

The effect of eight weeks of swimming training, cell and laser therapy on the expression of IL-2, IL-10 and STAT-3 genes in testicular tissue in azoospermia model mice

Seyed Sasan Hoseini¹, Habib Asgharpour ^{*}1, Parvin Farzanegi ²

1.Department of Physical Education and Sport Sciences, Aliabad Katoul Branch, Islamic Azad University, Aliabad Katoul, Iran

2.Department of Physical Education and Sport Sciences, Sari Branch, Islamic Azad University, Sari, Iran

Received: 23 April 2024; Accepted: 15 June 2024, Published: 20 June 2024

Abstract

Background and purpose: Azoospermia means lack of sperm in semen. One percent of all men and ten percent of infertile men suffer from azoospermia, the purpose of this study is to investigate the effects of eight weeks of swimming training, cell and laser therapy on the expression of IL-2, IL-10 and STAT-3 genes in testicular tissue. It is azoospermia in rats.

Methods: Forty 6- to 8-week-old rats were randomly selected, and then the azoospermia model was induced with Busulfan at a dose of 40 mg in mice. One month after induction of the model, stem cells were transplanted once in the vas deferens at the rate of one million cells per mouse. Then, one week after cell transplantation, a laser with a wavelength of 632.8 nm and a power of 10 mW and energy 3 joules were applied in three repetitions throughout the study period with an interval of once a week, and after improving the effects of surgery, swimming training were performed for 30 minutes and 5 days a week for 8 weeks.

Results: The results showed that induction of azoospermia model caused a significant increase in IL-2, IL-10 and STAT-3 genes compared to healthy group rats ($P \leq 0.05$). Also, performing the interventional methods of laser therapy, cell therapy and exercise significantly reduced the expression of these genes in the testicular tissue of rats compared to the patient group ($P \leq 0.05$).

Conclusion: Swimming exercise in combination with cell and laser therapy may help the fertility of azoospermia model rats by reducing testicular tissue inflammation signaling.

Keywords: Azoospermia, swimming training, cell therapy, laser therapy and IL-10/STAT-3 signaling

¹. Corresponding author

Habib Asgharpour

Address: Golestan province, Aliabad Katoul, Islamic Azad University, Department of Department of Physical Education and Sport Sciences

Tel: 09113922124

Email: Habibasgharpour@gmail.com

تأثیر هشت هفته تمرین شنا، سلول‌درمانی و لیزر درمانی بر بیان ژن‌های IL-2، IL-10 و STAT-3 بافت بیضه در موش‌های مدل آزواسپرمی

سید ساسان حسینی^۱، حبیب اصغرپور^{۱*}، پروین فرزانی^۲

۱- گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد علی آبادکتول، دانشگاه آزاد اسلامی، علی آبادکتول، ایران

۲- گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد ساری، دانشگاه آزاد اسلامی، ساری، ایران

دریافت: ۱۴۰۳/۲/۴ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۳/۲۶ تاریخ چاپ: ۱۴۰۳/۳/۳۱

چکیده:

زمینه و هدف: آزواسپرمی به معنای کمبود اسپرم در مایع منی است. یک درصد از کل مردان و ده درصد از مردان نابارور مبتلا به آزواسپرمی هستند، هدف از پژوهش حاضر بررسی اثرات هشت هفته تمرین شنا، سلول‌درمانی و لیزر درمانی بر بیان ژن‌های IL-2، IL-10 و STAT-3 بافت بیضه در موش‌های مدل آزواسپرمی می‌باشد.

روش کار: ۴۰ سررت ۶ تا ۸ هفته‌ای به صورت تصادفی انتخاب، و سپس مدل آزواسپرمی با داروی بوسولفان با دوز ۴۰ میلی‌گرم در موش‌ها القاء شد. یک‌ماه بعد از ایجاد مدل یک‌بار سلول‌های بنیادی به صورت پیوند در ناحیه مجران دفران به میزان یک میلیون سلول پیوند زده شد، پس از گذشت یک هفته از پیوند سلول، لیزر 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 یک‌بار اعمال شد. تمرین روزانه شنا به مدت ۳۰ دقیقه و ۵ روز در هفته در طول ۸ هفته اجرا شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که القای مدل آزواسپرمی سبب افزایش معنی‌دار ژن‌های IL-2، IL-10 و STAT-3 نسبت به رت‌های گروه سالم شد ($P \leq 0.05$). هم‌چنین انجام روش‌های مداخله‌ای لیزر درمانی، سلول‌درمانی و تمرین بیان این ژن‌ها در بافت بیضه رت‌ها را نسبت به گروه بیمار کاهش معنی‌داری داد ($P \leq 0.05$).

نتیجه‌گیری: تمرین ورزشی شنا در ترکیب با سلول‌درمانی و لیزر درمانی از طریق کاهش سیگنالینگ التهاب بافت بیضه ممکن است به باروری رت‌های مدل آزواسپرمی کمک نماید.

کلمات کلیدی: آزواسپرمی، تمرین شنا، سلول‌درمانی، لیزر درمانی و سیگنالینگ IL-10 / STAT-3.

^۱ نویسنده مسوول

حبیب اصغرپور

آدرس: استان گلستان. علی آباد کتول. دانشگاه آزاد اسلامی واحد علی آباد کتول. دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی

تلفن: ۰۹۱۱۳۹۲۲۱۲۴

ایمیل: Habibasgharpour@gmail.com

مقدمه

ناباروری مردان یک اختلال چند عاملی است که طیف گسترده‌ای از بیماری‌ها را در بر می‌گیرد و نشانه طیف وسیعی از شرایط پاتولوژیک است که هم بر سیستم‌های جنسی و هم سایر سیستم‌های فیزیولوژیکی از جمله سیستم غدد درون‌ریز، عصبی، خونی و سیستم ایمنی تأثیر می‌گذارد (۱).

بیماری‌هایی مانند سرطان‌های دستگاه تناسلی در مردان جوان، عفونت‌های باکتریایی، برخی از سندرم‌های ژنتیکی مانند پرادروویروس (PWS) و جهش در ژن‌های باروری می‌توانند باعث آزاوسپرمی در مردان شوند. آزاوسپرمی به معنای کمبود اسپرم در مایع منی است. یک درصد از کل مردان و ده درصد از مردان نابارور مبتلا به آزاوسپرمی هستند (۲). در ۳۰ درصد از مردانی که از ناباروری رنج می‌برند، هیچ علت مشخصی نمی‌توان یافت (ناباروری مردانه پاتیک). اگرچه سیتوکین‌ها وسیله‌ای برای ارتباط بین سلول‌ها هستند، اما داده‌های مربوط به عملکرد آن‌ها در ناباروری مردان در سیستم تولید مثل انسان نسبتاً کمیاب است. اخیراً لاولند^۱ و همکاران (۲۰۱۷) عملکرد سیتوکین‌ها را در تنظیم اسپرماتوژنز بررسی، و مکانیسم‌های مولکولی اعمال سیتوکین‌ها را با تمرکز بر نقش انکوژنیک‌شان بیان نمودند و پتانسیل سیتوکین‌ها را به‌عنوان اهداف آپوتیک یا عوامل درمانی ارزیابی کردند (۳). تولید سیتوکین کنترل نشده منجر به شرایط پاتولوژیک شدید مانند شوک سمی باکتریایی و بیماری‌های خود ایمنی می‌شود. سیتوکین‌ها تنها توسط سلول‌های ایمنی تولید نمی‌شوند. فیبروبلاست‌ها، سلول‌های اندوتلیال، سلول‌های چربی و سلول‌های سایر بافت‌ها مانند تخمدان، سیتوکین تولید می‌کنند. آن‌ها علاوه بر نقشی که در سیستم ایمنی دارند، تقریباً در هر فرآیند بیولوژیکی مانند رشد جنینی، عملکرد شناختی و تمایز سلول‌های بنیادی تداخل می‌کنند. بر اساس نحوه عمل، آن‌ها را می‌توان به محرک‌هایی برای سلول‌های سیستم ایمنی، به سیتوکین‌های پیش‌التهابی، سایتوکین‌های التهابی، ضدالتهابی و سیتوکین‌هایی که به‌عنوان عوامل رشد عمل می‌کنند طبقه بندی کرد. علاوه بر این، سیتوکین‌های مختلف می‌توانند اثر سینرژیک داشته باشند یا ممکن است با یکدیگر مخالفت کنند. در نهایت، سیتوکین‌ها با اثر آبخاری مشخص می‌شوند، زیرا می‌توانند تولید سایر سیتوکین‌ها را از سلول هدف تحریک کنند (۴).

IL-10 یکی از سیتوکین‌های سرکوب‌کننده سیستم ایمنی است که توسط سلول‌های بنیادی مزانشیمی ساکن تولید می‌شود. بیان IL-10 می‌تواند توسط لیگاندهای TLR و PEG2 بیشتر افزایش یابد. IL-10 می‌تواند بلوغ سلول‌های ارائه دهنده آنتی ژن (APC) و بیان MHC و عوامل تحریک‌کننده را مهار کند. IL-10 تولید پیش‌التهابی، تکثیر سلول‌های T و تشکیل سلول‌های T حافظه را مهار می‌کند. IL-10 تولید Th17 را سرکوب می‌کند و تشکیل Treg را ترویج می‌کند. IL-10 اثرات ضدالتهابی خود را از طریق مسیر JAK1-TYK2-STAT3-SOCS3 اعمال می‌کند (۵).

فعالیت بدنی که امروزه در برابر بیماری‌های مختلف راه‌حل کاربردی مناسبی به‌شمار می‌رود باعث کاهش عوامل خطرزای قلبی، جلوگیری از تخریب میوکارد و افزایش عملکرد قلب می‌شود (۶). در بین تمرینات هوازی، ورزش شنای هوازی با شدت کم یکی از تمریناتی است که در شرایط مختلف فیزیولوژیکی ایمن و قابل استفاده است. هم‌چنین به‌دلیل عدم تحمل وزن در آب در مقایسه با ورزش‌های غیر آبی، در اکثر مطالعات فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و واکنش‌های مولکولی مورد استفاده قرار می‌گیرد (۷). ورزش آهسته تا متوسط به‌دلیل افزایش جریان خون به تدریج فعالیت متابولیک را بهبود می‌بخشد، اما فعالیت شدید به‌دلیل تغییر جهت جریان خون به عضلات فعال باعث کاهش جریان خون می‌شود (۷). کاهش فعالیت بدنی می‌تواند میزان هورمون‌های جنسی، تولید اسپرم و باروری را کاهش دهد و هم‌چنین باعث کاهش میزان هورمون‌های جنسی بیضه‌ها و کاهش مقدار اسپرم شود (۸). در یک مطالعه

¹ Loveland

مروری توسط واموندا و همکاران. (۲۰۱۷)، گزارش شد که پس از یک دوره ورزش هوازی با شدت کم و متوسط، سطح آزوآسپرمی با تعدیل ژن‌های دخیل در بیماری و کاهش سطح استرس اکسیداتیو و التهاب در این بیماران و افزایش کیفیت اسپرم و باروری بهبود یافت (۹). اگرچه مکانیسم‌های احتمالی پیشنهاد شده است، اما نتایج مطالعات در مورد رابطه بین فعالیت بدنی و میزان آزوآسپرمی قطعی نیست.

از طرفی در دهه کنونی، حوزه نوظهور درمان با سلول‌های بنیادی به سرعت به عصر جدیدی از پزشکی بازساختی تبدیل شده است. پتانسیل متنوع سلول‌های بنیادی مرکز تحقیقات بسیاری از دانشمندان در زیست‌شناسی مولکولی، مهندسی ژنتیک و حتی پزشکی عمومی برای توسعه رویکردهای جدید در درمان تعدادی از بیماری‌ها است که همیشه چالشی برای درمانگاه‌ها بوده است (۱۰). سلول‌های بنیادی به دلیل داشتن پتانسیل تمایز بالا و در عین حال حفظ توانایی خود تکثیر و حفظ ویژگی‌های سلول‌های مبدا خود، به‌عنوان عوامل درمانی امیدوارکننده جدیدی در درمان بیماری‌های دژنراتیو معرفی شده‌اند (۱۱). در میان انواع مختلف سلول درمانی، درمان استرومایی/سلول بنیادی مزانشیمی (MSC) به طور فزاینده‌ای به عنوان روشی جدید برای درمان نقایص ساختاری که نیاز به ترمیم و بازسازی دارند، در حال توسعه است (۱۲). بر اساس مطالعات آزمایشگاهی، سلول‌های بنیادی مزانشیمی از منابع بافتی مختلف با روش‌های ساده در هر دو جنس نر و ماده به سلول‌های زایا یا سلول‌های پیش‌ساز گامت تمایز داده شده‌اند. از سوی دیگر، اثرات درمانی سلول‌های بنیادی مزانشیمی برای درمان مدل‌های حیوانی آزوآسپرمی ایجاد شده توسط ترکیبات شیمیایی یا جراحی ارزیابی شده است (۱۳). نتایج این مطالعات، پیوند موفقیت‌آمیز یا پیوند خارجی سلول‌های بنیادی مزانشیمی را در لوله‌های اسپرم ساز تایید کرد. همچنین گزارش شده است که آگزوزوم‌های ترشح شده توسط سلول‌های بنیادی مزانشیمی قادر به القای فرآیند اسپرم‌زایی در بیضه‌های مدل‌های حیوانی نابارور هستند (۱۴). علیرغم پیشرفت‌های متعدد در درمان بیماری‌های تولیدمثل در مردان و زنان با کمک سلول‌های بنیادی مزانشیمی یا آگزوزوم‌های آن‌ها، هیچ کارآزمایی بالینی در مورد درمان بیماری آزوآسپرمی خاتمه نیافته است.

همچنین، لیزر درمانی که یک روش نوین فیزیوتراپی است، نمونه‌ای از پزشکی بین رشته‌ای است که بر اساس تحقیقات در زمینه‌های فیزیولوژی، بیوفیزیک و بیوشیمی انجام شده است (۱۵). لیزر درمانی به دلیل کارایی بالا، سهولت استفاده و نداشتن عوارض جانبی در طب مدرن کاربرد فراوانی دارد. اثر طبیعی و بیولوژیکی این روش بر بافت‌ها و تلاش برای ترویج ترمیم بافت یا کاهش التهاب به دوز انرژی بستگی دارد (۱۵، ۱۶)، که شامل اعمال نور در حالت‌های موج پیوسته یا پالسی در محدوده نزدیک به فرسوخ است (۶۰۰ تا ۱۱۰۰ نانومتر). این یک درمان غیرتهاجمی است که از چگالی انرژی و طول موج برای نفوذ به لایه‌های بافتی مختلف استفاده می‌کند و در نتیجه منجر به فعال کردن مکانیسم سلولی مختلف و ایجاد سیستم‌ها و پاسخ‌های جدید می‌شود (۱۶). عملکرد خاص تابش لیزر بر روی اسپرم در مدل‌های حیوانی بررسی شده است. در این بررسی‌ها که از لیزرهایی با قدرت‌های مختلف، انرژی‌های تابش متفاوت و مدت زمان تابش متفاوت استفاده شد، نتایج نشان داد که استفاده از لیزرهای با توان کم و چگالی انرژی پایین مناسب‌ترین اثر را بر پارامترهای کمی و کیفی اسپرم دارد. به عنوان مثال، تاجعلی و همکاران (۲۰۲۲) طی پژوهشی نشان دادند که استفاده از لیزر با چگالی انرژی ۸ J/cm² در تقویت سلول‌های زاینده و تولید اسپرم مفید است (۱۷). با توجه به موارد مطرحه و اثرات مثبت روش‌های درمانی فعالیت‌بدنی، سلول درمانی و لیزر درمانی در درمان ناباروری و مشخص نمودن اثرات ترکیبی این مداخلات این پژوهش به بررسی اثرات هشت هفته تمرین شنا، سلول درمانی و لیزر درمانی بر بیان ژن‌های IL-2، IL-10 و STAT-3 بافت بیضه در موش‌های مدل آزوآسپرمی پرداخت.

¹ Vaamonde

مواد و روش‌ها

نمونه‌های پژوهش حاضر را موش‌های آزمایشگاهی نر نژاد ویستار تشکیل دادند که به‌صورت تصادفی انتخاب شدند. با توجه به این که آزمودنی‌ها در آزمایشگاه به لحاظ بسیاری از متغیرها تحت کنترل بودند، از این رو پژوهش حاضر از نوع تجربی بود. نمونه آماری این پژوهش شامل موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار با سن حدود ۶ تا ۸ هفته بودند که از بین آن‌ها ۴۰ سر موش از مرکز پژوهش و تکثیر حیوانات آزمایشگاهی تهران خریداری و پس از انتقال آزمودنی‌ها به محیط آزمایشگاه و پس از یک هفته سازگاری با محیط جدید، به‌صورت گروه‌های ۵ تایی در قفس‌های پلی‌کربنات شفاف در محیطی با میانگین دمای $22 \pm 1/4$ درجه سانتی‌گراد، رطوبت ۵۵ درصد و چرخه‌ی تاریکی به روشنایی ۱۲:۱۲ ساعته نگهداری شدند. نگهداری حیوانات مطابق با راهنمای انستیتوی بین‌المللی سلامت و پروتکل‌های این مطالعه با رعایت اصول اعلامیه هلسینکی و ضوابط اخلاق پزشکی انجام شد. هم‌چنین حیوانات در طی پژوهش از غذای پک ساخت شرکت بهپرور کرج روزانه به میزان ۱۰ گرم به ازای هر ۱۰۰ گرم وزن بدن (با توجه به وزن کشی هفتگی) تغذیه شدند و به‌صورت آزاد از طریق بطری‌هایی به آب مصرفی دسترسی داشتند.

به منظور ایجاد مدل آرواسپرمی، ابتدا رت‌های بالغ ۶ تا ۸ هفته‌ای با میانگین وزنی ۲۲۰ تا ۲۵۰ گرم مورد استفاده قرار گرفتند. سپس داروی بوسولفان با دوز ۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن رت‌ها به‌صورت داخل صفاقی برای هر رت تزریق گردید (۲۳). پس از گذشت یک ماه از القا مدل در هر گروه موش‌ها به‌صورت زیر گروه بندی شدند:

- ۱- گروه کنترل سالم (به مدت ۸ هفته نگهداری شدند).
- ۲- گروه کنترل بیمار که یک ماه بعد از ایجاد مدل به مدت ۸ هفته تا پایان مطالعه بدون هر گونه مداخله‌ای در قفس باقی ماندند.
- ۳- گروه بیمار + لیزر کم توان (یک ماه بعد از ایجاد مدل آرواسپرمی، لیزر کم توان با طول موج ۶۳۲/۸ نانومتر و توان ۱۰ میلی‌وات و انرژی ۳ ژول به‌صورت سه تکرار در کل دوره مطالعه که با فاصله هر هفته یک‌بار در ناحیه بیضه موش‌ها اعمال شد و رت‌ها تا پایان مطالعه به مدت ۸ هفته نگهداری شدند).
- ۴- گروه بیمار+تمرین شنا (یک ماه بعد از ایجاد مدل آرواسپرمی، قبل از شروع پروتکل اصلی، به مدت یک هفته (۵ روز) هر بار به مدت ۲۰ دقیقه به منظور آشنایی با آب و کاهش استرس شنا و سازگاری با شرایط تمرینی، در داخل استخر آب قرار می‌گرفتند. سپس ۵ روز در هفته تا پایان دوره تحقیق در یک مخزن آب به ابعاد $100 \times 50 \times 50$ سانتی‌متری با درجه حرارت ۳۰-۳۲ درجه سانتی‌گراد در طی ۸ هفته به شنا پرداختند. مدت زمان تمرین در آب، روزانه ۳۰ دقیقه تا پایان مدت تمرین بود).
- ۵- گروه بیمار+سلول (یک ماه بعد از ایجاد مدل آرواسپرمی، یک‌بار سلول‌های بنیادی به‌صورت پیوند در ناحیه مجران دفران به میزان یک میلیون سلول برای هر موش در بیضه سمت راست پیوند زده شد و رت‌ها تا پایان مطالعه به مدت ۸ هفته نگهداری شدند).
- ۶- گروه بیمار+سلول+تمرین شنا (یک ماه بعد از ایجاد مدل آرواسپرمی، یک‌بار سلول‌های بنیادی به‌صورت پیوند در ناحیه مجران دفران به میزان یک میلیون سلول برای هر موش پیوند زده شد. پس از گذشت یک هفته از پیوند سلول، موش‌ها به‌مدت ۸ هفته، روزانه به‌مدت ۳۰ دقیقه و ۵ روز در هفته به شنا پرداختند).
- ۷- گروه بیمار+لیزر+تمرین شنا (یک ماه بعد از ایجاد مدل آرواسپرمی، لیزر کم توان با طول موج ۶۳۲/۸ نانومتر و توان ۱۰ میلی‌وات و انرژی ۳ ژول به‌صورت سه تکرار در کل دوره مطالعه با فاصله هر هفته یک بار اعمال شد و پس از بهبود زخم ناحیه پیوند سلولی بر روی شکم، تمرینات شنا به مدت ۵ روز در هفته و هر جلسه ۳۰ دقیقه و در طول ۸ هفته انجام گرفت).
- ۸- گروه شم.

نمونه‌گیری بافتی از بافت بیضه موش‌ها با شرایط کاملاً مشابه و در شرایط پایه (دو روز پس از پایان دوره تمرین) انجام شد. جهت حذف اثر حاد تمرین، نمونه‌برداری از حیوانات ۴۸ ساعت بعد از آخرین برنامه تمرینی شنا انجام گرفت. بدین منظور ابتدا حیوانات با استفاده از تزریق صفاقی کتامین (۳۰-۵۰ mg/kg) و زایلازین (۳-۵ mg/kg) بی‌هوش و سپس کشته شدند و پس از کشتار بافت‌های پیوند شده جهت بررسی مطالعات ژنی مورد ارزیابی قرار گرفتند.

روش بررسی ژن‌های مورد بررسی تحقیق: برای بررسی بیان ژن‌های مورد مطالعه تحقیق 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. سپس cDNA به روش PCR تکثیر شده و از نظر بیان ژن‌های ذکر شده مورد بررسی قرار گرفت.

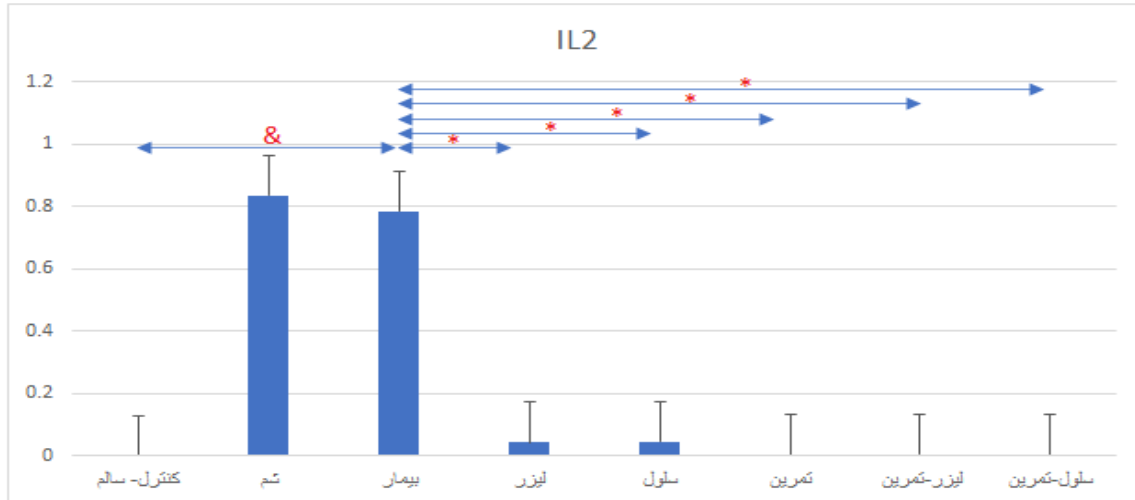
استخراج RNA کل: جهت بررسی‌های مولکولی در سطح بیان ژن، ابتدا استخراج RNA از بافت‌ها در همه گروه‌های مورد بررسی، طبق پروتکل شرکت سازنده (کیاژن، آلمان) انجام گرفت. پس از استخراج RNA با خلوص و غلظت بالا از تمامی نمونه‌های مورد مطالعه، مراحل سنتز cDNA طبق پروتکل شرکت سازنده (Fermentas, USA) انجام گرفت و سپس cDNA سنتز شده جهت انجام واکنش رونویسی معکوس مورد استفاده قرار گرفت.

برای تکنیک RT-qPCR، ابتدا با استفاده از محلول کیاژول، RNA کل سلول‌ها طبق پروتکل سیناژن استخراج شد و جهت اطمینان از آلودگی با DNA ژنومیک، در معرض (DNase I Fermentas) قرار گرفت. سپس کیفیت RNAهای استخراج شده با دستگاه اسپکتروفتومتری (DPI-1, Kiagen) مورد ارزیابی قرار گرفت. جهت تهیه cDNA تک رشته‌ای از پرایمر-Oligodt (MWG- (Biotech, Germany) و آنزیم نسخه برداری معکوس (Fermentas) و بر اساس پروتکل مربوطه انجام شد. هر واکنش PCR با استفاده از (PCR master mix Applied Biosystems) و SYBER Green در دستگاه (Applied Biosystems,) انجام شد. هر واکنش PCR با استفاده از ABI Step One (Sequences Detection Systems Foster City, CA) 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.

روش آماری: برای تجزیه و تحلیل یافته‌های این پژوهش، از آزمون شاپیروویلیک برای بررسی توزیع نرمال داده‌ها، آزمون لوین برای تجانس واریانس‌ها، آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی توکی برای مقایسه بین گروه‌های مختلف تحقیق استفاده شد. کلیه محاسبات با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS 22 و در سطح معنی‌دار $P \leq 0.05$ انجام شد.

یافته‌ها

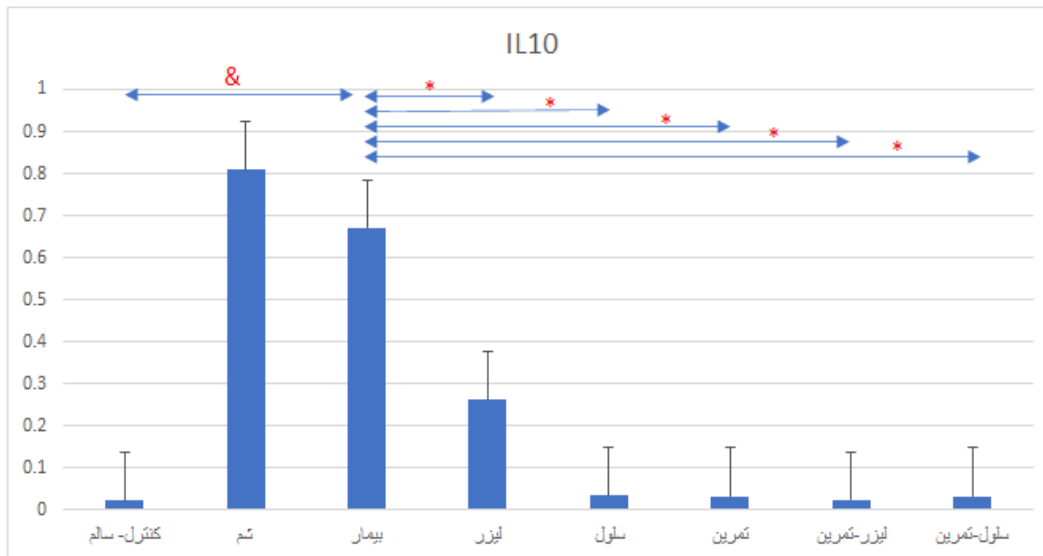
بررسی میانگین و انحراف معیار سطوح بیان ژن **IL-2** گروه‌های مختلف پژوهش نشان می‌دهد که بیشترین سطوح شاخص **IL-2** مربوط به گروه شم و کمترین سطوح آن متعلق به گروه کنترل-سالم است. همچنین، نتایج تحلیل واریانس یک‌طرفه بر سطوح **IL-2** گروه‌های مختلف پژوهش نشان‌دهنده آن است که؛ ارزش F محاسبه شده (۱۴۶/۸۷۰) و معنی‌داری آن در سطح $p = 0/000$ حاکی از وجود تفاوت معنی‌داری بین سطوح **IL-2** در گروه‌های مختلف پژوهش است. در سطح اطمینان ۰/۰۵ گروه بیمار و شم نسبت به گروه سالم افزایش و گروه‌های لیزر، سلول، تمرین، لیزر-تمرین و سلول-تمرین نسبت به گروه بیمار و شم کاهش معنی‌داری داشتند (نمودار ۱).



*نشانه معنی‌داری نسبت به گروه بیمار & نشانه معنی‌داری نسبت به گروه سالم

نمودار ۱. مقایسه میانگین سطوح IL2 در گروه‌های مختلف پژوهش

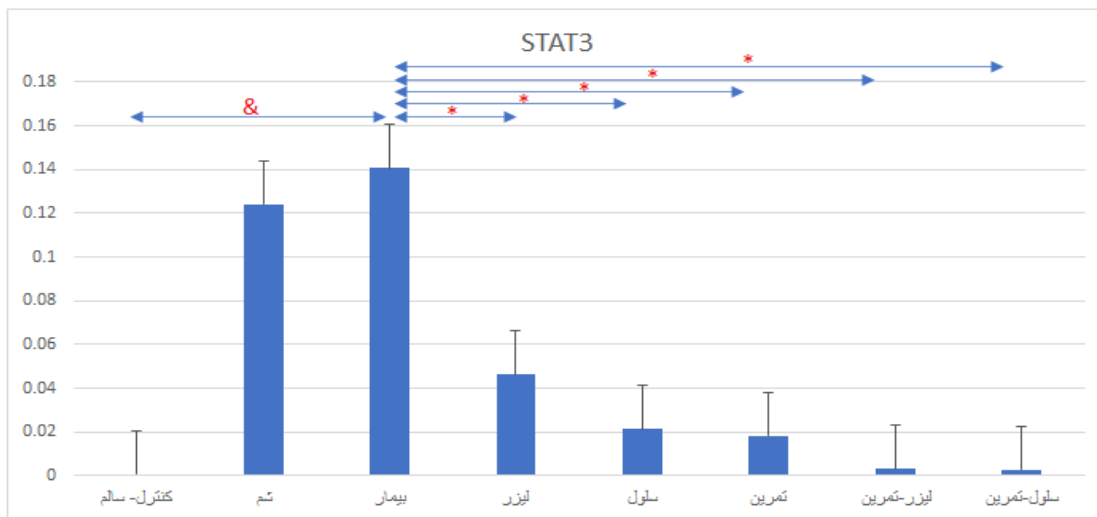
بررسی میانگین و انحراف معیار سطوح بیان ژن IL-10 گروه‌های مختلف پژوهش نشان می‌دهد که بیشترین سطوح شاخص IL-10 مربوط به گروه شم و کمترین سطوح آن متعلق به گروه کنترل-سالم است. نتایج تحلیل واریانس یک طرفه بر سطوح IL-10 گروه‌های مختلف پژوهش نشان‌دهنده آن است که؛ ارزش F محاسبه شده (۵۹/۶۱۷) و معنی‌داری آن در سطح $p = 0/001$ حاکی از وجود تفاوت معنی‌داری بین سطوح IL-10 در گروه‌های مختلف پژوهش است. در سطح اطمینان ۰/۰۵ گروه بیمار و شم نسبت به گروه سالم افزایش و گروه‌های لیزر، سلول، تمرین، لیزر-تمرین و سلول-تمرین نسبت به گروه بیمار و شم کاهش معنی‌داری داشتند (نمودار ۲).



*نشانه معنی‌داری نسبت به گروه بیمار & نشانه معنی‌داری نسبت به گروه سالم

نمودار ۲. مقایسه میانگین سطوح IL-10 در گروه‌های مختلف پژوهش

بررسی میانگین و انحراف معیار سطوح بیان ژن **STAT3** گروه‌های مختلف پژوهش نشان می‌دهد که بیشترین سطوح **STAT3** مربوط به گروه بیمار و کمترین سطوح آن متعلق به گروه کنترل-سالم بود. نتایج تحلیل واریانس یک طرفه بر سطوح **STAT3** گروه‌های مختلف پژوهش نشان‌دهنده آن است که؛ ارزش **F** محاسبه شده (۷۲/۰۳۱) و معنی داری آن در سطح $p = 0/001$ حاکی از وجود تفاوت معنی داری بین سطوح **STAT3** در گروه‌های مختلف پژوهش است. در سطح اطمینان ۰/۰۵ گروه بیمار و شم نسبت به گروه سالم افزایش و گروه‌های لیزر، سلول، تمرین، لیزر-تمرین و سلول-تمرین نسبت به گروه بیمار و شم کاهش معنی‌داری داشتند (نمودار ۳).



* نشانه معنی‌داری نسبت به گروه بیمار & نشانه معنی‌داری نسبت به گروه سالم

نمودار ۳. مقایسه میانگین سطوح **STAT3** در گروه‌های مختلف پژوهش

بحث

نتایج نشان داد بیان ژن‌های **IL-2**، **IL-10** و **STAT3** بافت بیضه گروه بیمار و شم نسبت به گروه سالم افزایش معنی‌دار و گروه‌های لیزر، سلول، تمرین، لیزر-تمرین و سلول-تمرین نسبت به گروه بیمار و شم کاهش معنی‌داری داشتند. پژوهشی که بیان این ژن‌ها را در نمونه‌های آزوآسپرمی بررسی کرده باشد یافت نشد. با این حال، کرمی و همکاران (۲۰۲۲) نشان دادند که بیان ژن **IL-10** در بافت روده موش‌های مبتلا به کبد چرب نسبت به سایر گروه‌ها افزایش معنی‌داری دارد، لذا کبد چرب باعث ایجاد التهاب در بافت روده می‌شود که پس از آن با افزایش عوامل ضد التهابی مانند **IL-10** می‌توان آن را متعادل کرد (۱۸). گزارش شده است که **IL-10** در پاسخ به التهاب تولید شده تخلیه می‌شود. افزایش اضافی در سیتوکین ضد التهابی **IL-10**، سیستم ایمنی را با چالشی برای ایجاد یک پاسخ التهابی مواجه می‌کند که منجر به تزیق می‌شود. فعالیت بدنی از مکانیسم مشابهی پیروی می‌کند که با مطالعه فعلی همخوانی ندارد (۱۹). مطالعات نشان داده‌اند که اثرات ضد التهابی فعالیت بدنی ابتدا با واسطه **IL-10** انجام می‌شود (۲۰). به همین ترتیب، برخی مطالعات همسو با مطالعه حاضر، نقش فعالیت بدنی را بر تنظیم بیان ژن **IL 10** نشان داده‌اند. چندین مطالعه اثرات ورزش با شدت بالا را بر کاهش چربی در کبد انسان و حیوانات نشان داده‌اند که می‌تواند به درمان بیماران کبد چرب کمک کند

(۲۱)، زیرا تاثیر ورزش‌های با شدت بالا بر کاهش استئاتوز و فیبروز کبدی نسبت به تمرینات با شدت متوسط بیشتر بود. به طور کلی، مکانیسم مولکولی نشان می‌دهد که تمرین بدنی با تنظیم منفی فعالیت‌های NF-kB باعث تنظیم IL-10 در مسیر سلول T از طریق Th2 می‌شود (۲۲). از سوی دیگر، متعادل کردن سیتوکین گسسته از Th1 و Th2 از طریق ورزش منظم ثابت شده است. بر خلاف نتایج مطالعه حاضر، برخی مطالعات نشان داده‌اند که تمرینات تناوبی با شدت بسیار بالا باعث افزایش معنی دار IL 10 شده است (۲۳). علاوه بر این، مطالعه انجام شده توسط رنجبر و همکاران نشان داده است که سطح IL-10 پس از ۸ هفته تمرین HIIT در مردان مبتلا به دیابت نوع ۲ تغییر قابل توجهی نداشته است. بنابراین، به نظر می‌رسد اثرات ضد التهابی ورزش به شدت و مدت آن بستگی دارد. دورنلس^۱ و همکاران گزارش کردند که پاسخ التهابی به شدت تمرین بستگی دارد، زیرا آن‌ها افزایش IL-10 را در افراد چاق پس از تمرین با شدت بالا نشان دادند (۲۴). علاوه بر این، نتایج مطالعه‌ای نشان داد که میزان بیان ژن STAT3 در بافت کبد در گروه HIIT به طور قابل توجهی نسبت به سایر گروه‌ها افزایش یافته است. IL-10 فعال شدن موثر مسیر سیگنالینگ IL 10/JAK1/STAT3 را امکان‌پذیر می‌کند و فسفوریلاسیون STAT3 برای این امر ضروری است. علاوه بر این، جهش ژن IL-10 یا گیرنده آن (IL-10RA) باعث اختلال در فعال سازی STAT3 می‌شود. تنظیم ناقص و افزایش بیش از حد عوامل ضد التهابی خطر عفونت را افزایش می‌دهد که با نتایج مطالعه حاضر مطابقت دارد. احتمالاً بیان بیش از حد IL-10 باعث کاهش فعالیت STAT3 در گروه آژواسپرمی شده است (۲۵). همانطور که قبلاً گفته شد، ورزش باعث افزایش فعال شدن STAT3 از طریق فسفوریلاسیون آن می‌شود. این نیز با نتایج مطالعه حاضر مطابقت دارد. مطالعات همسویی اثرات ورزش را با افزایش فعالیت‌های STAT3 نشان داده اند (۲۶). جیا^۲ و همکاران نشان داده‌اند که تمرین تناوبی باعث افزایش فعالیت STAT3 در موش‌های صحرایی نر شده است که با نتایج مطالعه حاضر مطابقت دارد (۲۷).

اثرات سیتوکین ضد التهابی IL-10 تنظیمی است و تولید بیش از حد و کم آن باعث اختلال در عملکرد ایمنی می‌شود. بر اساس نتایج مطالعات، تمرین ورزشی، بیان ژن‌های سیتوکین ضد التهابی را از طریق مکانیسم سلولی متعادل کرد. بنابراین، تمرین ورزشی احتمالاً می‌تواند به درمان آژواسپرمی کمک کند (۱۸).

پژوهشی که در آن به اثر سلول‌های بنیادی بر ژن‌های IL-2، IL-10 و STAT3 بافت بیضه مدل آژواسپرمی را بررسی کرده باشد یافت نشد، در سال ۲۰۲۳ هو^۳ و همکاران برای درمان آسم، بهینه سازی و دستکاری سلول‌های تعدیل‌کننده ایمنی (مانند سلول‌های بنیادی مزانشیمی) از طریق فاکتورهای زیستی موثر (از جمله IL-10) می‌تواند روش اصلی باشد که ارزیابی قرار گرفت (۲۸). مسیر سیگنال‌دهی گیرنده IL-10/IL-10 مرکزی برای التهاب منجر به آسم است و ترانس سیگنال و فعال‌کننده رونویسی STAT3 عامل اصلی در این مسیر است. STAT3 در پاتوژنز آسم دخیل بود و مسیرهای وابسته به STAT3 ناشی از IL-13 در ریه توسط کورتیکواستروئید استنشاقی مهار شد. STAT3 در تنظیم سورفکتانت ریه و پاسخ التهابی در فیبروز ریه نقش دارد (۲۹). IL-10 به عنوان یک سیتوکین پلی‌تروپیک توسط انواع مختلف سلول، از جمله سلول‌های لنفوئیدی و سلول‌های میلوئیدی تولید می‌شود. فعالیت ضدالتهابی گسترده سلول‌ها و ماکروفاژهای میلوئید دندریتیک، IL-10 را با فعال شدن پاسخ اولیه تمایز میلوئیدی و مسیرهای گیرنده شبه عوارض (TLR) وابسته به TRIF (مانند TLR3 و TLR4) بیان می‌کنند. علاوه بر این، سلول دندریتی تحمل‌زا مقادیر زیادی IL-10 تولید می‌کند که باعث ایجاد T-reg می‌شود. از سوی دیگر، سلول تنظیم‌کننده طبیعی IL-10 (nT-reg) را در پاسخ

¹ Dorneles

² Jia

³ Hou

به IL-2 تولید می‌کند که برای هموستاز ایمنی حیاتی است (۳۰). IL-10 نقش مهمی در سرکوب و مدیریت بیماری‌های آلرژیک به‌ویژه در آسم دارد. IL-10 در ترکیب با سلول‌های تنظیم‌کننده ایمنی نقش اساسی در ایمونوتراپی موفق آلرژن ایفا می‌کند. پاتوژن آسم با کاهش تولید IL-10 همراه است. نشان داده شد که تعداد مونوسیت‌های آزادکننده IL-10 و تولیدکننده IL-10 در بیماران مبتلا به آسم شدید کاهش یافته است. علاوه بر این، عدم وجود IL-10 منجر به افزایش التهاب ائوزینوفیلیک راه هوایی و افزایش سنتز IL-5 می‌شود. سلول‌های بنیادی مزانشیمی از طریق اثر تعدیل‌کننده ایمنی می‌توانند التهاب و پاتوفیزیولوژی آسم آلرژیک را کنترل کنند و این اثر از طریق افزایش بیان ژن IL-10، تقویت شد (۳۱). علائم آسم آلرژیک توسط ظرفیت تعدیل‌کننده ایمنی سلول‌های بنیادی مزانشیمی کنترل می‌شد و اثر سرکوب‌کننده IL-10 توسط ژن بیان شده می‌تواند برون‌ده کنترل‌کننده پاتوفیزیولوژی آسم را افزایش دهد. بنابراین، دستکاری سلول‌های بنیادی مزانشیمی به‌عنوان سلول‌های تعدیل‌کننده ایمنی از طریق بیوفکتورهای سرکوب‌کننده ایمنی (IL-10) می‌تواند روش اصلی کنترل و درمان آسم باشد که در مطالعه هو و همکاران مشاهده شد (۲۸).

سلول‌های بنیادی مزانشیمی پیوند شده به بیضه‌های مدل‌های حیوانی آزواسپرمی شیمیایی یا جراحی، القای اسپرم‌زایی و/یا تمایز سلول‌های بنیادی مزانشیمی به سلول‌های زاینده را نشان دادند (۱۱). پیوند MSC بیان مارکرهای سلول زایای بیضه را بهبود بخشیده و می‌تواند به‌عنوان روشی مناسب برای درمان ناباروری پیشنهاد شود. چندین مکانیسم احتمالی برای ترمیم عملکرد بیضه در طول بازسازی بافت ناشی از MSC نشان داده شده است: (۱) سلول‌های بنیادی مزانشیمی ممکن است در فشار سرکوب آنتی‌بادی‌های ضد اسپرم (ASA) دخالت داشته باشند (۳۲). (۲) سلول‌های بنیادی مزانشیمی می‌توانند عواملی را که منجر به ناباروری می‌شوند از طریق کاهش آپوپتوز کاهش دهند (۱۳). (۳) سلول‌های بنیادی مزانشیمی می‌توانند استرس اکسیداتیو را کاهش دهند (۳۳). (۴) سلول‌های بنیادی مزانشیمی می‌توانند تولید تستوسترون (۳۴) را با تمایز به سلول‌های لاپدیک تحریک کنند (۳۵). (۵) سلول‌های بنیادی مزانشیمی می‌توانند به سلول‌های هدف تمایز پیدا کنند (۳۶). (۶) سلول‌های پیوندی فاکتورهای رشدی مانند پروتئین‌های مورفوژنتیک استخوان (BMPs) و فاکتور رشد تبدیل‌کننده بتا ($TGF-\beta$) ترشح می‌کنند که فاکتورهای القاکننده سلول‌های زایای مردانه با توانایی تحریک بازبازی عملکرد سلولی گیرنده هستند (۱۱). (۷) سلول‌های بنیادی مزانشیمی با سلول‌های درون‌زا متصل می‌شوند و عملکرد سلول‌های پیر آسیب‌دیده را بازبازی می‌کنند، و می‌توانند بیان برخی از miRNA های مرتبط با اسپرم‌زایی و ژن‌های هدف آنها را تغییر دهند (۳۷).

در یک مطالعه نشان داده شد که استفاده از دوز مناسب لیزر می‌تواند درمان مناسبی برای آزواسپرمی ناشی از بوسولفان باشد (۱۷). بر اساس گزارش‌های دیگر (۳۸، ۳۹)، این یافته‌ها تایید می‌کند که بوسولفان با دوز موثر ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم تعداد سلول‌های اسپرم را برای ایجاد یک مدل آزواسپرمی کاهش می‌دهد. بوسولفان یک داروی شیمی درمانی است که برای درمان برخی بیماری‌ها مانند لوسمی استفاده می‌شود، اگرچه می‌تواند باعث ناباروری مردان شود. این یک عامل شیمیایی قوی است که ترجیحاً سلول‌های بنیادی اسپرماتوگونی را از بین می‌برد و با تأثیر بر سلول‌های زاینده و سلول‌های سرتولی روند اسپرماتوژنز را مختل می‌کند، که با کاهش شدید سلول‌های اپیتلیال تولید مثلی و وجود تعداد بسیار کمی از سلول‌های اسپرماتوگونی همراه است. تاکنون تحقیقات زیادی برای اصلاح و از بین بردن اثر نابارور بوسولفان انجام شده است. در یک مطالعه، اثر درمانی سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق از مغز استخوان بر آزواسپرمی ناشی از بوسولفان نشان داد که بافت اپیتلیال لوله‌های منی‌ساز طبیعی است و اسپرم‌زایی در اکثر این لوله‌ها قابل تشخیص است. این سلول‌های بنیادی که دارای پتانسیل تمایز هستند، به دلیل ترشح سایتوکین‌های ضدالتهابی و فاکتورهای رشد، گزینه مناسبی برای کاربردهای درمانی هستند (۴۰). در مطالعه دیگری، محیطی از این سلول‌های بنیادی برای

درمان آزواسپریمی ناشی از بوسولفان استفاده شد. یافته‌های هیستومورفولوژیکی افزایش ضخامت لوله‌های اسپرم ساز آزواسپریم را در مقایسه با گروه کنترل نشان داد (۴۱). به طور کلی، این مطالعات نشان می‌دهد که اثر ضد ناباروری بوسولفان قابل درمان است و راهی برای استفاده از درمان‌های آسان‌تر و کم‌خطرتر مانند تعدیل زیستی نوری فراهم می‌کند. مدولاسیون نور می‌تواند متابولیسم سلولی را پس از دریافت انرژی و فرآیندهای سلولی تعدیل شده مانند تکثیر، تمایز و ترمیم بافت افزایش دهد (۱۷). بنابراین، انرژی و توان نوری اگر در دوز مناسب داده شود، اثر طبیعی و بیولوژیکی بر بافت خواهد داشت و منجر به شروع برخی فرآیندها در سلول زنده می‌شود (۱۶). با مقایسه اثربخشی سه دوز انرژی، دوز انرژی ۸ ژول بر سانتی‌متر مربع در مقایسه با دوزهای ۲ و ۴ ژول بر سانتی‌متر مربع کارآمدتر بود. به این معنی که با تابش لیزر ۸ J/cm² بیشترین افزایش حجم بیضه مشاهده شد و حضور سلول‌های زایا در لوله‌های اسپرم ساز پس از تخریب گسترده به دلیل اثر بوسولفان مشاهده شد که نشان دهنده تحریک اسپرماتوژنز و تعادل بین تکثیر و تمایز سلولی است. به طور کلی، مطالعات نشان داده‌اند که مدولاسیون نور با استفاده از لیزر می‌تواند تحرک اسپرم را افزایش دهد (۴۲، ۴۳). این مطالعات نشان داد که نور لیزر باعث تحریک تولید ATP و کاهش استرس اکسیداتیو می‌شود که منجر به افزایش تحرک اسپرم می‌شود. نور لیزر بر لایه‌های لیپیدی دوقطبی غشای سلولی و غشای اندامک‌های داخل سلول تأثیر می‌گذارد، بنابراین با انتقال کلسیم و سایر یون‌ها از کانال‌های یونی روی غشای میتوکندری، باعث فعال شدن زنجیره انتقال الکترون و افزایش ATP و تولید انرژی مورد نیاز برای تحرک اسپرم می‌شود (۴۴). در این پژوهش نیز لیزر درمانی به تنهایی و در ترکیب با تمرین شنا منجر به کاهش معنی‌دار ژن‌های IL-2، IL-10 و STATE3 بافت بیضه رت‌های مدل آزواسپریمی شد که به نظر می‌رسد عاملی برای افزایش باروری در رت‌های مدل آزواسپریمی باشد.

نتیجه‌گیری

نتایج بیانگر افزایش التهاب بافت بیضه رت‌های مدل آزواسپریمی از طریق افزایش ژن‌های IL-2، IL-10 و STATE3 می‌باشد، که هر کدام از روش‌های مداخله‌ای در کاهش این ژن‌ها موثر بود، که بهترین نتایج مربوط به گروه‌های ترکیبی تمرین-سلول و تمرین-لیزر حاصل شد. لذا می‌توان گفت تمرین ورزشی شنا در ترکیب با سلول‌درمانی و لیزردرمانی از طریق کاهش سیگنالینگ التهاب بافت بیضه به باروری رت‌های مدل آزواسپریمی کمک نماید.

منابع

1. Moskvina SV, Apolikhin OI. Effectiveness of low level laser therapy for treating male infertility. *BioMedicine*. 2018 Jun;8(2). DOI: [10.1051/bmdcn/2018080207](https://doi.org/10.1051/bmdcn/2018080207)
2. He Z, Kokkinaki M, Jiang J, Zeng W, Dobrinski I, Dym M. Isolation of human male germ-line stem cells using enzymatic digestion and magnetic-activated cell sorting. *Germline Development: Methods and Protocols*. 2012:45-57. DOI: [10.1007/978-1-61779-436-0_4](https://doi.org/10.1007/978-1-61779-436-0_4)
3. Loveland KL, Klein B, Poeschl D, Indumathy S, Bergmann M, Loveland BE, Hedger MP, Schuppe HC. Cytokines in male fertility and reproductive pathologies: immunoregulation and beyond. *Frontiers in Endocrinology*. 2017 Nov 20;8:307. DOI: [10.3389/fendo.2017.00307](https://doi.org/10.3389/fendo.2017.00307)
4. Syriou V, Papanikolaou D, Kozyraki A, Goulis DG. Cytokines and male infertility. *European cytokine network*. 2018 Sep;29:73-82. DOI: [10.1684/ecn.2018.0412](https://doi.org/10.1684/ecn.2018.0412)
5. Jiang W, Xu J. Immune modulation by mesenchymal stem cells. *Cell proliferation*. 2020 Jan;53(1):e12712. DOI: [10.1111/cpr.12712](https://doi.org/10.1111/cpr.12712)

6. Tao L, Bei Y, Lin S, Zhang H, Zhou Y, Jiang J, Chen P, Shen S, Xiao J, Li X. Exercise training protects against acute myocardial infarction via improving myocardial energy metabolism and mitochondrial biogenesis. *Cellular Physiology and Biochemistry*. 2015 Aug 1;37(1):162-75. DOI: [10.1159/000430342](https://doi.org/10.1159/000430342)
7. Rashidpour F, Farzanegi P, Abbaszadeh H. Evaluation of Cyclooxygenase-2 and Prostaglandin E2 Expression in Endometrial Tissue Following 8 Weeks of Swimming Exercise and Omega-3 Intake. *Medical Laboratory Journal*. 2023 Mar 1;17(2).
8. Urhausen A, Kullmer T, Kindermann W. A 7-week follow-up study of the behaviour of testosterone and cortisol during the competition period in rowers. *European journal of applied physiology and occupational physiology*. 1987 Sep;56:528-33. DOI: [10.1007/BF00635365](https://doi.org/10.1007/BF00635365)
9. Vaamonde D, Garcia-Manso JM, Hackney AC. Impact of physical activity and exercise on male reproductive potential: a new assessment questionnaire. *Revista andaluza de medicina del deporte*. 2017 Jun 1;10(2):79-93. DOI: [10.1016/j.ramd.2016.11.017](https://doi.org/10.1016/j.ramd.2016.11.017)
10. Thompson M, Mei SH, Wolfe D, Champagne J, Fergusson D, Stewart DJ, et al. Cell therapy with intravascular administration of mesenchymal stromal cells continues to appear safe: an updated systematic review and meta-analysis. *EClinicalMedicine*. 2020;19:100249. DOI: [10.1016/j.eclinm.2019.100249](https://doi.org/10.1016/j.eclinm.2019.100249)
11. Zhankina R, Baghban N, Askarov M, Saipiyeva D, Ibragimov A, Kadirova B, Khoradmehr A, Nabipour I, Shirazi R, Zhanbyrbekuly U, Tamadon A. Mesenchymal stromal/stem cells and their exosomes for restoration of spermatogenesis in non-obstructive azoospermia: a systemic review. *Stem Cell Research & Therapy*. 2021 Dec;12:1-2. DOI: [10.1186/s13287-021-02295-9](https://doi.org/10.1186/s13287-021-02295-9)
12. Manaph NPA, Sivanathan KN, Nitschke J, Zhou X-F, Coates PT, Drogemuller CJ. An overview on small molecule-induced differentiation of mesenchymal stem cells into beta cells for diabetic therapy. *Stem Cell Res Ther*. 2019; 10(1):293. DOI: [10.1186/s13287-019-1396-5](https://doi.org/10.1186/s13287-019-1396-5)
13. Qian C, Meng Q, Lu J, Zhang L, Li H, Huang B. Human amnion mesenchymal stem cells restore spermatogenesis in mice with busulfan-induced testis toxicity by inhibiting apoptosis and oxidative stress. *Stem Cell Res Ther* 2020;11(1):1–12. DOI: [10.1186/s13287-020-01803-7](https://doi.org/10.1186/s13287-020-01803-7)
14. Yeung CLA, Co N-N, Tsuruga T, Yeung T-L, Kwan S-Y, Leung CS, et al. Exosomal transfer of stroma-derived miR21 confers paclitaxel resistance in ovarian cancer cells through targeting APAF1. *Nat Commun*. 2016;7(1):1–14. DOI: [10.1038/ncomms11150](https://doi.org/10.1038/ncomms11150)
15. Apolikhin OI, Moskvina SV. Laser therapy for male infertility. Part 1. Etiology and pathogenesis. experimental studies. *Urologiia*. 2017 Dec 15(5):115-23. DOI: [10.18565/urology.2017.5.115-123](https://doi.org/10.18565/urology.2017.5.115-123)
- 16.
17. Deihimi M, Azornia M, Takzare N. Effect of red and infrared spectrum low level of laser rays on Rat Seminiferous tubules. *Journal of Gorgan University of Medical Sciences*. 2010 Sep 10;12(3):10-7.
18. Tajalli H, Maleki M, Safavi E, Shahi R, Firoozi F, Akbarpour Z, Sotoudeh Khyaban A. The effects of low-power laser on the promotion of spermatogenesis in a mouse model of azoospermia (in-vivo). *International Journal of Biophotonics and Biomedical Engineering*. 2022 Dec 28;2(1):15-30. [10.30495/IJBBE.2022.698214](https://doi.org/10.30495/IJBBE.2022.698214)
19. Karami E, Rostamkhani F. The effects of high-intensity interval training on the expression of interleukin-10 and STAT3 genes in the intestinal tissue of rats affected by hepatic steatosis. *Journal of Exercise & Organ Cross Talk*. 2022 Dec 1;2(4):150-4. [10.22034/JEOCT.2022.377780.1060](https://doi.org/10.22034/JEOCT.2022.377780.1060)
20. Shaw DM, Merien F, Braakhuis A, Dulson D. T-cells and their cytokine production: The anti-inflammatory and immunosuppressive effects of strenuous exercise. *Cytokine*. 2018 Apr 1;104:136-42. DOI: [10.1016/j.cyto.2017.10.001](https://doi.org/10.1016/j.cyto.2017.10.001)
21. Batista Júnior ML, Lopes RD, Seelaender MC, Lopes AC. Anti-inflammatory effect of physical training in heart failure: role of TNF- α and IL-10. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*. 2009;93:692-700. Hallsworth

- K, Thoma C, Hollingsworth KG, Cassidy S, Anstee QM, Day CP, Trenell MI. Modified high-intensity interval training reduces liver fat and improves cardiac function in non-alcoholic fatty liver disease: a randomized controlled trial. *Clinical science*. 2015 Dec 1;129(12):1097-105. DOI: [10.1042/CS20150308](https://doi.org/10.1042/CS20150308)
22. Nicklas BJ, You T, Pahor M. Behavioural treatments for chronic systemic inflammation: effects of dietary weight loss and exercise training. *Cmaj*. 2005 Apr 26;172(9):1199-209. DOI: [10.1503/cmaj.1040769](https://doi.org/10.1503/cmaj.1040769)
23. Vahdat H, Mombini H, Eslami Farsani M, Ab Abzadeh S, Barzegar H. Effect of High-Intensity Interval Training (HIIT) on the levels of Irisin and interleukin-10 in overweight men. *Qom University of Medical Sciences Journal*. 2018 Apr 10;12(2):35-44. DOI: [10.29252/qums.12.2.35](https://doi.org/10.29252/qums.12.2.35)
24. Dorneles GP, Haddad DO, Fagundes VO, Vargas BK, Kloecker A, Romão PR, Peres A. High intensity interval exercise decreases IL-8 and enhances the immunomodulatory cytokine interleukin-10 in lean and overweight-obese individuals. *Cytokine*. 2016 Jan 1;77:1-9. DOI: [10.1016/j.cyto.2015.10.003](https://doi.org/10.1016/j.cyto.2015.10.003)
25. Glocker EO, Kotlarz D, Boztug K, Gertz EM, Schäffer AA, Noyan F, Perro M, Diestelhorst J, Allroth A, Murugan D, Hätscher N. Inflammatory bowel disease and mutations affecting the interleukin-10 receptor. *New England Journal of Medicine*. 2009 Nov 19;361(21):2033-45. DOI: [10.1056/NEJMoa0907206](https://doi.org/10.1056/NEJMoa0907206)
26. Rodrigues Brandao-Rangel MA, Bachi AL, Oliveira-Junior MC, Abbasi A, Silva-Renno A, Aparecida de Brito A, Ligeiro de Oliveira AP, Choqueta Toledo-Arruda A, Belvisi MG, Paula Vieira R. Exercise inhibits the effects of smoke-induced COPD involving modulation of STAT3. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2017 Jan 1;2017. DOI: [10.1155/2017/6572714](https://doi.org/10.1155/2017/6572714)
27. Jia D, Cai M, Xi Y, Du S. Interval exercise training increases LIF expression and prevents myocardial infarction-induced skeletal muscle atrophy in rats. *Life sciences*. 2018 Jan 15;193:77-86. DOI: [10.1016/j.lfs.2017.12.009](https://doi.org/10.1016/j.lfs.2017.12.009)
28. Hou C, Sun F, Liang Y, Nasab EM, Athari SS. Effect of transduced mesenchymal stem cells with IL-10 gene on control of allergic asthma. *Allergologia et Immunopathologia*. 2023 Mar 1;51(2):45-51. DOI: [10.15586/aei.v51i2.789](https://doi.org/10.15586/aei.v51i2.789)
29. Knight D, Mutsaers SE, Prêle CM. STAT3 in tissue fibrosis: is there a role in the lung?. *Pulmonary pharmacology & therapeutics*. 2011 Apr 1;24(2):193-8. DOI: [10.1016/j.pupt.2010.10.005](https://doi.org/10.1016/j.pupt.2010.10.005)
30. Branchett WJ, Stölting H, Oliver RA, Walker SA, Puttur F, Gregory LG, Gabryšová L, Wilson MS, O'Garra A, Lloyd CM. AT cell-myeloid IL-10 axis regulates pathogenic IFN- γ -dependent immunity in a mouse model of type 2-low asthma. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2020 Feb 1;145(2):666-78. DOI: [10.1016/j.jaci.2019.08.006](https://doi.org/10.1016/j.jaci.2019.08.006)
31. Minshawi F, Lanvermann S, McKenzie E, Jeffery R, Couper K, Papoutsopoulou S, Roers A, Muller W. The generation of an engineered interleukin-10 protein with improved stability and biological function. *Frontiers in Immunology*. 2020 Aug 11;11:1794. DOI: [10.3389/fimmu.2020.01794](https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.01794)
32. Aghamir SMK, Salavati A, Yousefie R, Tootian Z, Ghazaleh N, Jamali M, Azimi P. Does bone marrow-derived mesenchymal stem cell transfusion prevent antisperm antibody production after traumatic testis rupture? *Urology*. 2014; 84(1):82-6. DOI: [10.1016/j.urology.2014.03.009](https://doi.org/10.1016/j.urology.2014.03.009)
33. Abdelaziz MH, Salah El-Din EY, El-Dakdoky MH, Ahmed TA. The impact of mesenchymal stem cells on doxorubicin-induced testicular toxicity and progeny outcome of male prepubertal rats. *Birth Defects Res*. 2019;111(13): 906-19. DOI: [10.1002/bdr2.1535](https://doi.org/10.1002/bdr2.1535)
34. Hsiao C-H, Ji AT-Q, Chang C-C, Cheng C-J, Lee L-M, Ho JH-C. Local injection of mesenchymal stem cells protects testicular torsion-induced germ cell injury. *Stem Cell Res Ther*. 2015;6(1):113. <https://doi.org/10.1186/s13287-015-0079-0>. DOI: [10.1186/s13287-015-0079-0](https://doi.org/10.1186/s13287-015-0079-0)
- 35.

36. Xing X, Zhang Z, Zhong L, Ju G, Zou X, Zhu Y, Sun J. Differentiation of human umbilical cord mesenchymal stem cells into steroidogenic cells in vitro. *Exp Ther Med*. 2016;12(6):3527–34. <https://doi.org/10.3892/etm.2016.3815>.
37. Ghasemzadeh-Hasankolaei M, Batavani R, Eslaminejad MB, Sayahpour F. Transplantation of autologous bone marrow mesenchymal stem cells into the testes of infertile male rats and new germ cell formation. *Int J Stem Cells*. 2016;9(2):250–63. DOI: [10.15283/ijsc.2016.16010](https://doi.org/10.15283/ijsc.2016.16010)
38. Badawy AA, El-Magd MA, AlSadrah SA, Alruwaili MM. Altered expression of some miRNAs and their target genes following mesenchymal stem cell treatment in busulfan-induced azoospermic rats. *Gene*. 2020;737:144481. DOI: [10.1016/j.gene.2020.144481](https://doi.org/10.1016/j.gene.2020.144481)
39. Wang DZ, Zhou XH, Yuan YL, Zheng XM. Optimal dose of busulfan for depleting testicular germ cells of recipient mice before spermatogonial transplantation. *Asian Journal of Andrology*. 2010 Mar;12(2):263. DOI: [10.1038/aja.2009.67](https://doi.org/10.1038/aja.2009.67)
40. Zohni K, Zhang X, Tan SL, Chan P, Nagano MC. The efficiency of male fertility restoration is dependent on the recovery kinetics of spermatogonial stem cells after cytotoxic treatment with busulfan in mice. *Human reproduction*. 2012 Jan 1;27(1):44–53. DOI: [10.1093/humrep/der357](https://doi.org/10.1093/humrep/der357)
41. Tamadon A, Mehrabani D, Rahmanifar F, Jahromi AR, Panahi M, Zare S, Khodabandeh Z, Jahromi IR, Tanideh N, Dianatpour M, Ramzi M. Induction of spermatogenesis by bone marrow-derived mesenchymal stem cells in busulfan-induced azoospermia in hamster. *International journal of stem cells*. 2015 Nov 30;8(2):134–45. DOI: [10.15283/ijsc.2015.8.2.134](https://doi.org/10.15283/ijsc.2015.8.2.134)
42. Allameh F, Razzaghi M, Hosseini S, Barati M, Razzaghi Z, Salehi S, Ghahestani SM, Shahabi V. The effect of laser acupuncture on semen parameters in infertile men with oligospermia: A randomized clinical trial. *Journal of Lasers in Medical Sciences*. 2021;12. DOI: [10.34172/jlms.2021.84](https://doi.org/10.34172/jlms.2021.84)
43. Gabel CP, Carroll J, Harrison K. Sperm motility is enhanced by low level laser and light emitting diode photobiomodulation with a dose-dependent response and differential effects in fresh and frozen samples. *Laser therapy*. 2018;27(2):131–6. DOI: [10.5978/islsm.18-OR-13](https://doi.org/10.5978/islsm.18-OR-13)
44. Firestone RS, Esfandiari N, Moskovtsev SI, Burstein E, Videna GT, Librach C, Bentov Y, Casper RF. The effects of low-level laser light exposure on sperm motion characteristics and DNA damage. *Journal of andrology*. 2012 May 6;33(3):469–73. DOI: [10.2164/jandrol.111.013458](https://doi.org/10.2164/jandrol.111.013458)
45. Rezaei F, Bayat M, Nazarian H, Aliaghaei A, Abaszadeh HA, Naserzadeh P, Amini A, Ebrahimi V, Abdi S, Abdollahifar MA. Photobiomodulation therapy improves spermatogenesis in busulfan-induced infertile mouse. *Reproductive Sciences*. 2021 Oct 1:1–0.