دوره مداخله (تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل)

بحث

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که تمرین مقاومتی به همراه مصرف مکمل بولدنون موجب افزایش معنی‌دار در بیان ژن ۵-آلفا ردوکتاز شد. بنابراین به نظر می‌رسد بولدنون و تمرین مقاومتی به همراه مکمل بولدنون می‌توانند موجب افزایش سطح بیان ژن ۵-آلفا ردوکتاز شوند. با این وجود، تمرین مقاومتی به تنهایی تأثیر معنی‌داری بر بیان ژن ۵-آلفا ردوکتاز نداشت.

تستوسترون، فراوان‌ترین آندروژن موجود در سرم است که توسط سلول‌های لایدیگ بیضه تحت کنترل هیپوتالاموس و غده هیپوفیز قدامی سنتز می‌شود. تستوسترونی که از گردش خون توسط سلول‌ها از طریق فرآیندهای مختلف گرفته می‌شود، هنوز به درستی شناخته نشده است. تستوسترون درون سلولی از طریق ۵-آلفا ردوکتاز که لیگاند ترجیح‌داده شده برای انتقال فعال گیرنده آندروژن است، به دی‌هیدروتستوسترون تبدیل می‌شود. پس از اتصال لیگاند و انتقال فعال، کمپلکس دی‌هیدروتستوسترون و گیرنده

پایان دوره قبل از کشتن و نمونه‌برداری، حیوانات به طور دقیق توسط ترازوی دیجیتال با حساسیت دو رقم اعشار وزن شده و اعداد به دست آمده بر حسب گرم ثبت شدند. همه آزمایشات بر اساس خط‌مشی‌های قرارداد هلسینکی اجرا شد و توسط کمیته اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی واحد آیت‌آملی مورد بررسی و تأیید قرار گرفت.

جدول ۱) توالی پرایمرها

آنزیم	توالی
گلیسرآلدئید ۳-فسفات دهیدروژناز (GAPDH)	
رشته پیش‌رو	5' ACATCAAGAAGGTGGTGAAGCAG 3'
رشته معکوس	5' TCAAAGGTGAAGAATGGGAGTT 3'
آروماتاز	
رشته پیش‌رو	5' ATGGCAGATTCTTGTGGATGG 3'
رشته معکوس	5' GGACTTGCTGATGATGAGTGTCTC 3'
ردوکتاز	
رشته پیش‌رو	5' GACCCATCCCTGTTTCCTGAC 3'
رشته معکوس	5' GCCTCCCTGGGTATCTTGTA 3'

برای کسب اطمینان از طبیعی بودن توزیع داده‌ها از آزمون کولموگروف-اسمیرنوف استفاده شد. سپس از آزمون T همبسته برای بررسی تغییرات درون‌گروهی و از آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی توکی برای بررسی تغییرات بین‌گروهی استفاده شد. تمام عملیات آماری پژوهش با استفاده از نرم‌افزار SPSS 22 صورت گرفت.

یافته‌ها

میانگین وزن موش‌ها در تمامی گروه‌های مورد مطالعه در دوره بعد از مداخله نسبت به دوره قبل از مداخله به طور معنی‌داری افزایش یافت ($P=0/000$). با این وجود، بعد از مداخله بین میانگین وزن موش‌ها در گروه‌ها تفاوت معنی‌داری وجود نداشت ($P>0/05$; جدول ۲).

جدول ۲) مقایسه میانگین آماری وزن موش‌ها در گروه‌های مورد مطالعه در هفته اول و ششم (تعداد در هر گروه = ۶ سر)

گروه کنترل	گروه شم	گروه مکمل بولدنون	گروه تمرین مقاومتی	گروه تمرین-بولدنون
وزن در هفته اول (گرم)	185/00±2/38	186/00±1/50	195/00±2/16	195/00±2/90
وزن در هفته ششم (گرم)	281/43±2/10	289/00±4/33	273/86±4/79	278/10±4/40

پس از مداخله، بین میانگین بیان ژن آنزیم ۵-آلفا ردوکتاز موش‌های نر ویستار در گروه‌های مختلف، تفاوت معنی‌دار وجود داشت ($P=0/000$). به این صورت که تغییرات بیان ژن ۵-آلفا ردوکتاز در گروه بولدنون ($P=0/046$) و تمرین-بولدنون ($P=0/001$) نسبت به گروه کنترل و در گروه تمرین-بولدنون نسبت به گروه تمرین مقاومتی ($P=0/019$) افزایش معنی‌دار داشت. اما تغییرات بیان ژن این آنزیم در گروه تمرین-بولدنون و در گروه تمرین مقاومتی نسبت به گروه بولدنون تفاوت معنی‌داری نداشت ($P>0/05$; نمودار ۱).

همچنین بین میانگین بیان ژن آنزیم آروماتاز موش‌های نر ویستار در گروه‌های مختلف تحقیق، تفاوت معنی‌دار مشاهده شد ($P=0/000$). تغییرات بیان ژن آروماتاز در گروه تمرین مقاومتی ($P=0/017$) و تمرین-بولدنون ($P=0/000$) نسبت به گروه کنترل

است. فعالیت آروماتاز غلظت استروژن را با اثرات آندوکراین، پاراکرین و اتوکراین بر بافت‌های هدف تنظیم می‌کند^[16]. در رابطه با تاثیر تمرین و استروئیدهای آنابولیک بر بیان ژن آروماتاز تحقیقات اندکی انجام شده است. در همین رابطه، *ایزوا* و همکاران^[8] در تحقیقی روی آنزیم‌ها و هورمون‌های جنسی استروئیدی در عضلات اسکلتی بعد از ورزش استقامتی طولانی‌مدت روی تردمیل نشان دادند که بیان ژن آروماتاز در عضلات اسکلتی موش‌های تمرین‌کرده به‌طور معنی‌داری بالاتر از موش‌های گروه کنترل بود. همچنین میزان پروتئین آروماتاز در عضلات اسکلتی موش‌های تمرین‌کرده نیز به‌طور معنی‌داری بالاتر از موش‌های گروه کنترل بود. نتایج تحقیق حاضر با یافته‌های *ایزوا* و همکاران^[8] مبنی بر افزایش سطوح بیان ژن آروماتاز پس از دوره تمرینات همخوان است.

آنزیم آروماتاز مرحله نهایی تبدیل استروئیدهای ۱۹کربنه به استروژن‌ها را کاتالیز می‌کند. اگر چه تستوسترون به‌عنوان استروئید اصلی جنسی در مردان شناخته می‌شود، استروژن‌ها در بیضه تولید می‌شوند و به‌طور کلی بالاترین سطوح آنها درون مجرای تناسلی مرد است^[17]. به هر حال نقش استروژن‌ها در تولید مثل مردان به‌طور کامل شناخته نشده است و بنابراین باید به‌طور گسترده مورد بررسی قرار گیرد^[18]. مشخص شده است که مهارکننده‌های آروماتاز بلوغ اسپرماتید را در موش و میمون کاهش می‌دهند^[19]. ووت و همکاران^[20] در پژوهشی در مورد بیان ژن آروماتاز در مغز بلدرچین نر و ماده نشان دادند که اگر چه القای فعالیت آروماتاز توسط تستوسترون به افزایش رونویسی آنزیم منجر می‌شود، تفاوت‌های جنسی در فعالیت آنزیم به‌طور گسترده‌ای به عوامل بعد از رونویسی بستگی دارد.

علاوه بر این، موش نر که فاقد ژن آروماتاز عملکردی یا گیرنده‌های استروژن است، تغییراتی از اسپرمانتوز را نشان داده که به‌تدریج به نابرابری ختم می‌شود^[21]. توانایی بیضه در تبدیل آندروژن به استروژن‌ها به حضور کمپلکس آنزیمی میکروزومال که آروماتاز نامیده می‌شود، بستگی دارد. *بورگوئینا* و همکاران^[22] در پژوهشی به بررسی کنترل استروئیدی بیان ژن آروماتاز در سلول‌های جنسی موش‌های نر بزرگسال پرداختند. نتایج آنها نشان داد تستوسترون خروجی استرادیول را در هر دو سلول زایا افزایش می‌داد، در حالی که ۵-آلفا دی‌هیدروتستوسترون کارایی نداشت. بنابراین پیشنهاد کردند که اثر آندروژن‌ها بر بیان ژن آروماتاز مستقل از تشکیل استروژن است. در حقیقت استرادیول بیان ژن آروماتاز را مهار می‌کند. این مشاهدات نشان می‌دهد که آندروژن‌ها بیان ژن آروماتاز را در سلول‌های جنسی موش‌های صحرایی بزرگسال افزایش می‌دهند، در حالی که استروژن‌ها اثر مخالف دارند که ممکن است نشان‌دهنده حضور عناصر پاسخگوی آندروژن و استروژن روی پروموتورهای آروماتاز باشد.

وکاموتو و همکاران^[15] نیز در پژوهشی عنوان کردند که فعالیت دوییدن منظم، دی‌هیدروتستوسترون در هیپوکامپ را افزایش می‌دهد که این مساله از طریق مسیر گلوتامتریکی ایجادشده نورون‌ها را در هیپوکامپ افراد بزرگسال تقویت می‌کند. سطوح ۵-آلفا ردوکتاز به‌طور معنی‌داری پس از فعالیت دوییدن منظم افزایش یافت. همچنین مقادیر دی‌هیدروتستوسترون نیز افزایش پیدا کرد، در حالی که مقادیر تستوسترون بعد از ۲ هفته فعالیت دوییدن روی تردمیل افزایش معنی‌داری نداشت. نتایج تحقیق حاضر با یافته‌های *ایزوا* و همکاران^[8] و *وکاموتو* و همکاران^[15] مبنی بر افزایش سطوح بیان ژن ۵-آلفا ردوکتاز پس از دوره تمرینات همخوان نیست. به‌نظر می‌رسد نوع تمرین و محل بافت مورد نظر برای اندازه‌گیری بیان ژن ۵-آلفا ردوکتاز پس از دوره تمرینات تاثیرگذار باشد.

همچنین نتایج نشان داد که بین میانگین بیان ژن آروماتاز موش‌های نر ویستار در گروه‌های مختلف تفاوت وجود دارد. نتایج نشان داد بیان ژن آروماتاز در گروه تمرین مقاومتی و تمرین مقاومتی-مکمل بولدون نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌داری یافت. همان‌طور که ذکر شد، آروماتاز جزء ویژه‌ای از سیستم آنزیمی سیتوکروم P450 است که مسئول تبدیل پیش‌سازهای آندروژن به استروژن در بسیاری از بافت‌های بدن از جمله بیضه

توسط تحریک سنتز پروتئین و کاهش تخریب پروتئین به وجود می‌آید^[30]. همچنین افزایش در وزن بدن ممکن است به افزایش در پروتئین تام سرم و گلوبولین نسبت داده شود که نشان‌دهنده بهبود در سلامتی و ایمنی بدن است، البته در مطالعه حاضر سطوح پروتئین کل و غلظت گلوبولین اندازه‌گیری نشده است.

علاوه بر این، عدم تحت کنترل قرارگرفتن دقیق رژیم غذایی (اندازه‌گیری انرژی دریافتی و مصرفی) از جمله محدودیت‌های تحقیق حاضر است. در نهایت، با توجه به نتایج این تحقیق پیشنهاد می‌شود که در تحقیقی مشابه تاثیر مهارکننده‌ها و تحریک‌کننده‌های ۵-آلفا ردوکتاز و آروماتاز به‌طور همزمان مورد بررسی قرار گیرد. همچنین همراه با ۵-آلفا ردوکتاز و آروماتاز سطوح هورمون‌های جنسی نیز اندازه‌گیری شود.

نتیجه‌گیری

مکمل بولدنون به همراه ۶ هفته تمرین مقاومتی می‌تواند سطوح بیان ژن‌های ۵-آلفا ردوکتاز و آروماتاز در بافت بیضه را در موش‌های صحرایی نژاد ویستار افزایش دهد.

تشکر و قدردانی: بدین وسیله نویسندگان تشکر و قدردانی خود را از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد آیت‌ا... آملی اعلام می‌دارند.

تاییدیه اخلاقی: این تحقیق با تایید کمیته اخلاق در دانشگاه آزاد اسلامی واحد آیت‌ا... آملی انجام شد.

تعارض منافع: نویسندگان مقاله اعلام می‌کنند که هیچ گونه تعارض منافعی وجود ندارد.

سهم نویسندگان: مسعود صادقی (نویسنده اول)، پژوهشگر اصلی (۳۰٪)؛ آسیه عباسی دلویی (نویسنده دوم) روش‌شناس/نگارگر مقدمه و بحث/تحلیل داده‌ها (۴۰٪)؛ سیدجواد ضیاءالحق (نویسنده سوم) پژوهشگر کمکی (۳۰٪)

منابع مالی: این تحقیق مستخرج از پایان‌نامه کارشناسی ارشد با کد شناسایی ۲۳۹۲۱۴۰۴۹۴۱۰۰۴ است که با حمایت معاونت محترم پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد آیت‌ا... آملی انجام شده است.

منابع

- 1- Hartgens F, Kuipers H. Effects of androgenic-anabolic steroids in athletes. *Sports Med.* 2004;34(8):513-54.
- 2- Sgoifo Rossi CA, Arioli F, Bassini A, Chiesa LM, Dell'Orto V, Montana M, et al. Evidence for false-positive results for boldenone testing of veal urine due to faecal cross-contamination during sampling. *Food Addit Contam.* 2004;21(8):756-62.
- 3- Bhasin S, Storer TW, Berman N, Berman N, Callegari C, Clevenger B, et al. The effects of supraphysiologic doses of testosterone on muscle size and strength in normal men. *New Engl J Med.* 1996;335:1-7.
- 4- 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.
- 5- Oda SS, El-Ashmawy IM. Adverse effects of the anabolic steroid, boldenone undecylenate, on reproductive functions of male rabbits. *Int J Exp Pathol.* 2012;93(3):172-8.
- 6- Oda SS, El-Ashmawy IM. Adverse effects of the anabolic steroid, boldenone undecylenate, on reproductive functions of male rabbits. *Int J Exp Pathol.* 2012; 93(3):172-8.

دو گروه تقسیم شدند. آزمودنی‌ها به مدت ۸ هفته و برای ۴ جلسه در هفته در این تحقیق شرکت کردند. محققان دریافتند که ۵۰۰ میلی‌گرم دریافت روزانه مکمل مهارکننده ۵-آلفا ردوکتاز، بر میزان تستوسترون تاثیرگذار است.

در تحقیق حاضر تغییرات بیان ژن آروماتاز در گروه تمرین مقاومتی و تمرین-مکمل بولدنون نسبت به گروه بولدنون تفاوتی نداشت. همچنین بین تغییرات بیان ژن آروماتاز در گروه تمرین-مکمل بولدنون نسبت به گروه تمرین مقاومتی تفاوتی مشاهده نشد. نتایج تحقیق حاضر با یافته‌های بورگوئیبا و همکاران^[22] مبنی بر افزایش سطوح بیان ژن آروماتاز پس از دوره مکمل‌گیری با بولدنون همخوان است.

در بسیاری از گونه‌ها تستوسترون روی مکان‌های عصبی کنترل‌کننده رفتار جنسی به‌طور مستقیم به‌عنوان یک آندروژن عمل نمی‌کند^[23]. در عوض تبدیل تستوسترون به ۱۷-بتا استرادیول که در منطقه پراپتیک مغز توسط آنزیم آروماتاز کاتالیز می‌شود، برای فعال شدن رفتار تناسلی مرد مهم و حیاتی است^[24]. این نتیجه‌گیری توسط بسیاری از مطالعات که دامنه گسترده‌ای از گونه‌ها شامل خزندگان، پرندگان و پستانداران را شامل می‌شود، تایید شده است. براساس این مساله ثابت شده است که (۱) اثرات رفتاری تستوسترون می‌تواند توسط استروژن‌ها مانند استرادیول تقلید شود، (۲) آندروژن‌های حلقوی مانند تستوسترون یا اندرواستندینون به‌طور کامل رفتارهای جنسی مردانه را فعال می‌کنند، در حالی که آندروژن‌های غیرحلقوی مانند ۵-آلفا دی‌هیدروتستوسترون هیچ گونه عوارض رفتاری ندارند، (۳) مهارکننده‌های آروماتاز اثرات رفتاری آندروژن‌های حلقوی را بلوک می‌کنند و (۴) به‌طور مشابه تزریق آنتی‌استروژن‌ها دسترسی استروژن‌ها را به گیرنده‌های خاص آنها که رفتار جنسی مرتبط با تستوسترون را مهار می‌کنند، سرکوب می‌کند^[25].

یافته‌های تحقیق حاضر نشان داد که ۶ هفته فعالیت مقاومتی و مصرف مکمل بولدنون موجب ایجاد تغییرات معنی‌دار در وزن موش‌های نر ویستار در گروه‌های تجربی شد. مطالعات اخیر نشان داده‌اند که تجویز بولدنون منجر به افزایش وزن بدن و کاهش وزن برخی از اندام‌های بدن همچون بیضه‌ها می‌شود. در همین راستا محمد و همکاران^[4] در مطالعه‌ای نشان دادند که تزریق درون‌عضلانی بولدنون موجب افزایش معنی‌داری در وزن بدن و کاهش معنی‌دار در وزن بیضه‌ها می‌شود. *تابت* و همکاران^[6] نیز در تحقیقی نشان دادند که تجویز بولدنون در دو دوز ۴/۵ میلی‌گرم و ۹ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن طی سه‌بار در فاصله زمانی ۳ هفته منجر به افزایش معنی‌دار در وزن بدن می‌شود. نتایج تحقیق حاضر با یافته‌های محمد و همکاران^[4] و *تابت* و همکاران^[6] همخوان است.

همان‌طور که ذکر شد، در بسیاری از ورزشکاران قدرتی پس از استفاده از استروئیدهای آنابولیک آندروژنیک اغلب افزایش وزن بدن گزارش شده است. اکثر مطالعات نشان می‌دهند که وزن بدن ممکن است در نتیجه استفاده کوتاه‌مدت (کمتر از ۱۰ هفته) از استروئیدهای آنابولیک آندروژنیک افزایش یابد^[26, 27]. بیشترین افزایش وزن بدن توسط کاسنر و همکاران بعد از ۶ هفته تجویز استانوزولول گزارش شده است^[28]. با این حال، در یک گزارش موردی، افزایش زیادی طی یک دوره دوساله تجویز استروئیدهای آنابولیک آندروژنیک به‌ثبت رسیده است^[29]. این مساله احتمالاً مربوط به فرآیند ساختاری بافت‌های بدن توسط مکمل بولدنون در نتیجه افزایش اندازه عضلانی است که با تعادل مثبت نیتروژن

- اثر ۶ هفته تمرین مقاومتی و مکمل بولدنون بر بیان ژن‌های ۵-آلفا ردوکتاز و آروماتاز در بافت بیضه موش‌های صحرایی ویستار ۱۹۹
- and estrogens. *Mol Cell Endocrinol.* 2002;193(1-2):137-43.
- 19- Shetty G, Krishnamurthy H, Krishnamurthy HN, Bhatnagar AS, Moudgal NR. Effect of long-term treatment with aromatase inhibitor on testicular function of adult male bonnet monkeys (*M. radiata*). *Steroids.* 1998;63(7-8):414-20.
- 20- Voigt C, Ball GF, Balthazart J. Effects of sex steroids on aromatase mRNA expression in the male and female quail brain. *Gen Comp Endocrinol.* 2011;170(1):180-8.
- 21- Robertson KM, O'Donnell L, Jones ME, Meachem SJ, Boon WC, Fisher CR, et al. Impairment of spermatogenesis in mice lacking a functional aromatase (*cyp 19*) gene. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1999;96(14):7986-91.
- 22- Bourguiba S, Lambard S, Carreau SS. Steroids control the aromatase gene expression in purified germ cells from the adult male rat. *J Mol Endocrinol.* 2003;31(1):83-94.
- 23- Balthazart J, Baillien M, Cornil CA, Ball GF. Preoptic aromatase modulates male sexual behavior: slow and fast mechanisms of action. *Physiol Behav.* 2004;83(2):247-70.
- 24- Balthazart J, Ball GF. Topography in the preoptic region: Differential regulation of appetitive and consummatory male sexual behaviors. *Front Neuroendocrinol.* 2007;28(4):161-78.
- 25- Harada N, Yamada K, Foidart A, Balthazart J. Regulation of aromatase cytochrome P-450 (estrogen synthetase) transcripts in the quail brain by testosterone. *Mol Brain Res.* 1992;15(1-2):19-26.
- 26- Win-May M, Mya-Tu M. The effect of anabolic steroids on physical fitness. *J Sports Med Phys Fitness.* 1975;15(3):266-71
- 27- Johnson LC, O'Shea JP. Anabolic steroid: effects on strength development. *Science.* 1969;164(3882):957-9.
- 28- Casner SW Jr, Early RG, Carlson BR. Anabolic steroid effects on body composition in normal young men. *J Sports Med Phys Fitness.* 1971;11(2):98-103.
- 29- Alen M, Hakkinen K, Komi PV. Changes in muscle power production capacity in power athletes self-administering a drogenic anabolic steroids. *Duodecim.* 1984;100(17):1096-104. [Finnish]
- 30- Tousson E, El-Moghazy M, Massoud A, Akel A. Histopathological and immunohistochemical changes in the testes of rabbits after injection with the growth promoter boldenone. *Reprod Sci.* 2012;19(3):253-9.
- 7- Aloisi AM, Ceccarelli I, Fiorenzani P, Maddalena M, Rossi A, Tomei V, et al. Aromatase and 5-alpha reductase gene expression: modulation by pain and morphine treatment in male rats. *Mol Pain.* 2010;6:69.
- 8- Aizawa K, Iemitsu M, Maeda S, Mesaki N, Ushida T, Akimoto T. Endurance exercise training enhances local sex steroidogenesis in skeletal muscle. *Med Sci Sports Exerc.* 2011;43(11):2072-80.
- 9- Wilborn C, Lem T, Chris P, Cliffla F, Darryn W, Kreider R. Effects of a purported aromatase and 5 α -reductase inhibitor on hormone profiles in college-age men. *Int J Sport Nutr Exerc Metab.* 2010;(20):457-65.
- 10- Bento-Silva MT, Martins MCC, Torres FL, Barros TL, Carvalho IL, Carvalho NF, et al. Effects of administering testosterone undecanoate in rats subjected to physical exercise: Effects on the estrous cycle, motor behavior and morphology of the liver and kidney. *Braz J Pharm Sci.* 2010;46(1):46-79.
- 11- Friedl KE. Effects of anabolic steroids on physical health. In: Yesalis CE, editor. *Anabolic steroids in sport and exercise.* 2nd edition. Champaign (IL): Human Kinetics; 2000. pp. 175-224.
- 12- M Molanouri-Shamsi, Fallah M, Mahdavi M. The effect of resistance training on skeletal muscle inflammatory factors in diabetic rats. *Feyz* 2014;18(5):477-83.
- 13- Beato M. Gene regulation by steroid hormones. *Cell.* 1989;56(3):335-44.
- 14- Bhasin S, Travison TG, Storer TW, Lakshman K, Kaushik M, Mazer NA, et al. Effect of testosterone supplementation with and without a dual 5 α -reductase inhibitor on fat-free mass in men with suppressed testosterone production: a randomized controlled trial. *JAMA.* 2012;307(9):931-9.
- 15- Okamoto M, Hojo Y, Inoue K, Matsui T, Kawato S, McEwen BS, et al. Mild exercise increases dihydrotestosterone in hippocampus providing evidence for androgenic mediation of neurogenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2012;109(32):13100-5.
- 16- Merlotti D, Gennari L, Stolakis K, Nuti R. Aromatase Activity and Bone Loss in Men. *J Osteoporos.* 2011;2011:230671.
- 17- Hess RA. Oestrogen in fluid transport in efferent ducts of the male reproductive tract. *Rev Reprod.* 2000;5(2):84-92.
- 18- Carreau S, Bourguiba S, Lambard S, Galeraud-Denis I, Genissel C, Levallet J. Reproductive system: aromatase