

تأثیر هیستومورفومتریک و هیستولوژیک شنای استقامتی بر بیضه‌های موش‌های بالغ نر ویستار

مهدی اسدی^۱، محمد رحمانی^۲، اسمعیل نصیری^۳، علی کلانتری حصار^۴، میلاد خسروی صدر^۱، مهدی

عزتی^۱

چکیده

سابقه و هدف: فعالیت بدنی در کنار اثر مطلوب بر برخی سیستم‌های بدنی ممکن است با اختلال برخی دیگر همراه باشد. با وجود اینکه تمرین استقامتی «تمرین طلایی» برای سلامت عمومی به شمار می‌رود؛ اما براساس نتایج مطالعاتی این نوع تمرین می‌تواند با اختلال سیستم تولید مثل همراه باشد؛ هدف از مطالعه‌ی حاضر بررسی تأثیر شنای استقامتی بر شاخص‌های هیستومورفومتریک بیضه موش صحرائی نر بالغ ویستار (موش) بود.

مواد و روشها: برای این منظور ۱۰ موش، تصادفی به ۲ گروه شاهد ($n=5$) و شنای استقامتی ($n=5$) تقسیم شدند. موش‌های گروه آزمایش ۶ هفته، هفته‌های سه جلسه تحت شنای استقامتی ۴۵ دقیقه‌ای قرار گرفتند. ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه شنا، موش‌ها به روش آسان‌کشی قربانی و بافتها برای بررسی پارامترهای هیستومورفومتریک به آزمایشگاه ارسال شد. داده‌ها با آزمون t مستقل در سطح آلفای ۰/۰۵ در محیط نرم افزار SPSS نسخه‌ی ۲۴ تحلیل شد.

یافته‌ها: شاخص‌های تمایز لوله‌ای (TDI) ($p=0/001$)، ضریب تجمعی (RI) ($p=0/00$)، شاخص اسپرمیونز (SI) ($p=0/00$)، تعداد سلول‌های سرتولی ($p=0/01$) گروه تمرین در مقایسه با گروه کنترل به‌طور معنی داری کمتر بود؛ اما تفاوت از نظر شاخص‌های سلول‌های لیدیک ($p=0/45$)، ضخامت کپسول بیضه ($p=0/07$)، قطر لوله‌ی اسپرم‌ساز ($p=0/92$)، ارتفاع اپی‌تلیوم لوله‌ی اسپرم‌ساز ($p=0/117$)، تعداد لوله‌های اسپرم‌ساز ($p=0/51$) و قطر لومن داخلی لوله‌های اسپرم‌ساز ($p=0/29$) معنی دار نبود. نمای هیستولوژیکی بیضه گروه شنا حاکمی از اختلال شدید اسپرماتوژنز بود.

نتیجه‌گیری: بنابراین، شنای استقامتی با پروتکل استفاده‌شده در این پژوهش می‌تواند زمینه‌ساز اختلال سیستم تولید مثل و باروری باشد. با توجه به جایگاه فعالیت استقامتی در سلامت عمومی به ویژه سلامت قلبی-عروقی، برای پیشگیری از پیشامد چنین عارضه‌ای باید به فکر راه کارهای مکمل یا تغییر مؤلفه‌های تمرینی برای فعالیت استقامتی بود.

واژه‌های کلیدی: شنای استقامتی، سیستم تولید مثل، ناباروری، هیستومورفومتري

۱ دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی ورزشی، گروه علوم ورزشی، دانشکده علوم انسانی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران

۲ استادیار گروه علوم ورزشی، دانشکده علوم انسانی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران. نویسنده مسئول: rahmani@shahed.ac.ir

۳ استادیار گروه علوم ورزشی، دانشکده علوم انسانی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران.

۴ گروه پاتوبیولوژی، دانشکده پیرادامزشکی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران

مقدمه

فعالیت بدنی کیفیت زندگی و سلامت افراد را بهبود می‌بخشد (۱)؛ اما قرار گرفتن در معرض فعالیت ورزشی مفرط و طولانی مدت می‌تواند عوارض جانبی منفی هم به دنبال داشته باشد (۲). یکی از تازه‌ترین موارد شناخته شده در این زمینه، احتمال به خطر افتادن توان باروری زنان و مردان بر اثر فعالیت ورزشی زیاد و شدید است، که در طول سال‌های گذشته به آن توجه کمتری شده است. در عین حال، فعالیت ورزشی در اوقات فراغت و ورزش حرفه‌ای در دوران مدرن بسیار محبوب است. افراد بسیاری با اهداف سرگرمی و سلامتی در ورزش‌های مختلفی شرکت می‌کنند و برخی از انواع ورزش‌ها (به عنوان مثال فوتبال، دویدن، تایچی، کریکت و تنیس روی میز) توسط میلیون‌ها نفر انجام می‌شود (۳). کم تحرکی، چاقی، قرار گرفتن کارکنان برخی مشاغل در برابر گرما (همانطور که آهنگرها، نانوایان و رانندگان تجربه می‌کنند)، تماشای تلویزیون و استفاده از لپ‌تاپ با افزایش درجه حرارت بیضه‌ها همراه است (۴)، گزارشات نشان می‌دهد که این موارد توان باروری مردان را کاهش می‌دهد (۵).

فعالیت ورزشی بسته به متغیرهای خود: نوع، شدت، حجم، هدف می‌تواند اثرات مفیدی یا مضر داشته باشد (۶). تحقیقات گسترده‌ای در مورد ورزشکاران زن (۷-۹) در این زمینه انجام شده است و باتوجه به نقش ۵۰ درصدی جنس نر در ناباروری متأسفانه اطلاعات زیادی از این زمینه در دسترس نیست. شنا به عنوان یکی از فعالیت‌های ورزشی ارزان، در دسترس و جذاب با ماهیت دینامیکی، حداقل فشار تحمل وزن، محیط مرطوب و با کاهش بار گرمایی در بین عموم مردم و ورزشکاران شناخته شده است (۱۰). این نوع از تمرینات ورزشی، یک جایگزین مناسب برای اشکال دیگر فعالیت‌های بدنی و یکی از محبوب‌ترین، پرکاربرترین و توصیه شده‌ترین نوع فعالیت بدنی است (۱۱،۱۲) و در موش‌های آزمایشگاهی (بوئژه رت‌ها) نیز، یکی از متداول‌ترین مداخلات ورزشی که می‌تواند به‌طور طبیعی و بدون ایجاد مقاومت زیاد، مورد استفاده قرار گیرد (۱۳). با توجه به دلایل ذکر شده، مطالعه و پژوهش در ارتباط با شنا از اهمیت ویژه‌ای در بین متخصصین حوزه سلامت و تندرستی برخوردار است.

مطالعات نشان می‌دهد فعالیت ورزشی طولانی ممکن است اثرات منفی بر روی برخی سیستم‌های فیزیولوژیکی به‌ویژه سیستم تولیدمثل داشته باشد و قدرت باروری را با تغییراتی در سطح هورمونی تولیدمثل همراه کند (۱۴،۱۵). در تحقیقات گذشته، مشاهده شده که تمرین استقامتی مورد استفاده در ورزشکاران حرفه‌ای سبب ایجاد تغییرات تولیدمثلی می‌گردد، بطوری که تمرین استقامتی دو هفته‌ای ۳ ساعته در هفته که در این ورزشکاران استفاده شده، باعث ایجاد تغییرات منفی ولی برگشت‌پذیر در محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-گونادال شده بود (۱۶).

همچنین، با افزایش شدت و حجم تمرین ورزشی امکان به‌خطر افتادن سیستم تولیدمثل نیز افزایش پیدا می‌کند (۱۷). با این وجود، لوسیا^۱ و همکاران (۱۹۹۶) در پژوهش خود به بررسی عملکرد تولیدمثلی مردان استقامتی کار (دوچرخه سواران حرفه‌ای، پاروزنان نخبه، دوندگان ماراتن) و افراد کم تحرک در طول فصول ورزشی پرداختند، یافته‌های آن‌ها نشان داد که تمرین ورزشی استقامتی بر ارزیابی اسپرم و هورمون‌های تولید مثل تأثیر مخرب معناداری نداشت (۱۸). با این‌حال، مانا^۲ و همکاران (۲۰۰۳، ۲۰۰۴) در دو تحقیق جداگانه که به بررسی شدت‌های مختلف شنا استقامتی بر سیستم تولیدمثل موش‌های نر پرداختند، به این نتیجه رسیدند این نوع پروتکل‌های تمرینی

¹ Lucia

² Manna

تأثیر کاهش بر شاخص‌های بیضه، مایع منی، فاکتورهای اسپرمی اپیدیدیم، فاکتورهای هیستومورفیک و هورمون‌های جنسی دارند و باعث افزایش استرس اکسیداتیو می‌گردد. پروتکل تمرینی آن‌ها شامل شنای ۱، ۲ و ۳ ساعته و پنج روز در هفته و به مدت ۴ هفته بود (۱۹، ۲۰). با این وجود، اختلاف نظرهای بسیاری در ارتباط با تأثیر فعالیت ورزشی استقامتی بر باروری جنس مذکر وجود دارد. بررسی مطالعات مذکور نشان می‌دهد که افزایش شدت و حجم تمرین می‌تواند بر سیستم تولیدمثل خطرآفرین باشد. در مطالعات جای بررسی تأثیر فعالیت استقامتی با شدت و مدت تمرین کمتر بر سیستم تولیدمثل خالی به نظر می‌رسید؛ افزون بر آن، در بیشتر مطالعات از مایع منی و داده‌های اسپرمی برای سنجش اختلالات تولید مثل استفاده شده است و مطالعات به نسبت کمتری درباره تأثیر فعالیت استقامتی بر بافت بیضه (مولد اسپرم و شروع کننده فرایند اسپرماتوز) انجام شده است. در پژوهش حاضر، برای فراهم‌سازی اطلاعات مکمل درباره تأثیر فعالیت استقامتی بر سیستم تولید مثل به تأثیر شنای استقامتی بر اسپرماتوز و ساختار بافت بیضه‌ی موش‌ها بالغ نر و بیستار پرداخته شده است.

روش پژوهش

تعداد ۱۰ سر موش صحرایی بیستار ۱۲ هفته‌ای در محدوده‌ی وزنی ۲۰۰-۲۵۰ گرم از آزمایشگاه دانشکده علوم پایه دانشگاه شاهد تهیه شد. حیوانات در دمای ۲۲ درجه سانتی‌گراد، در چرخه روشنایی/ تاریکی طبیعی، دمای 22 ± 4 سانتی‌گراد و رطوبت حدود 55 ± 4 درصد با هیچ گونه محدودیت دسترسی به غذا و آب در قفس پلی‌کربنات نگهداری می‌شد. مطابق با موازین اخلاقی کمیته اخلاق دانشگاه شاهد با حیوانات کار شد. موش‌ها به طور تصادفی به دو گروه شاهد (۵ سر) و گروه آزمایش (۵ سر) تقسیم شدند.

پروتکل تمرینی

گروه آزمایش به مدت ۶ هفته تمرین شنا انجام داد. پروتکل تمرینی شامل دو مرحله‌ی آشناسازی و تمرین برگرفته از تحقیقات مانا و همکاران (۲۰۰۴) و ارشادی و همکاران (۲۰۱۳) با اندکی تعدیل بود (۲۷، ۲۸). در مرحله آشناسازی موش‌ها برای سازگاری با آب و تمرین، روزانه به مدت ۱۵ دقیقه در استخر شنا کردند. برای وادار کردن آن‌ها به شنا از هیچ‌گونه وسیله شوک‌دهنده‌ای استفاده نشد. پس از دوره آشناسازی، شش هفته، هفته سه جلسه تمرین شنای استقامتی ۴۵ دقیقه‌ای، به جز هفته‌ی اول، انجام گرفت. در هفته اول موش‌ها جلسه اول ۳۰، دوم ۳۵ و جلسه سوم ۴۰ دقیقه شنا کردند. پس از پایان هر جلسه شنا، موش‌ها با یک حوله خشک تمیز و به قفس‌ها بازگردانده شدند. جلسات شنا در استخری با آب ساکن به ابعاد $30 \times 100 \times 200$ سانتی‌متر با دمای 3 ± 32 درجه سانتی‌گراد برگزار گردید.

روش تهیه نمونه بافتی بیضه

در پایان هفته ششم، ۴۸ ساعت بعد از آخرین جلسه تمرین (جهت از بین رفتن اثرات آنی تمرین)، موش‌ها با اتر بیهوش و پس از آسان‌کشی و برای نمونه‌برداری بیضه‌ها تشریح شدند. نمونه‌ها در فرمالین ۱۰ درصد بافری فیکس و جهت مطالعات بافت‌شناختی (هیستومورفومتریک^۱ و هیستولوژیک^۲) به آزمایشگاه کاوش بافت کرج ارسال گردید. نمونه‌ها پس از تهیه بلوک‌های پارافینی برش‌های با ضخامت ۵ میکرومتری تهیه و با روش رنگ‌آمیزی

¹ Histomorphometric

² Histologic

هماتوکسیلین و ائوزین^۱ (H&E) رنگ شده و نهایتاً با میکروسکوپ نوری مورد بررسی هیستولوژیک و مورفومتريک قرار گرفتند.

بررسی هیستومورفومتريک

در ارزیابی هیستولوژیک و هیستومورفومتريک بیضه‌ها، ۴۰۰ لوله‌ی اسپرم‌ساز^۲ بیضه هر موش در سه مقطع غیرمتوالی برای مشاهده وجود ناهنجاری در لوله‌های اسپرم‌ساز از جمله رده سلولی زایا^۳، واکوئل^۴ و خیزه^۵ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. مطالعه مورفومتريکی شامل ضخامت کپسول بیضه^۶، قطر لوله‌های اسپرم‌ساز، ارتفاع اپی‌تلیوم لوله اسپرم‌ساز، قطر لومن داخلی لوله اسپرم‌ساز (بر حسب میکرومتر)، تعداد لوله‌های اسپرم‌ساز (در دایره‌ای به شعاع ۵۰۰ میکرومتر)، تعداد سلول‌های لیدیگ^۷ (در دایره‌ای با شعاع ۵۰ میکرومتر) و تعداد سلول‌های سرتولی^۸ (به‌صورت تعداد در هر لوله اسپرم‌ساز) بود. بررسی اسپرماتوژنز و اسپرمیوژنز^۹ از طریق شاخص تمایز لوله‌ای^{۱۰} (TDI)، شاخص اسپرمیوژنز^{۱۱} (SI) و ضریب تجمع^{۱۲} (RI) انجام گرفت. شاخص تمایز لوله‌ای شامل درصد لوله-اسپرم‌ساز با بیش از ۴ ردیف سلولی (TDI مثبت) نسبت به لوله‌های اسپرم‌ساز با کمتر از ۴ ردیف سلولی (TDI منفی) بود. در مورد شاخص اسپرمیوژنز نیز درصد لوله‌های اسپرم‌ساز دارای اسپرماتید^{۱۳} به لوله‌های اسپرم‌ساز بدون اسپرماتید لحاظ شد. در رابطه با ضریب تجمع نیز درصد اسپرماتوگونی‌های^{۱۴} نوع B (قابل تمایز با هسته کاملاً تیره رنگ) به اسپرماتوگونی‌های نوع A (هسته روشن‌تر) محاسبه گردید (۲۹).

روش‌های تجزیه و تحلیل آماری

از آزمون t مستقل برای تحلیل آماری داده‌ها در سطح آلفای ۰/۰۵ در محیط نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۲۴ استفاده شد.

یافته‌ها

الگوی بافت‌شناختی و رده سلول‌های اسپرماتوژنز در بیضه‌ی موش‌های گروه شاهد (C) طبیعی بود (شکل ۱-A). افزون بر آن یکپارچگی غشاء لوله‌های اسپرم‌ساز و سلول‌های لیدیگ در فضای بینابینی ظاهری طبیعی داشتند. اما در لوله‌های اسپرم‌ساز موش‌های گروه تمرین (S) چندین تغییر و دگرگونی بافتی مشاهده شد: انسجام سلول‌های رده اسپرماتوژنز در گروه تمرین نسبت به شاهد متفاوت بود و در گروه تمرین تعداد زیادی واکوئل بین رده‌ی سلولی مشاهده شد (شکل ۱ C-D). تفاوت معنی‌داری در قطر کپسول بیضه (p=۰/۰۷)، قطر لوله‌های اسپرم‌ساز (p=۰/۹۲)، ارتفاع اپی‌تلیوم لوله‌ی اسپرم‌ساز (p=۰/۱۱۷)، قطر لومن داخلی لوله اسپرم‌ساز (p=۰/۲۹)، تعداد لوله‌های اسپرم‌ساز (p=۰/۵۱) و تعداد سلول‌های لیدیگ (p=۰/۴۵) مشاهده نشد. اما بین دو گروه، تفاوت معنی‌داری در پارامترهای

¹ Hematoxylin and Eosin

² Seminiferous tubule

³ Germ cell

⁴ Vacuole

⁵ Edema

⁶ Testicular capsule thickness

⁷ Leydig cell

⁸ Sertoli cell

⁹ Spermiogenes

¹⁰ Tubule Differentiation Index

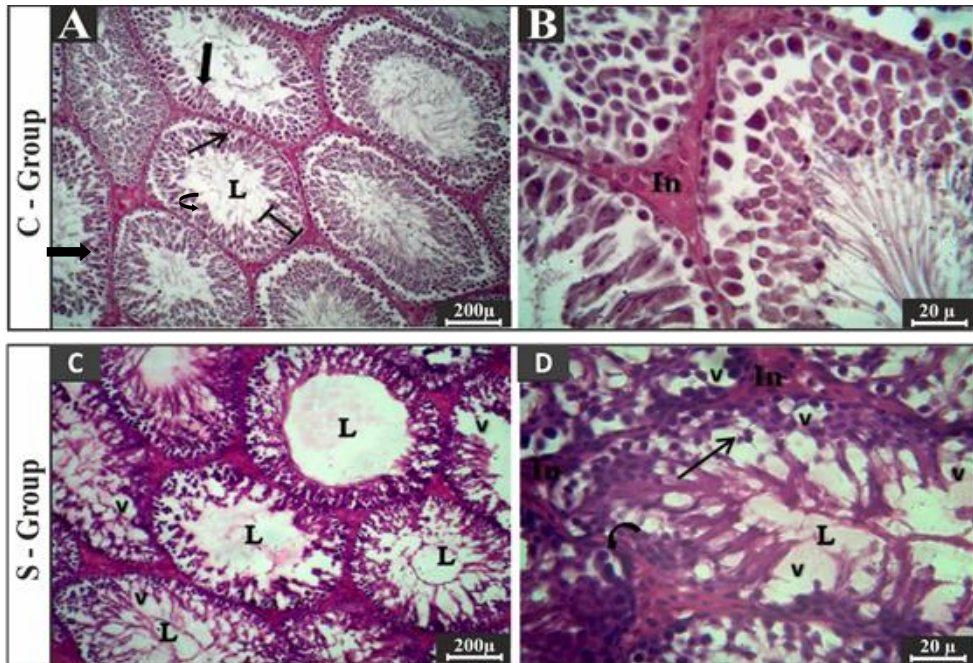
¹¹ Spermiogenes Index

¹² Repopulation Index

¹³ Spermatid

¹⁴ Spermatogonia

هیستومورفومتريک بيضه شامل سلول‌های سرتولی ($p=0/01$)، ($p=0/001$)، TDI ($p=0/001$)، RI ($p=0/00$)، ($p=0/00$) SI دیده شد (جدول ۱).



شکل ۱: بافت شناسی بیضه با رنگ آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین (H&E). (A-B): تصاویر میکروسکوپی از بیضه موش‌های گروه شاهد (C) با ظاهری کاملاً طبیعی. (C-D): تصاویر مربوط به گروه تمرین (S). تصاویر گروه تمرین به وضوح نشان دهنده بهم ریختگی و بی‌نظمی در اسپرماتوژنز و لوله‌های اسپرم ساز است. واکوئل‌ها (V) در همه لوله‌ها اسپرم‌ساز و بین رده‌های سلولی قابل مشاهده است. لومن مرکزی (L) لوله‌ها کاملاً شکل غیرطبیعی دارد. غشا لوله‌ها نیز غیرطبیعی است. تصاویر A و C: با بزرگنمایی $\times 100$. تصاویر B و D: با بزرگنمایی $\times 400$. اسپرماتید: In. فضای بینابینی: L. لومن مرکزی لوله‌ی اسپرم‌ساز. اسپرماتوگونی: فلش. ژرمینال اپیتلیوم: واکوئل: v.

بحث و بررسی

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که برنامه تمرین شنای استقامتی مورد استفاده در این مطالعه، سبب کاهش معنی‌دار شاخص‌های SI، TDI و RI می‌شود؛ چنین کاهش می‌تواند بر اسپرماتوژنز آسیب زده و سبب کاهش توان باروری جنس نر گردد. نتایج مطالعه‌ی مانا و همکاران (۲۰۰۳) نشان داد که شنای استقامتی با افزایش استرس اکسیداتیو به اختلال سیستم تولیدمثل از جمله استروئیدوژنز^۱ و اسپرماتوژنز می‌انجامد (۱۹). این نتایج، ایده تأثیر مهارتی تمرین

¹ Steroidogenesis

استقامتی بر تولید تستوسترون بیضوی را تقویت می‌کند (۱۴،۳۱،۳۲). از آنجا که کاهش تستوسترون می‌تواند بر عملکرد سلول‌های سرتولی تأثیرگذار باشد (۳۳)، در نتیجه کاهش تعداد سلول‌های سرتولی مشاهده شده در تحقیق حاضر ممکن است ناشی از کاهش ترشح تستوسترون بیضوی بر اثر تمرین استقامتی باشد. یافته‌های این پژوهش در خصوص کاهش تعداد سلول‌های سرتولی با نتایج گزارشات قبلی همسو است (۳،۱۴،۲۰،۳۱،۳۲).

جدول ۱: میانگین و انحراف استاندارد پارامترهای هیستومورفومتريک بافت بیضه و آزمون t مستقل با آلفای ۰/۰۵

Sig.	df	t	گروه S	گروه C	پارامترها
۰/۰۷	۴	۲/۳۸	۲۹/۴۹ ± ۷/۷۵	۴۳/۳۰ ± ۶/۳۸	ضخامت کپسول بیضه (mm)
۰/۹۲	۴	۰/۱۰۵	۳۴۴/۳۰ ± ۲۱/۴۷	۳۴۵/۶۲ ± ۱/۷۵	قطر لوله‌های اسپرم‌ساز (mm)
۰/۱۱۷	۴	۲	۷۵/۶۲ ± ۱۸/۲۳	۹۷/۱۶ ± ۴/۱۲	ارتفاع اپی‌تلیوم لوله اسپرم‌ساز (mm)
۰/۲۹	۴	-۱/۱۲	۱۵۱/۵۸ ± ۲۲/۷۴	۱۳۱/±۷۱ ۱۶/۵۳	قطر لومن داخلی لوله اسپرم‌ساز (mm)
۰/۵۱	۴	-۰/۷۱	۱۰ ± ۱	۹/۵۸ ± ۰/۱۴	تعداد لوله‌های اسپرم‌ساز (در دایره ای به شعاع ۵۰۰ μm)
۰/۴۵	۴	۰/۸۴	۱۱ ± ۱	۱۱/۵۰ ± ۰/۲۵	تعداد سلول‌های لیدیگ (در دایره‌ای با شعاع ۵۰ μm)
۰/۰۱	۴	۴/۱۰	۲۷/۳۳ ± ۰/۵۸	۳۰/۳۳ ± ۱/۱۳	تعداد سلول‌های سرتولی (به صورت تعداد در هر لوله اسپرم‌ساز)
۰/۰۰۱	۴	۱۱/۶۰	۵۶/۶۷ ± ۳/۷۸	۸۲/۲۵ ± ۰/۵	(%) TDI
۰/۰۰۰۵	۴	۱۸/۰۲	۵۷/۶۷ ± ۲/۵۲	۸۴/۶۷ ± ۰/۶۳	(%) SI
۰/۰۰۰۵	۴	۱۳/۲۷	۵۳ ± ۲/۶۴	۸۱/۱۷ ± ۲/۵۵	(%) RI

اسپرماتوژنز توسط سلول‌های سرتولی که تغذیه‌کننده سلول‌های زایا است، پشتیبانی می‌شود و اتصال محکم بین سلول‌های سرتولی، سد خونی-بیضوی^۱ در نزدیکی غشای توبول‌های اسپرم‌ساز تشکیل می‌دهد (۳۴). هر عاملی که عملکرد سلول‌های سرتولی را تنظیم یا تحت تأثیر قرار دهد به طور غیرمستقیم اسپرماتوژنز و باروری جنس نر را کنترل می‌کند (۳۵). تستوسترون برای حداقل چهار فرآیند مهم در طول اسپرماتوژنز مورد نیاز است: نگهداری از سد خونی-بیضوی، میوز، هم‌بستگی سرتولی-اسپرماتید و رهاسازی اسپرم (۳۶). بنظر می‌رسد، کاهش شاخص‌های TDI، SI و RI اسپرماتوژنز با کاهش تستوسترون و در نهایت اختلال عملکرد سلول‌های سرتولی مرتبط باشد.

¹ Blood-testis barrier

نتایج مطالعه دیگری نشان داد که تمرین استقامتی باعث کاهش میزان تستوسترون می‌شود درحالی‌که تغییر معنی‌داری در میزان LH و FSH دیده نشده بود (۳۷). این یافته توسط مطالعات دیگر تأیید شده است (۲۱،۳۸). واسانکاری^۱ و همکاران (۱۹۹۳) در گزارش پژوهشی خود یکی از دلایل احتمالی افزایش هورمون FSH بر اثر تمرین استقامتی را اختلال عملکردی سلول‌های سرتولی بیان کرده است (۳۹). با بررسی مطالعات گذشته می‌توان نتیجه گرفت سطوح هورمون تستوسترون به تناسب شدت و حجم تمرین تغییر می‌کند و این تغییر می‌تواند بر توان باروری جنس نر اثر کند.

در مطالعات حیوانی کاهش تعداد سلول‌های رده سلولی اسپرماتوژنیک در شنای استقامتی مشاهده شده است. مانا و همکاران (۲۰۰۴) در مطالعه خود دریافتند که شنای استقامتی شدید با افزایش استرس اکسیداتیو، کاهش هورمون‌های جنسی و برخی از آنزیم‌ها باعث اختلال در فرایند اسپرماتوژنز می‌شود (۱۹). واموندا^۲ و همکاران (۲۰۱۱) تغییرات اسپرم بر اثر فعالیت ورزشی را گزارش کرده‌اند که ممکن است با عوامل آنتی‌اکسیدانی پیشگیری شود (۴۰). در مطالعه حاضر با وجود کاهش تعداد ردیف‌های اپی‌تلیوم اسپرم‌ساز (TDI)، تفاوتی در ارتفاع اپی‌تلیوم اسپرم‌ساز مشاهده نگردید، به نظر می‌رسد این اتفاق در اثر افزایش حجم سلول‌های رده اسپرماتوژنز رخ داده است. با افزایش اکسیژن مصرفی بر اثر تمرین، تولید گونه‌های واکنش‌پذیر اکسیژن^۳ (ROS) افزایش می‌یابد (۴۱). در افراد سالم، که به طور مرتب تمرین ورزشی با شدت متوسط انجام می‌دهند، میزان آنتی‌اکسیدان بیضه افزایش می‌یابد و قادر به تضاد با افزایش تولید ROS است. با این حال، هنگامی که شدت فعالیت ورزشی افزایش می‌یابد، بافت دیگر قادر به از بین بردن ROS به طور موثر نیست؛ بنابراین غلظت ROS افزایش و فعالیت آنتی‌اکسیدانی کاهش می‌یابد (۴۲). به هم خوردن تعادل آنتی‌اکسیدانی-اکسیدانی یکی از دلایل ناباروری و اختلال سیستم تولیدمثل جنس نر است (۴۳،۴۴). در تحقیقات گذشته، فعالیت آنتی‌اکسیدان‌های سوپر اکسید دسموتاز (SOD) و گلوکاتیون پراکسیداز (GPx) در حیوانات با تمرینات طولانی مدت کاهش یافته است (۴۵،۴۶). به طور کلی، تمرینات ورزشی طولانی مدت، شنا یا دویدن، باعث کاهش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در بیضه می‌شوند (۴۱). با توجه به اینکه فعالیت استقامتی شدید باعث افزایش استرس اکسیداتیو و برهم خوردگی تعادل آنتی‌اکسیدانی / اکسیدانی به نفع اکسیدان‌ها می‌شود (۴۱،۴۰،۳۵)، ممکن است اختلال اسپرماتوژنز در این پژوهش نیز ناشی از این مورد باشد.

از سویی پس از انجام فعالیت ورزشی مزمن و طولانی مدت، کاهش فعالیت آنزیم سوربیتول دهیدروژناز^۴ (SDH) رخ می‌دهد. از آنجا که SDH، سوربیتول را به فروکتوز تبدیل می‌کند (۴۶)، اسپرماتوگونی و اسپرم از گلوکز و فروکتوز به عنوان منابع اصلی انرژی استفاده می‌کنند (۴۲)؛ نبود SDH می‌تواند بر اسپرماتوژنز تأثیر بگذارد. عامل دیگری که تحت تأثیر تمرینات ورزشی قرار دارد، پروتئین^۵ ODF1 است، که درگیر در مورفوژنز اسپرماتوزوآء، به ویژه در فرآیند اتصال سر و دم است (۴۳). با فعالیت ورزشی استقامتی طولانی مدت، فشار ODF1 کاهش می‌یابد و منجر به مورفوژنز ناقص (دم‌های جدا شده از سر) و به تبع آن اسپرماتوژنز مختل می‌شود (۵۱). علاوه بر این اثر مضر بر اسپرماتوژنز، به نظر می‌رسد فعالیت ورزشی برای تنظیم آسیب DNA مفید است (۵۳،۵۲).

¹ Vasankari

² Vaamonde

³ Reactive Oxygen Species

⁴ Sorbitol Dehydrogenase

⁵ Outer Dense Fiber Protein 1

⁶ Spermatozoa

تورما^۱ و همکاران (۲۰۱۴) مخالف با نتایج تحقیق حاضر، گزارش کردند که ۳۰ دقیقه با شیب ۵ درجه دویدن بر روی تردمیل می‌تواند عملکرد اسپرماتوژنز را از طریق کاهش استرس اکسیداتیو و افزایش فعالیت پروتئین p53 بیضه افزایش دهد (۵۱). جوزف^۲ و همکاران (۲۰۱۴) نیز نشان دادند که ۱۰ هفته دویدن می‌تواند باعث ایجاد تغییرات مفید در میتوکندری شود و در مقابل آتروفی بیضوی ناشی از بالا رفتن سن در رت‌های فیشر-F344 محافظت کند (۵۴). باتوجه به این نکته که بررسی هیستومورفومتريک بافتی نقش برجسته‌ای در ارزیابی اختلالات سیستم تولیدمثل مردان دارد (۵۵)، نتایج این پژوهش نشان داد که شای استقامتی ۴۵ دقیقه‌ای به مدت ۶ هفته کاهش معنی‌دار شاخص‌های TDI، SI و RI اسپرماتوژنز و سلول‌های سرتولی می‌شود.

نتیجه‌گیری

این مطالعه درک جدیدی از تأثیر چگونگی فعالیت ورزشی استقامتی بر روی اسپرماتوژنز و بافت بیضه ارائه می‌دهد. با این حال، باید توجه داشت که نتیجه‌گیری‌های به‌دست‌آمده در این پژوهش و مطالعات گذشته نشان می‌دهند که سیستم تولیدمثل مردان به شدت تحت تأثیر پروتکل‌های تمرین ورزشی قرار دارند. با وجود شواهد قوی در مورد مزایای سلامتی فعالیت ورزشی به‌ویژه استقامتی در پیشگیری (از) و درمان بیماری‌های قلبی-عروقی، تأثیر آن در عملکرد تولید مثلی مردان همچنان بحث برانگیز است و به همین دلیل، مطالعات تکمیلی درباره‌ی راهکارهای مکمل برای پیشگیری از آثار منفی احتمالی فعالیت استقامتی بر سیستم باروری لازم به نظر می‌رسد.

منابع

1. 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 Dec 1; 16(1):115
2. Safarinejad MR, Azma K, Kolahi AA. The effects of intensive, long-term treadmill running on reproductive hormones, hypothalamus–pituitary–testis axis, and semen quality: a randomized controlled study. *J Endocrinol*. 2009 Mar;200(3):259–71.
3. Józków P, Rossato M. The Impact of Intense Exercise on Semen Quality. *Am J Mens Health* . 2017;11(3):654–62.
4. Durairajanayagam D, Agarwal A, Ong C. Causes, effects and molecular mechanisms of testicular heat stress. *Reprod Biomed Online* . 2015 Jan;30(1):14–27.
5. Gaskins AJ, Mendiola J, Afeiche M, Jørgensen N, Swan SH, Chavarro JE. Physical activity and television watching in relation to semen quality in young men. *Br J Sports Med* . 2015 Feb;49(4):265–70.
6. Agarwal A. Is There a Link between Exercise and Male Factor Infertility? *Open Reprod Sci J* . 2011;3(1):105–13.
7. Orio F, Muscogiuri G, Ascione A, Marciano F, Volpe A, La Sala G, et al. Effects of physical exercise on the female reproductive system. *Minerva Endocrinol* . 2013 Sep;38(3):305–19.
8. Cannavò S, Curtò L, Trimarchi F. Exercise-related female reproductive dysfunction. *J Endocrinol Invest* . 2001 Nov 11;24(10):823–32.
9. Loucks AB. Physical Health of the Female Athlete: Observations, Effects, and Causes of Reproductive Disorders. *Can J Appl Physiol* . 2001 Oct;26(S1):S176–85.
10. Farahani AV, Mansournia MA, Asheri H, Fotouhi A, Yunesian M, Jamali M, et al. The

¹ Torma

² Joseph

- effects of a 10-week water aerobic exercise on the resting blood pressure in patients with essential hypertension. *Asian J Sports Med.* 2010;1(3):159–67.
11. Chase NL, Sui X, Blair SN. Swimming and All-Cause Mortality Risk Compared With Running, Walking, and Sedentary Habits in Men. *Int J Aquat Res Educ.* 2008;2(3).
 12. Tanaka H. Swimming Exercise. *Sport Med.* 2009;39(5):377–87.
 13. Wang R, Tian H, Guo D, Tian Q, Yao T, Kong X. Impacts of exercise intervention on various diseases in rats. Vol. 0, *Journal of Sport and Health Science.* Elsevier B.V.; 2020.
 14. Zitzmann M. Exercise, Training, and the Hypothalamic–Pituitary–Gonadal Axis in Men. In Springer, Boston, MA; 2011. p. 25–30.
 15. Hackney AC. Effects of endurance exercise on the reproductive system of men: The “exercise-hypogonadal male condition.” 2008;932–3.
 16. Vaamonde D, Da Silva M, Poblador M, Lancho J. Reproductive Profile of Physically Active Men After Exhaustive Endurance Exercise. *Int J Sports Med.* 2006 Sep;27(9):680–9.
 17. Vaamonde D, Da Silva-Grigoletto ME, García-Manso JM, Vaamonde-Lemos R, Swanson RJ, Oehninger SC. Response of semen parameters to three training modalities. *Fertil Steril.* 2009 Dec;92(6):1941–6.
 18. Lucía A, Chicharro JL, Pérez M, Serratos L, Bandrés F, Legido. JC. Reproductive function in male endurance athletes: sperm analysis and hormonal profile. *J Appl Physiol.* 1996 Dec 1;81(6):2627–36.
 19. Manna I, Jana K, Samanta PK. Effect of different intensities of swimming exercise on testicular oxidative stress and reproductive dysfunction in mature male albino Wistar rats. *Indian J Exp Biol.* 2004 Aug;42(8):816–22.
 20. Manna I, Jana K, Samanta PK. Effect of intensive exercise-induced testicular gametogenic and steroidogenic disorders in mature male Wistar strain rats: a correlative approach to oxidative stress. *Acta Physiol Scand.* 2003 May 1;178(1):33–40.
 21. Maimoun L, Lumbroso S, Manetta J, Paris F, Leroux JL, Sultan C. Testosterone Is Significantly Reduced in Endurance Athletes without Impact on Bone Mineral Density. *Horm Res Paediatr.* 2003;59(6):285–92.
 22. Hill EE, Zack E, Battaglini C, Viru M, Viru A, Hackney AC. Exercise and circulating Cortisol levels: The intensity threshold effect. *J Endocrinol Invest.* 2008 Jul 22;31(7):587–91.
 23. FitzGerald LZ, Robbins WA, Kesner JS, Xun L. Reproductive hormones and interleukin-6 in serious leisure male athletes. *Eur J Appl Physiol.* 2012 Nov 1;112(11):3765–73.
 24. De Souza M, Arce J, Pescatello L, Scherzer H, Luciano A. Gonadal Hormones and Semen Quality in Male Runners. *Int J Sports Med.* 1994 Oct 14;15(7):383–91.
 25. Viru A, Hackney A, Vålja E, ... KK-E journal of, 2001 undefined. Influence of prolonged continuous exercise on hormone responses to subsequent exercise in humans. Springer .
 26. Safarinejad MR, Azma K, Kolahi AA. The effects of intensive , long-term treadmill running on reproductive hormones , hypothalamus – pituitary – testis axis , and semen quality : a randomized controlled study. 1984;259–71.
 27. Manna I, Jana K, Samanta PK. Effect of different intensities of swimming exercise on testicular oxidative stress and reproductive dysfunction in mature male albino Wistar rats. *Indian J Exp Biol.* 2004 Aug;42(8):816–22.
 28. Arshadi S, Peeri M, Bakhtiyari S. The effect of 6 weeks swimming training on plasma antioxidants activity in diabetic rats. 2013;3(4):230–5.
 29. Kalantari Hesari A, Shahrooz R, Ahmadi A, Malekinejad H, Saboory E. Crocin prevention of anemia-induced changes in structural and functional parameters of mice testes. *J Appl Biomed.* 2015;13(3):213–23.

30. Manna I, Jana K, Samanta PK. Effect of intensive exercise-induced testicular gametogenic and steroidogenic disorders in mature male Wistar strain rats: a correlative approach to oxidative stress. *Acta Physiol Scand* . 2003 May 1;178(1):33–40.
31. Cumming DC, Wheeler GD, McColl EM. The Effects of Exercise on Reproductive Function in Men. *Sport Med* . 1989 Jan;7(1):1–17.
32. Cano Sokoloff N, Misra M, Ackerman KE. Exercise, Training, and the Hypothalamic-Pituitary-Gonadal Axis in Men and Women. In: *Frontiers of hormone research* . 2016. p. 27–43.
33. Józko P, Rossato M. The Impact of Intense Exercise on Semen Quality. *Am J Mens Health*. 2017;11(3):654–62.
34. Skinner M, Griswold M. Sertoli cell biology .2004.
35. Mruk DD, Cheng CY. Sertoli-Sertoli and Sertoli-Germ Cell Interactions and Their Significance in Germ Cell Movement in the Seminiferous Epithelium during Spermatogenesis. *Endocr Rev* . 2004 Oct 1;25(5):747–806.
36. Smith LB, Walker WH. The regulation of spermatogenesis by androgens. *Semin Cell Dev Biol* . 2014 Jun [cited 2019 Oct 29];30:2–13.
37. Fernández-García B, Lucía A, Hoyos J, Chicharro JL, Rodríguez-Alonso M, Bandrés F, et al. The Response of Sexual and Stress Hormones of Male Pro-Cyclists During Continuous Intense Competition. *Int J Sports Med* . 2002 Nov;23(8):555–60.
38. Hoogeveen AR, Zonderland ML. Relationships between testosterone, cortisol and performance in professional cyclists. *Int J Sports Med* . 1996 Aug;17(6):423–8.
39. Vasankari TJ, Kujala UM, Heinonen OJ, Huhtaniemi IT. Effects of endurance training on hormonal responses to prolonged physical exercise in males. *Acta Endocrinol (Copenh)* . 1993 Aug;129(2):109–13.
40. Vaamonde D, Garcia-Manso JM, Hackney AC. Impact of physical activity and exercise on male reproductive potential: a new assessment questionnaire. *Rev andaluza Med del Deport* . 2017 Jun;10(2):79–93.
41. Gomes M, Freitas MJ, Fardilha M. Physical Activity, Exercise, and Mammalian Testis Function: Emerging Preclinical Protein Biomarker and Integrative Biology Insights. *Omi A J Integr Biol* . 2015 Sep;19(9):499–511.
42. Neubauer O, Reichhold S, Nics L, Hoelzl C, Valentini J, Stadlmayr B, et al. Antioxidant responses to an acute ultra-endurance exercise: impact on DNA stability and indications for an increased need for nutritive antioxidants in the early recovery phase. *Br J Nutr* . 2010 Oct 28;104(8):1129–38.
43. Wagner H, Cheng JW, Ko EY. Role of reactive oxygen species in male infertility: An updated review of literature. *Arab J Urol* . 2018 Mar;16(1):35–43.
44. Dutta S, Majzoub A, Agarwal A. Oxidative stress and sperm function: A systematic review on evaluation and management. *Arab J Urol* . 2019 Apr 3;17(2):87–97.
45. Aksoy Y, Yapanoğlu T, Aksoy H, Demircan B, Öztaşan N, Çanakçı E, et al. Effects of endurance training on antioxidant defense mechanisms and lipid peroxidation in testis of rats. *Arch Androl* . 2006 Jan 9;52(4):319–23.
46. Samanta PK, Manna I, Jana K. Effect of L-ascorbic acid supplementation on testicular oxidative stress and endocrine disorders in mature male rats exposed to intensive swimming exercise. *Reprod Med Biol*.2006 Jun;5(2):145–53.
47. Gomes EC, Silva AN, Oliveira MR de. Oxidants, Antioxidants, and the Beneficial Roles of Exercise-Induced Production of Reactive Species. *Oxid Med Cell Longev* . 2012;2012:1–12.
48. Powers SK, Jackson MJ. Exercise-Induced Oxidative Stress: Cellular Mechanisms and Impact on Muscle Force Production. *Physiol Rev* . 2008 Oct;88(4):1243–76.

49. White BA, Harrison JR, Mehlmann L. Endocrine and reproductive physiology. 277 p.
50. Huang S-C, Wu J-F, Saovieng S, Chien W-H, Hsu M-F, Li X-F, et al. Doxorubicin inhibits muscle inflammation after eccentric exercise. *J Cachexia Sarcopenia Muscle* . 2017 Apr 1;8(2):277–84.
51. Torma F, Koltai E, Nagy E, Ziaaldini MM, Posa A, Koch LG, et al. Exercise Increases Markers of Spermatogenesis in Rats Selectively Bred for Low Running Capacity. *PLoS One* . 2014;9(12):e114075.
52. Sharma A, Singh K, Almasan A. Histone H2AX Phosphorylation: A Marker for DNA Damage. In: *Methods in molecular biology* (Clifton, NJ) . 2012. p. 613–26.
53. Liu M, Liang Y, Chigurupati S, Lathia JD, Pletnikov M, Sun Z, et al. Acute Kidney Injury Leads to Inflammation and Functional Changes in the Brain. *J Am Soc Nephrol* . 2008 Jul;19(7):1360–70.
54. Joseph AM, Adhietty PJ, Leeuwenburgh C. Beneficial effects of exercise on age-related mitochondrial dysfunction and oxidative stress in skeletal muscle. *J Physiol*. 2016 Sep 15;594(18):5105–23.
55. Gholami S, Ansari-Lari M, Khalili L. Histologic and histomorphometric changes of testis following oral exposure to methyl tertiary-butyl ether in adult rat. *Iran J Vet Res* . 2015;16(3):288–92.

Histomorphometric and Histologic Effect of Endurance Swimming on the Testis of Adult Wistar Rats

Mehdi Asadi¹, Mohammad Rahmani^{1*}, Esmail Nasiri¹, Ali Kalantari -Hesari², Milad Khosravi-Sadr¹, Mehdi Ezzatifar¹.

1 Department of Sports Science, Faculty of Humanities, Shahed University, Tehran, Iran

2 Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Sciences, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran.

*Corresponding author: Email: rahmani@shahed.ac.ir

Abstract

Background and Purpose: Exercise along with the desired effect on some physical systems may be associated with the disorder of other systems. Although endurance training is a "golden exercise" for general health, but based on the scientific studies, it can be associated with reproductive system disorders; the purpose of the present study was to investigate the effects of endurance swimming on the histomorphometric indices of testis in adult male Wistar rats.

Methodology: For this purpose, rats (N=10) were randomly divided into control (C) (n=5) and endurance swimming (ES) (n=5) groups. The rats in ES group were exposed to 45 minutes' endurance swimming, three sessions a week for 6 weeks. Forty-five hours after the last swim session, rats were euthanized, research ethics considered. Their testes were placed in 10% buffered formalin solution and sent to the laboratory for histomorphometric evaluations. Data were analysed using independent t-test at $\alpha=0.05$.

Results: Tubular differentiation indices (TDI) ($p=0.001$), cumulative coefficient (RI) ($p=0.00$), spermiogenesis index (SI) ($p=0.00$) and number of Sertoli cells ($p=0.01$) of ES group were significantly less than C group, but differences in Leydig cell parameters ($p=0.45$), testicular capsule thickness ($p=0.07$), tube diameter Spermatogenesis ($p=0.92$), sperm tube-forming epithelium height ($p=0.117$), number of spermatogenic tubes ($p=0.51$) and inner tube lumen diameter Spermatogenesis ($p=0.29$) were not significant. The histological profile of the testis of ES group showed severe spermatogenesis.

Conclusion: Endurance swimming protocol of this study can provoke reproductive and infertility disorders, and given the role of endurance activity in public health, especially cardiovascular health, complementary strategies should be considered to prevent the occurrence of such complications.

Key words: Endurance Swimming, Reproductive System, Infertility, Histomorphometric