

## ترکیب ویتامین E و تمرین شدید بر استرس اکسیداتیو بیضه و اسپرماتوژنز در موش‌های نر

عباس صارمی<sup>۱</sup>، سعید چنگیزی آشتیانی<sup>۲</sup>، ابولفضل کلانتری<sup>۳</sup>

۱. استادیار دانشگاه اراک\*

۲. دانشیار دانشگاه علوم پزشکی اراک

۳. کارشناس ارشد دانشگاه اراک

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۰۶/۱۸

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۱۰/۱۴

### چکیده

هدف مطالعه حاضر ارزیابی اثر مکمل سازی ویتامین E بر مارکرهای استرس اکسیداتیو بیضه و اسپرماتوژنز حین ۸ هفته تمرین شدید در موش‌های نر بود. سی سر موش (سن: ۳ ماه، وزن:  $247 \pm 10$  گرم) به صورت تصادفی به گروه‌های کنترل (۱۰ سر)، تمرین شدید (۱۰ سر) و تمرین شدید+مکمل (۱۰ سر) اختصاص داده شدند. برنامه شدید تمرین شنا ۵ روز در هفته و برای ۸ هفته اجرا شد. در گروه تمرین شدید+مکمل، ویتامین E با دوز ۵۰ میلی گرم/کیلوگرم/روز تزریق می‌شد. تمام حیوانات کشته و بیضه‌ها جهت ارزیابی شاخص‌های مختلف جمع‌آوری شدند. داده‌ها توسط نرم افزار آماري SPSS 15 و آزمون تحلیل واریانس تجزیه و تحلیل شدند. افزایش معنادار در سطوح مالون دآلدهید (MDA) ( $P < 0.02$ ) و کاهش معنادار در کیفیت اسپرماتوژنز بیضه گروه تمرین شدید مشاهده شد ( $P < 0.03$ ). در گروه تمرین شدید+مکمل ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام بیضه به طور معنادار افزایش یافت ( $P < 0.03$ ). در حالی که سطوح MDA و کیفیت اسپرماتوژنز بدون تغییر باقی ماند ( $P > 0.05$ ). این نتایج پیشنهاد می‌کند که مکمل سازی با ویتامین E ممکن است در حفاظت از اثرات محتمل منفی تمرین شدید بر اسپرماتوژنز و ظرفیت باروری موثر باشد.

**واژگان کلیدی:** آنتی اکسیدان‌ها، تمرین شدید، استرس اکسیداتیو، اسپرم.

## مقدمه

ناباروری یکی از چالش‌های مهم پزشکی در دنیای امروز است. به طوری که میزان آن در جهان از سال ۱۹۵۵ تا کنون ۵۰ درصد بالا رفته است و تقریباً یک ششم زوجها با آن مواجه هستند. بر اساس تعریف، ناباروری به معنی عدم حاملگی بعد از یک سال آمیزش بدون هر گونه روش جلوگیری است. تقریباً ۴۵ درصد از ناباروری‌ها مربوط به مشکلات سیستم تولید مثل زن، ۴۵ درصد عامل مردانه و ۱۰ درصد باقیمانده مواردی است که از نظر پزشکی علت آن روشن نیست (۱).

علت ناباروری مردان هنوز به خوبی روشن نیست، اما یکی از سازوکارهای اصلی آن استرس اکسیداتیو معرفی شده است (۲). استرس اکسیداتیو حاصل تولید بیش از حد گونه‌های فعال اکسیژنی<sup>۱</sup> (ROS) یا ناتوانی دفاع آنتی‌اکسیدانی است. گونه‌های فعال اکسیژنی نقش دوگانه‌ای در باروری مردان بازی می‌کنند. از یک سو ROS نقش مهمی در فرایندهایی چون ظرفیت پذیری<sup>۲</sup>، واکنش آکروزومی و لقاح<sup>۳</sup> دارد و از سوی دیگر می‌تواند اثرات مخربی بر اسپرم داشته باشد (۳). به طوری که سطوح بالای ROS اثر منفی بر کیفیت و تحرک اسپرم دارد. همچنین استرس اکسیداتیو با افزایش آسیب به DNA اسپرم و لیپید پراکسیداسیون غشای سلولی اسپرم همراه است (۴). به علاوه، شواهد نشان می‌دهند ظرفیت آنتی‌اکسیدانی مایع منی مردان نابارور کمتر از مردان نرمال است (۵). آنتی‌اکسیدان‌هایی نظیر ویتامین E از پاکسازی کننده‌های قوی ROS هستند و استفاده از آن‌ها اثرات مثبتی بر پارامترهای اسپرم دارد. مطالعات نشان می‌دهد در مردانی که در رژیم غذایی آن‌ها آنتی‌اکسیدان‌هایی نظیر ویتامین E بیشتر است، کیفیت مایع منی و اسپرم بالاتر است (۶).

از سویی، ورزش سنگین منجر به افزایش تولید رادیکال‌های آزاد با منشاء اکسیژن و نیتروژن می‌شود که با کاهش قدرت باروری مردان همراه است. به طوری که در برخی مطالعات گزارش شده است که ورزش شدید منجر به افزایش استرس اکسیداتیو و هم‌زمان کاهش هورمون‌های جنسی و کیفیت اسپرماتوژنز می‌شود (۷،۸). از این رو یکی از علل اصلی کاهش قدرت باروری در مردان سنگین تمرین کرده، استرس اکسیداتیو ناشی از تمرین شدید معرفی شده است (۹). بنابراین در پژوهش حاضر فرض بر این است که دریافت آنتی‌اکسیدان ویتامین E حین تمرین ورزشی شدید ممکن است از طریق بهبود دفاع آنتی‌اکسیدانی، از اثرات منفی این تمرینات بر اسپرماتوژنز

- 
1. Reactive oxygen species
  2. Capacitation
  3. Fertilization

پیشگیری نماید. بنابراین، هدف پژوهش حاضر بررسی اثر مکمل سازی با ویتامین E حین یک دوره ۸ هفته‌ای تمرین هوازی شدید بر شاخص‌های استرس اکسیداتیو و قدرت باروری موش‌های نر بود.

### روش پژوهش

این پژوهش از نوع تجربی است و با توجه به اهداف مطالعه تعداد ۳۰ سر رت نر نژاد اسپراگ دالی ۱۲ هفته‌ای در محدوده وزنی ۲۰۰-۳۰۰ گرم که از انستیتو پاستور کرج گرفته شده بودند، به عنوان آزمودنی انتخاب شدند. رت‌ها در شرایط دمایی ۲۲ درجه سانتی‌گراد، چرخه تاریکی - روشنایی ۱۲:۱۲ و بدون هیچ گونه محدودیتی در غذا و آب در قفس‌های پلی اتیلن قرار گرفتند. کار بر روی حیوانات مطابق موازین کمیته اخلاق در پزشکی دانشگاه علوم پزشکی اراک انجام گردید. در ابتدا حیوانات به طور تصادفی به ۳ گروه ۱۰ تایی به شرح ذیل تقسیم شدند:

۱. گروه کنترل: در طول اجرای پژوهش، هیچ فعالیت ورزشی انجام نمی‌دادند و هیچ نوع ماده‌ای نیز به آن‌ها تزریق نشد.
۲. گروه تمرین شدید+ویتامین E: در این گروه رت‌ها هر روز راس ساعت ۱۰ صبح، پس از تزریق ویتامین E به میزان ۵۰ میلی‌گرم/کیلوگرم به صورت داخل صفاقی، تمرین داده می‌شدند.
۳. گروه تمرین شدید بدون دریافت ویتامین E: در این گروه رت‌ها بدون دریافت ویتامین E تنها تمرین هوازی شنا انجام می‌دادند. طول مدت پژوهش ۸ هفته بود.

برنامه تمرینی شامل دو مرحله بود:

مرحله اول، یک هفته آشناسازی با شنا کردن در استخر آب بود. در این مرحله موش‌ها روزانه ۱۵ دقیقه در آب شنا می‌کردند.

در مرحله دوم (تمرین اصلی)، موش‌های گروه تمرین ۵ روز در هفته در استخر (۱۵۰×۵۰ سانتیمتر) با دمای ۳۲ درجه سانتی‌گراد (کنترل دما توسط ترمومتر و ترموستات انجام می‌شد) شنا می‌کردند. مدت تمرین جلسه اول ۲۰ دقیقه بود که به طور تدریجی (حدود ۲۰ دقیقه در هر هفته) در طول دوره تمرینی افزایش می‌یافت تا این که در جلسه آخر مدت تمرین به ۱۸۰ دقیقه رسید. این برنامه تمرینی مدلی از تمرین استقامتی شدید است (۱۰).

حیوانات گروه مکمل، روزانه ۵۰ میلی‌گرم/کیلوگرم ویتامین E (تولید شرکت ایران هورمون - ایران) بعد از اتمام تمرین و به صورت داخل صفاقی، دریافت می‌کردند. مطالعات گزارش کرده‌اند دریافت این دوز ویتامین E با بهبود ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بافت بیضه و شاخص‌های باروری موش‌های نر همراه است (۱۱).

روش تهیه نمونه‌های بافتی بیضه به این صورت بود که ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین موش‌ها با تزریق درون صفاقی ترکیبی از کتامین (۷۰ میلی گرم/کیلوگرم) و زایلازین (۴ میلی گرم/کیلوگرم) بیهوش شدند. سپس موش‌ها کشته شدند و بیضه جهت مطالعات بافتی از بدن حیوان خارج گردید. یکی از بیضه‌ها در محلول فیکساتیو بوئن جهت بررسی‌های بافت شناسی قرار داده شد. پس از تشریح هر موش، بیضه سمت چپ جدا شده و بعد از وزن کردن توسط ترازوی دقیق دیجیتال، مراحل تثبیت، پردازش، برش و در نهایت رنگ آمیزی با هماتوکسیلین ائوزین روی آن صورت گرفت. بعد از تهیه اسلاید از نمونه‌های تهیه شده، به منظور بررسی جمعیت سلولی درون لوله‌های اسپرم ساز از روش نمره دهی جانسون<sup>۱</sup> استفاده شد. بر اساس روش فوق از هر نمونه تعداد ۱۰ لوله اسپرم ساز به صورت تصادفی انتخاب شده (۱۲) و جمعیت سلولی درون آن‌ها طبق جدول جانسون (جدول ۱) و از طریق میکروسکوپ نوری بررسی شد. سپس میانگین اعداد حاصل مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت.

هر یک از نمونه‌های بیضه برداشته شده ابتدا از طریق یک برش طولی به دو قسمت مساوی برش داده شد و در محلول فیکساتیو بوئن به مدت ۲۴ ساعت غوطه‌ور گردید. سپس بعد از فیکسیشن، آماده سازی بافت به روش زیر انجام شد:

بافت‌های فیکس شده برای شفاف سازی<sup>۲</sup> در گزین<sup>۳</sup> و به دنبال آن در پارافین قرار داده شدند و بلوک‌های پارافینه حاوی نمونه تهیه شد. از بلوک‌های فوق ۱۲ برش به ضخامت ۵ میکرون تهیه گردید. این برش‌های بافتی پس از رنگ آمیزی به روش هماتوکسیلین و ائوزین (H&E) بررسی میکروسکوپی گردید. در بررسی میکروسکوپی نمره‌دهی<sup>۴</sup> اسپرما توژنز، با استفاده از سیستم طبقه بندی تعدیل شده جانسون انجام شد (۱۲).

- 
1. Johnsen
  2. Clearing
  3. xylene
  4. Scoring

جدول ۱- سیستم دسته بندی جانسون برای ارزیابی اسپرماتوژنز

نمره	ظاهر هیستوپاتولوژی
۱	توبولار اسکروسیس
۲	فقط سلول های سرتولی
۳	فقط سلول های اسپرماتوگونیا
۴	توقف در اسپرماتوسیت اولیه
۵	تعداد زیادی اسپرماتوسیت بدون سلول های اسپرماتید
۶	بدون اسپرماتید دیرس، توقف در مرحله اسپرماتید
۷	بدون اسپرماتید دیرس، تعداد زیادی اسپرماتید زودرس
۸	تعداد کمی اسپرماتید دیرس
۹	تعداد زیادی اسپرماتید دیرس، توبولار اپیتلیوم نا منظم
۱۰	اسپرماتوژنسیس کامل در تمام توبول ها

در این سیستم طبقه بندی اسپرماتوژنز از نمره ۱۰ (وضعیت نرمال) تا نمره ۱ (تنها وجود سلول های سرتولی در توبول های سمینیفرا) درجه بندی و نمره دهی شده است. سپس به طور کلی در سه گروه طبقه بندی می گردد: نمره ۱-۳ اسپرماتوژنز ضعیف، نمره ۴-۷ متوسط و نمره ۸-۱۰ خوب است. برای هر نمونه، کلیه برش های بافتی بررسی میکروسکوپی گردید و یک نمره کلی در نظر گرفته شد. اندازه گیری پراکسیداسیون لیپیدی بیضه: محصول نهایی اکسیداسیون لیپیدها ترکیبی به نام مالون دآلدهید<sup>۱</sup> (MDA) است، لذا میزان آن در نمونه بافتی و با استفاده از روش اوکاو<sup>۲</sup> مشخص گردید که جزئیات مربوط به روش کار به طور کامل در مطالعات قبلی ذکر شده است (۱۳). به طور خلاصه ابتدا بعد از خارج کردن بافت بیضه از فریزر و توزین، بافر فسفاتنی به نسبت یک به ده (W/V) به آن اضافه شد و سپس با کمک هموژنایزر یک مخلوط همگن تهیه گردید. سپس محلول اسید استیک ۲۰٪ در صد، محلول ۰/۸ درصد TBA (تیوباریتوریک اسید) و SDS ۱/۸ درصد به تمام نمونه ها اضافه شد. لوله های آزمایش حاوی سوسپانسیون فوق الذکر به مدت ۶۰ دقیقه در ۹۵ درجه سانتی گراد در حمام آبی حرارت داده شدند تا واکنش MDA در دمای ۱۰۰°C - ۹۵ و در pH=3.5 انجام گردد. بعد از تشکیل یک کمپلکس صورتی رنگ و استخراج آن با n - بوتانول، جذب در 532 nm با دستگاه اسپکتوفتومتر تعیین و با منحنی استاندارد تترا اتوکسی پروپان مقایسه و مقدار عددی بر حسب nmol/Gkw گزارش شد.

1. Malondialdehyde
2. Ohkawa

اندازه گیری ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام بیضه: روش اندازه‌گیری FRAP<sup>۱</sup> بر اساس توانایی مایعات بافتی در احیای یون های  $Fe^{+3}$  (فریک) به  $Fe^{+2}$  (فرو) در حضور ماده‌ای به نام TPTZ استوار است و کمپلکس  $Fe^{+2}$  - TPTZ کمپلکس آبی رنگی با ماکزیمم جذب ۵۹۳ nm است که میزان قدرت احیاء کنندگی پلاسما با غلظت این کمپلکس متناسب بوده و جزئیات مربوط به روش کار به طور کامل در مطالعات قبلی ذکر شده است (۴). به طور خلاصه، معرف FRAP با مخلوط کردن بافر استات، محلول کلرید فریک، محلول TPTZ و آب مقطر تهیه شد.  $50 \mu l$  از عصاره بافتی یا محلول استاندارد در کووت‌ها ریخته سپس مقدار  $1/5 ml$  از معرف آماده FRAP با شدت به کوت‌ها اضافه و پس از ۴ دقیقه جذب در طول موج ۵۹۳ nm در مقابل بلانک قرائت شد و منحنی استاندارد مربوطه رسم و مقادیر غلظت نمونه‌های پلاسما از روی منحنی محاسبه گردید. نتایج به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار ارائه شده است. حداقل تعداد حیوانات در گروه‌های مورد آزمایش جهت محاسبات آماری ۸ سر بود. سپس داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS 15 و پس از کنترل طبیعی بودن توزیع داده‌ها با آزمون آنووا یک طرفه مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. هم‌چنین برای ارزیابی تفاوت معنادار بین گروه‌ها از آزمون توکی استفاده شد. سطح معناداری آزمون‌ها  $P < 0.05$  در نظر گرفته شد.

## نتایج

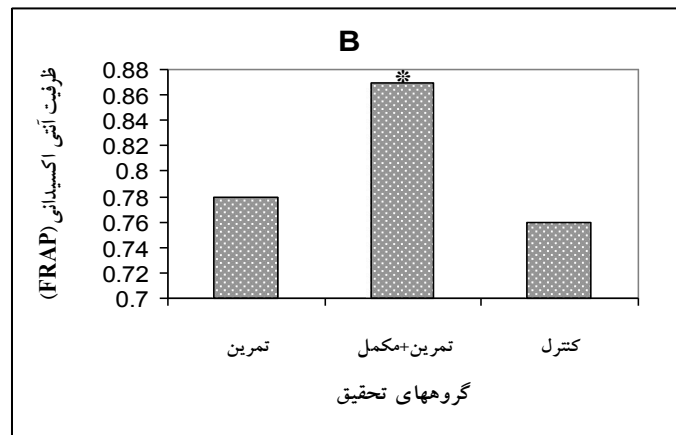
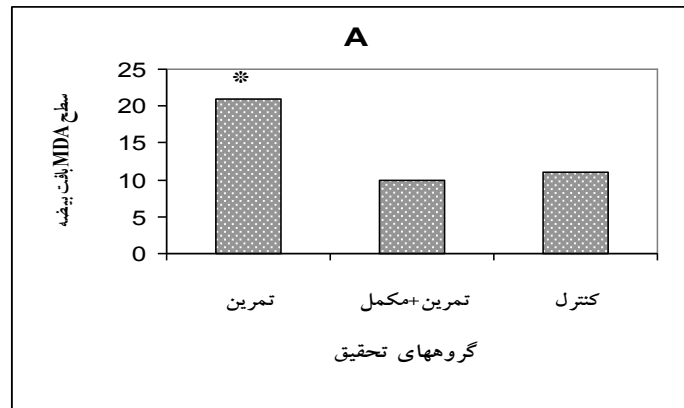
ویژگی‌های عمومی رت‌های مورد مطالعه در سطح پایه در جدول ۲ آمده است. یافته‌های مطالعه حاضر نشان می‌دهد مقادیر MDA در بافت بیضه گروه تمرین شدید، به طور معنادار بیشتر از گروه‌های کنترل و تمرین شدید+مکمل است ( $P < 0.02$ ). هم‌چنین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام (FRAP) بافت بیضه در گروه تمرین شدید+مکمل به طور معنادار بیشتر از دو گروه تمرین شدید و کنترل بود ( $P < 0.03$ ). به هر حال، تفاوت معناداری بین گروه تمرین شدید با گروه کنترل در این متغیر وجود نداشت ( $P > 0.05$ ) (شکل ۱).

از سویی، نمره کیفیت اسپرما توژنز در گروه تمرین شدید به طور معنادار کمتر از گروه‌های کنترل و تمرین+مکمل بود ( $P < 0.03$ ) و تفاوت معناداری بین گروه تمرین+مکمل با گروه کنترل وجود نداشت ( $P > 0.05$ ) (جدول ۳).

جدول ۲- ویژگی‌های عمومی رت‌های مورد مطالعه

شاخص	کنترل	تمرین	تمرین+مکمل
تعداد	۱۰	۹	۹
سن (ماه)	۳	۳	۳
وزن (گرم)	۲۵۴±۱۳	۲۳۹±۸	۲۴۸±۱۱

مقادیر بصورت میانگین ± انحراف معیار ارائه شده است.



شکل ۱- ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و سطح مالون د آدهید بافت بیضه در گروه‌های مورد مطالعه

مقادیر به صورت میانگین ± انحراف معیار ارائه شده است.

در شکل A علامت \* نشانه تفاوت معنادار ( $P < 0.05$ ) نسبت به گروه‌های تمرین+مکمل و کنترل.

در شکل B علامت \* نشانه تفاوت معنادار ( $P < 0.05$ ) نسبت به گروه‌های تمرین و کنترل.

جدول ۳- نمره اسپرمتوژنز بر اساس طبقه بندی جانسون در گروه‌های مورد مطالعه

شاخص	کنترل	تمرین	تمرین+مکمل
نمره جانسون	۸۷±۰/۰۹	۷۵±۰/۸۱*	۹۰±۰/۳۱

مقادیر به صورت میانگین ± انحراف معیار ارائه شده است.

\* نشانه تفاوت معنادار ( $P < 0.05$ ) نسبت به گروه‌های تمرین+مکمل و کنترل.

### بحث و نتیجه گیری

بر اساس نتایج مطالعه حاضر به نظر می‌رسد که حتی یک دوره کوتاه مدت تمرین شدید هم‌زمان با افزایش استرس اکسیداتیو در بافت بیضه با کاهش در قدرت باروری مردان همراه است، در حالی که دریافت مکمل ویتامین E از اثرات منفی تمرین شدید بر اسپرمتوژنز پیشگیری می‌کند. به خوبی نشان داده شده فعالیت بدنی و ورزش ملایم با بهبود سلامت عمومی افراد همراه است و از امراض مزمن جسمی و روانی پیشگیری می‌کند. از این رو، احساس نیاز به شرکت در برنامه‌های ورزشی در بین مردان و زنان در چند دهه اخیر رو به گسترش بوده است (۱۵). به هر حال، بخش زیادی از افراد به ویژه ورزشکاران حرفه‌ای دارای برنامه‌های تمرینی شدیدی هستند. ورزش وقتی به صورت شدید و با حجم بالا انجام می‌شود فشار بدنی بالایی را بر بدن تحمیل می‌کند که با برهم خوردن هموستاز بدن همراه است و این ممکن است دارای اثرات مخربی بر برخی سیستم‌ها یا اندام‌های بدن باشد. یکی از این سیستم‌ها که نشان داده شده است توسط ورزش شدید تحت تاثیر منفی قرار می‌گیرد، سیستم تولید مثل است (۹). در مورد اثر منفی ورزش شدید بر ظرفیت باروری زنان، کار پژوهشی زیادی صورت گرفته و به خوبی ثابت شده است که فعالیت بدنی شدید با اثرات منفی بر سیستم تولید مثل زنان همراه است (۱۶). اطلاعات در مورد مردان نسبتاً کم است و مستلزم کار پژوهشی بیشتر است. به هر حال، در مردان نیز گزارش شده است ورزش شدید موجب کاهش پارامترهای اسپرم و هورمون‌های جنسی می‌شود (۱۷، ۱۸)، یا این که در دوندگان و دوچرخه سواران استقامتی مورفولوژی اسپرم، ویژگی‌های مایع منی و نیمرخ هورمونی دچار اختلال می‌شود (۱۹، ۲۰). موافق با این نتایج در مطالعه حاضر نیز دریافتیم متعاقب تمرین شدید شاخص اسپرمتوژنز به طور معنادار کاهش می‌یابد. هر چند نمره اسپرمتوژنز بعد از تمرین شدید در محدوده نرمال بود و شاید اگر دوره زمانی پژوهش بیش از این بود، اثرات ورزش مشهودتر می‌شد. در واقع مطالعه حاضر از این عقیده حمایت می‌کند که تمرین شدید ممکن است تهدیدی برای سلامت باروری مردان باشد.



علت شناسی اختلالات باروری مردان شدید تمرین کرده به خوبی روشن نیست، اما یکی از سازوکارهای محتمل، استرس اکسیداتیو معرفی شده است (۹). شواهد نشان می‌دهد ورزش شدید موجب استرس اکسیداتیو می‌شود و استرس اکسیداتیو با کاهش ظرفیت باروری مردان همراه است (۲۱). در پژوهش حاضر نیز مشاهده شد که سطح MDA و FRAP در بافت بیضه متعاقب تمرین ورزشی شدید به ترتیب افزایش و کاهش می‌یابد. در واقع، این یافته‌ی مطالعه حاضر همسو با برخی پژوهش‌های مشابه نشان می‌دهد که افزایش استرس اکسیداتیو در بافت بیضه احتمالاً یکی از سازوکارهای اثر منفی ورزش شدید بر فعالیت تولید مثلی مردان است (۷،۸).

از سوی دیگر، مطالعات به خوبی نشان می‌دهند دریافت مکمل‌های آنتی‌اکسیدانی اثرات مثبتی بر کاهش استرس اکسیداتیو و قابلیت باروری مردان دارند (۲۲). ویتامین E یک آنتی‌اکسیدان محلول در چربی خوب شناخته شده است که رادیکال‌های آزاد را پاکسازی می‌کند و از آسیب رادیکال‌های آزاد به غشاء سلولی جلوگیری می‌نماید. دریافت ویتامین E با کاهش شاخص‌های استرس اکسیداتیو همراه است و هم‌زمان موجب بهبود غلظت و تحرک پذیری اسپرم و قدرت باروری مردان می‌شود (۲۳،۲۴). در مطالعات زیادی نیز نشان داده شده است که دریافت ویتامین E همراه با تمرین شدید از استرس اکسیداتیو می‌کاهد (۲۵،۲۶). در پژوهش حاضر نیز مشاهده شد که دریافت ۵۰ میلی‌گرم/کیلوگرم ویتامین E حین تمرین شدید از افزایش سطوح MDA و کاهش FRAP بافت بیضه جلوگیری می‌کند. همان‌طور که قبلاً نیز اشاره شد تمرین شدید موجب تولید رادیکال‌های آزاد و استرس اکسیداتیو می‌شود (۲۱)، اما باید توجه داشت که در افراد ورزشکار و تمرین کرده دفاع آنتی‌اکسیدانی متعاقب ورزش بهبود می‌یابد به ویژه در اندام‌های اصلی (عضله اسکلتی) مصرف‌کننده اکسیژن و تولیدکننده ROS (۲۷). این سازوکار امکان پاکسازی بیشتر رادیکال‌های آزاد را فراهم می‌کند و از استرس اکسیداتیو تا حدی جلوگیری می‌کند. البته باید توجه داشت که علی‌رغم این سازگاری‌ها، حتی در ورزشکاران سطح بالا نیز متعاقب ورزش شدید مارکرهای استرس اکسیداتیو بالا است (۲۸). هر چند کاهش تولید ROS در مایعات بدن متعاقب تمرین ورزشی گزارش شده است، اما اطلاعات در مورد مایع منی و به ویژه بافت بیضه بسیار محدود است. در مطالعه حاضر نشان داده شد که ۸ هفته تمرین ورزشی شدید بدون دریافت مکمل ویتامین E موجب افزایش مارکرهای استرس اکسیداتیو در بافت بیضه می‌شود. هم‌چنین در پژوهش حاضر دریافتیم تمرین شدید به همراه ویتامین E از افزایش سطوح MDA در بافت بیضه جلوگیری می‌کند و موجب افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام می‌شود و این تغییرات با عدم تغییر معنادار در شاخص اسپرماتوژنز همراه است. در واقع، این نتایج نشان می‌دهد احتمالاً دریافت ویتامین E حین

تمرین شدید از طریق بهبود ظرفیت آنتی‌اکسیدانی از اثرات منفی ورزش شدید بر اسپرماتوژنز پیشگیری می‌کند.

از این رو، مطالعه حاضر پیشنهاد می‌کند ورزشکارانی که در برنامه‌های تمرینی شدید شرکت دارند، جهت جلوگیری از آسیب به سیستم تولید مثلی و قدرت باروریشان در طول این مدت توجه ویژه‌ای به استفاده از ترکیبات غذایی آنتی‌اکسیدانی داشته باشند. این پژوهش نشان می‌دهد احتمالاً دریافت مکمل ویتامین E حین تمرینات شدید ورزشی می‌تواند در پیشگیری از اثرات منفی تمرین شدید بر اسپرماتوژنز و ظرفیت باروری مردان موثر باشد.

### منابع

- 1) Aryanpur M, Heydari GH, Tarahomi M, Akhondi MA, Zeraati H, Masjedi MR. Prevalence of tobacco smoking among infertile couples in Tehran. *J Reprod Infertil*. 2009; 9(4): 20-3.
- 2) Atig F, Raffà M, Habib BA, Kerkeni A, Saad A, Ajina M. Impact of seminal trace element and glutathione levels on semen quality of Tunisian infertile men. *BMC Urol*. 2012; 12: 6-13.
- 3) Tvrdá E, Kňazická Z, Bárdos L, Massányi P, Lukáč N. Impact of oxidative stress on male fertility - a review. *Acta Vet Hung*. 2011; 59(4): 465-84.
- 4) Kothari S, Thompson A, Agarwal A, du Plessis SS. Free radicals: their beneficial and detrimental effects on sperm function. *Indian J Exp Biol*. 2010; 48(5): 425-35.
- 5) Tremellen K. Oxidative stress and male infertility--a clinical perspective. *Hum Reprod Update*. 2008; 14(3): 243-58.
- 6) Young SS, Eskenazi B, Marchetti FM, Block G, Wyrobek AJ. The association of folate, zinc and antioxidant intake with sperm aneuploidy in healthy non-smoking men. *Hum Reprod*. 2008; 23(5): 1014-22.
- 7) 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(1): 33-40.
- 8) 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; 42(8): 816-22.
- 9) Plessis SS, Kashou A, Vaamonde D, Agarwal A. Is there a link between exercise and male factor infertility? *The Open Reproductive Science Journal*. 2011; 3: 105-13.
- 10) Volpato GT, Damasceno DC, Kempinas WG, Rudge MV, Calderon IM. Effect of exercise on the reproductive outcome and fetal development of diabetic rats. *Reprod Biomed Online*. 2009; 19(6): 852-8.
- 11) Chandra AK, Chatterjee A, Ghosh R, Sarkar M. Vitamin E-supplementation protects chromium (VI)-induced spermatogenic and steroidogenic disorders in testicular tissues of rats. *Food Chem Toxicol*. 2010; 48(3): 972-9.

- 12) Johnsen SG. Testicular biopsy score count--a method for registration of spermatogenesis in human testes: normal values and results in 335 hypogonadal males. *Hormones*. 1970; 1(1): 2-25.
- 13) Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem*. 1979; 95(2): 351-8.
- 14) Benzie IF, Strain JJ. Ferric reducing/antioxidant power assay: direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version for simultaneous measurement of total antioxidant power and ascorbic acid concentration. *Methods Enzymol*. 1999; 299: 15-27.
- 15) Mason OJ, Holt R. Mental health and physical activity interventions: a review of the qualitative literature. *J Ment Health*. 2012; 21(3): 274-84.
- 16) Gudmundsdottir SL, Flanders WD, Augestad LB. Physical activity and fertility in women: the North-Trøndelag Health Study. *Hum Reprod*. 2009; 24(12): 3196-204.
- 17) Arce JC, De Souza MJ, Pescatello LS, Luciano AA. Subclinical alterations in hormone and semen profile in athletes. *Fertil Steril*. 1993; 59(2): 398-404.
- 18) 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; 200(3):259-71.
- 19) De Souza MJ, Arce JC, Pescatello LS, Scherzer HS, Luciano AA. Gonadal hormones and semen quality in male runners. A volume threshold effect of endurance training. *Int J Sports Med*. 1994; 15(7): 383-91.
- 20) Vaamonde D, Da Silva-Grigoletto ME, García-Manso JM, Cunha-Filho JS, Vaamonde-Lemos R. Sperm morphology normalcy is inversely correlated to cycling kilometers in elite triathletes. *Revista Andaluza de Medicina del Deporte*. 2009; 2: 43-6.
- 21) Eliakim A, Nemet D. Exercise and the male reproductive system. *Harefuah*. 2006; 145(9): 677-81.
- 22) Kefer JC, Agarwal A, Sabanegh E. Role of antioxidants in the treatment of male infertility. *Int J Urol*. 2009; 16(5): 449-57.
- 23) Keskes-Ammar L, Feki-Chakroun N, Rebai T, Sahnoun Z, Ghozzi H, Hammami S. Sperm oxidative stress and the effect of an oral vitamin E and selenium supplement on semen quality in infertile men. *Arch Androl*. 2003; 49(2): 83-94.
- 24) Yousef MI, Abdallah GA, Kamel KI. Effect of ascorbic acid and Vitamin E supplementation on semen quality and biochemical parameters of male rabbits. *Anim Reprod Sci*. 2003; 76(1-2): 99-111.
- 25) Peternej TT, Coombes JS. Antioxidant supplementation during exercise training: beneficial or detrimental? *Sports Med*. 2011; 41(12): 1043-69.
- 26) Chang CK, Huang HY, Tseng HF, Hsuuw YD, Tso TK. Interaction of vitamin E and exercise training on oxidative stress and antioxidant enzyme activities in rat skeletal muscles. *J Nutr Biochem*. 2007; 18(1): 39-45.

- 27) Ferreira JC, Bacurau AV, Bueno CR, Cunha TC, Tanaka LY, Jardim MA. Aerobic exercise training improves Ca<sup>2+</sup> handling and redox status of skeletal muscle in mice. *Exp Biol Med.* 2010; 235(4): 497-505.
- 28) Kyparos A, Vrabas IS, Nikolaidis MG, Riganas CS, Kouretas D. Increased oxidative stress blood markers in well-trained rowers following two thousand-meter rowing ergometer race. *J Strength Cond Res.* 2009; 23(5): 1418-26.

ارجاع دهی به روش ونکوور:

صارمی عباس، چنگیزی آشتیانی سعید، کلانتری ابولفضل. ترکیب ویتامین E و تمرین شدید بر استرس اکسیداتیو بیضه و اسپرماتوژنز در موش‌های نر. *فیزیولوژی ورزشی.* پاییز ۱۳۹۳؛ ۶(۲۳): ۴۳-۵۴.

**The combination of vitamin E supplementation and intensive exercise on testicular oxidative stress and spermatogenesis in male rats**

A. Saremi<sup>1</sup>, S. Changizi Ashtiyani<sup>2</sup>, A. Kalantari<sup>3</sup>

1. Assistance professor at University of Arak\*
2. Associated Professor at Arak University of Medical Sciences
3. Master of University of Arak

Received date: 2013/09/09

Accepted date: 2014/01/04

---

**Abstract**

The aim of the present study was to evaluate the influence of vitamin E supplementation on selective testes oxidative stress markers and spermatogenesis during 8 weeks of intensive training in male rats. A total of 30 male rats (age: 3 months, weight: 247±10g) were randomly assigned to Control (C, n=10), intensive exercise (IE, n=10) and intensive exercise + supplement (IE+S) groups. The intense exercise protocol consisted of 5 days per week of training for 8 weeks. In IE+S group, vitamin E was injected at a dose of 50 mg/kg/day. All the animals were killed and testes were collected for evaluation of different parameters. Data were analyzed using SPSS-15 and ANOVA test. A significant elevation in malon di aldehyde (MDA) levels ( $P<0.02$ ) along with significant reduction in spermatogenesis quality ( $P<0.03$ ) were observed in testes of IE group. In the IE+S group, testes total antioxidants capacity (FRAP) significantly increased ( $P<0.03$ ), whereas MDA levels and spermatogenesis quality remained unchanged ( $P>0.05$ ). These results suggest that the vitamin E supplementation may be effective in protecting the probable aggravating effects of intensive exercise on spermatogenesis and fertility capacity.

**Keywords:** Antioxidants, Intensive exercise, Oxidative stress, Sperm.

---

---

\* Corresponding author

E-mail: a-saremi@araku.ac.ir