

## *The Effects of 6 Weeks of Endurance Training and Consumption of Different Doses of Boldenone on Hematological Factors and Spleen Structure Changes in Male Wistar Rats*

Asieh Abbassi Dalooi<sup>1\*</sup>, Seyed Javad Ziaolhagh<sup>2</sup>, Ahmad Abdi<sup>1</sup>, Mojde Fazelnia<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Exercise Physiology, Ayatollah Amoli Branch, Islamic Azad University, Amol, Iran.

<sup>2</sup>Department of Exercise Physiology, Shahrood Branch, Islamic Azad University, Shahrood, Iran.

\*Corresponding Author:  
Asieh Abbassi Dalooi,  
Department of Exercise Physiology, Ayatollah Amoli Branch, Islamic Azad University, Amol, Iran.

Email:  
abbasi.dalooi@gmail.com

Received: 22 Feb, 2016

Accepted: 29 May, 2016

### **Abstract**

**Background and Objectives:** Regardless of how many periods and how long the androgenic-anabolic steroids have been used, they can cause side effects. The objective of this study was to investigate the effect a 6-week endurance training and using different doses of anabolic steroid boldenone on hematological factors and changes in spleen structure in male Wistar rats.

**Methods:** In this experimental study, 47 male Wistar rats aged 12 weeks, were randomly divided into 7 groups (control, sham, boldenone-1, boldenone-2, endurance training, endurance training+boldenone-1, endurance training+boldenone-2). Increasing endurance training program was performed at the speed of 10-30m/min ( $VO_2max$ , 75-80%) for 6 weeks and 5 days/week. The drug was injected deeply into the quadriceps and hamstring muscles once a week, on an appointed day. After anesthesia and dissection, the spleen was removed. Finally, the selected microscopic sections, were studied using a light microscope after staining with hematoxylin and eosin. Data were analyzed by dependent t-, one-way ANOVA, and post-hoc LSD tests at  $\alpha < 0.05$  level.

**Results:** In this study, boldenone supplementation at different doses led to weight gain, non-significant decrease in spleen weight ( $p=0.297$ ), increase in white blood cells ( $p=0.041$ ), and increase in hematocrit level ( $p=0.017$ ). Also, there was a significant difference between the effect of exercise and boldenone consumption on the extent of damage to white pulp, red pulp, and the spleen sinusoidal space ( $p=0.001$ ).

**Conclusion:** The findings of this study showed it is likely that short-term consumption of boldenone have negative effects on the spleen structure, followed by negative changes in hematological factors.

**Keywords:** Endurance training; Boldenone; Hematological factors; Spleen; Rat.

## تأثیر ۶ هفته تمرین استقامتی و مصرف دوزهای مختلف بولدنون بر عوامل هماتولوژیکی و تغییرات ساختاری طحال در موش‌های صحرایی نر

آسیه عباسی دلویی<sup>۱\*</sup>، سید جواد ضیالحق<sup>۲</sup>، احمد عبدی<sup>۱</sup>، مؤده فاضل نیا<sup>۱</sup>

### چکیده

**زمینه و هدف:** صرف نظر از اینکه استروئیدهای آنابولیک - آندروژنیک در چند دوره و به مدت چند سال مورد استفاده قرار گرفته‌اند، می‌توانند دارای اثرات جانبی باشند. هدف از این تحقیق، بررسی اثر ۶ هفته تمرین استقامتی و مصرف دوزهای مختلف بولدنون بر عوامل هماتولوژیکی و تغییرات ساختاری طحال در موش‌های صحرایی نر بود.

**روش بررسی:** در این مطالعه تجربی، ۴۷ سر موش نر نژاد ویستار با سن ۱۲ هفته، به‌طور تصادفی به ۷ گروه (کنترل، شام، بولدنون ۱، بولدنون ۲، تمرین استقامتی، تمرین استقامتی + بولدنون ۱، تمرین استقامتی + بولدنون ۲) تقسیم شدند. تمرین استقامتی فزاینده با سرعت ۳۰ - ۱۰ متر در دقیقه (۷۵-۸۰٪  $Vo_2max$ )، به مدت ۶ هفته و ۵ روز در هفته اجرا گردید. تزریق دارو یک‌بار در هفته، در یک‌روز مقرر و در عضلات چهارسر و پشت‌ران به صورت عمیق انجام شد. پس از بیهوشی و عمل کالبدشکافی، طحال برداشته شد. در نهایت، مقاطع میکروسکوپی انتخاب شده، پس از رنگ آمیزی هماتوکسیلین و اتوزین با میکروسکوپ نوری مورد مطالعه قرار گرفت. داده‌ها به روش تی همبسته، تحلیل واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی LSD در سطح  $\alpha < 0/05$  تجزیه و تحلیل شدند.

**یافته‌ها:** در این مطالعه، مصرف مکمل بولدنون با دوزهای مختلف موجب افزایش وزن بدن، کاهش غیرمعنی‌دار وزن طحال ( $p=0/297$ )، افزایش سطوح گلبول‌های سفید ( $p=0/041$ ) و افزایش هماتوکریت ( $p=0/017$ ) شد. همچنین بین اثر تمرین و مصرف بولدنون بر میزان آسیب پالپ سفید، پالپ قرمز و آسیب فضای سینوزوئیدی طحال، اختلاف معنی‌داری وجود داشت ( $p=0/001$ ).

**نتیجه گیری:** نتایج این مطالعه نشان داد این احتمال وجود دارد که مصرف کوتاه مدت بولدنون، تأثیرات منفی بر ساختار طحال داشته باشد و در پی آن تغییرات منفی، عوامل هماتولوژیکی را نیز به همراه دارد.

**کلید واژه‌ها:** تمرین استقامتی؛ بولدنون؛ عوامل هماتولوژیکی؛ طحال؛ موش‌ها.

<sup>۱</sup>گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد آیت‌اله آملی، دانشگاه آزاد اسلامی، آمل، ایران.

<sup>۲</sup>گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد شاهرود، دانشگاه آزاد اسلامی، شاهرود، ایران.

\* نویسنده مسئول مکاتبات:

آسیه عباسی دلویی، گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد آیت‌اله آملی، دانشگاه آزاد اسلامی، آمل، ایران؛

آدرس پست الکترونیکی:  
abbasi.dalooi@gmail.com

تاریخ دریافت: ۹۵/۱۲/۳

تاریخ پذیرش: ۹۵/۳/۸

لطفاً به این مقاله به صورت زیر استناد نمایید:

Abbasi Dalooi A, Ziaolhagh SJ, Abdi A, Fazelniya M. The effects of 6 weeks of endurance training and consumption of different doses of boldenone on hematological factors and spleen structure changes in male wistar rats. Qom Univ Med Sci J 2017;11(4):20-31.[Full Text in Persian]

## مقدمه

ورزشکاران به بهبود عملکرد بدنی و شکستن رکوردهای ورزشی می‌اندیشند که این مسئله موجب می‌شود اغلب به مواد ممنوعه مانند استروئیدهای آنابولیک - اندروژنیک روی بیاورند. تستوسترون همراه با دیگر اندروژن‌ها، مسئول توسعه خصوصیات ثانویه جنسی، همچنین رشد عضلات از طریق تحریک سنتز پروتئین است (۱). با توجه به اثرات متنوع و ناهمسان تستوسترون، مشتقات مصنوعی از استروئیدهای هورمونی جنسی در دهه‌های گذشته در تحقیقات برای ورزشکاران و افراد شرکت‌کننده در ورزش‌های تفریحی، به‌خصوص در جهت افزایش توده عضلانی، نیرو، اجرای ورزشی و جنبه‌های زیباشناختی مورد استفاده قرار گرفته است (۲). از این‌رو استفاده از استروئیدهای آنابولیک - اندروژنیک به‌عنوان مشتقات مصنوعی تستوسترون، به‌منظور افزایش فعالیت آنابولیکی و کاهش خاصیت اندروژنیک روی به گسترش است. همچنین آنها می‌توانند اثرات قوی بر بدن انسان اعمال کنند که می‌تواند در جهت بهبود عملکرد ورزشی سودمند باشد (۳). امروزه، استروئیدهای آنابولیک - اندروژنیک مکرراً توسط ورزشکاران برای افزایش قدرت و استقامت از طریق افزایش سنتز پروتئین عضلانی مورد استفاده قرار می‌گیرد (۴). در پی افزایش سوءاستفاده درازمدت از استروئیدهای آنابولیک، نگرانی‌ها برای آثار مضر آنها افزایش یافته است. استروئیدهای آنابولیک - اندروژنیک، اثرات جانبی مانند اختلال عملکرد هورمونی و ایمنی، تغییرات سیستم پوستی، سیستم هموستاتیک و تغییر در دستگاه ادراری تناسلی را موجب می‌شوند (۵). مهم‌ترین فرم آنها به‌صورت استروئیدهای آنابولیک - ۱۷-آلفایی است که در مقادیر زیاد توسط ورزشکاران مورد سوءاستفاده قرار می‌گیرد (۶). این گروه شامل بولدنون، میبولرون، استانوزولول، ترنبولون و دیگر استرها و ایزومرهای آنها می‌باشد (۷). بولدنون (1, 4-androstadiene-17beta-ol-3-one, BOL) استروئید مشتق‌شده از تستوسترون است که اعمال قوی آنابولیکی و اندروژنیک را در جهت بهبود رشد نمایش می‌دهد (۴). عمل این استروئید بر روی ساختار بافت‌های مختلف بدن مشخص نیست. در مطالعه‌ای نشان داده شد غلظت سرمی هموگلوبین، هماتوکریت و شمار سلول‌های سفید خون بعد از ۶ ماه مصرف

دوز بالای استروئیدهای آنابولیک - اندروژنیک افزایش می‌یابد (۸). Hartgens و همکاران نیز نشان دادند محتوای پلاکت‌ها، بعد از ۸ هفته مصرف استروئیدهای آنابولیک - اندروژنیک افزایش پیدا می‌کند؛ درحالی‌که سایر پارامترهای خونی، بدون تغییر باقی می‌ماند (۹). Groot و Biolatti با بررسی اثرات هیستوپاتولوژیکال بولدنون در گاو نر، گزارش کردند بولدنون موجب اختلال در اپی‌تلیوم ژرمینال بیضه و ترشح بیش از حد مایع، همچنین تشکیل کیست در پروستات می‌شود (۱۰). Eldeen و Tousson در مطالعه‌ای به بررسی تغییرات هیستوپاتولوژی در عملکرد و ساختار کلیوی بعد از تزریق بولدنون در خرگوش‌های نر بزرگسال پرداختند. نتایج تحقیق نشان داد مصرف بولدنون ممکن است موجب آسیب کلیوی شده و حتی به نقص کلیوی منجر گردد (۱۱). جنبه مهم دیگری که در این خصوص مدنظر قرار دارد تأثیر استروئید آنابولیک - اندروژنیک بر روی پارامترهای بافتی مانند طحال است. طحال یکی از بزرگترین ارگان‌های لنفاوی در بدن انسان و حیوان می‌باشد. جنبه‌های مورفولوژیک، این امکان را فراهم می‌آورد تا تجسمی از ساختارهای مختلف همانند پالپ سفید (با مشخصه حضور فراوان لنفوسیت‌ها) و پالپ قرمز (نمایی از محتوای تشکیل‌گلبول‌های قرمز بالغ) وجود داشته باشد (۱۲). استروئیدهای آنابولیک گرچه در افزایش توان ورزشکاران مؤثرند، اما به‌علت ایجاد اثرات مخرب می‌توانند تهدیدی برای سلامت ورزشکار محسوب شوند. از آنجا که استروئیدهای آنابولیک بر روی بسیاری از دستگاه‌های بدن اثر می‌گذارند، اثرات مخرب آنها نیز متعدد خواهد بود. صرف‌نظر از اینکه استروئیدهای آنابولیک - اندروژنیک در چند دوره و به مدت چند سال مورد استفاده قرار گرفته‌اند، می‌توانند دارای اثرات جانبی متفاوتی نظیر جوش پوستی، بزرگی بیضه و خطرات جدی‌تری همچون نارسایی کبدی، سندرم‌های کرونری، پرولیفته‌شدن مجاری صفراوی، پلیوس کبدی، آدنومای کبدی و هپاتوکارسینوما باشند (۱۳، ۱۴). با توجه به مصرف گسترده این داروها توسط ورزشکاران و اینکه در کشور بدون هیچ نظارتی توسط افراد بدون صلاحیت به ورزشکاران و جوانان در سطح وسیع تجویز می‌شوند، همچنین باتوجه به عدم امکان استفاده از نمونه‌های انسانی به‌علت

به صورت عمیق تزریق گردید. گروه کنترل، محلول فیزیولوژیکی نرمال سالین (محلول سدیم کلرید) ۰/۰۹ را دریافت کردند.

برنامه تمرین استقامتی شامل استفاده از تردمیل بود که در اولین هفته، موش‌ها با دستگاه تردمیل آشناسازی شدند: هفته اول با سرعت ۱۰ متر در دقیقه برای مدت ۱۰ دقیقه؛ روز دوم با سرعت ۱۵ متر در دقیقه برای مدت ۱۵ دقیقه و از روز سوم الی پنجم، ۵ دقیقه به‌ازای هر روز به مدت ورزش افزوده شد؛ به‌طوری‌که در روز پنجم، مدت ورزش به ۳۵ دقیقه افزایش یافت، ولی سرعت دستگاه تردمیل، ۱۵ متر در دقیقه ثابت نگه داشته شد. در هفته دوم، سرعت به ۲۰ متر در دقیقه برای مدت ۳۰ دقیقه در روز اول افزایش داده شد که به‌ازای هر روز، ۵ دقیقه به مدت ورزش اضافه گردید. در هفته سوم، تعلیم ورزشی ۵۰ دقیقه با سرعت ۲۰ متر در دقیقه، در هفته چهارم، ۵۰ دقیقه با سرعت ۲۵ متر در دقیقه، در هفته پنجم و ششم، ۵۰ دقیقه با سرعت ۳۰ متر در دقیقه (۷۵-۸۰٪  $Vo_2max$ ) اعمال شد. از هفته دوم تا انتهای کار، ۵ دقیقه گرم کردن و ۵ دقیقه سرد کردن با سرعت ۱۵ متر در دقیقه در شروع و انتهای ورزش اعمال شد. از هفته اول الی هفته پنجم، شیب صفر درصد و در هفته ششم، شیب ۵ اعمال شد. به‌منظور تحریک موش‌ها برای دویدن، از محرک صوتی (ضربه به دیواره نوارگردان) استفاده گردید؛ بدین صورت که در جلسات اول، از محرک الکتریکی با ولتاژ کم، همراه با محرک صوتی استفاده شد و پس از شرطی کردن موش‌ها همراه با بودن دو محرک، در سایر جلسات به‌منظور رعایت نکات اخلاقی کار با حیوان آزمایشگاهی، فقط محرک صوتی به کار برده شد.

پس از بیهوشی، با ثابت کردن حیوان روی تخته جراحی جوندگان، کالبدشکافی انجام گرفت و بلافاصله پس از انجام خونگیری، جهت اندازه‌گیری متغیرهای خونی، طحال برداشته شد. بلافاصله بعد از کالبدشکافی، نمونه‌برداری از طحال موش‌ها (جهت مطالعه با میکروسکوپ نوری) صورت گرفت و نمونه‌ها بعد از قرار گرفتن در فیکساتیو فرمالین ۱۰٪، به مدت ۴۸ ساعت در محلول نگهداری شدند. پس از ۲۴ ساعت اولیه، فرمالین تازه با فرمالین قبلی جایگزین گردید. سپس بعد از تثبیت با الکل، آبگیری و با پارافین قالب‌گیری انجام شد. بعد از این مراحل، به‌وسیله میکروتوم، مقاطعی با ضخامت ۵ میکرون به‌صورت

آسیب‌زا بودن استروئیدهای آنابولیک - آندروژنیک، تحقیق حاضر در پی پاسخ به این سؤال که ۶ هفته تمرین استقامتی و مصرف بولدنون چه تأثیری بر تغییرات هماتولوژیکی و ساختاری طحال در موش‌های صحرایی نر دارد؟ انجام شد.

## روش بررسی

در این مطالعه تجربی، موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار از پژوهشکده علمی کاربردی دامغان تهیه گردید که از میان آنها، تعداد ۴۷ سر موش صحرایی نر ویستار با سن ۱۲ هفته و وزن اولیه  $195 \pm 7/94$  گرم به‌عنوان نمونه آماری انتخاب شدند. نمونه آماری این تحقیق، به روش نمونه‌گیری انتخابی هدفدار با توجه به شرایط وزنی و سنی انجام شد.

موش‌ها به‌صورت تصادفی در ۷ گروه (۷ سر موش در هر گروه) به شرح زیر تقسیم شدند:

گروه اول: (کنترل)، بدون تمرین + تزریق دارونما ( $n=7$ )؛

گروه دوم: (شم)، بدون تمرین + تزریق روغن زیتون ( $n=5$ )؛

گروه سوم: بدون تمرین + تزریق بولدنون (به میزان ۲ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن) ( $n=7$ )؛

گروه چهارم: بدون تمرین + تزریق بولدنون (به میزان ۵ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن) ( $n=7$ )؛

گروه پنجم: تمرین استقامتی + تزریق دارونما ( $n=7$ )؛

گروه ششم: تمرین استقامتی + تزریق بولدنون (به میزان ۲ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن) ( $n=7$ )؛

گروه هفتم: تمرین استقامتی + تزریق بولدنون (به میزان ۵ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن) ( $n=7$ ).

گروه‌های مورد مطالعه در قفسه‌های مخصوص جوندگان از جنس PVC با درپوش توری فلزی که کف آنها با تراشه‌های تمیز چوب پوشانده شده بود، تقسیم شدند. دمای اتاق  $22 \pm 1/4$  درجه سانتیگراد با رطوبتی معادل، ۶۵-۷۵٪ بود. نمونه‌ها طبق شرایط استاندارد (چرخه ۱۲ ساعت خواب و بیداری) نگهداری شدند، و به آب و غذا دسترسی داشتند. جهت تجویز و تزریق دارو با ۲ دوز، از سرنگ انسولین مدرج استفاده شد و در زمان معین؛ بدین ترتیب یک‌بار در هفته، رأس ساعت معین (ساعت ۱۱ صبح) و در یک‌روز مقرر در هفته، در عضلات چهار سر و پشت ران

ولی تمرین استقامتی و مصرف بولدنون بر تغییرات وزن طحال در موش‌های نر ویستار، تأثیر معنی‌داری نداشت ( $p=0/297$ ). همچنین بین میانگین WBC ( $p=0/041$ )، نوتروفیل ( $p=0/05$ )، هماتوکریت ( $p=0/017$ ) و پلاکت خون ( $p=0/017$ ) در گروه‌های کنترل، شم، بولدنون (با دوز ۲ میلی‌گرم)، بولدنون (با دوز ۵ میلی‌گرم) و تمرین استقامتی (با دوز ۲ میلی‌گرم و دوز ۵ میلی‌گرم)، تفاوت معنی‌داری وجود داشت (جدول). بین میانگین لنفوسیت ( $p=0/131$ )، مونوسیت ( $p=0/353$ )، سلول‌های قرمز خون ( $p=0/547$ ) و هموگلوبین ( $p=0/261$ ) در گروه‌های کنترل، شم، بولدنون (با دوز ۲ میلی‌گرم و دوز ۵ میلی‌گرم) و تمرین استقامتی (با دوز ۲ میلی‌گرم و دوز ۵ میلی‌گرم)، تفاوت معنی‌داری وجود نداشت. در نهایت، نتایج نشان داد میان اثر تمرین استقامتی و مصرف بولدنون بر میزان آسیب پالپ سفید ( $p=0/001$ )، پالپ قرمز ( $p=0/001$ ) و آسیب فضای سینوزوئیدی ( $p=0/001$ ) طحال، اختلاف معنی‌داری وجود دارد (نمودار شماره ۳-۱) (شکل ۵-۱).

نمونه‌گیری تصادفی و با فواصل منظم و یکنواخت تهیه گردید. مقاطع میکروسکوپیک انتخاب‌شده، پس از رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین و اتوزین با میکروسکوپ نوری مورد مطالعه قرار گرفتند. داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۱۹، آزمون شاپیرو-ویلک (برای اطمینان از طبیعی بودن توزیع داده‌های وزنی)، آزمون لون (برای بررسی تجانس واریانس‌ها)، آزمون تی همبسته (جهت بررسی اثر متغیرهای مستقل بر متغیر وابسته وزن، برای تغییرات درون گروهی)، تحلیل واریانس یک‌طرفه (برای تغییرات بین گروهی) و آزمون تعقیبی LSD تجزیه و تحلیل شدند. سطح معنی‌داری،  $p < 0/05$  در نظر گرفته شد.

## یافته‌ها

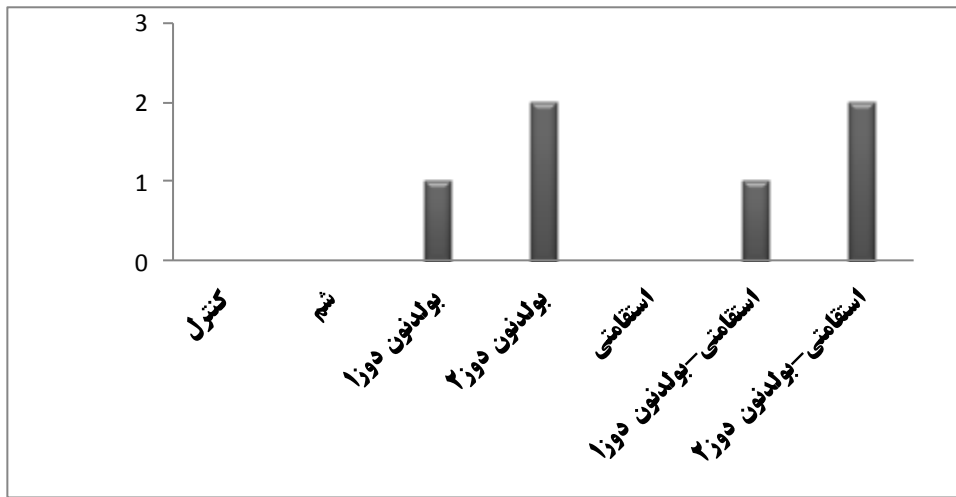
در این مطالعه، فعالیت استقامتی و مصرف مکمل بولدنون موجب ایجاد تغییرات معنی‌دار در وزن موش‌های نر ویستار در گروه‌های تحقیق شد.

جدول: میانگین  $\pm$  انحراف معیار و تغییرات متغیرهای تحقیق در گروه‌های مختلف

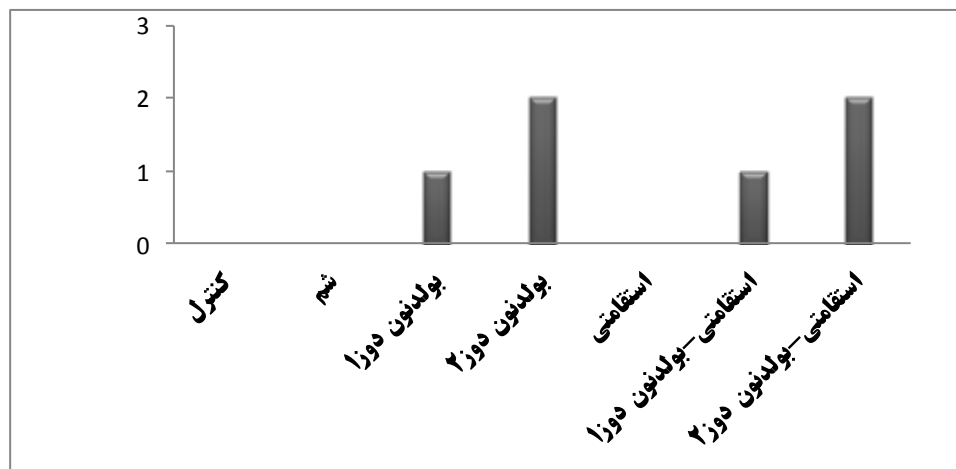
گروه	کنترل	شم	بولدنون ۱	بولدنون ۲	استقامتی	استقامتی - بولدنون ۱	استقامتی - بولدنون ۲
وزن موش	۱۸۵±۲/۳۸	۱۸۶±۱/۷۳	۱۹۵±۲/۱۶	۱۹۲±۲/۶۴	۱۹۵±۱/۶۳	۱۹۰±۲/۳۸	۱۹۱/۱۴±۴/۵۸
وزن طحال (کیلوگرم)	۰/۹۱±۰/۰۸۵	۰/۹۷±۰/۱۶۵	۰/۸۲±۰/۱۵۵	۰/۷۹±۰/۱۹۰	۰/۸۹±۰/۱۴۴	۰/۹۷±۰/۱۰۵	۰/۸۵±۰/۱۲۲
گلبول‌های سفید خون $10^3/ml$	۷/۲۱±۲/۵۸	۵/۷±۱/۲۳	۶/۶۱±۲/۷۹	۸/۳۴±۲/۸۳	۸/۹۱±۲/۶۶	۸/۱۱±۲/۴۹	۹/۵۸±۳/۷۸
لنفوسیت (میلی‌گرم بر پیکوگرم)	۷۸/۴۲±۸/۵۶	۷۵/۰±۱۴/۲۹	۶۷/۸۵±۱۲/۵۳	۷۰/۴۲±۳/۳۳	۸۰±۸	۸۴/۴۲±۸/۶۷	۸۴/۷۱±۱۱/۷۸
نوتروفیل (درصد)	۱۸/۱۴±۷/۲۸	۲۱/۷۱±۱۲/۷	*۲۸±۱۲/۵	۲۵/۷۱±۱۲/۷۲	۱۶/۴۲±۷/۶۷	+۱۳/۵۷±۸/۰۳	+۱۱/۵۷±۱/۰۸۱
مونوسیت (درصد)	۱±۰/۵۷	۱/۲۸±۱/۳۸	۱/۷۱±۰/۷۵	۱/۲۸±۰/۷۵	۱/۱۴±۰/۳۷	۱/۵۷±۰/۵۳	۱/۱۴±۰/۶۹
پلاکت (درصد)	۲/۴۲±۱/۲۷	۲±۰/۸۱	۲/۴۲±۰/۷۸	*۲/۵۷±۰/۵۳	*۲/۴۲±۰/۵۳	*۲/۴۲±۰/۵۳	*۲/۵۷±۰/۸۷
گلبول‌های قرمز خون $10^6/ml$	۸/۱۵±۰/۷	۷/۸۷±۰/۸۳	۸/۴۱±۰/۴۶	۸/۴۷±۰/۲۸	۷/۹۲±۰/۴۲	۸/۲۱±۰/۵۵	۷/۹۹±۰/۵
هموگلوبین (گرم بردسی لیتر)	۱۴/۷۵±۰/۹	۱۴/۵۴±۱/۲۱	۱۵/۳۲±۰/۸۴	۱۵/۰۱±۱/۱۱	۱۴/۳۱±۰/۷۲	۱۵/۲۵±۰/۸۵	۱۴/۶±۱/۰۴
هماتوکریت (درصد)	۴۶/۰۴±۴/۳۳	۴۴/۵۴±۵/۰۹	*۴۸/۴۷±۲/۹۶	*۴۶/۵۷±۴/۰۸	*۴۶/۸۷±۲/۳۱	*۴۹/۵۴±۲/۵۷	۴۷/۶۱±۳/۱

\* تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه کنترل و شم.

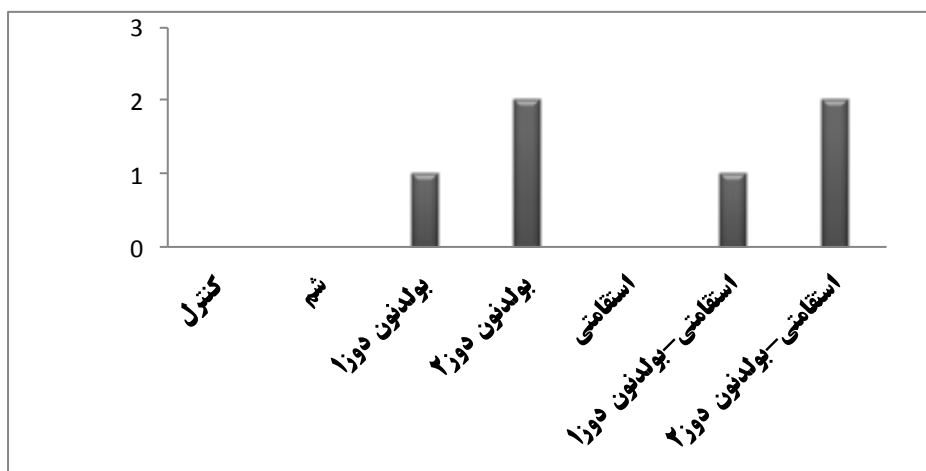
+ تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه‌های بولدنون.



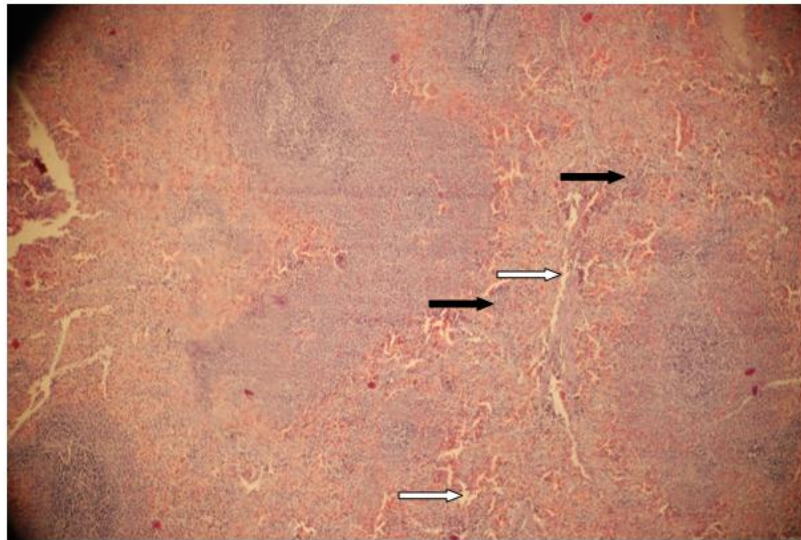
نمودار شماره ۱: میانگین شدت آسیب پالپ سفید طحال در گروه‌های مختلف.



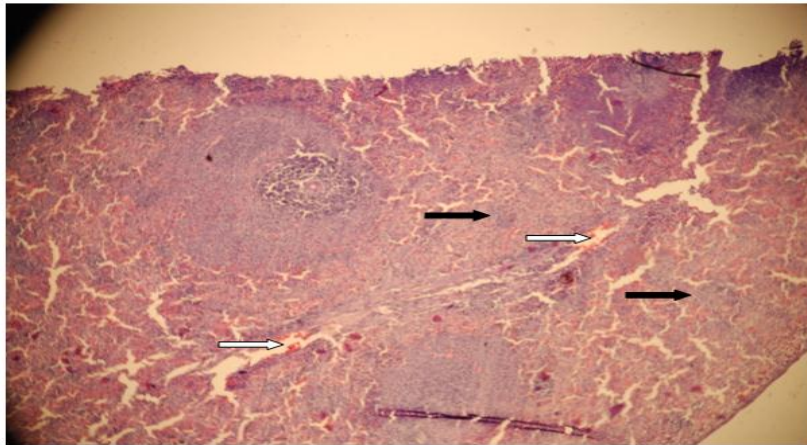
نمودار شماره ۲: میانگین شدت آسیب پالپ قرمز طحال در گروه‌های مختلف.



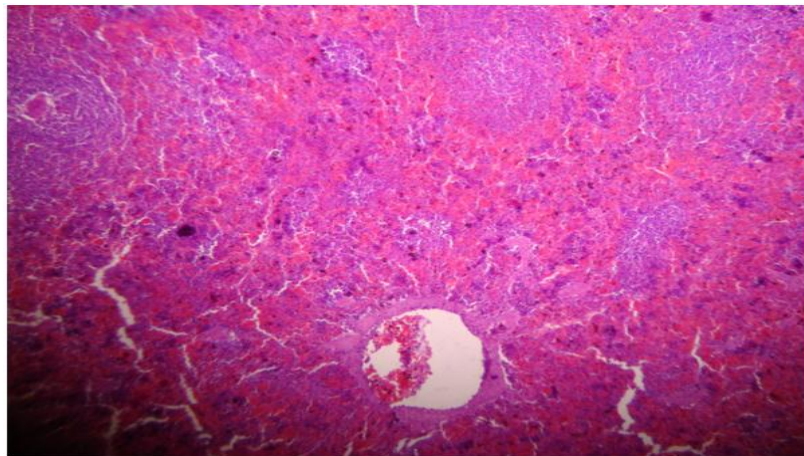
نمودار شماره ۳: میانگین شدت آسیب فضای سینوزوئیدی طحال در گروه‌های مختلف.



شکل شماره ۱: در گروه بولدنون دوز یک پالپ سفید و قرمز از هم مجزا نبوده و فضای سینوزوئیدی نیز متسع می‌باشد (فلش سفید). سلول‌های التهابی درون پالپ قرمز، زیادتر از حد طبیعی هستند (فلش سیاه).

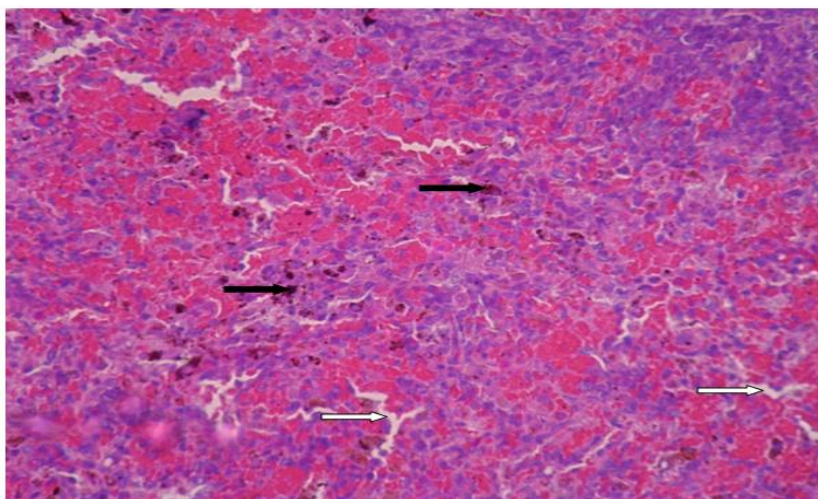


شکل شماره ۲: در گروه بولدنون دوز ۲، فضاها سینوزوئیدی کاملاً متسع و پر خون می‌باشند (فلش سفید)، همچنین بر میزان التهاب منتشر زمینه‌ای و ارتشاح سلول‌های تک‌هسته‌ای افزوده شده است (فلش سیاه).

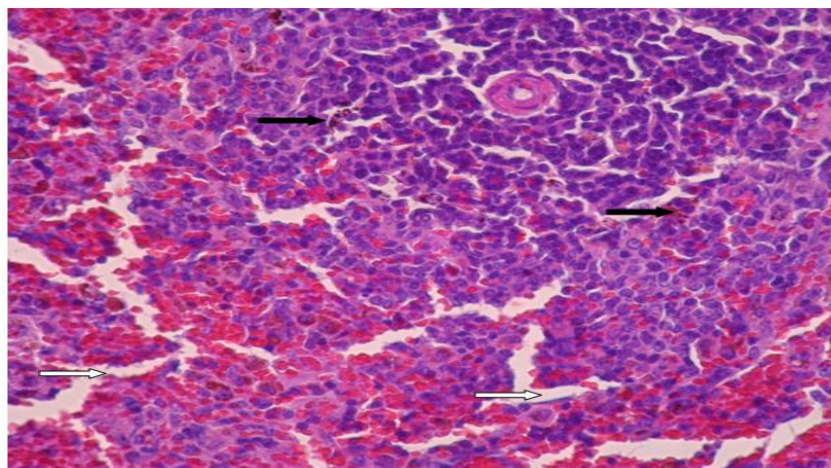


شکل شماره ۳: در گروه استقامتی بدون هورمون، مقداری بی‌نظمی بافتی درون پالپ قرمز دیده می‌شود، اما فضای سینوزوئیدی مناسب است.





شکل شماره ۴: در گروه استقامتی دوز ۱، فضای سینوزوئیدی مقداری اتساع یافته (فلش سفید) و میزان التهاب، پرخونی و گلبول‌های قرمز تخریب شده در پالپ قرمز (فلش سیاه) زیاد است.



شکل شماره ۵: در گروه استقامتی دوز ۲، فضای سینوزوئیدی بسیار زیاد (فلش سفید) و درجاتی از تخریب گلبول قرمز و بی‌نظمی در پالپ سفید (فلش سیاه) دیده می‌شود.

## بحث

نتایج تحقیق حاضر نشان داد فعالیت استقامتی و مصرف مکمل بولدنون موجب تغییرات معنی‌دار در سطوح برخی عوامل هماتولوژیکی مانند WBC، نوتروفیل، هماتوکریت و پلاکت خون می‌شود. با این وجود، مقادیر لنفوسیت، مونوسیت، سلول‌های قرمز خون و هموگلوبین در گروه‌های تجربی بعد از ۶ هفته مصرف دوزهای مختلف بولدنون و تمرینات استقامتی، روند افزایشی را نشان داد، اما در بین گروه‌های مختلف به سطح معنی‌داری نرسید. همخوان با نتایج مطالعه حاضر، در تحقیقی افزایش در شمار پلاکت‌های خون پس از ۸ هفته استفاده از استروئیدهای آنابولیک مشاهده گردید، درحالی‌که سایر متغیرهای خونی بدون تغییر باقی ماند (۹).

با این حال، نتایج مطالعه حاضر با یافته‌های برخی از تحقیقات همخوانی نداشت. از جمله در مطالعه Ahmed و همکاران، کاهش معنی‌داری در سطوح لوکوسیت کل مشاهده شد (۱۵). Urhausen و همکاران نیز در مطالعه خود، افزایش بالای سطوح لوکوسیت‌ها، هموگلوبین و پلاکت خون را در ورزشکارانی که طی سالهای زیادی از استروئیدهای آنابولیک استفاده کرده بودند نشان دادند (۱۶). همچنین، Saad و همکاران، لنفوپنی (پایین رفتن تعداد لنفوسیت‌ها در گردش خون) را گزارش کردند که نشان می‌داد توزیع مجدد لنفوسیت ممکن است در میان قسمت‌های متفاوتی از بدن به‌عنوان اثر اصلی هورمون در توزیع مجدد لنفوسیت ظاهر شود، با این حال مکانیسم آن در پستانداران هنوز مشخص نشده است (۱۷).



در مطالعه دیگری، تأثیر دوزهای بالای فیزیولوژیکی استروئید آنابولیک همراه با تمرینات روی تحرک و پاسخ پرولپراتیو لنفوسیت‌های کشت‌شده از طحال و تیموس موش مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. بعد از ۱۲ هفته، محققان به این نتیجه رسیدند که تمرینات با شدت بالا، زمانی که درمان با استروئید آنابولیک همراه است، تحرک و تکثیر را در شرایط آزمایشگاهی کاهش داده که می‌تواند به پاسخ ایمنی آسیب برساند (۱). تحقیقات نشان داده‌اند درمان طولانی‌مدت با استروئیدهای آنابولیک موجب افزایش در غلظت سرمی هموگلوبین می‌شود (۱۸). به دلیل ارتباط بین هموگلوبین و عملکرد استقامتی، ورزشکاران خودتزیقی استروئیدهای آنابولیک - اندروژنیک را شروع کردند. در همین زمینه نشان داده شده است مصرف دوز بالای استروئید آنابولیک به مدت ۶ ماه موجب افزایش غلظت هموگلوبین سرم، هماتوکریت و شمار سلول‌های سفید خون پلاکت‌ها می‌شود، درحالی‌که میانگین حجم سلول‌های قرمز خون بدون تغییر باقی می‌ماند (۱۱). با توجه به مصرف دارو می‌توان گفت فعالیت بدن پس از مصرف دارو به میزان قابل توجهی افزایش می‌یابد، لذا نیاز به اکسیژن و به تبع آن هموگلوبین و هماتوکریت نیز افزایش پیدا می‌کند. هنگامی که خون کامل دارای ماده ضدانعقاد می‌شود، فضای اشغال‌شده توسط گلبول‌های قرمز فشرده، اصطلاحاً هماتوکریت نام دارد که به صورت درصد گلبول‌های قرمز خون نسبت به خون کامل بیان می‌گردد. مقادیر هماتوکریت کاملاً به موازات مقادیر هموگلوبین و تعداد گلبول‌های قرمز خون است. در این تحقیق، افزایش تولید سلول‌های قرمز خون در گروه تجربی نشان داده شد، ولی به سطح معنی‌داری نرسید که نشان‌دهنده افزایش قابل توجهی در سرعت خون‌سازی است و این موضوع در ارتباط با افزایش هموگلوبین و هماتوکریت می‌تواند ارزیابی گردد. شاید یکی از دلایل عدم تغییرات معنی‌دار در این مطالعه در مقایسه با تحقیقات دیگر، به مدت زمان کمتر مصرف استروئید آنابولیک مربوط باشد. در برخی تحقیقات، استروئید آنابولیک به مدت حداقل ۶ ماه مصرف شده است (۸)، درحالی‌که در مطالعه حاضر، مدت زمان مصرف بولدنون به مدت ۶ هفته بود. از دیگر پیامدهای استفاده از استروئیدهای آنابولیک که می‌تواند نتایج را تحت تأثیر قرار دهد، وزن اندام‌های حیاتی

بدن پس از مصرف این مکمل‌ها می‌باشد. یافته‌های مطالعه حاضر نشان داد ۶ هفته تمرین استقامتی و مصرف مکمل بولدنون موجب ایجاد تغییرات معنی‌دار در وزن موش‌های نر و یستار در گروه‌های تجربی می‌شود که با مطالعه Thabet و همکاران همسو بود (۱۹). این مسئله احتمالاً مربوط به فرآیند ساختاری بافت‌های بدن توسط بولدنون در نتیجه افزایش اندازه عضلانی بوده که با تعادل مثبت نیترژن به وسیله تحریک سنتز پروتئین و کاهش تخریب پروتئین به وجود می‌آید (۲۰). در تحقیق حاضر، میانگین وزن طحال گروه‌های تزریقی با بولدنون در مقایسه با گروه کنترل، کاهش داشت، اما به سطح معنی‌داری نرسید. Ozdemir و همکاران در پژوهش خود با بررسی تأثیر تستوسترون بر وزن بدن و وزن اندام‌های مختلف در موش‌های نر و ماده نشان دادند تزریق تستوسترون اثری روی وزن قلب، کلیه راست و چپ ندارد، اما کاهش غیرمعنی‌دار وزن طحال در مقایسه با گروه کنترل مشاهده شد (۲۱). Blystone و همکاران نیز گزارش کردند تزریق تستوسترون به موش‌های نر قبل از بلوغ موجب می‌شود وزن برخی از اندام‌های آنها به‌طور معنی‌داری کاهش یابد (۲۲). همچنین Carson و همکاران نشان دادند تزریق ناندرون به‌طور معنی‌داری وزن بیضه‌ها را در موش‌های نر کاهش می‌دهد (۲۳). در ادامه، Balkaya و همکاران، کاهش معنی‌داری را در وزن اندام‌های مشخصی از موش‌های نر تزریق‌شده با تستوسترون مشاهده کردند (۲۴). تناقض در نتایج حاضر احتمالاً به دوز مصرفی، مدت دوره، همچنین نوع ماده مصرفی مربوط می‌شود.

نتایج تحقیق حاضر در بین گروه‌ها بیانگر این است که میان گروه‌ها از لحاظ آسیب پالپ سفید، پالپ قرمز و فضای سینوزوئیدی طحال، اختلاف معنی‌داری وجود دارد. تحقیقات درخصوص تأثیر استروئیدهای آنابولیک و تمرینات استقامتی بر ساختار طحال و سلول‌های خونی بسیار نادر بوده و این مطالعه از اولین تحقیقاتی است که به بررسی همزمان تمرینات استقامتی و دوزهای مختلف استروئیدهای آنابولیک، از جمله بولدنون بر سطح سلول‌های خونی و ساختار مورفولوژیک طحال پرداخته است. طحال یک مرکز مهم مسئول برای اعمال مختلف بدن از جمله: تشکیل آنتی‌بادی، تولید لنفوسیت و مونوسیت، فیلتراسیون، فاگوسیتوز و تخریب گلبول‌های قرمز پیر، تهیه و تدارک یون

افزایش کمی در مقدار هموگلوبین منجر شود (۲۷). در تحقیق حاضر مقدار سلول‌های قرمز خون و هموگلوبین، روند افزایشی داشت، اما به سطح معنی‌داری نرسید که شاید یکی از عوامل آن دوز مصرفی استروئید آنابولیکی بولدنون بوده است. استروئیدهای آنابولیک، من جمله آن بولدنون؛ هورمون‌های مصنوعی مشتق شده از هورمون مردانه تستوسترون هستند که اعمال آنابولیکی را به حداکثر رسانده، همچنین اعمال آندروژنیک را به حداقل می‌رسانند. تستوسترون، بسیاری از فرآیندهای فیزیولوژیکی را در ارگانسیم به حداکثر می‌رساند که از آن جمله می‌توان به متابولیسم پروتئین عضلانی، اعمال جنسی و شناختی، ساخت گلبول‌های قرمز خون، نیمرخ چربی و متابولیسم استخوان اشاره کرد (۲۸). نتایج تحقیقات نشان می‌دهد میان اثرات قلبی - عروقی ناشی از استروئید آنابولیک، پرفشارخونی، هایپرتروفی بطن چپ، اختلال در دوره دیاستولی، آریتمی، ترومبوز و تحریک خون‌سازی؛ ارتباط وجود دارد (۲۸). همچنین نتایج مطالعات مختلف نشان داده است تزریق دوزهای بالای فیزیولوژیکی (بالتر از ۱۰ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن در هفته) موجب تغییرات ساختاری در بسیاری از بافت‌ها می‌شود. یکی دیگر از توجیحات منطقی و قابل‌قبول برای این نتایج می‌تواند به زمان نامناسب استفاده از استروئید آنابولیک مربوط باشد (۶ هفته)، که فرصت سازگاری و تغییرپذیری در مورفولوژی ارزیابی‌شده را نمی‌دهد. در مجموع، در خصوص مکمل بولدنون و تمرین، پژوهش‌های معدودی انجام شده است. در تحقیقات گذشته غالباً پاسخ بافت‌ها طی یک دوره طولانی مدت استفاده از استروئیدهای آنابولیک - آندروژنیک مورد ارزیابی قرار گرفته است. همچنین اطلاعاتی درباره تأثیر دوزهای مصرفی مکمل بولدنون بر پاسخ بافت طحال در انسان موجود نیست. بنابراین، پیشنهاد می‌گردد در تحقیقات آتی استفاده از استروئیدهای آنابولیک در دوره‌های طولانی مدت بر ساختار طحال مورد بررسی قرار گیرد.

### نتیجه‌گیری

نتایج تحقیق حاضر نشان داد مصرف مکمل بولدنون با دوزهای مختلف موجب افزایش وزن بدن، کاهش غیرمعنی‌دار وزن طحال، افزایش سطوح گلبول‌های سفید و افزایش هماتوکریت می‌شود.

آهن قابل‌دوام برای سلول‌های خونی می‌باشد (۱۲). سازگاری‌های مورفولوژیک طحال غیر از فعالیت بدنی، با استروئیدهای آنابولیک ارتباط دارد. طحال به‌عنوان بزرگترین اندام ایمنی ثانویه، از دو قسمت اصلی (شامل: پالپ قرمز که خون را از مواد خارجی، آسیب‌دیده و گلبول‌های قرمز ضعیف فیلتر می‌کند، و پالپ سفید به‌عنوان شروع‌کننده واکنش‌های ایمنی نسبت به آنتی‌ژن‌های منتقله از راه خون) تشکیل شده است. Alén، میزان گلبول‌های قرمز و متابولیسم لیپیدی ورزشکاران مصرف‌کننده استروئیدها را مورد ارزیابی قرار داد که نتایج، حاکی از افزایش معنی‌دار در سطح گلبول‌های قرمز بود (۸). Parkinson و Evans نیز با بررسی فاکتورهای کبدی و خونی ورزشکاران بدنسازی که در حین تمرین از داروهای استروئیدی استفاده می‌کردند دریافتند فاکتورهای کبدی و خونی، بسته به میزان مصرف، افزایش چشمگیری پیدا می‌کنند (۲۵). جنبه مهم دیگری که در این خصوص مدنظر قرار دارد تأثیر استروئید آنابولیک - آندروژنیک بر پارامترهای بافتی مانند طحال است. جنبه‌های مورفولوژیک، این امکان را فراهم می‌آورد تا تجسمی از ساختارهای مختلف همانند پالپ سفید که با مشخصه حضور فراوان لنفوسیت‌ها و پالپ قرمز که نمایی از محتوای تشکیل‌گلبول‌های قرمز بالغ است، وجود داشته باشد (۱۲). بابایی و همکاران با بررسی تأثیر زعفران روی هماتولوژی، پاسخ آنتی‌بادی و هیستولوژی طحال نشان دادند تفاوتی بین گروه‌های درمان و کنترل با توجه به هیستولوژی طحال وجود ندارد. همچنین محققان بیان کردند استفاده از مقادیر ۷۵ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم موجب افزایش در پاسخ آنتی‌بادی بدون تغییر در پاسخ‌های هماتولوژی و هیستولوژی طحال می‌شود (۲۶). Alén و همکاران نیز نشان دادند غلظت سرمی هموگلوبین، هماتوکریت و شمار سلول‌های سفید خون بعد از ۶ ماه مصرف دوز بالای استروئیدهای آنابولیک - آندروژنیک افزایش می‌یابد (۸). AHMAD و همکاران در پژوهش خود نشان دادند عوامل هماتولوژیکی (مانند سلول‌های قرمز خون و هموگلوبین)، در گروه‌های تزریقی بولدنون در مقایسه با گروه کنترل، افزایش معنی‌داری داشته است که حاکی از تأثیر استروئیدهای آنابولیک بر اریتروپوئیز می‌باشد (۱۵). دوز بالایی از آندروژن‌ها که در درمان کم‌خونی‌های مقاوم و سخت به کار می‌رود می‌تواند به

این احتمال وجود دارد که مصرف کوتاه‌مدت بولدنون دارای تأثیرات منفی بر ساختار طحال (پالپ سفید، پالپ قرمز و فضای سینوزوئیدی) بوده و در پی آن تغییرات منفی عوامل هماتولوژیکی را نیز به همراه داشته باشد.

لذا تمرین، قادر به جلوگیری از آسیب‌های ناشی از مصرف مکمل بولدنون نیست و باوجود مصرف دوز کم، این آسیب‌ها مشاهده می‌شود.

## References:

1. Fernández MD, de la Fuente M, Fernfindez E, Manso R. Anabolic steroids and lymphocyte function in sedentary and exercise-trained rats. *J Steroid Biochem Mol Biol* 1996;59(2):225-32.
2. Evans NA. Current concepts in anabolic-androgenic steroids. *Am J Sports Med* 2004;32(2):534-42.
3. Hartgens F, Kuipers H. Effects of androgenic-anabolic steroids in athletes. *Sports Med* 2004;34(8):513-54.
4. Guan F, Uboh CE, Soma LR, You Y, Liu Y, Li X. High-throughput UHPLC MS/MS method for the detection, quantification and identification of fifty-five anabolic and androgenic steroids in equine plasma. *J Mass Spectrom* 2010;45(11):1270-9.
5. Pey A, Blázquez I, Delgad J, Megias A. Effects of prolonged stanozolol treatment on antioxidant enzyme activities, oxidative stress markers, and heat shock protein HSP72 levels in rat liver. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2003;87(4-5):269-77.
6. Silva MT, Martins M, Leall F, Barros T, Carvalho I, Filho H, et al. Effects of administering testosterone undecanoate in rats subjected to physical Brazilian. *Braz J Pharm Sci* 2010;46(1):79-90.
7. Soma LR, Uboh CE, Guan F, McDonnell S, Pack J. Pharmacokinetics of boldenone and stanozolol and the results of quantification of anabolic and androgenic steroids in race horses and nonrace horses. *J Vet Pharmacol Ther* 2007;30(2):101-8.
8. Alén M. Androgenic steroid effects on liver and red cells. *Br J Sports Med* 1985;19(1):15-20.
9. Hartgens F, Hamulyak K, Pernot C. Effects of high doses androgenic-anabolic steroids on haematologic parameters in bodybuilders. In 8th FIMS European Sports Medicine Congress; 1995. p. 23-7.
10. Groot MJ, Biolatti B. Histopathological Effects of Boldenone in Cattle. *J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med* 2004;51(2):58-63.
11. Alm-Eldeen A, Tousson E. Deterioration of glomerular endothelial surface layer and the alteration in the renal function in Rabbits after treatment with a growth promoter Boldenone. *Hum Exp Toxicol* 2012;31(5):465-72.
12. Stewart IB, McKenzie DC. The human spleen during physiological stress. *Sports Med* 2002;32(6):361-9.
13. Magdalena S, Osorio A, Duarte-Rojo A, Martinez-Benitez B, Torre A, Uribe M. Anabolic androgenic steroids and liver injury. *Liver Int* 2008;28(2):278-82.
14. Velazquez J, Alter BP. Androgens and liver tumors: Fanconi's anemia and non-Fanconi's conditions. *Am J Hematol* 2004;77(3):257-67.
15. Ahmed NF, Neamat A. Effect of boldenone undecylenate on haematological and biochemical parameters in veal calves. *Global Veterinaria* 2014;13(6):1092-96.
16. Urhausen A, Torsten A, Wilfried K. Reversibility of the effects on blood cells, lipids, liver function and hormones in former anabolic-androgenic steroid abusers. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2003;84(2-3):369-75.

17. Saad AH, Torroba M, Varas A, Zapata A. Testosterone induces lymphopenia in turtles. *Vet Immunol Immunopathol* 1991;28(2):173-80.
18. Nakao A, Sakagami K, Nakata Y, Komazawa K, Amimoto T, Nakashima K, et al. Multiple hepatic adenomas caused by long-term administration of androgenic steroids for aplastic anemia in association with familial adenomatous polyposis. *J Gastroenterol* 2000;35(7):557-62.
19. Thabet N, Abdelrazek EM, Ghazy EW, Elballal SS. Effect of the anabolic steroid, Boldenone Undecylenate on reproductive performance of male rabbits. *J Reprod Infert* 2010;1(1):8-17.
20. Tousson E, Moghazy E, Massoud A, El-Atrash E, Sweef O, Akel A. Physiological and biochemical changes after boldenone injection in adult rabbits. *Toxicol Ind Health* 2016;32(1):177-82.
21. Ozdemir M, Yalcin H. the effects of testosterone on certain organs and the macro-anatomical changes induced by this hormone in pubescent male and female rats. *Mov Health* 2012;3(1):83-8.
22. Blystone CR, Furr J, Lambright CS, Howdeshell KL, Ryan BC, Wilson VS, et al. Prochloraz inhibits testosterone production at dosages below those that affect androgen-dependent organ weights or the onset of puberty in the male Sprague Dawley rat. *Toxicol Sci* 2007;97(1):65-74.
23. Carson JA, Lee WJ, McClung J, Hand GA. Steroid receptor concentration in aged rat hindlimb muscle: effect of anabolic steroid administration. *J Appl Physiol* (1985) 2002;93(1):242-50.
24. Balkaya M, Metin K, Kozaci D, Hümeýra Ü. Erkek Wistar Ratlarında (*Rattus rattus norvegicus*) Kalitatif ve Kantitatif Protein Yetersizliklerinin Canlı Ağırlık ve Bazı Organ Ağırlıkları Üzerine Etkileri. *Fen Bilimleri Dergisi* 2002;23(1):48-60.
25. Parkinson AB, Evans NA. Anabolic androgenic steroid: A survey of 500 users. *Med Sci Sports Exerc* 2006;38(4):644-51.
26. Babaei A, Arshami J, Haghparast A, Danesh Mesgaran M. Effects of saffron (*Crocus sativus*) petal ethanolic extract on hematology, antibody response, and spleen histology in rats. *Avicenna J Phytomed* 2014;4(2):103-9.
27. Gabr I, Hassan TA, Abo El-Maaty, Amal M, AOTifa AM. Effects of growth promoter Boldenone undecylenate on weaned male lambs. *Nature Sci* 2009;7(3):61-9.
28. Kutscher EC, Lund BC, Perry PJ. Anabolic steroids: A review for the clinician. *Sports Med* 2002;32(5):285-96.