Research Paper

The effect of resistance training on testicular function and spermatogenesis process and sperm parameters of adult male Wistar rats

Milad Khosravi Sadr [1], Ismail Nasiri [1*], Mohsen Khalili[2]

1. Department of Exercise Physiology, Faculty of Humanities, Shahed University, Tehran, Iran
2. Neurophysiology Research Center, Shahed University, Tehran, Iran

*** Corresponding author e-mail: inasiri@shahed.ac.ir**

Citation: Khosravi Sadr M, Nasiri I, Khalili M. The effect of resistance training on testicular function and spermatogenesis process and sperm parameters of adult male Wistar rats. Daneshvar Medicine 2020; 29(5): 11-22. **doi: 10.22070/DANESHMED.2020.3052**

Abstract

Background and Objective: It has been shown that spermatogenesis disorder could induce infertility in male individuals. This study investigated the effect of resistance training on testicular function, spermatogenesis and sperm parameters in adult male Wistar rats.

Materials and Methods: Twenty adult male rats were selected and randomly divided into two groups; 1- control (n=10) and resistance training (n=10). The exercise was performed three days a week for a period of 5 weeks. We chose the method of 50% of body mass with 30 g overload and a resting time of 90 s. Testosterone of the serum, interstitial testicular fat density, spermatogenesis indexes and other sperm parameters were measured and then analyzed by statistical t-test.

Results: In resistance training groups, there was a significant increase in the number of Leydig cells and interstitial fat density of the testis in comparison with the control group ($P<0.05$), but this difference was not shown for the level of serum testosterone. Also, histological analysis showed that resistance training could significantly reduce spermatogenesis indices i.e. tubular differentiation index (TDI), spermiogenesis index (SI) and repopulation index (RI) in comparison with control group ($P<0.05$). Nevertheless, this training could not yield the marked changes on number and the diameter of spermatozoon tube and its epitheliums. Finally, our results showed that motility and viability of sperm decrease prominently but, the amount of DNA fracture increased.

Conclusion: Resistance training could disrupt the process of spermatogenesis and sperm parameters that might yield infertility in male individuals.

Keywords: Resistance training, Spermiogenesis, Sperm parameters

Received: 26 Sep 2020
Last revised: 09 Dec 2020
Accepted: 23 Dec 2020

مقاله پژوهشی

تأثیر تمرین مقاومتی بر روی عملکرد بیضه و فرآیند اسپرماتوژنز و پارامتر های اسپرمی موش های نر ویستار بالغ

نویسندگان: میلاد خسروی صدر[۱]، اسماعیل نصیری [۱*]، محسن خلیلی[۲]

۱. گروه فیزیولوژی ورزش، دانشکده انسانی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران
۲. مرکز تحقیقات نوروفیزیولوژی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران

*نویسنده مسئول: اسماعیل نصیری Email: e.nasiri44@gmail.com

دریافت: ۱۳۹۹/۰۷/۰۵
آخرین اصلاح‌ها: ۱۳۹۹/۰۹/۱۲
پذیرش: ۱۳۹۹/۰۹/۲۸

چکیده

مقدمه و هدف: اختلال اسپرماتوژنز موجب ایجاد ناباروری در جنس نر می شود. هدف از پژوهش حاضر بررسی تأثیر تمرین مقاومتی بر روی عملکرد بیضه و فرآیند اسپرماتوژنز و پارامترهای اسپرمی موش های نر ویستار بالغ می باشد.

مواد و روش ها: تعداد ۲۰ سر موش بالغ نر به صورت تصادفی به ۲ گروه ۱۰ تایی، کنترل و تمرین مقاومتی تقسیم شدند. تمرین به مدت (پنج هفته و سه روز در هفته) با ۵۰ درصد توده ی بدنی و ۳۰ گرم اضافه بار با ۹۰ ثانیه استراحت انجام شد. میزان تستوسترون سرم، سلول لیدیگ، تراکم چربی بینابینی بیضه، شاخص های اسپرماتوژنز و پارامتر های اسپرمی با روش آماری تفاوت بین گروهی با آزمون t-test با سطح ($p<۰/۰۵$) ارزیابی شد.

نتایج: تمرین مقاومتی باعث افزایش معنی دار سلول لیدیگ و تراکم چربی بینابینی بیضه نسبت به گروه کنترل شد ($p<۰/۰۵$)، ولی تأثیر معنی داری بر میزان تستوسترون سرم نداشت. آنالیز بافتی نشان داد که تمرین مقاومتی شاخص های اسپرماتوژنز (TDI شاخص تمایز لوله ای، SI شاخص اسپرمیوژنز و RI شاخص تجمعی) را نسبت به گروه کنترل کاهش می دهد ($p<۰/۰۵$)، اما تأثیر معنی–داری بر روی ارتفاع اپیتلیوم، تعداد و قطر لوله اسپرم ساز ندارد. بررسی پارامتر های اسپرمی نشان داد که تمرین مقاومتی موجب کاهش تعداد تحرک و زیست پذیری اسپرم و افزایش شکستگی (DNA) می شود ($p<۰/۰۵$)، اما تأثیر معنی داری بر بلوغ اسپرم ندارد.

نتیجه‌گیری: تمرین مقاومتی باعث ایجاد اختلال در فرآیند اسپرماتوژنز و پارامتر های اسپرمی شده و می تواند تأثیر منفی در سیستم باروری مردان داشته باشد.

واژه های کلیدی: تمرین مقاومتی، اسپرمیوژنز، پارامترهای اسپرمی

مقدمه

ناباروری یک بیماری محسوب می شود که در جامعه جهانی حدود ۱۸٦ میلیون نفر از آن رنج می برند که بیشتر آن ها ساکن کشورهای در حال پیشرفت هستند. ناباروری با عدم بارداری پس از ۱۲ ماه رابطه جنسی منظم، محافظت نشده و یا به دلیل اختلال در توانایی فرد در تولیدمثل، مشخص می شود (۱). در سراسر جهان، تقریباً از هر ۱۰ زوج یک نازا وجود دارد و تقریباً نیمی از آن به مرد ارتباط پیدا می کند (۲).

ناباروری مردان تحت تأثیر عوامل محیطی، رفتاری و ژنتیکی قرار دارد و در مراحل مختلفی از اختلال اسپرماتوژنز ایجاد می شود (۲). شایع‌ترین علت مختل شدن عملکرد بیضه اختلال در فرآیند اسپرماتوژنز است (۳). اختلال عملکرد بیضه می تواند به صورت مادرزادی، اکتسابی یا ایدیوپاتیک بیضه تقسیم‌بندی شود (۱). این اختلال امکان دارد به وسیله تأثیرات محیطی و یا بیماری هایی که می توانند به طور مستقیم و یا غیرمستقیم بر اسپرماتوژنز تأثیر بگذارد ایجاد شود. علاوه بر این، مواد مغذی مختلف، داروها، هورمون ها و مواد سمی می توانند باعث ایجاد اختلال در اسپرماتوژنز شوند. به‌طورکلی یک ماده سمی نسبتاً ساده هم می تواند منجر به افزایش درجه حرارت شود که فعالیت اسپرماتوژنز را در بیضه ها کاهش می دهد (٤)

اخیراً، عوامل اساسی در شیوه سبک زندگی که در توسعه ناباروری نقش به سزایی دارند نظیر؛ تغذیه، کم‌تحرکی، مصرف زیاد برخی از داروها، مواد شیمیایی، پیری، فشار روانی، کافئین، درجه حرارت زیاد اسکروتوم، آب داغ، تلفن همراه و غیره باعث افزایش علاقه پژوهشگران برای مطالعه در این زمینه شده است (۵).

بر همین اساس در رابطه با اینکه فعالیت ورزشی می تواند تأثیر مثبتی بر روی سلامتی افراد داشته باشد در میان جوامع علمی و بالینی اتفاق نظر وجود دارد. تمرینات ورزشی به عنوان یک روش پیشگیری کم هزینه توسط پزشکان برای بیماری ها، به ویژه برای سیستم قلبی عروقی تجویز می شود (٦). پژوهش های مختلفی در انسان و مدل‌های حیوانی صورت گرفته است، اما اطلاعات ضدونقیضی از تأثیرات مثبت و منفی این تمرینات در ارتباط با سلامت باروری، سیسم تولیدمثل و فرآیند اسپرماتوژنز گزارش‌شده است که باید تحقیقات بیشتری در این زمینه صورت پذیرد (۷-۱۰).

مطالعات مختلف از تأثیرات مثبت فعالیت ورزشی مقاومتی و هوازی بر روی پارامترهای اسپرم، آسیب های بافت بیضه و فرآیند اسپرماتوژنز در حیوانات آزمایشگاهی، گزارش کرده اند و مشاهده شده است که فعالیت ورزشی می تواند آسیب های وارد شده به عملکرد بیضه را بهبود بخشد (۱۱, ۱۲). برخلاف پژوهش ها ذکرشده، مشاهده شده است که تمرینات ورزشی با شدت و مدت بالا باعث افزایش آسیب به بافت بیضه و پارامتر های اسپرمی می شود و از این طریق سبب ایجاد اختلال در فرآیند اسپرماتوژنز و باروری می شود (۱۳, ١٤).

فعالیت ورزشی مقاومتی یکی از محبوب‌ترین تمرینات ورزشی است که ورزشکاران برای بهبود عملکرد و آمادگی خود از آن استفاده می کنند (۱۵). جسیکا و همکاران در سال ۲۰۱۷ نشان داده اند که فعالیت ورزشی مقاومتی از آسیب های وارد شده به عملکرد بیضه جلوگیری می کند (۱۲). از طرفی، در مطالعه ای که توسط آنا و همکاران در سال ۲۰۱۷ صورت گرفت، گزارش شده است که تمرین مقاومتی می تواند باعث ایجاد اختلال در عملکرد و فیزیولوژی بیضه شود (۸).

با توجه به نتایج ضدونقیضی که در پژوهش های قبلی گزارش شده است، تحقیقات بیشتری در این زمینه باید صورت گیرد. در همین راستا، هدف از پژوهش حاضر بررسی تأثیر تمرین مقاومتی بر روی عملکرد بیضه و فاکتورهای اسپرماتوژنز، اسپرمیوژنز و پارامتر های اسپرم در موش های نر ویستار بالغ است.

مواد و روش ها

در این مطالعه، ۲۰ موش صحرایی بالغ نر (۲۵۰-۲۲۰ گرمی) از دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌الله تهیه و در آزمایشگاه حیوانات دانشگاه شاهد نگهداری شدند. حیوانات به صورت تصادفی به ۲ گروه ۱۰ تایی شامل؛ (کنترل) و (تمرین مقاومتی) تقسیم شدند. حیوانات در شرایط نور (۱۲ ساعت نور: ۱۲ ساعت تاریکی) و رژیم غذایی و آب استاندارد قرار گرفتند. تمام آزمایش‌ها بر اساس "راهنمای مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی" دانشگاه شاهد انجام گردید.

آزمون تمرین مقاومتی

تمرین مقاومتی به مدت ۵ هفته و سه روز در هفته انجام شد. نردبان مورد استفاده در این پژوهش به اندازه‌ی یک متر و با شیب ۸۰ درجه بود. یک هفته رت ها با صعود از نردبان آشنا شدند. وزن همه ی حیوانات هفته ای یک‌بار برای نظارت برافزایش وزن و تعیین مقدار وزنه اضافه‌شده در هفته بعد مشخص گردید. تمرین در روز اول با ۳۰ درصد توده بدنی، با ۱۰ تکرار و ۹۰ ثانیه استراحت بین تکرار آغاز شد. سپس در روزهای دوم و سوم با ۵۰ درصد توده ی بدنی تمرین کردند. جلسات تمرین از هفته ی دوم با ۵۰ درصد توده بدنی شروع شده در هر ۲ تکرار با ۳۰ گرم اضافه بار تا (حداکثر ظرفیت حمل) ادامه پیدا کرد. گرم کردن و سرد کردن با دو تکرار وزنه ۵۰ گرمی انجام پذیرفت، این پروتکل با کمی تغییر از منبع استفاده شده انجام گرفت (۱۶).

روش تهیه سرم

چهل‌وهشت ساعت بعد از آخرین جلسه تمرین و ۱۲ ساعت ناشتایی، حیوانات با تزریق داخل صفاقی کتامین (۱۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم وزن بدن) کشته شدند و نمونه خونی به‌طور مستقیم از قلب گرفته شد. سرم خونی با دور rpm 3000 و به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شده و جدا گردید. غلظت تستوسترون سرم (نانوگرم بر میلی‌لیتر) با استفاده از کیت تجاری الایزا (منوبایند آمریکا) با حساسیت ng/ml 1/0 و ضریب تغییرات به ترتیب ۷/۲، ۵/۰ و ٤/۸ سنجیده شد، در نهایت داده ها بین گروه ها مقایسه شدند.

روش تهیه نمونه ها

سپس پوست ناحیه شکمی را با اتانول ۷۰٪ استریل کرده و یک برش در ناحیه شکم ایجاد شد. پس از فیکس شدن نمونه ها در درون محلول فرمالین ۱۰ درصد بافری و پاساژ آماده شدند. آبگیری نمونه ها به ترتیب در الکل ۵۰ درصد، ۷۰ درصد، ۹۰ درصد و ۱۰۰ انجام شد. سپس نمونه ها در داخل محلولی به نام گزیلون و بعد داخل پارافین واکس قرار داده شدند. برش گیری نمونه ها به‌اندازه‌ی ۷-۵ میکرون با دستگاه میکروتوم چرخشی (مدل ۲۰ Leica ساخت کشور آلمان) انجام و رنگ آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین با استفاده از دستگاه تمام خودکار رنگ‌آمیزی (مدل MICROM، ساخت کشور آلمان) صورت گرفت و برای ارزیابی هیستولوژیکال زیر میکروسکوپ نوری (MEDIC Hv٦٠-) قرار گرفتند (۱۷).

آنالیز هیستوشیمی با رنگ آمیزی سودان بلک (کیت آسیا پژوهش، ایران) بر پایه رنگ پذیری چربی های غیراشباع در سیتوپلاسم سلول ها است. چربی های غیراشباع درون سلول به رنگ سیاه شناسایی شدند. رنگ آمیزی افتراقی به روش هماتوکسیلین هاریس صورت گرفت. فرمالین ۱۰ درصد بدون الکل یا استفاده از ازت مایع محلول ثبوتی مناسبی برای این رنگ آمیزی است. محلول سودان بدین ترتیب تهیه می گردد که ۰/۷ سودان سیاه B را در ۱۰۰ میلی لیتر پروپیلین یا اتیلن گلیکول حل کرده و در ۱۰۰ تا ۱۱۰ درجه سانتی گراد چند دقیقه تکان داده و پس از خنک شدن صاف می گردد. برش انجمادی نمونه ها به‌اندازه ۱۵ میکرون انجام داده شد. درنتیجه لیپیدها با رنگ آمیزی سودان بلاک B به رنگ سیاه مشاهده می شود. گلیکول بهترین حلال برای رنگ های چربی است زیرا چربی ها را از بافت خارج نمی کند سودان بلاک B بهترین رنگ آمیزی چربی ها است (۱۷).

مطالعه هیستومورفومتریکی بیضه

مطالعه هیستومورفومتریکی بیضه نیز شامل؛ قطر لوله های اسپرم ساز (برحسب میکرومتر)، ارتفاع اپیتلیوم (برحسب میکرومتر)، تعداد لوله ها (در دایره‌ای به شعاع ۵۰۰ میکرومتر) و تعداد سلول های لیدیگ (در دایره ای با شعاع ۵۰ میکرومتری) بود. بررسی اسپرماتوژنز و اسپرمیوژنز از

طریق شاخص تمایز لوله ای (TDI[1])، شاخص اسپرمیوژنز (SI[2]) و شاخص تجمعی (RI[3]) بودند. شاخص تمایز لوله ای شامل درصد لوله‌های اسپرم‌ساز دارای بیش از ٤ ردیف سلولی (TDI مثبت) نسبت به لوله‌های اسپرم‌ساز دارای کمتر از ٤ ردیف سلولی (TDI منفی) بود. شاخص اسپرمیوژنز نیز درصد لوله‌های اسپرم‌ساز دارای اسپرمانید به لوله های اسپرم‌ساز بدون اسپرمانید لحاظ شد. ضریب تجمعی نیز درصد اسپرماتوگونی های نوع B (قابل‌تمایز با هسته کاملاً تیره‌رنگ) به اسپرماتگونی های نوع A (هسته روشن تر) محاسبه گردید (۱۷).

ارزیابی پارامترها و کیفیت اسپرمی

دم اپی دیدیم از بیضه جداشده و در داخل پتریدیش ۳ سانتی متری حاوی ۱ میلی لیتر محیط کشت HTF حاوی 4 mg/ml (Sigma, USA) BSA (که قبلاً جهت تعادل در داخل انکوباتور قرار داده شده بود)، گذاشته شد و با چند برش در دم اپی دیدیم اسپرم–ها خارج، سپس داخل انکوباتور CO2 قرار داده شد.

برای شمارش اسپرم ها رقت ۱ به ۲۰ از اسپرم مذکور تهیه شد. به این صورت که در داخل یک میکرو تیوب ۱ میلی لیتری، ۱۹۰ میکرو لیتر آب مقطر ریخته شده و سپس، ۱۰ میکرو لیتر از اسپرم موردنظر به آن افزوده شد. سپس، ۱۰ میکرو لیتر از این محلول بر روی لام نئوبار (که لامل سنگی از قبل بر روی آن گذاشته شده بود)، ریخته شد. بدین ترتیب، شمارش تعداد اسپرم ها انجام گرفت (۷).

بررسی تحرک اسپرم

تحرک اسپرم، یک قطره از محیط کشت حاوی اسپرم مورد نظر بر روی لام نئوبار گذاشته شد و درصد تحرک اسپرم ها در زیر میکروسکوپ با بزرگ نمایی ۲۰× بررسی گردید. برای این کار پس از همگن کردن محلول داخل میکروتیوب توسط سمپلر یک قطره از محلول را روی لام نئوبار انتقال داده و در ۲۵ عدد خانه موجود در قسمت مرکزی لام تعداد اسپرم ها شمارش خواهیم کرد، داخل یا خارج بودن اسپرم در مربع ها را برحسب قرار گرفتن یا نگرفتن سر اسپرم در آن مربع در نظر خواهیم گرفت. عدد به‌دست‌آمده را ابتدا در ۵ و سپس در عدد ۱۰۵ ضرب خواهیم کرد تا تعداد کل اسپرم ها به دست بیاید (۷).

بررسی قدرت زیستی اسپرم

به‌منظور ارزیابی قدرت زیست پذیری[4] اسپرم، از تست ائوزین–نگروزین استفاده شد. مقدار ۲۰ میکرو لیتر از نمونه اسپرم موردنظر، درروی یک لام تمیز با ۲۰ میکرو لیتر از محلول ائوزین حل‌شده و پس از ۲۰ الی ۳۰ ثانیه، ۲۰ میکرو لیتر از محلول رنگی نگروزین به آن اضافه شد. بعد از تهیه اسمیر از محلول مورد نظر و خشک شدن لام ها در گروه های مختلف، با استفاده از میکروسکوپ نوری و با بزرگ نمایی ٤۰×، درصد اسپرم های زنده (بی رنگ) و اسپرم های مرده (قرمزرنگ) ارزیابی شد (۷).

اسپرم هایی که پس از ایجاد تراکم در کروماتین خود، دارای هیستون های اضافی باشند، با این رنگ آمیزی مشخص می شوند. پس از تهیه اسمیر از هر نمونه حیوانی و خشک شدن آن‌ها، مرحله فیکس شدن نمونه ها توسط فیکساتیو گلوتارآلدئید ۳٪ در ۰,۲ میلی بافر فسفات (۷/۲ PH) به مدت ۳۰ دقیقه انجام شد. سپس اسلایدها با ۵٪ آنیلین بلو ۵٪ مخلوط شده با ٤٪ اسید استیک (۳/۵ pH) به مدت ۵ دقیقه رنگ‌آمیزی شدند. پس از شستشو با آب مقطر، لام ها با میکروسکوپ نوری با بزرگ نمایی ۱۰۰× مورد بررسی و درصد اسپرم های بالغ (آبی کم‌رنگ) و نابالغ (آبی پررنگ) تعیین گردید. در این بررسی نسبت تعداد اسپرم‌های با هسته نابالغ به اسپرم های با هسته بالغ شمارش گردید (۷).

بررسی آسیب DNA در اسپرم

برای بررسی میزان آسیب DNA اسپرم از روش رنگ آمیزی آکریدین اورنج استفاده شد. این رنگ فلورسنت، جهت تمایز DNA دو رشته ای سالم از DNA تک–رشته ای ناسالم و دناتوره به کار می رود. DNA دو رشته ای سالم زیر میکروسکوپ فلورسنت (Zeiss Company)، سبزرنگ و DNA تک–رشته ای دناتوره زرد تا قرمز رنگ می شود. پس از تهیه اسمیر از هر نمونه و خشک شدن آن‌ها، فیکس شدن نمونه ها توسط محلول کارنوی به مدت حداقل ۲ ساعت صورت گرفت. سپس لام ها به مدت ۱۰ دقیقه توسط رنگ آکریدین اورنج رنگ آمیزی شدند. پس از شستشو توسط آب جاری، لام ها توسط میکروسکوپ

[1] Tubular Differentiation Index
[2] Spermiogenesis Index
[3] Repopulation Index
[4] Viability

فلورسنت با فیلتر 460 nm بررسی شدند. اسپرم های با DNA سالم با سری به رنگ سبز و اسپرم های با DNA آسیب‌دیده به رنگ زرد قابل مشاهده بودند. در این بررسی نسبت اسپرم های با DNA آسیب دیده به اسپرم های با DNA سالم شمارش گردید (۷).

آنالیز آماری

همه داده های کمی به‌صورت Mean ± SD و با معناداری ($p<۰/۰۵$) ارائه شدند. ارزیابی تفاوت بین گروهی با آزمون t-test با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۲۲ انجام شد. تمامی تصاویر با دوربین Dino Late و آنالیز آن ها با نرم‌افزار Dinocapture انجام گرفت.

نتایج

بررسی نتایج وزن بدن و وزن بیضه گروه ها

تفاوت معنی‌داری بین دو گروه در وزن اولیه بدن ($p<۰/٤۸۲$)، وزن نهایی بدن ($p<۰/٥٤۸$)، میزان افزایش وزن ($p<۰/٦۲۹$)، وزن بیضه ($p<۰/٤٥۳$) و ایندکس (وزن بیضه/ وزن بدن ×۱۰۰) ($p<۰/۸٥٥$) مشاهده نشد، با این حال وزن بدن حیوانات در طول اجرای پروتکل افزایش پیدا کرده بود (جدول ۱).

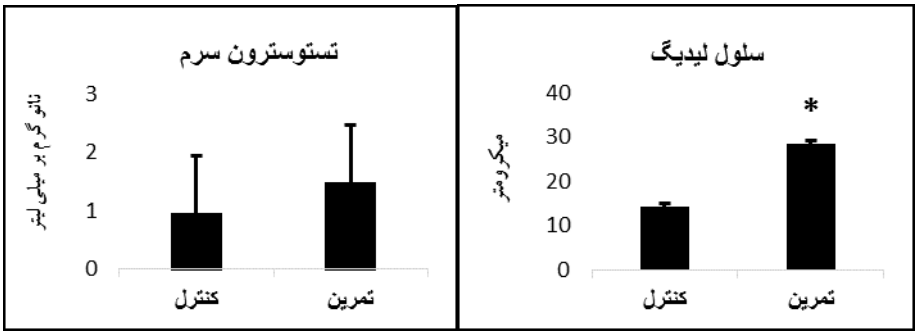
جدول ۱. تفاوت وزن بدن، افزایش وزن بدن، وزن بیضه و ایندکس گروه‌ها

گروه‌ها	وزن بدن (گرم)		افزایش وزن	وزن بیضه (چپ)	ایندکس (نسبت وزن بیضه به وزن بدن)
	ابتدا	انتها			
کنترل	۲۲۵±۲۱/۲۱	۲۸۰±۳۵/۳۵	۵۵±۱۴/۱۴	۱/۶۶±۰/۲۵	۰/۵۳
تمرین	۲۳۶±۱۲/۵۸	۳۰۱±۳۵/۱۱	۶۵±۱۷/۳۲	۱/۵۴±۰/۰۷	۰/۵٤

تفاوت معنی‌داری بین دو گروه در وزن اولیه، وزن نهایی، میزان افزایش وزن، وزن بیضه و ایندکس ملاحظه نشد.

داده‌ها به میانگین و انحراف استاندارد (**Mean±SD**) بیان‌شده است

سطوح سرمی تستوسترون و تعداد سلول های لیدیگ در بررسی هورمونی میزان تستوسترون سرم در گروه تمرین نسبت به گروه کنترل افزایش قابل ملاحظه‌ای مشاهده نشد، اما در گروه تمرین تعداد سلول های لیدیگ به‌طور معنی دار نسبت به گروه کنترل افزایش‌یافته بود ($p<۰/۰۵$) (نمودار ۱).

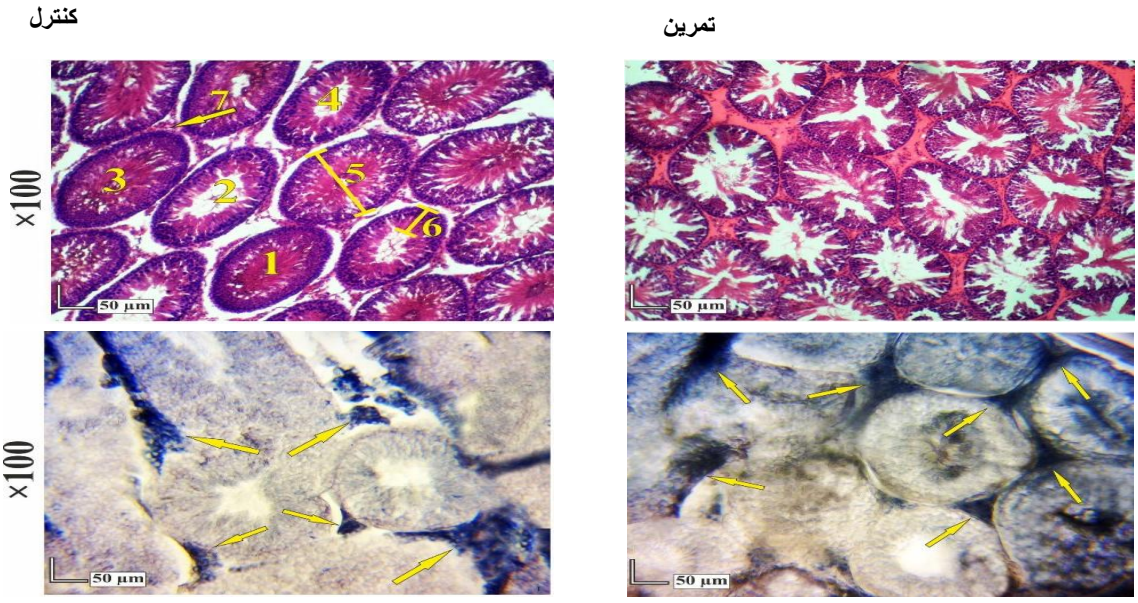


نمودار ۱. تغییرات تستوسترون سرم و سلول لیدیگ در بین گروه‌ها، داده‌ها به میانگین و انحراف استاندارد (**Mean±SD**)

* نشانه تفاوت معنی‌داری ($p<۰/۰۵$) بیان‌شده است

نتایج هیستولوژیکال و هیستوشیمی

در گروه کنترل لوله های اسپرم‌ساز پراکندگی یکسان داشتند و ما بین این لوله ها سلول های بینابینی و سلول های لیدیگ در تعداد طبیعی بود. در لوله های اسپرم‌ساز اِدم، پرخونی و از هم گسیختگی وجود نداشت. اپیتلیوم لوله اسپرم ساز از سلول های اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت های اولیه و ثانویه به همراه سلول های سرتولی و نهایتاً سلول های اسپرماتید تشکیل شده بود. در گروه تمرین تعداد سلول های لیدیگ موجود در فضای بینابینی لوله های اسپرم‌ساز افزایش‌یافته بود اما اِدم، پرخونی و از هم گسیختگی لوله های اسپرم‌ساز مشاهده شد. در گروه تمرین تراکم چربی افزایش معنادار نسبت به گروه کنترل داشت (**p<۰/۰۵**) (شکل ۱).



شکل ۱. لوله اسپرم‌ساز با شاخص TDI مثبت شماره ۲: لوله اسپرم‌ساز با شاخص TDI منفی شماره ۳: لوله اسپرم‌ساز با شاخص SI مثبت شماره ۴: لوله اسپرم‌ساز با شاخص SI منفی / شماره ۵: قطر لوله اسپرم‌ساز شماره ۶: ارتفاع اپیتلیوم لوله اسپرم‌ساز شماره ۷: سلول‌های لیدیگ. رنگ‌آمیزی سودان بلک B (Sudan Black B Staining). نقاطی که نسبت به رنگ‌آمیزی سودان بلک واکنش مثبت داشتند با فلش نشان داده شده است.

شاخص‌های اسپرماتوژنز

در بررسی هیستومورفومتری بافت‌ها، نشان داده شد که در گروه تمرین میزان شاخص‌های **TDI** (**p<۰/۰۰۰**)، **SI** (**p<۰/۰۰۰**) و **RI** (**p<۰/۰۴۲**) نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌داری پیدا کرده است، اما این میزان کاهش معنی‌داری در ارتفاع اپیتلیوم (**p<۰/۰۸۱**)، قطر لوله‌های اسپرم‌ساز (**p<۰/۲۷۸**) و تعداد لوله‌های اسپرم‌ساز (**p<۰/۰۷۳**) مشاهده نشد (جدول ۲).

جدول ۲. تغییرات آنالیز بافتی در بین گروه‌ها

گروه‌ها	TDI	SI	RI	ارتفاع اپیتلیوم	قطر لوله	تعداد لوله
کنترل	۸۰/۱۲± ۱/۹۵	۸۲/۳۷±۲/۳۲	۷۵/۰۰±۶/۱۴	۱۰۴±۹/۱۷	۳۱۸±۳۲/۵۲	۲۵/۰۰±۲/۰۰
تمرین	*۷۴/۳۷±۱/۹۲	*۷۵/۲۵±۲/۵۴	*۶۹/۶۲±۲/۸۷	۹۶/۶۴±۷/۷۱	۳۰۱±۲۵/۶۴	۲۷/۲۵±۲/۶۰

ضریب تمایز لوله‌های اسپرم‌ساز یا همان **TDI**، ضریب اسپرمیوژنز لوله‌های اسپرم‌ساز یا همان **SI**، ضریب جایگزینی مجدد اسپرماتوگونی‌های فعال یا همان **RI**، ارتفاع اپیتلیوم لوله اسپرم‌ساز (برحسب میکرومتر)، قطر لوله‌های اسپرم‌ساز (برحسب میکرومتر)، تعداد لوله‌های اسپرم‌ساز (در دایره‌ای به شعاع ۵۰۰ میکرومتر)، داده‌ها به میانگین و انحراف استاندارد (**Mean±SD**) * نشانه تفاوت معنی‌داری است.

پارامترها و کیفیت اسپرم

بر اساس ارزیابی پارامترهای اسپرمی صورت گرفته، گزارش شد که در گروه تمرین تعداد اسپرم (p<۰/۰۰۰)، تحرک اسپرم (p<۰/۰۰۰) و زیست پذیری اسپرم (p<۰/۰۰۰) کاهش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل دارد، اما تفاوت معنی‌داری در بلوغ اسپرم (p<۰/۷۷۵) مشاهده نشد. همچنین ملاحظه شد که میزان شکستگی DNA اسپرم در گروه تمرین نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌داری پیدا کرده است (p<۰/۰۰۱) (جدول ۳).

جدول ۳. تغییرات پارامترهای اسپرمی در بین گروه‌ها

گروه‌ها	تعداد اسپرم × ($۱۰^۶$)	تحرک اسپرم (٪)	زیست پذیری اسپرم (٪)	بلوغ اسپرم (٪)	شکستگی **DNA** اسپرم
کنترل	**۷۳/۸۸± ۴/۴۸**	**۶۸/۸۸ ±۱/۳۵**	**۸۸/۱۳ ±۱/۹۵**	**۶/۲۵ ±۱/۲۸**	۲/۸۸ ±۱/۲٤
تمرین	***۶۷/۴۲ ±۱/۴۴**	***۶۱/۳۳ ±۱/۸۲**	***۷۲/۶۷± ۲/۰۱**	**۶/۴۲ ±۱/۲۴**	*۵/۰۸ ±۱/۲٤*

تفاوت معنی‌داری بین دو گروه در (تعداد، تحرک، زیست پذیری و شکستگی **DNA** اسپرم) (**p**<۰/۰۵) مشاهده شد، اما در بلوغ اسپرم این تفاوت معنی‌داری وجود نداشت. داده‌ها به میانگین و انحراف استاندارد (**Mean±SD**) * نشانه تفاوت معنی‌داری است.

بحث

بر اساس نتایج به دست آمده مشاهده شد که تمرین مقاومتی باعث افزایش سلول های لیدیگ و تراکم چربی در فضای بینابینی بیضه می شود، اما این افزایش سلول لیدیگ و تراکم چربی بینابینی بیضه قادر به بالا بردن میزان تستوسترون سرم در گروه تمرین مقاومتی نسبت به گروه کنترل نشد، بنابراین هورمون تستوسترون که از سلول لیدیگ ترشح می شود و وظیفه رشد و تقسیم سلول های زایای بیضه را در مرحله اول ساخت اسپرم ها بر عهده دارد، نتوانست توسط تمرین مقاومتی مورد استفاده در این پژوهش افزایش پیدا کند. تولید آندروژن در فضای بینابینی بیضه ها صورت می گیرد (۱۸) و سلول های لیدیگ در این بخش نقش مهمی را در متابولیز کردن کلسترول به تستوسترون بر عهده دارند (۱۹). نشان داده شده است که قطرات لیپیدی سیتوپلاسمی سلول لیدیگ بستری برای این عمل می باشند که می تواند به تولید تستوسترون کمک کنند (۲۰). صارمی و همکاران در سال ۲۰۱۳ نشان دادند که تمرین هوازی شنا با شدت بالا با کاهش تستوسترون سرم همراه است و گزارش شد که این نوع تمرین می تواند کیفیت اسپرماتوزنز را کاهش می دهد (۲۱)؛ اما همسو با مطالعه حاضر نشان داده شده است که تمرین مقاومتی فزایند به مدت ۸ هفته به صورت یک روز در میان تأثیر معنی داری بر تستوترون سرم ندارد (۲۲).

در بررسی های بافتی این پژوهش نشان داده شد که تمرین مقاومتی موجب کاهش شاخص هایی نظیر (TDI,SI,RI) می شود و از این طریق می تواند باعث ایجاد اختلال در عملکرد فرآیند اسپرماتوژنز و کاهش کیفیت آن شود. طبق نتایج به دست آمده، نشان داده شد که تمرین مقاومتی تأثیر معنی داری بر روی (ارتفاع اپیتلیوم، قطر و تعداد لوله های اسپرم ساز) ندارد. همچنین در بررسی–های اسپرمی این پژوهش نشان داد شد که تمرین مقاومتی با کاهش دادن (تعداد، تحرک و زیست پذیری اسپرم) و همچنین افزایش در شکستگی DNA اسپرم تأثیر منفی بر کیفیت اسپرم ها می گذارد. در این مطالعه مشاهده شد که تمرین مقاومتی تأثیر معنی داری بر روی بلوغ اسپرم ها نخواهد داشت.

طبق گزارش هایی که در متون علمی دیده می شود، اجماع نظر کلی در رابطه با تأثیر فعالیت ورزشی بر روی فرآیند اسپرماتوژنز و سیستم تولیدمثل مشاهده نشده است. در مطالعه که در سال ۲۰۱۸ همسو با پژوهش حاضر انجام شد، گزارش شده است که تمرین مقاومتی فزاینده ۸ هفته ای با ۵ روز در هفته به دلیل بالا بردن استرس اکسیداتیو و پراکسیداسیون لیپیدی متعاقب تمرین می تواند کیفیت فرایند اسپرماتوژنز را دچار اختلال کند (۲۳). یکی از عوامل فیزیولوژیکی اساسی که در پیشرفت ناباروری دخیل است و بسیاری از مطالعات آن را گزارش کرده اند، افزایش استرس اکسیداتیو و گونه های فعال اکسیژن (ROS) می

باشند که با ایجاد التهاب موجب تغییر در کیفیت اسپرم ها می شوند. با افزایش غلظت ROS در بدن نشان داده شده است که یک بی‌نظمی در روند فرآیند اسپرماتوژنز رخ می دهد که می تواند آن را دچار اختلال کند (۲٤). در مطالعه حاضر اضافه بار وزنه در هر دو تکرار انجام پذیرفته و کاهش کیفیت اسپرماتوزنز در این تحقیق احتمالاً با افزایش استرس اکسیداتیو و گونه های فعال اکسیژن در پی تمرین رخ داده است.

دلیل دیگری که تمرین ورزشی شدید می تواند به سیستم باروری جنس نر آسیب وارد کند کاهش پروتئین شوک گرمایی (HSP ۷۰) است که به عنوان نشانگر بیوشیمیایی عملکردی برای تحرک و کیفیت اسپرم در جهت ارزیابی باروری جنس نر معرفی می شود (۲۵). این پروتئین تنظیم کننده اسپرماتوژنز در شرایط بحرانی و ایسکمی می باشد (۲٦،۲۷). HSP ۷۰– در سلول های جوانه زا نقش تنظیم‌کننده رشدی را دارد و در سلول های لیدیگ باعث مهار آپوپتوز ناشی از استرس می شود. همسو با مطالعه حاضر گزارش شده است که پرداختن به انجام تمرین ورزشی استقامتی کاهش این پروتئین را می تواند به دنبال داشته باشد که تأثیر منفی را بر اسپرماتوژنز دارد (۲۸).

از طرفی به نظر می رسد که تمرین ورزشی هوازی با شدت متوسط می تواند تأثیر مثبتی بر روی سیستم باروری جنس نر و دیابتی داشته باشد. صمدیان و همکاران در سال ۲۰۱۹ مطالعه ای را صورت دادند، آن ها گزارش کردند که تمرین ورزشی هوازی با شدت متوسط به مدت ٦ هفته برخلاف نتایج پژوهش حاضر باعث بهبود شاخص های اسپرماتوژنز و اسپرمیوژنز (TDI,SI) در موش های دیابتی می شود که به همین سبب از ایجاد آسیب به این شاخص‌ها جلوگیری می کند. آن ها گزارش کردند که تمرین ورزشی هوازی با شدت متوسط باعث افزایش سوپراکساید دیسموتاز (SOD) می شود و همچنین این نوع تمرین باعث افزایش تعداد سلول های لیدیگ و به دنبال آن افزایش تستوسترون سرم و مهار آپوپتوز و تقریباً تمام پارامتر های اسپرمی می شود (۲۹).

حاجی زاده و ترتیبیان در سال ۲۰۱۷ یک کار آزمایی کنترل شده تصادفی را مورد بررسی قرار دادند، در این پژوهش تمرین ورزشی هوازی با شدت بالا بر روی بیماران نابارور انجام گرفت و نشان داده شد که این نوع تمرین می تواند مارکر های التهابی (اینترلوکین ٦ و فاکتور نکروز تومور–a)، استرس اکسیداتیو (ROS و مالون دی آلدهید) و آنتی‌اکسیدان‌ها (سوپر اکسید دیسموتاز، کاتالاز و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام) را تضعیف کند، همزمان با این تغییرات پیشرفت های مطلوبی در پارامتر های اسپرم، شکستگی DNA اسپرم و میزان باروری افراد مشاهده شد (۳۰). با این وجود همچنان تحقیقات مختلفی نشان داده اند که تمرین ورزشی هوازی و مقاومتی با شدت بالا به دلیل افزایش استرس اکسیداتیو و پراکسیداسیون لیپیدی موجب آسیب به فرآیند اسپرماتوژنز و پارامتر های اسپرمی و سیستم باروی جنس نر می شود (۳۳–۳۱).

نتیجه گیری

بر اساس گزارشات صورت گرفته می توان گفت که تمرین ورزشی مقاومتی مورد استفاده در این پژوهش با وجود افزایش سلول لیدیگ و تراکم چربی بینابینی بیضه نمی‌تواند موجب افزایش تستوسترون شود، از طرفی دیگر نشان داده شد که این نوع تمرین ورزشی سبب آسیب به برخی از فاکتور های بافتی بیضه و کاهش پارامتر های اسپرمی می شود که در پی آن اختلال در اسپرماتوژنز و کاهش کیفیت اسپرم را به همراه دارد که می تواند تأثیر منفی بر سیستم باروری مردان داشته باشد.

تشکر و قدردانی

محققین از آزمایشگاه تخصصی بافت‌شناسی (کاوش) استان البرز به دلیل انجام آزمایش‌های پژوهش تشکر می‌نمایند.

تعارض در منافع

نویسندگان این مقاله تعارض در منافع ندارند.

منابع

1. Vander Borght M, Wyns C. Fertility and infertility: Definition and epidemiology. Clinical Biochemistry 2018;62:2-10.

2. De Kretser D, Baker H. Infertility in men: recent advances and continuing controversies. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 1999;84(10):3443-50.

3. Jungwirth A, Giwercman A, Tournaye H, Diemer T, Kopa Z, Dohle G, et al. European Association of Urology guidelines on Male Infertility: the 2012 update. European Urology 2012;62(2):324-32.

4. Holstein A-F, Schulze W, Davidoff M. Understanding spermatogenesis is a prerequisite for treatment. Reproductive Biology and Endocrinology 2003;1(1):107.

5. Ilacqua A, Izzo G, Emerenziani GP, Baldari C, Aversa A. Lifestyle and fertility: the influence of stress and quality of life on male fertility. Reproductive Biology and Endocrinology 2018;16(1):115.

6. Adamu B, Sani M, Abdu A. Physical exercise and health: a review. Nigerian journal of medicine: journal of the National Association of Resident Doctors of Nigeria 2006;15(3):190-6.

7. Samadian Z, Tofighi A, Razi M, Tolouei Azar J, Ghaderi Pakdel F. Moderate-intensity exercise training ameliorates the diabetes-suppressed spermatogenesis and improves sperm parameters: Insole and simultaneous with insulin. Andrologia 2019;51(11):e13457.

8. Punhagui APF, Teixeira GR, de Freitas MC, Seraphim PM, Fernandes GSA. Intermittent resistance exercise and obesity, considered separately or combined, impair spermatic parameters in adult male Wistar rats. International Journal of Experimental Pathology 2018;99(2):95-102.

9. Chigurupati S, Son TG, Hyun D-H, Lathia JD, Mughal MR, Savell J, et al. Lifelong running reduces oxidative stress and degenerative changes in the testes of mice. The Journal of Endocrinology 2008;199(2):333.

10. Dutra Gonçalves G, Antunes Vieira N, Rodrigues Vieira H, Dias Valério A, Elóisa Munhoz de Lion Siervo G, Fernanda Felipe Pinheiro P, et al. R ole of resistance physical exercise in preventing testicular damage caused by chronic ethanol consumption in UChB rats. Microscopy Research and Technique 2017;80(4):378-86.

11. Nikbin S, Derakhshideh A, Karimi Jafari S, Mirzahamedani A, Moslehi A, Ourzamani S, et al. Investigating the protective effect of aerobic exercise on oxidative stress and histological damages of testicular tissue associated with chlorpyrifos in male rats. Andrologia 2020;52(2):e13468.

12. Dutra Gonçalves G, Antunes Vieira N, Rodrigues Vieira H, Dias Valério A, Elóisa Munhoz de Lion Siervo G, Fernanda Felipe Pinheiro P, et al. Role of resistance physical exercise in preventing testicular damage caused by chronic ethanol consumption in UChB rats. Microscopy Research and Technique 2017;80(4):378-86.

13. Gebreegziabher Y, Marcos E, McKinon W, Rogers G. Sperm characteristics of endurance trained cyclists. International Journal of Sports Medicine 2004;25(04):247-51.

14. Saremi, Abbas, Membini, Amin. Effect of a swimming training course

on the quality of semen fluid spermatogenesis and testicular oxidative stress status in obese mice. Applied Biological Sciences in Sports 2016;3(6):65-73.

15. Çakir-Atabek H, Demir S, PinarbaSili RD, Gündüz N. Effects of different resistance training intensity on indices of oxidative stress. The Journal of Strength & Conditioning Research 2010;24(9):2491-7.

16. Talebi-Garakani E, Safarzade A. Resistance training decreases serum inflammatory markers in diabetic rats. Endocrine 2013;43(3):564-70.

17. alantari Hesari A, Shahrooz R, Ahmadi A, Malekinejad H, Saboory E. Crocin prevention of anemia-induced changes in structural and functional parameters of mice testes. Journal of Applied Biomedicine. 2015 2015/07/01/;13(3):213-23.

18. Zirkin BR, Papadopoulos V. Leydig cells: formation, function, and regulation. Biology of reproduction 2018;99(1):101-11.

19. Hall P, Irby D, Kretser Dd. Conversion of cholesterol to androgens by rat testes: comparison of interstitial cells and seminiferous tubules. Endocrinology 1969;84(3):488-96.

20. Almahbobi G, Williams L, Han X, Hall P. Binding of lipid droplets and mitochondria to intermediate filaments in rat Leydig cells. Reproduction 1993;98(1):209-17.

21. Saremi A, Ashtiani SC, shavandi n, Membin A. The effect of different training intensities on spermatogenesis and reproductive hormones in obese mice. Journal of Sports biosciences 2013:81-94.

22. Mehmandost R, Safarzadeh AR, Rezaei FMM. The effect of increasing resistance training on serum levels of some sex hormones and epididymal sperm count in rats fed sucrose solution. Exercise Physiology 2017:131-46.

23. Mombeyni A, Bahmanzade M, Sarami A, Changizi-Ashtiyani S, Parastesh M. The Effect of Increasing Resistance Training on Testicular Oxidative Stress and Quality of Spermatogenesis in Male Rats. Journal of Arak University of Medical Sciences 2018;21(4):86-97.

24. Turner TT, Lysiak JJ. Oxidative stress: a common factor in testicular dysfunction. Journal of Andrology 2008;29(5):488-98.

25. Breucker H, Schäfer E, Holstein A-F. Morphogenesis and fate of the residual body in human spermiogenesis. Cell and Tissue Research 1985;240(2):303-9.

26. Sasaki T, Marcon E, McQuire T, Arai Y, Moens PB, Okada H. Bat3 deficiency accelerates the degradation of Hsp70-2/HspA2 during spermatogenesis. The Journal of Cell Biology 2008;182(3):449-58.

27. Sharp FR, Massa SM, Swanson RA. Heat-shock protein protection. Trends in Neurosciences 1999;22(3):97-9.

28. Koeva Y DS, Georgieva K, Atanassova P. Heat shock protein- 70 expression in testis following endurance training of rats. Gruev B, Nikolova M, Donev A (eds) Proceedings of the Balkan scientific conference of biology, Plovdiv, Bulgaria 2005: 288−94.

29. Samadian Z, Tofighi A, Razi M, Tolouei Azar J, Ghaderi Pakdel F. Moderate-intensity exercise training

ameliorates the diabetes-suppressed spermatogenesis and improves sperm parameters: Insole and simultaneous with insulin. Andrologia 2019;51(11):e13457.

30. Maleki BH, Tartibian B. High-intensity exercise training for improving reproductive function in infertile patients: a randomized controlled trial. Journal of Obstetrics and Gynaecology Canada 2017;39(7):545-58.

31. Saremi, Ashtiani C, kalantari, Abolfazl. Combining vitamin E and intense exercise on testicular oxidative stress and spermatogenesis in male Mice. Sports Physiology (Sports Science Research) 2013;6(23):43-54.

32. Membini, Amin, Bahmanzadeh, Saremi, Ashtiani C, parastesh. The effect of increasing resistance training on testicular oxidative stress status and spermatogenesis quality in male mice. Journal of Arak University of Medical Sciences 2018;21(4):86-97.

33. Saremi, Abbas, Ashtiani C, Saeed, shavandi, nader, et al. Effect of different training intensities on spermatogenesis and reproductive hormones in obese mice. Journal of Sports Biological Sciences 2013;5(2):81-94.