



تأثیر یک دوره تمرین هوازی همراه با لیزر کم توان بر بیان ژن PLZF و TekT1 در موش‌های صحرایی مدل آزواسپرمی

لیلا ظهرابی کرانی: دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزشی، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ساری، ساری، ایران
پروین فرزانگی: دانشیار، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ساری، ساری، ایران* (تویسنده مسئول) parvin.farzanegi@gmail.com
محمدعلی آذربایجانی: استاد، گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد تهران مرکزی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

چکیده

کلیدواژه‌ها

شنا،
بیان ژن،
PLZF،
TekT1،
آزواسپرمی

تاریخ دریافت: ۹۹/۰۲/۱۳

تاریخ چاپ: ۹۹/۰۶/۱۰

زمینه و هدف: هدف مطالعه حاضر بررسی تغییرات بیان ژن PLZF و TekT1 در موش‌های صحرایی مدل آزواسپرمی به دنبال ۸ هفته تمرین شنا با شدت پایین و لیزر کم‌توان بود.

روش کار: بدین منظور ۲۵ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد پس از ایجاد ایجاد مدل آزواسپرمی به پنج گروه کنترل سالم، آزواسپرمی، تمرین + آزواسپرمی، لیزر و تمرین + آزواسپرمی + لیزر دسته‌بندی شدند. گروه تمرین + آزواسپرمی، یک ماه بعد از ایجاد آزواسپرمی، به مدت ۸ هفته و هر هفته پنج روز و هر روز به مدت ۳۰ دقیقه به انجام تمرین شنا با شدت پایین پرداختند. گروه مداخله لیزر، لیزر کم‌توان با طول موج ۶۳۲/۸ نانومتر و توان ۱۰ میلی‌وات و انرژی ۳ ژول به صورت سه تکرار در کل دوره مطالعه با فاصله هر هفته یک بار در ناحیه بیضه موش‌های آزواسپرمی اعمال شدند. جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها از آنالیز واریانس یک‌طرفه استفاده گردید.

یافته‌ها: یافته‌ها حاکی از آن بود که یک دوره برنامه تمرینی شنا در گروه تمرین + آزواسپرمی میسر به کاهش معنادار بیان ژن PLZF ($p=0/001$) و TekT1 ($p=0/001$) نسبت به گروه‌های کنترل سالم گردید. همچنین کاهش معناداری در سطح بیان ژن PLZF و TekT1 در گروه تمرین + آزواسپرمی + لیزر نسبت به گروه کنترل سالم ($p \leq 0/001$) و افزایش نسبت به گروه آزواسپرمی، تمرین + آزواسپرمی و آزواسپرمی + لیزر مشاهده شد ($p \leq 0/001$).

نتیجه‌گیری: فعالیت ورزشی منظم هوازی مانند شنا با شدت پایین در مهار آثار ناشی از بیماری‌های ناباروری از طریق افزایش حفظ و توسعه سلول‌های بنیادی اسپرماتوگونی کمک شایانی می‌کند.

تعارض منافع: گزارش نشده است.

منبع حمایت کننده: حامی مالی نداشته است.

شیوه استناد به این مقاله:

Zohrabi Karani L, Farzanegi P, Azarbayjani MA. Effect of a period aerobic training with low-power laser on expression of PLZF and TekT1 genes in azoospermia rats. Razi J Med Sci. 2020;27(6):49-60.

*انتشار این مقاله به‌صورت دسترسی آزاد مطابق با [CC BY-NC-SA 3.0](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/3.0/) صورت گرفته است.



Original Article

Effect of a period aerobic training with low-power laser on expression of PLZF and TekT1 genes in azoospermia rats

Leila Zohrabi Karani: PhD student in Exercise Physiology, Department of Exercise Physiology, Sari Branch, Islamic Azad University, Sari, Iran

Parvin Farzanegi: Associate Professor, Department of Exercise Physiology, Sari Branch, Islamic Azad University, Sari, Iran (* Corresponding author) parvin.farzanegi@gmail.com

Mohamad Ali Azarbayjani: Professor of Exercise Physiology, Department of Exercise Physiology, Tehran Central Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

Abstract

Background: Infertility can cause psychological, social and economic stress in infertile people. Annually, 60 to 80 million infertile couples are diagnosed worldwide. Infertility treatment is more difficult for men than women, especially in developing countries where few people seek treatment because of the high cost. Oligospermia and azo sperm are the most important factors affecting infertility in men with varicocele. Spermatogenesis is the process of proliferation and differentiation of spermatogonia stem cells (SSCs). These cells are located on the basement membrane of the seminiferous tubules and are surrounded by Sertoli cells. This complex provides an environment that promotes sperm function and survival. Any change in this process leads to changes in the male reproductive system and can lead to male infertility. Therefore, knowing the markers that are involved in the process of spermatogenesis is important and necessary. PLZF is one of the well-known markers of spermatogonia stem cells, which is essential for the maintenance and development of spermatogonia stem cells in culture. PLZF is produced and secreted by Sertoli cells, and a subset of spermatogonia express its receptor. One possible role for PLZF may be to maintain a non-distinctive position. TekT1 is also a group of genes expressed by spermatocytes. This gene is expressed in the tubulin involved in the formation of microfilaments. TEK1 together with PLZF play an important role in spermatogenesis by stem cells. Studies of these two proteins and their role in spermatogenesis have important implications in in vitro spermatogenesis studies. In this regard, there are modifiable factors such as physical activity and laser therapy that help prevent and treat this disease by regulating and modulating genes that are effective in fertility. Among aerobic exercises, low-intensity aerobic exercise is one of the exercises that is safe and usable in different physiological conditions and due to its intolerance of weight in water compared to non-water sports in most physiological, biochemical and reaction studies. Molecular ions are used. Laser treatment is also a non-invasive treatment. Recent research shows that alterations in key molecules or signaling pathways and gene expression in the process of spermatogenesis through non-invasive methods such as exercise and laser therapy can affect fertility in infertile individuals. Although possible mechanisms have been proposed for the effect of physical activity and laser therapy on male infertility, the results of studies on the relationship between physical activity and laser therapy, especially low-power expression of the PLZF, TekT1 gene in the animal model of spermatogenesis, are very limited. Be. Therefore, the aim of the present study was to investigate the changes in PLZF and TekT1 gene expression in azo sperm rats following 8 weeks of low-intensity swimming training and low power laser.

Methods: The research method is experimental with post-test design. In this

Keywords

Swimming,
Gene expression,
PLZF,
TekT1,
Azoospermia

Received: 02/05/2020

Published: 31/08/2020

experimental study, 25 adult male Wistar rats aged 6 to 8 weeks with an average weight of 202.85 ± 62.15 g from Pasteur Institute Were purchased. The protocol of this research was performed according to the international laws on laboratory animals with the code of ethics IR.IAU.SARI.REC.1398.149 and was approved by the ethics committee of the Islamic Azad University of Sari. After creating the azo sperm model, the mice were divided into five groups: healthy control, azo sperm, training + azo sperm, azo sperm + laser, and training + azo sperm + laser. Exercise + azoospermia group, one month after an azo sperm, performed low-intensity swimming exercises for 8 weeks, five days a week for 30 minutes each day. In the laser intervention group, low-power lasers with a wavelength of 8.632 nm and a power of 10 mW and an energy of 3 joules were applied in three replications throughout the study period once a week at intervals in the testis of azo spermic mice. One-way analysis of variance was used to analyze the data.

Results: The results showed that a period of swimming training program in the exercise + azoospermia group became a significant decrease in the expression of PLZF ($p=0.001$) and TekT1 ($p=0.001$) genes in relation to healthy control groups, respectively. There was also a significant decrease in the expression of PLZF and TekT1 genes in the exercise + azoospermia + laser group compared to the healthy control group ($p \leq 0.001$) and an increase compared to the azoospermia group, exercise + azoospermia and azoospermia + laser ($p \leq 0.001$).

Conclusion: In the present study, the effect of 8 weeks of low-intensity swimming training on PLZF and TekT1 gene expression in azo sperm mice was investigated. One of the important results of the present study is a significant decrease in the expression level of PLZF and TekT1 gene in azo sperm rats compared to the healthy group. Decreased levels of SSCs receptors inhibit the production and expression of spermatogonia stem cells. Therefore, it seems that reducing receptors and increasing inflammation in azo sperm patients can reduce the expression level of PLZF and TekT1 genes. Another important result of the present study is the increase in PLZF and TEKT1 gene expression levels in training + azo sperm + laser rats compared to the intervention and azo sperm groups. Exposure of laser beams to defective sprays increases the concentration of calcium in the cell and the amount of energy, which leads to increased motility and fertility. Based on the results of this study, it is suggested that an executive instruction be developed to develop low-intensity swimming exercises for people with azo sperm in order to prevent the effects of this disease. Also, due to the effect of a low-intensity low-intensity laser swimming training session on PLZF and TEKT1 gene expression, it is recommended that patients with azo sperm benefit more from low-intensity swimming sports activities. In general, the results of the present study indicate that alteration of key molecules or signaling pathways and gene expression of male germ cells in the process of spermatogenesis can reduce fertility and increase infertility, but regular aerobic exercise such as swimming with intensity Low with low power laser helps in inhibit the effects of infertility diseases by increasing the maintenance and development of spermatogonia stem cells.

Conflicts of interest: None

Funding: None

Cite this article as:

Zohrabi Karani L, Farzanegi P, Azarbayjani MA. Effect of a period aerobic training with low-power laser on expression of PLZF and TekT1 genes in azoospermia rats. *Razi J Med Sci.* 2020;27(6):49-60.

***This work is published under CC BY-NC-SA 3.0 licence.**

مقدمه

ناباروری می‌تواند موجب تنش‌های روحی، اجتماعی، اقتصادی در افراد نابارور اجتماع شود. سالانه ۶۰ تا ۸۰ میلیون زوج مبتلا به ناباروری در جهان شناسایی می‌شوند (۱). درمان ناباروری در مردان مشکل‌تر از زنان است، به خصوص در کشورهای در حال توسعه که به دلیل هزینه بالا، افراد کمی برای درمان اقدام می‌کنند (۲). از مهم‌ترین عوامل مؤثر بر ناباروری مردان واریکوسل، الیگواسپرمی، آزواسپرمی می‌باشد (۱). اسپرماتوژنز (Spermatogenesis) فرآیندی است که با تکثیر و تمایز سلول‌های بنیادی اسپرماتوگونی (SSCs - Spermatogonial Stem Cells) صورت می‌پذیرد (۳). این سلول‌ها روی غشای پایه لوله‌های اسپرم‌ساز واقع شده‌اند و سلول‌های سرتولی (Sertoli cells) آن‌ها را احاطه کرده‌اند (۲). این مجموعه، محیطی را فراهم می‌آورد که باعث عملکرد و بقای اسپرم می‌شود (۳). هرگونه تغییر در این محیط باعث اختلال در اسپرماتوژنز می‌شود که به نوبه خود می‌تواند باعث ناباروری موقت یا دائم شود (۴). هرگونه تغییر در این روند منجر به ایجاد تغییرات در سیستم باروری مردان می‌شود و می‌تواند به ناباروری مردان ختم گردد (۵). لذا شناختن مارکرهایی که در روند اسپرماتوژنز دخیل هستند، از اهمیت و ضرورت برخوردار هستند چرا که مردان مسئول حدود نیمی از موارد ناباروری هستند و از مهم‌ترین دلایل ایجاد ناباروری در مردان اختلال در مسیر اسپرماتوژنز است (۴،۵).

PLZF (Promyelocytic leukaemia zinc finger protein) به‌عنوان یکی از مارکرهای شناخته‌شده سلول‌های بنیادی اسپرماتوگونی می‌باشد که برای حفظ و توسعه سلول‌های بنیادی اسپرماتوگونی در کشت ضروری می‌باشد (۶،۷). PLZF توسط سلول‌های سرتولی تولید و ترشح می‌شود و زیر مجموعه‌ای از سلول‌های اسپرماتوگونی، رسپتور آن را بیان می‌کنند (۸). این فاکتور باعث حفظ و تکثیر سلول‌های بنیادی اسپرماتوگونی در شرایط آزمایشگاهی می‌شود (۹). در بیضه PLZF محدود به اسپرماتوگونیا‌های SSCها هستند. مطالعات نشان داده که پس از پیوند SSCها از موش‌های بدون PLZF، در موش گیرنده روند اسپرماتوژنز از سر گرفته نمی‌شود (۱۰)؛ بنابراین یکی از

نقش‌های احتمالی برای PLZF می‌تواند حفظ موقعیت غیرتمایزی باشد (۱۱). PLZF به عنوان مارکر اساسی سطحی سلول‌های پروژنیاتور (Progenitor cell) بنیادی اسپرماتوگونی محسوب می‌شود (۱۲). TekT1 (Tektin 1) نیز جزء دسته ژن‌هایی است که توسط سلول‌های اسپرماتوسیت بیان می‌شود. این ژن در توبولین‌هایی که در تشکیل میکروفلامنت‌ها نقش دارند، بیان می‌شود. مطالعات بیان این ژن توسط سلول‌های اسپرماتوسیت را تأیید می‌کنند. این ژن نیز در رده سلول‌های اسپرماتوسیت و اسپرماتید بیان می‌شود (۱۳). TEKT1 به همراه PLZF نقش مهمی را در اسپرم‌سازی توسط سلول‌های بنیادی دارند. بررسی‌های این دو پروتئین و نقش آن‌ها در اسپرم‌سازی مفهوم مهمی را در بررسی‌های درون آزمایشگاهی اسپرم‌سازی دارد (۱۴). نتایج تحقیقات محققان نشان داده است که در مردان نابارور اسپرماتوزوها تغییرات هسته‌ای زیادی شامل ساختار غیرطبیعی کروماتین و شکست‌های رشته‌ای DNA دارند که منجر به تغییر در سطح بیان این ژن‌ها می‌گردد (۱۵). کوستویا (Costoya) و همکاران در سال ۲۰۰۴، PLZF را به عنوان یک فاکتور رونویسی اختصاصی اسپرماتوگونی در بیضه معرفی می‌کنند که برای تنظیم خودنوسازی و نگهداری سلول‌های بنیادی مورد نیاز است (۱۶). نتایج مطالعات بیان‌گر آن است که افزایش بیان و سیگنالینگ PLZF و TekT1 در یک استراتژی درمانی امیدوارکننده برای درمان آزواسپرمیاست (۱۷). در این راستا، عوامل قابل اصلاحی مانند فعالیت بدنی و نیز لیزر درمانی وجود دارند که به پیشگیری و درمان این بیماری از طریق تنظیم و تعدیل ژن‌های مؤثر در باروری کمک می‌کنند (۱۸،۱۹)، چرا که ناباروری ناشی از عدم تحرک که در افراد مبتلا به آزواسپرمی مشاهده می‌شود، از نگرانی‌های قابل توجه محافل پزشکی محسوب می‌شوند (۲۰). از میان تمرین‌های هوازی، تمرین هوازی شنا با شدت پایین از جمله تمریناتی است که در شرایط مختلف فیزیولوژیک، ایمن و قابل استفاده بوده و به دلیل عدم تحمل وزن در آب نسبت به ورزش‌های غیرآبی در اکثر مطالعات فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و واکنش‌های مولکولی به کار می‌رود (۲۱-۲۳). فرنس (Ferenc) و همکاران (۲۰۱۴) در مطالعه خود گزارش

در مورد ارتباط بین فعالیت بدنی و لیزر درمانی به ویژه کم توان بر بیان ژن PLZF، TekT1 در مدل حیوانی اسپرما توژنز بسیار محدود و اندک می باشد. بنابراین با توجه به اهمیت پیشگیری از عوامل بروز بیماری آرواسپریمیو نیز فقدان اطلاعات در خصوص تأثیر تمرین های ورزشی به همراه لیزر درمانی کم توان بر سطح بیان ژن PLZF و TekT1 در بیماری آرواسپریمی، مطالعه حاضر به دنبال پاسخ به این سؤال می باشد که: آیا ۸ هفته تمرین شنا با شدت پایین به همراه لیزر درمانی کم توان بر بیان ژن PLZF و TekT1 در موش های صحرایی مدل آرواسپریمی تأثیر دارد؟

روش کار

روش تحقیق از نوع تجربی با طرح پس آزمون می باشد. در تعیین حجم نمونه، با توجه به فرمول حجم نمونه برای نمره های پیوسته، در صورتی که تفاوت های مورد انتظار برابر با ۱/۵ باشد، با توان آزمون ۸۰ درصد در سطح معنی داری $\alpha=0/05$ ، تعداد آزمودنی های هر گروه برابر پنج می باشد (۲۷).

در این مطالعه تجربی تعداد ۲۵ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار ۶ تا ۸ هفته ای با میانگین وزنی $202/85 \pm 15/62$ گرم از انستیتو پاستور خریداری شدند. حیوانات در محیطی با میانگین دمای $22 \pm 1/4$ درجه سانتی گراد، رطوبت ۵۵ درصد و چرخه روشنایی تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت در قفس های مخصوص از جنس پلی کربنات نگهداری شدند (۲۸). حیوانات از غذای پلت و آب که به صورت آزاد در اختیار قرار می گرفت، تیمار شدند. غذای مصرفی حیوانات با توجه به وزن کشتی هفتگی به میزان ۱۰ گرم به ازای هر ۱۰۰ گرم وزن بدن در اختیار حیوان قرار داشت. پروتکل این تحقیق بر اساس قوانین بین المللی در مورد حیوانات آزمایشگاهی با کد اخلاق IR.IAU.SARI.REC. 1398.149 انجام و در کمیته اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساری به تصویب رسید.

به منظور ایجاد مدل آرواسپریمی، ابتدا داروی بوسولفان (Busulfan) با دوز ۴۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن موش های صحرایی به صورت داخل صفاقی برای هر موش صحرایی تزریق گردید. پس از گذشت یک ماه از القا مدل در هر گروه موش ها به صورت

کردند که فعالیت بدنی هوازی مانند دویدن باعث بهبود سطح (Peroxisome proliferator-activated) PGC-1 α (receptor-gamma coactivator-1) در موش های مدل اسپرما توژنز می گردد (۱۷). در مطالعه مروری وماندو (Vaamonde) و همکاران (۲۰۱۷) این طور گزارش شده که بعد از یک دوره فعالیت ورزشی هوازی با شدت پایین و متوسط، سطح بیماری آرواسپریمی از طریق تعدیل ژن های درگیری در این بیماری و کاهش سطح استرس اکسیداتیو و التهاب در این بیماران، کیفیت منی و باروری افزایش می یابد (۲۳). در این راستا نتایج مطالعات نشان داد که تمرین با شدت بالا می تواند منجر به تغییرات منفی و مثبت در ژن های مؤثر در باروری اسپرم از قبیل PLZF و TNP داشته باشد (۲۴).

همچنین لیزر درمانی یکی از شیوه های درمانی است که تهاجمی نمی باشد. یکی از شاخه های لیزر، لیزر درمانی کم توان می باشد. لیزر درمانی کم توان، روش درمانی هست که از تابش نور با شدت پایین در محدوده نور ۸۳۰-۵۴۰ نانومتر استفاده می گردد. به نظر می رسد اثرات درمانی این روش توسط واکنش های فتوشیمیایی که باعث تغییر نفوذپذیری غشاء سلولی و به دنبال آن افزایش ساخته شدن mRNA و پرولیفراسیون (تقسیم) سلولی می شود، حاصل گردد (۱۹). لیزر درمانی کم توان یک روش درمانی هست که از تابش نور با شدت پایین استفاده می کند و باعث تغییر در نفوذپذیری غشاء سلولی و به دنبال آن افزایش ساخته شدن mRNA و تقسیم سلولی می شود. نتایج مطالعات نشان داد که امواج فراصوت با شاخص مکانیکی ۰/۴۰ تأثیر بیشتری بر روی میزان تکثیر و کلونی زایی سلول های بنیادی اسپرما توگونی دارد (۲۵). همچنین نتایج تحقیقات نشان می دهد که قرار گرفتن در معرض مادون قرمز باعث جابجایی هسته ای PLZF می گردد (۲۶).

تحقیقات اخیر نشان می دهد که تغییر مولکول های کلیدی یا مسیرهای سیگنالی و بیان ژن در فرایند اسپرما توژنز، از طریق روش های غیر تهاجمی مانند فعالیت ورزشی و لیزر درمانی می تواند بر میزان باروری در افراد ناباروری مؤثر باشند. اگر چه مکانیسم های احتمالی برای نحوه اثرگذاری فعالیت بدنی و لیزر درمانی بر ناباروری مردان پیشنهاد شده است اما نتایج مطالعات

بررسی بافت‌شناسی و مطالعات ژنی مورد ارزیابی قرار گرفتند. برای این منظور نمونه‌های بافتی به فرمالین ۱۰ درصد و نمونه‌های مربوط به بررسی بیان ژن به تانک ازت منتقل شدند.

برای بررسی بیان ژن‌های PLZF و TekT1 در هر گروه بررسی بافت‌ها با تکنیک PCR Real Time استفاده شد. ابتدا طراحی پرایمر انجام شد و سپس RNA کل از بافت‌ها استخراج گردید و به cDNA تبدیل گردید (۳۲). سپس cDNA به روش PCR تکثیر شده و از تکنیک RT-qPCR جهت تایید بیان ژن‌های مورد مطالعه به صورت کمی استفاده شد. برای این منظور ابتدا با استفاده از محلول کیازول، RNA کل سلول‌ها طبق پروتکل سیناژن استخراج شد و جهت اطمینان از آلودگی با DNA ژنومیک، در معرض DNase I Fermentas قرار گرفت. علاوه بر این، جهت ارزیابی یکپارچگی RNA استخراج شده از ژل الکتروفورز استفاده گردید.

جهت استخراج RNA ابتدا به بافت بیضه ۳۰۰-۲۰۰ لاندا کیازول اضافه شد و به مدت ۲۴ ساعت آن در دمای ۸۰- قرار گرفت. پس از ۲۴ ساعت پلاک موجود در کرایوتیوب را در حالت نیمه انجماد توسط سرسمپلر خرد کرده، سپس کمی آن را پیتاژ گردید. همچنین جهت تهیه cDNA تک رشته‌ای از پرایمر Oligodt MWG-Biotech, Germany و آنزیم نسخه‌برداری معکوس (شرکت فرمنتاز) استفاده و طبق دستورالعمل شرکت سازنده انجام گرفت. هر واکنش PCR با استفاده از Applied Biosystems master mix PCR و SYBER Green در دستگاه Applied Biosystems, Foster City, CA Sequences Detection Systems. (ABI Step One) طبق پروتکل شرکت سازنده انجام گرفت. ۴۰ سیکل برای هر چرخه Real-Time PCR در نظر گرفته شد و دماهای هر سیکل شامل ۹۴ درجه سانتی‌گراد برای ۲۰ ثانیه، ۶۰-۵۸ درجه سانتی‌گراد برای ۳۰ ثانیه و ۷۲ درجه سانتی‌گراد برای ۳۰ ثانیه تنظیم شدند. نمودار Melting جهت بررسی صحت واکنش‌های PCR انجام شده و به صورت اختصاصی برای هر ژن و در هر بار از واکنش به همراه نمودار کنترل منفی جهت بررسی وجود آلودگی در هر واکنش مورد ارزیابی قرار گرفت.

تصادفی به ۵ گروه کنترل سالم (۵ سر)، آزواسپرمی (۵ سر)، تمرین+آزواسپرمی (۵ سر)، آزواسپرمی+لیزر (۵ سر)، تمرین+آزواسپرمی+لیزر (۵ سر) تقسیم شدند. گروه آزواسپرمی، یک ماه بعد از ایجاد مدل تا پایان مطالعه (مدت ۸ هفته) باقی ماندند و گروه کنترل سالم به مدت ۸ هفته نگهداری شدند و گروه تمرین+آزواسپرمی، یک ماه بعد از ایجاد موش‌های آزواسپرمی به مدت ۸ هفته به انجام تمرین شنا پرداختند. موش‌های صحرائیگروه‌های تمرین+آزواسپرمی، قبل از شروع پروتکل اصلی، به مدت یک هفته (۵ روز) هر بار به مدت ۲۰ دقیقه به منظور آشنایی‌ها با آب و کاهش استرس شنا و سازگاری با شرایط تمرینی، در داخل استخر آب قرار گرفتند. سپس ۵ روز در هفته تا پایان دوره تحقیق در یک مخزن آب به ابعاد ۵۰×۵۰×۱۰۰ سانتی‌متری با درجه حرارت ۳۰-۳۲ درجه سانتی‌گراد در طی ۸ هفته به شنا پرداختند (۲۹،۳۰) و مدت زمان تمرین در آب، روزانه ۳۰ دقیقه تا پایان مدت تمرین بود (۳۱).

گروه آزواسپرمی + لیزر کم توان، یک ماه بعد از ایجاد مدل، لیزر کم توان با طول موج ۶۳۲/۸ نانومتر و توان ۱۰ میلی‌وات و انرژی ۳ ژول به صورت سه تکرار در کل دوره مطالعه با فاصله هر هفته یک بار در ناحیه بیضه موش‌های آزواسپرمی اعمال شدند و رت‌ها تا پایان مطالعه به مدت ۸ هفته نگهداری شدند (۱۹).

همچنین موش‌های صحرائی گروه آزواسپرمی+لیزر کم‌توان+ورزش یک ماه بعد از ایجاد موش‌های آزواسپرمی، لیزر کم توان با طول موج ۶۳۲/۸ نانومتر و توان ۱۰ میلی‌وات و انرژی ۳ ژول به صورت ۳ تکرار در کل دوره مطالعه با فاصله هر هفته یک بار اعمال شد و پس از بهبود زخم ناحیه پیوند سلولی بر روی شکم، به صورت روزانه به مدت ۳۰ دقیقه در روز و ۵ روز در هفته شنا انجام دادند که این زمان به مدت ۸ هفته به طول انجامید.

جهت حذف اثر حاد مداخله، نمونه‌برداری از حیوانات پس از ۴۸ ساعت بعد از آخرین برنامه مداخله انجام گرفت. بدین منظور ابتدا حیوانات با استفاده از تزریق صفاقی کتامین (۳۰-۵۰ mg/kg) و زایلازین (۵ mg/kg) ۳-۵ بی‌هوش و سپس کشته شدند و پس از کشتار بافت‌های پیوند شده مربوط به ناحیه بیضه جهت

نحوه توزیع داده‌ها از آزمون پارامتریک شامل آزمون تحلیل واریانس یک طرفه و آزمون تعقیبی توکی در سطح معناداری $P \leq 0/05$ برای بررسی تغییرات بیان ژن PLZF و TekT1 استفاده شد. برای انجام کلیه امور آماری از نرم افزار SPSS نسخه ۲۳ استفاده شد و برای رسم نمودار از نرم افزار اکسل استفاده گردید.

یافته‌ها

در جدول ۱ توالی پرایمر زن مشاهده می‌شود. جدول شماره ۲، میانگین وزن موش‌های صحرایی در گروه‌های مختلف مورد مطالعه را نشان می‌دهد. نتایج آزمون تحلیل واریانس یک طرفه نشان داد تفاوت معناداری در وزن موش‌های صحرایی در گروه‌های مختلف مورد مطالعه وجود ندارد ($p \geq 0/05$).

بر اساس نتایج آنالیز یک طرفه، بین مقادیر سطوح PLZF در گروه‌های تحقیق، تفاوت آماری معناداری وجود دارد ($p \leq 0/01$). نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد در گروه کنترل سطح PLZF نسبت به گروه کنترل سالم تفاوت معنادار داشت ($p = 0/000$)؛ در حالی که ۸ هفته تمرین شنا با شدت پایین موجب تفاوت معنادار سطوح PLZF در گروه تمرین + آزواسپرمی نسبت به گروه کنترل سالم و تفاوت غیر معنادار نسبت به گروه آزواسپرمی گردید (به ترتیب $p = 0/001$ ، $p = 0/062$)؛ همچنین در گروه تمرین + آزواسپرمی + لیزر موجب تفاوت معنادار نسبت به گروه کنترل سالم ($p = 0/001$) و تفاوت معنادار نسبت به گروه آزواسپرمی ($p = 0/000$)، لیزر + آزواسپرمی ($p = 0/003$)، تمرین + آزواسپرمی + لیزر ($p = 0/000$)

نسبت بیان ژن‌های مورد بررسی در این مطالعه، با روش مقایسه‌ای چرخه آستانه (CT - Threshold Cycle) مورد ارزیابی قرار گرفتند.

با استفاده از فرمول زیر:

$$R = 2^{-(\Delta\Delta CT)}$$

$$\Delta\Delta CT = (CT_{\text{target}} - CT_{\text{reference}})_{\text{Time X}} - (CT_{\text{target}} - CT_{\text{reference}})_{\text{Time 0}}$$

منحنی استاندارد اختصاصی هر ژن با استفاده از حداقل ۵ غلظت لگاریتمی به ترتیب رقیق شونده از کنترل مثبت هر ژن رسم گردید. میزان بیان ژن هدف با ژن مرجع نرمالیز شده و بیان ژن‌های گروه سالم به عنوان کالیبراتور در نظر گرفته شد.

$$\text{Ratio} = \frac{(E_{\text{target}})^{\Delta CT_{\text{target}}}}{(E_{\text{reference}})^{\Delta CT_{\text{reference}}}}$$

$$\Delta CT_{\text{reference}} = Ct_{\text{control}} - Ct_{\text{treatment}} \text{ و } \Delta CT_{\text{target}} = Ct_{\text{control}} - Ct_{\text{treatment}}$$

در فرمول فوق E معرف Efficiency است و با استفاده از رسم منحنی استاندارد برای ژن به دست می‌آید (۳۲).

بعد از تحلیل آزمایشگاهی نمونه‌های بافتی، برای توصیف کمی داده‌ها از شاخص‌های آمار توصیفی شامل میانگین و انحراف استاندارد و آمار استنباطی استفاده شد. ابتدا جهت تعیین طبیعی بودن توزیع داده‌ها از آزمون شاپیروویک و برای تعیین تجانس واریانس از آزمون لون استفاده شد. سپس با توجه به طبیعی بودن

جدول ۱- توالی پرایمرهای ژن مورد مطالعه

PLZF Forward	GCACTATGGGAGAGAGGAGAGT
PLZF Reverse	GGTAGGGCAACATGAGTAGATG
TEKT1 Forward	CAATCTCCACCCAAGTTCCTTCC
TEKT1 Reverse	CAGAAGTTCCTTCAAGTCTCT

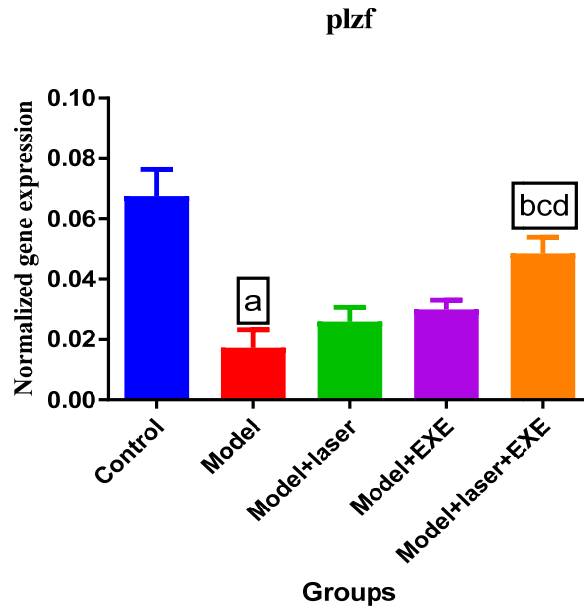
جدول ۲- میانگین وزن در گروه‌های مختلف مورد مطالعه

گروه	سالم	آزواسپرمی	تمرین + آزواسپرمی	آزواسپرمی + لیزر	تمرین + آزواسپرمی + لیزر
شاخص	M±SD	M±SD	M±SD	M±SD	M±SD
وزن (گرم)	۲۰۵/۵ ± ۲۰/۱۶	۲۰۵/۵ ± ۲۰/۱۶	۲۰۲/۵ ± ۱۴/۱۸	۲۱۶/۷ ± ۳/۱۸	۲۱۱/۱۵ ± ۷/۰۵

M: میانگین؛ SD: انحراف استاندارد

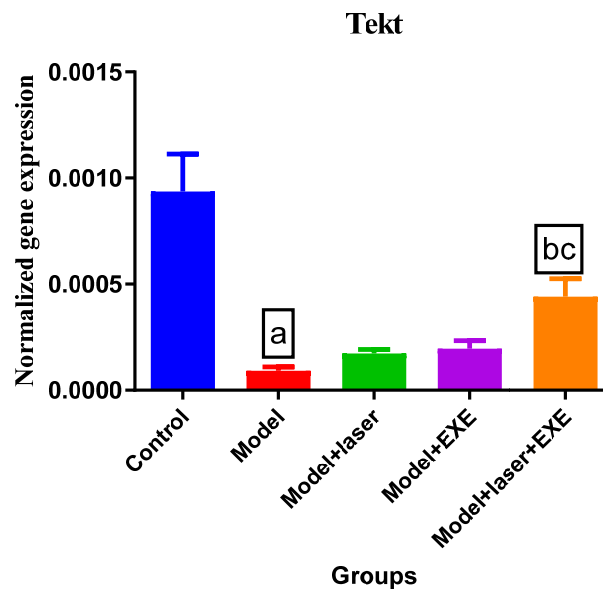
وجود دارد ($p \leq 0/01$). نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد در گروه کنترل بیمار سطح TekT1 نسبت به گروه کنترل سالم تفاوت معنادار داشت ($p = 0/001$)؛ در حالی که ۸ هفته تمرین شنا با شدت پایین موجب

گردید. این در حالی است که بین دیگر گروه‌ها تفاوت معناداری مشاهده نشد ($p \geq 0/01$). (شکل ۱). بر اساس نتایج آنالیز یک‌طرفه، بین مقادیر سطوح TekT1 در گروه‌های تحقیق، تفاوت آماری معناداری



شکل ۱- مقایسه سطوح میانگین mRNA برای بیان ژن PLZF در گروه‌های مختلف تحقیق

a: نسبت به گروه کنترل، b: نسبت به گروه آژواسپریمی، c: نسبت به گروه لیزر+آژواسپریمی، d: نسبت به گروه تمرین+آژواسپریمی (مقدار $p \leq 0/05$). Control: کنترل-سالم، Model: آژواسپریمی، Model+laser: لیزر+آژواسپریمی، Model+EXE: تمرین+آژواسپریمی، Model+laser+EXE: لیزر+تمرین+آژواسپریمی.



شکل ۲- مقایسه سطوح میانگین mRNA برای بیان ژن TekT1 در گروه‌های مختلف تحقیق

a: نسبت به گروه کنترل، b: نسبت به گروه آژواسپریمی، c: نسبت به گروه لیزر+آژواسپریمی (مقدار $p \leq 0/05$). Control: کنترل-سالم، Model: آژواسپریمی، Model+laser: لیزر+آژواسپریمی، Model+EXE: تمرین+آژواسپریمی، Model+laser+EXE: لیزر+تمرین+آژواسپریمی.

به نظر می‌رسد که کاهش گیرنده‌ها و افزایش التهاب در بیماران آرواسپرمی، می‌تواند منجر به کاهش سطح بیان ژن PLZF و TekT1 گردد (۲۴).

همچنین نتایج تحقیق حاضر نشان داد که ۸ هفته‌تمرین شنا با شدت پایین سبب افزایش غیرمعنادار بیان ژن PLZF و TekT1 موش‌های صحرایی گروه تمرینی شنا در مقایسه با گروه آرواسپرمی گردید. از آنجایی که مکانسیم روشنی از تأثیرگذاری فعالیت بدنی بر بیان ژن PLZF و TekT1 هنوز به درستی مشخص نشده است، ممکن است توضیح نتایج تحقیقات به درستی امکان‌پذیر نباشد. نتایج برخی از مطالعات هم‌راستا با نتایج تحقیق حاضر، اثر افزایشی ورزش هوازی بر بیان ژن سلول‌های بنیادی اسپرماتوگونی را ثابت کردند (۲۳، ۲۴، ۳۰). فرنس و همکاران (۲۰۱۴) در مطالعه خود این گونه اذعان داشتند که شدت فعالیت هوازی به‌ویژه انجام فعالیت هوازی با شدت متوسط، قابلیت اثرگذاری و تعدیل و بهبود نشانگرهای اسپرماتوزن مانند PLZF و TekT1 می‌گردد و کاهش سطح التهاب در بیماران نارور را در پی دارد (۲۳). در راستا نتایج این تحقیق، نشان داده شد که تمرین هوازی با توجه به بهبود کاهش سطح بیان ژن‌های التهابی و بهبود سلول‌های بنیادی اسپرماتوگونی، سطح کیفیت جنسی و باروری را افزایش می‌دهد (۱۷). فعالیت بدنی می‌تواند باعث آزاد شدن اکسید نیتریک‌گردد. اکسید نیتریک، آنزیم گوانیل سیکلاز را فعال کرده و در نتیجه میزان cGMP (Cyclic Guanosine Monophosphate) افزایش می‌یابد. این افزایش منجر به اتساع عروق دستگاه تناسلی شده و باعث افزایش جریان خون در آن می‌شود و متعاقب آن منجر به افزایش تولید اسپرم می‌گردد (۲۲). این تغییرات باعث کاهش احتمال ناباروری در افرادی می‌گردد که به علت کمبود اسپرم دچار عقمی شده‌اند (۲۳)؛ به عبارت دیگر، فعالیت بدنی از طریق اتساع عروق و افزایش چرخه جریان خون در اندام‌های بدن از قبیل دستگاه تناسلی منجر به افزایش اسپرم‌زایی و درمان ناباروری ناشی از اسپرماتوزن می‌گردد (۲۴). همین‌طور افزایش چگالی مویرگی در پاسخ به فعالیت‌های ورزشی منجر به فراهم کردن اکسیژن کافی در بافت‌ها می‌گردد و این مورد باعث فعال‌سازی و تغییر

تفاوت معنادار سطوح TekT1 در گروه تمرین + آرواسپرمی نسبت به گروه کنترل سالم و تفاوت غیرمعنادار نسبت به گروه آرواسپرمی گردید (به ترتیب $p=0/000$ ، $p=0/367$)؛ همچنین در گروه تمرین + آرواسپرمی + لیزر موجب تفاوت معنادار نسبت به گروه کنترل سالم ($p=0/000$) و تفاوت معنادار نسبت به گروه آرواسپرمی ($p=0/001$)، لیزر + آرواسپرمی ($p=0/001$)، تمرین + آرواسپرمی + لیزر ($p=0/002$) گردید. این در حالی است که بین دیگر گروه‌ها تفاوت معناداری مشاهده نشد ($p \geq 0/01$). (شکل ۲).

بحث و نتیجه‌گیری

در تحقیق حاضر تأثیر ۸ هفته تمرین شنا با شدت پایین بر بیان ژن PLZF و TekT1 در موش‌های مدل آرواسپرمی مورد بررسی قرار گرفت. از نتایج مهم تحقیق حاضر کاهش معنادار سطح بیان ژن PLZF و TekT1 موش‌های صحرایی مدل آرواسپرمی نسبت به گروه سالم می‌باشد. نتایج مطالعه حاضر با نتایج مطالعه برخی از محققین که در تحقیق خود اظهار داشتند بیماری آرواسپرمی منجر به تغییر بیان ژن‌های درگیر در باروری از قبیل PLZF و TekT1 می‌گردد، همسو می‌باشد (۲۳، ۲۴، ۳۰). PLZF و TekT1 از مارکرهای اساسی در حفظ و توسعه سلول‌های بنیادی اسپرماتوگونی شناخته شدند (۲۸). نتایج تحقیقات نشان داد که در مردان نابارور اسپرماتوزوها تغییرات هسته‌ای زیادی شامل ساختار غیرطبیعی کروماتین و شکست‌های رشته‌ای DNA وجود دارد که منجر به تغییر در سطح بیان این ژن می‌گردد (۱۳). این ژن‌ها که در تکثیر و تمایز سلول‌های بنیادی اسپرماتوزن نقش ایفا می‌کند، دارای گیرنده‌های مختلفی در اکثر بافت‌های بدن مانند بیضه بوده و جهت حفظ و توسعه سلول‌های بنیادی دارای اهمیت می‌باشد (۱۴). چن (Chen) و همکاران (۲۰۱۵) در مطالعه خود اذعان داشتند که بیماری آرواسپرمی منجر به کاهش سطح رشد و توسعه و حتی تکثیر و تمایز سلول‌های بنیادی می‌شود و کاهش سطح کیفیت اسپرم‌زایی منجر به پایین آمدن سطح بیان ژن PLZF و TekT1 می‌گردد (۲۰). کاهش سطح گیرنده‌های SSCs، مانعاز تولید و بیان سلول‌های بنیادی اسپرماتوگونی می‌گردد. بنابراین

که استفاده از لیزر کم‌توان در افزایش بیان ژن سلول‌های زیای نر مؤثر می‌باشد؛ اشعه لیزر به دلیل اثرات تحریک کیفیت، تحرک اسپرم‌ها را تقویت می‌کند (۳۳). هنگام استفاده از لیزر کم‌توان از نوع پرتو مادون قرمز با فرکانس ۳۰۰ هرتز که یکی از فرکانس‌های متداول درمانی است؛ تغییرات شیمیایی در مولکول گیرنده‌های نوری و اجزاء زنجیره تنفسی مثل سیتوکروم اکسیداز C و NADH دهیدروژناز رخ می‌دهد. به‌علت تغییر در فعالیت بیوشیمیایی کروموفورها، آزاد شدن NO از وضعیت مهار در مرکز سیتوکروم اکسیداز C، اتواکسیداسیون یک الکترون و تولید O_2^- ، H_2O_2 و O_2 رخ می‌دهد. آزاد شدن این عوامل پیامدهایی از جمله افزایش غلظت داخل سلولی کلسیم، افزایش PH (قلیایی شدن)، آزاد شدن آراشیدونات و فعال شدن آنتی‌به‌دنبال دارد (۳۰). هنگامی که این دو طیف به‌صورت ترکیبی البته با فرکانس پایین با ورزش استفاده می‌شود؛ اثرات تحریکی بیشتر و مؤثرتری را نشان می‌دهد. دلیل این وضعیت می‌تواند آن باشد که هر کدام از این طیف‌ها اثرات بیولوژیک خاصی را کنترل می‌نمایند. بنابراین استفاده ترکیبی از هر دو نوع طیف اثرات بیولوژیک وسیع‌تری را ایجاد می‌نماید. به‌عنوان مثال، پرتوهای لیزر کم‌توان علاوه بر تأثیر بر فسفوریلاسیون اکسیداتیو در میتوکندری‌ها و افزایش تولید ATP میکروسیرکولاسیون (گردش خون میکروسکوپی) را افزایش می‌دهند. لیزر با آزادسازی مواد شیمیایی مانند هیستامین سبب انبساط عروقی می‌شود که همراه با افزایش فسفوریلاسیون اکسیداتیو سلول‌ها سبب افزایش متابولیسم سلولی می‌گردد (۳۰). افزایش میکروسیروکولاسیون در بیضه وضعیت متابولیسمی را بهبود می‌بخشد که پس‌تابش لیزر اثر تحریکی بیولوژیک مهم در اسپرماتوژنز را توجیه می‌کند (۳۳). تحت تأثیر پرتوهای لیزر کم‌توان تغییراتی در مرحله پاکی تن اسپرماتوسیت اولیه و اسپرماتیدها در درجات مختلف ایجاد می‌شود و در نتیجه طول فاز سیکل سلولی در انواع سلول‌های ژرمینال تغییر می‌نماید (۳۴). پرتو لیزر کم‌توان بسبب افزایش تولید تستوسترون با اثر روی سلول‌های لایدیگ می‌شود. تستوسترون و FSH برای اتصال اسپرماتید و اجزاء سلولی سرتولی ضروری است.

در نفوذپذیری غشاء سلولی و به دنبال آن افزایش ساخته‌شدن mRNA و تقسیم‌سلولی می‌شود و سطح بیان ژن سلول‌های بنیادی اسپرماتوگونی افزایش می‌یابد (۲۵). جوزکو (Józków) و همکاران (۲۰۱۷) در مطالعه خود اذعان داشتند که افزایش چگالی مویرگی و جریان خون، منجر به بهبود سطح و تحرک سلول‌های بنیادی و تمایز سلول‌های بارور می‌شود (۲۴). همچنین تحقیقات انجام شده بر روی اثرگذاری فعالیت بدنی بر سلول‌های بنیادی اسپرماتوگونی نشان می‌دهد که به دنبال فعالیت بدنی به ویژه هوازی، پاسخ سلولی با فعال شدن فوتواکسپتورهای موجود در زنجیره تنفسی واقع در میتوکندری آغاز شده و در اثر آن ردوکس سلولی تغییر حالت می‌دهد و همراه با تغییرات حالت غشاء سلولی با جابجایی کلسیم و تغییرات PH و فعال شدن CAMP و مضاعف شدن DNA منجر به ساخته‌شدن پروتئین‌های جدید و تکثیر سلولی می‌شود (۲۳). به این ترتیب پاسخ‌های سلولی از سطح سلولی به سطح بافت و ارگان کشانده می‌شود و اثراتی مانند تکثیر سلولی، نئوواسکولاریزاسیون، شیفت متابولیسمه سمت هوازی و متعادل کردن سطح باروری و کاهش ناباروری حاصل می‌آید (۲۴).

از نتایج مهم دیگر تحقیق حاضر افزایش سطح بیان ژن PLZF و TEKT1 موش‌های صحرایی مدل تمرین + آزواسپرمی + لیزر نسبت به گروه مداخله و آزواسپرمی می‌باشد. نتایج تحقیق با نتایج مطالعات محققانی که اثر تعدیلی لیزر را بر روی فاکتورهای اسپرماتوژنر بدست آوردن، همسو می‌باشد (۲۳، ۲۴، ۲۵، ۲۶، ۳۰). تاباندن اشعه لیزر به اسپرهای معیوب سبب افزایش غلظت کلسیم درون سلول و میزان انرژی می‌شود که افزایش میزان تحرک و باروری را به همراه دارد. تعداد ناکافی اسپرم و وجود اسپرم‌های معیوب (اسپرم‌های فاقد تحرک کافی) از عوامل اصلی ناباروری به حساب می‌آیند. تاباندن اشعه لیزر به اسپرهای معیوب سبب افزایش غلظت کلسیم درون سلول و میزان انرژی می‌شود که افزایش میزان تحرک و باروری را به همراه دارد. گذشت زمان سبب کاهش تحرک اسپرم‌های ذخیره شده در فرآیند لقاح خارج رحمی می‌شود و اشعه لیزر تابیده شده به ثابت ماندن حرکت آن‌ها یا افزایش تحرکشان کمک شایانی می‌کند. این مطالعه نشان داد

ژن سلول‌های زایای نر در فرایند اسپرماتوژنز می‌تواند باعث کاهش باروری و افزایش ناباروری گردد، ولی فعالیت ورزشی منظم هوازی مانند شنا با شدت پایین به همراه لیزر کم توان در مهار آثار ناشی از بیماری‌های ناباروری از طریق افزایش حفظ و توسعه سلول‌ها بنیادی اسپرماتوگونی کمک شایانی می‌کند.

تقدیر و تشکر

این مقاله برگرفته از رساله دوره دکتری فیزیولوژی ورزشی می‌باشد. بدین‌وسیله نویسندگان تشکر خود را از تمامی کسانی که در پیشبر اهداف رساله یاری نموده‌اند، اعلام می‌دارند.

تأییدیه اخلاقی

پژوهشگران کلیه قوانین اخلاقی مرتبط با تحقیقات بر روی حیوانات را رعایت نمودند.

References

- Ernst C, Eling N, Martinez-Jimenez CP, Marioni JC, Odom DT. Staged developmental mapping and X chromosome transcriptional dynamics during mouse spermatogenesis. *Nat Commun.* 2019;10(1):1251.
- Ni FD, Hao SL, Yang WX. Multiple signaling pathways in Sertoli cells: recent findings in spermatogenesis. *Cell Death Dis.* 2019; 10(8):541.
- Griswold MD. Spermatogenesis: The Commitment to Meiosis. *Physiol Rev.* 2016;96(1):1-17.
- Gutierrez K, Glanzner WG, Chemeris RO, Rigo ML, Comim FV, Bordignon V, et al. Gonadotoxic effects of busulfan in two strains of mice. *Reprod Toxicol.* 2016; 59:31-9.
- Khanhezad M, Abolhasani F, Koruji S M, Ragerdi Kashani I, Aliakbari F. The roles of Sertoli cells in fate determinations of spermatogonial stem cells. *Tehran Univ Med J.* 2016;73(12):878-887
- Cioppi F, Casamonti E, Krausz C. Age-Dependent De Novo Mutations During Spermatogenesis and Their Consequences. *Adv Exp Med Biol.* 2019;1166:29-46. [Persian]
- Fahnenstich J, Nandy A, Milde-Langosch K, Schneider-Merck T, Walther N, Gellersen B. Promyelocytic leukaemia zinc finger protein (PLZF) is a glucocorticoid- and progesterone-induced transcription factor in human endometrial stromal cells and myometrial smooth muscle cells. *Mol Hum Reprod.* 2003; 9(10):611-23.
- Wang X, Wang J, Zhang L. Characterization of

اسپرماتوزوئیدهای در حال نمو توسط پل‌های سیتوپلاسمیک به هم متصل هستند. این شبکه سلولی، به‌طور فیزیکی توسط انعشابات سیتوپلاسمی وسیع سلول‌های سرتولی پشتیبانی می‌گردد. به‌علت این‌که اسپرماتوسیت‌ها، اسپرماتیدها و اسپرماتوزوئیدها از خون توسط سد خونی- بیضه‌ای جدا گشته‌اند؛ این سلول‌های اسپرماتوژنیک برای تبادل مواد غذایی و متابولیت‌ها، به سلول‌های سرتولی وابسته هستند. سد سلول‌های سرتولی، اسپرم‌های در حین رشد را از حمله ایمونولوژیک نیز محافظت می‌نماید و هنگام اسپرمیوژنز سیتوپلاسم اضافی اسپرماتید از آن جدا می‌شود و این قطعات سیتوپلاسمی توسط لیزوزوم‌های سلولی سرتولی فاگوسیت و منهدم می‌شوند (۳۰). در صورت استفاده از طیف مادون قرمز لیزر به‌صورت ترکیبی با ورزش، مجموعه‌ای از اثرات بیولوژیک روی اپی‌تلیوم اسپرم‌ساز پدید می‌آید که آن را از گروه شاهد متمایز می‌سازد. علت این تغییرات را می‌توان این‌گونه تفسیر نمود که طیف لیزر کم توان هنگامی که به‌صورت ترکیبی با ورزش مورد استفاده قرار می‌گیرد، میزان بالاتری از انرژی را به اپی‌تلیوم وارد می‌نماید که انرژی ایجادشده به‌مقدار زیاد بر اتصال سلول‌های لایدیگ و سلول‌های ژرمینال تأثیر داشته و سبب چرخش لرزش مولکول‌های غشایی سلول‌ها می‌شود (۱۹). هم‌چنین انرژی زیاد تولیدشده اثرات منفی روی سلول‌های لایدیگ و ترشح تستوسترون گذاشته و این تغییرات بر اتصال بین سلول‌های سرتولی و سلول‌های ژرمینال در اسپرماتوژنز تأثیر گذاشته و از حداکثر چسبندگی بین اسپرماتیدها و اجزاء سلولی سرتولی جلوگیری می‌نماید (۲۶).

بر اساس نتایج این مطالعه پیشنهاد می‌گردد یک دستورالعمل اجرائی جهت توسعه انجام تمرینات شنا با شدت پایین برای افراد مبتلا به بیماری آرواسپرمی به‌منظور جلوگیری از اثرات این بیماری تدوین گردد. هم‌چنین با توجه به اثر یک دوره تمرین شنا همراه با لیزر کم توان با شدت پایین بر بیان ژن PLZF و TEKT1 پیشنهاد می‌شود که بیماران مبتلا به آرواسپرمی از فعالیت‌های ورزشی شنا با شدت پایین بهره بیشتری ببرند.

به‌طور کلی نتایج تحقیق حاضر بیانگر آن است که تغییر مولکول‌های کلیدی یا مسیرهای سیگنالی و بیان

- atypical acute promyelocytic leukaemia: Three cases report and literature review. *Medicine (Baltimore)*. 2019; 98(19):e15537.
9. Fayomi AP, Orwig KE. Spermatogonial stem cells and spermatogenesis in mice, monkeys and men. *Stem Cell Res*. 2018; 29:207-214.
 10. Savage AK, Constantinides MG, Han J, Picard D, Martin E, Li B, Lantz O, Bendelac A. The transcription factor PLZF directs the effector program of the NKT cell lineage. *Immunity*. 2008; 29(3):391-403.
 11. Jin Y, Nenseth HZ, Saatcioglu F. Role of PLZF as a tumor suppressor in prostate cancer. *Oncotarget*. 2017;8(41):71317-71324.
 12. Liu TM, Lee EH, Lim B, Shyh-Chang N. Concise Review: Balancing Stem Cell Self-Renewal and Differentiation with PLZF. *Stem Cells*. 2016;34(2):277-87.
 13. Newby PR, Pickles OJ, Mazumdar S, et al. "Follow-up of potential novel Graves' disease susceptibility loci, identified in the UK WTCCC genome-wide nonsynonymous SNP study". *Eur J Hum Genet*. 2010;18(9):1021-6.
 14. Meistrich ML, Mohapatra B, Shirley CR, Zhao M. Roles of transition nuclear proteins in spermiogenesis. *Chromosoma*. 2003; 111(8):483-8.
 15. Meistrich ML. Effects of chemotherapy and radiotherapy on spermatogenesis in humans. *Fertil Steril*. 2013;100(5):1180-6.
 16. Costoya JA, Hobbs RM, Barna M, Cattoretti G, Manova K, Sukhwani M, et al. Essential role of Plzf in maintenance of spermatogonial stem cells. *Nat Genet*. 2004;36(6):653-9.
 17. Torma F, Koltai E, Nagy E, Mosaferi Ziaaldini M, 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.
 18. Mohaqiq M, Movahedin M, Mazaheri Z, Amirjannati N. Successful Human Spermatogonial Stem Cells Homing in Recipient Mouse Testis after In Vitro Transplantation and Organ Culture. *Cell J*. 2019;20(4):513-520.
 19. Tumilty S, Munn J, McDonough S, Hurley DA, Basford JR, Baxter GD. "Low Level Laser Treatment of Tendinopathy: A Systematic Review with Meta-analysis". *Photomed Laser Surg*. 2010;28(1):3-16.
 20. Chen H, Tang QL, Wu XY, Xie LC, Lin LM, Ho GY, et al. Differentiation of human umbilical cord mesenchymal stem cells into germ-like cells in mouse seminiferous tubules. *Mol Med Rep*. 2015;12(1):819-28.
 21. Taher, Z. Hamednia, M. Haghghi, H. Investigation of Effect of one Session Moderate and Heavy Resistance Exercise on Acute and Delayed Responses of Leptin, Insulin, Cortisol, Testosterone and 24- Hour Energy Expenditure in Healthy Men. *Iran J Endocrinol Metab*. 2011;13(1):67. [Persian]
 22. Urhausen A, Kullmer T, Kindermann W. A 7 week follow up study of the behavior of testosterone and cortisol during the competition period in rowers. *Eur J ApplPhysiolOccup Physiol*. 1987;56(5):528-33.
 23. Vaamonde D, Garcia-Manso JM, Hackney AC. Impact of physical activity and exercise on male reproductive potential: a new assessment questionnaire. *Rev Andal Med Deport*. 2017 Jun;10(2):79-93.
 24. Jóźków P, Rossato M. The Impact of Intense Exercise on Semen Quality. *Am J Mens Health*. 2017;11(3):654-662.
 25. Nel-Themaat L, Vadakkan TJ, Wang Y, Dickinson ME, Akiyama H, Behringer RR. Morphometric analysis of testis cord formation in Sox9-EGFP mice. *Dev Dyn*. 2009 May;238(5):1100-10.
 26. Hsu YH, Chen YC, Chen TH, Sue YM, Cheng TH, Chen JR, Chen CH. Far-infrared herapy induces the nuclear translocation of PLZF which inhibits VEGF-induced proliferation in human umbilical vein endothelial cells. *PLoS One*. 2012;7(1):e30674.
 27. Moher D, Dulberg CS, Wells GA. Statistical power, sample size, and their reporting in randomized controlled trials. *JAMA*. 1994 Jul 13;272(2):122-4.
 28. Olfert ED, Cross BM, McWilliam AA. Guide to the care and use of experimental animals. 2nd ed. Ottawa: Canadian Council on Animal Care Ottawa Pub; 1993. 1-193.
 29. Montenegro ML, Bonochoer CM, Meola J, Portella RL, Ribeiro-Silva A, Brunaldi MO, et al. Effect of Physical Exercise on Endometriosis Experimentally Induced in Rats. *Reprod Sci*. 2019;26(6):785-793.
 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;178:33-40.
 31. Rasha H. M. The Impact of Vitamin B 6 Supplementation on Experimental Colitis and Colonic Mucosal DNA Content in Female Rats Fed High Sucrose Diet. *Austral J Bas Appl Sci*. 2011;5(5):1051-1060.
 32. Pfaffl MW. A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR. *Nucl Acids Res*. 2001 May 1;29(9):e45.
 33. Singh SK, Chakravarty S. Antispermatic and antifertility effects of 20,25-diazacholesterol dihydrochloride in mice. *Reprod Toxicol*. 2003 Jan-Feb;17(1):37-44.
 34. Jorgensen A, Nielsen JE, Morthorst JE, Bjerregaard P, Leffers H. Laser capture microdissection of gonads from juvenile zebrafish. *Reprod Biol Endocrinol*. 2009;7:97.