

The Effect of a Period of Endurance Training Along with Electrical Stimulation on the Gene Expression of Some Sex Markers in the Testicular Tissue of Fasted Obese Rats

Alireza Bagheri¹, Mehdi Morady², Mohammad Malekipooya*², Bahram Abedi³

1. Department of Exercise Physiology, Faculty of Humanities, Mahallat Branch, Islamic Azad University, Mahallat, Iran

2. Department of Exercise Physiology, Faculty of Humanities, Arak Branch, Islamic Azad University, Arak, Iran

3. Department of Physical Education, North Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

Abstract

Background: Obesity is a multifactorial disease whose incidence and burden on societies around the world is increasing. Sexual performance in these patients is an important aspect that is often ignored. Therefore, the aim of the present study was to investigate the effect of a period of endurance training along with electrical stimulation on the gene expression of some sex markers in testicular tissue of fasted obese rats.

Methods: In this experimental study, with a control group of 40 male Wistar rats (8 weeks old, weighing 200 ± 19 grams), after induction of obesity and weight gain, randomly divided into 5 groups of 8: control, fasting-obese, fasting-endurance exercise, fasting-electrical stimulation and Fasting-endurance training-electrical stimulation were divided. Intervention groups for a period of 4 weeks under endurance sports activity (with a speed of 10 to 20 m/min and duration of 20 to 40 minutes), electrical stimulation (foot shock device for 0.5 mA and 20 minutes) and fasting (8 to 16 hours) were placed. After exercise and anesthesia, tissue sampling was done and after molecular processes, gene expression was measured using Real time-PCR machine. For data analysis, two-way analysis of variance test was used at a significance level of $P < 0.05$ and GraphPad software.

Results: The results showed that endurance training led to a significant increase in the expression of 5 α R and aromatase genes in fasting obese rats compared to the obese group ($P = 0.0001$). Also, electrical stimulation and its combination with endurance training led to a significant increase in the expression of 5 α R gene ($P = 0.0001$), but this increase was not significant in Aromatase gene ($P = 0.377$).

Conclusion: It seems that endurance training and electrical stimulation during fasting by increasing the expression of 5-alpha reductase and aromatase genes in obese samples is effective in their sexual health and leads to its improvement. Also, a combination of electrical stimulation and exercise can have positive effects on this process, but more studies are needed.

Keywords: Obesity, Fasting, Endurance Exercise, Electrical Stimulation, 5-alpha reductase, Aromatase

Please cite this article as:

Bagheri A, Morady M, Malekipooya M, Abedi B. The Effect of a Period of Endurance Training Along with Electrical Stimulation on the Gene Expression of Some Sex Markers in the Testicular Tissue of Fasted Obese Rats. *ijdl*. 2025; 25(3):195-205.

*Corresponding Author: Mohammad Malekipooya; Email: Mo.malekipooya@iau.ac.ir and maleki.p@gmail.com
Markazi Province, Arak, Imam Khomeini Square, Imam Khomeini Boulevard, Amir Kabir Campus, Islamic Azad University of Arak, Zip Code: 38361-1-9131, Tel: +989183636948

تأثیر یک دوره تمرین استقامتی به همراه تحریک الکتریکی بر بیان ژن برخی از نشان‌گرهای جنسی بافت بیضه موش‌های صحرایی چاق روزه‌دار

علیرضا باقری^۱، مهدی مرادی^۲، محمد ملکی پویا^{۳*}، بهرام عابدی^۳

- ۱- گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم انسانی، واحد محلات، دانشگاه آزاد اسلامی، محلات، ایران
۲- گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم انسانی، واحد اراک، دانشگاه آزاد اسلامی، اراک، ایران
۳- گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، واحد تهران شمال، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

چکیده

مقدمه: چاقی یک بیماری چند عاملی است که بروز و بار آن بر جوامع در سراسر جهان رو به افزایش است. عملکرد جنسی در این بیماران از ابعاد مهمی است که اغلب نادیده گرفته می‌شود. لذا هدف از پژوهش حاضر بررسی تأثیر یک دوره تمرین استقامتی به همراه تحریک الکتریکی بر بیان ژن برخی از نشان‌گرهای جنسی بافت بیضه موش‌های صحرایی چاق روزه‌دار بود.

روش‌ها: در این مطالعه تجربی کنترل شده با گروه شاهد ۴۰ سر موش صحرایی نر ویستار (۸ هفته‌ای با وزن 200 ± 19 گرم) پس القاء چاقی و افزایش وزن به‌طور تصادفی به ۵ گروه ۸ تایی کنترل، چاق روزه‌دار، روزه‌دار-تمرین استقامتی، روزه‌دار-تحریک الکتریکی و روزه‌دار-تمرین استقامتی-تحریک الکتریکی تقسیم شدند. گروه‌های مداخله برای یک دوره ۴ هفته‌ای تحت فعالیت ورزشی استقامتی (با سرعت ۱۰ تا ۲۰ متر/دقیقه و مدت ۲۰ تا ۴۰ دقیقه)، تحریک الکتریکی (دستگاه فوت شوک برای ۰/۵ میلی‌آمپر و ۲۰ دقیقه) و روزه‌داری (۸ به ۱۶ ساعت) قرار گرفتند. پس از تمرین و بی‌هوشی، نمونه‌برداری بافتی صورت گرفت و پس از انجام فرایندهای ملکولی بیان ژن‌ها با استفاده از دستگاه Real time-PCR اندازه‌گیری شد. برای آنالیز داده‌ها از آزمون تحلیل واریانس دوطرفه در سطح معنی‌داری $P < 0/05$ و نرم‌افزار گراف‌پد استفاده شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد تمرین استقامتی منجر به افزایش معنی‌دار بیان ژن‌های $\alpha R\alpha$ و آروماتاز در موش‌های صحرایی چاق روزه‌دار نسبت به گروه چاق شد ($P = 0/0001$). همچنین تحریک الکتریکی و تلفیق آن با تمرین استقامتی منجر به افزایش معنی‌داری بیان ژن $\alpha R\alpha$ شد ($P = 0/0001$) اما در ژن آروماتاز این افزایش معنی‌داری نبود ($P = 0/377$).

نتیجه‌گیری: به‌نظر می‌رسد تمرین استقامتی و تحریک الکتریکی در حین روزه‌داری با افزایش بیان ژن‌های ۵-آلفا ردوکتاز و آروماتاز در نمونه‌های چاق در سلامت جنسی آنها مؤثر بوده و منجر به بهبود آن می‌شود. همچنین تلفیقی از تحریک الکتریکی و تمرین ورزشی نیز می‌تواند اثرات مثبتی بر این روند داشته باشد اما نیازمند مطالعات بیشتری است.

واژگان کلیدی: چاقی، روزه‌داری، تمرین استقامتی، تحریک الکتریکی، ۵-آلفا ردوکتاز، آروماتاز

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۸/۳۰

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۷/۰۶

به این مقاله، به صورت زیر استناد کنید:

Bagheri A, Morady M, Malekipooya M, Abedi B. The Effect of a Period of Endurance Training Along with Electrical Stimulation on the Gene Expression of Some Sex Markers in the Testicular Tissue of Fasted Obese Rats. *ijdd*. 2025; 25(3):195-205.

* نویسنده مسئول: محمد ملکی پویا، آدرس: اراک، میدان امام خمینی (ره)، بلوار امام خمینی (ره)، شهرک دانشگاهی امیر کبیر، دانشگاه آزاد اسلامی اراک، کد پستی: ۳۸۳۶۱-۱-۹۱۳۱، تلفن: ۰۹۱۸۳۶۳۶۹۴۸، پست الکترونیک: Mo.malekipooya@iau.ac.ir و maleki.p@gmail.com

مقدمه

چاقی^۱ به عنوان تجمع چربی غیرطبیعی یا بیش از حد تعریف می شود. از سال ۱۹۷۵ در سراسر جهان این بیماری نزدیک به سه برابر افزایش پیدا کرده و منجر به مرگ حداقل ۲/۸ میلیون نفر به دلیل پیامدهای نامطلوب سلامتی ناشی از آن شده است [۱]. همچنین سازمان جهانی بهداشت^۲ (WHO) اعلام کرده است که ۳۹ درصد از جمعیت جهان در محدوده اضافه وزن و ۱۳ درصد در محدوده چاقی قرار دارند که بسیار نگران کننده است [۱]. در ایران نیز چاقی و اضافه وزن تا سال ۲۰۱۵ نزدیک به ۱۱ و ۱۸ میلیون نفر گزارش شده که تا سال ۲۰۲۱ در حدود ۲۱ درصد رشد داشته است [۲]. چاقی از دلایل مستقیم و غیرمستقیم بیماری های مزمن و مهمی مانند فشار خون بالا، دیابت، سرطان، سندرم متابولیک، کلیه، سکته مغزی، استئوآرتریت، آپنه، افسردگی، اضطراب و غیره بوده که منجر به کاهش ۵ تا ۱۰ سال از عمر انسان شده است [۳]. این بیماری یکی از عوامل مهم و مؤثر در عملکرد تولید مثل، باروری و رویکردهای جنسی بوده و باعث ناباروری ۴۵ تا ۵۰ درصد هر دو جنس می گردد [۴]. رابطه مستقیمی بین چاقی و پارامترهای جنسی وجود دارد. این ارتباط می تواند بر عملکردهای بیضه مؤثر و منجر به التهاب در بافت فوق شده و تغییرات ژنتیکی در فرزندان نیز ایجاد نماید [۵]. همچنین تجمع بافت چربی، کاهش ترشح سطوح تستوسترون را به دنبال خواهد داشت [۶]. از این رو در تحقیق فوق از نشان گرهای مهمی به نام ۵-آلفا ردوکتاز^۳ (5αR) و آروماتاز^۴ که تحت تأثیر چاقی قرار گرفته و می توانند بر سلامت جنسی مؤثر باشد استفاده شد. آنزیم 5αR نقش مهمی در تبدیل استروئیدهای آنابولیک آندروژنیک به دی هیدروتستوسترون^۵ (DHT) در غدد و پروستات مردان دارد. این آنزیم همچنین در مسیرهای متابولیکی بیوستنز، متابولیسم، آندروژن^۶ و استروژن اهمیت زیادی دارد [۷]. 5αR در بسیاری از بافت ها از جمله دستگاه تناسلی، بیضه و تخمدان در هر دو جنس نر و ماده تولید شده و یکی از سوبستراهای ویژه آن تستوسترون است [۸]. مهار آنزیم 5αR مانع تبدیل تستوسترون به DHT می شود. از این رو وجود این هورمون های جنسی برای وزن بیضه و توده عضلانی ضروری بوده و از طرفی کاهش تستوسترون منجر به ایجاد ضایعات شدید در بیضه می شود.

آروماتاز نشان گر دیگری است که در پرخوری و چاقی در هر دو جنس می تواند عملکرد جنسی را تحت تأثیر قرار دهد [۹]. بافت چربی جایگاه آروماتاز کردن آندروژن های غده آدرنال به استروژن ها است که بر فعالیت میتوژنیک بافت های متفاوتی مانند پستان و بیضه بوده و به عنوان مسئول یک مرحله کلیدی بیوستنز استروژن است [۱۰]. حذف استروژن سبب تغییر در اندازه و عده غذایی و مدت آن و سپس چاقی می شود. آروماتاز یک آنزیم ضروری استروئیدی است که به طور جداگانه تبدیل تستوسترون و آندروستندیون به استرادیول و استرون را کاتالیز می کند [۱۱]. پیام دهی استروژن به هسته های مهم هیپوتالاموس (جانبی) مسئول تنظیم وزن بدن با واسطه تنظیم مصرف انرژی است [۱۲]. و نترمودیال هیپوتالاموس به عنوان مرکز سیری^۷ و هیپوتالاموس جانبی به عنوان مرکز گرسنگی شناخته می شود و این ناحیه در تنظیم تغذیه و سوخت و ساز نقش دارد [۱۳]. در بسیاری از گونه ها، تستوسترون روی مکان های عصبی که رفتار جنسی را مستقیماً به عنوان یک آندروژن کنترل می کنند، عمل نمی کند در عوض، تبدیل تستوسترون به ۱۷-β استرادیول که توسط آنزیم آروماتاز در ناحیه پیش اپتیک مغز کاتالیز می شود تولید و برای فعال سازی رفتار باروری مردانه بسیار مهم است [۱۴]. علاوه بر درمان های پزشکی این بیماران روش های متفاوت دیگری در طب مکمل در ارتباط با چاقی و بیماری های مرتبط با آن مانند ناراحتی های جنسی وجود دارد. Wang و همکاران (۲۰۱۹) نشان دادند انجام تمرینات ورزشی مستمر و طولانی مدت با شدت متوسط با کاهش اثرات سوء بیماران چاق، عملکرد جنسی را بهبود می بخشد [۱۵] از این رو انجام فعالیت های ورزشی از اولین توصیه ها برای پیش گیری و بازتوانی این بیماران است. در همین راستا Sadeghi و همکاران (۲۰۱۷) نشان دادند تمرین مقاومتی به همراه مکمل منجر به افزایش معنی دار بیان ژن های ۵-آلفا ردوکتاز و آروماتاز شد. اما در همین پژوهش نشان داده شد تمرین ورزشی به تنهایی تأثیر معنی داری بر بیان ژن ۵-آلفا ردوکتاز نداشت [۱۶]. در پژوهش Aizawa و همکاران (۲۰۱۱) نشان داده شد تمرین استقامتی باعث افزایش معنی داری بیان ژن آروماتاز و ۵-آلفا ردوکتاز عضلات اسکلتی موش های صحرایی تمرین کرده شد [۱۷]. از روش های دیگری که در دین اسلام برای سلامتی و محدودیت در کالری ورودی به ویژه برای افراد با اضافه وزن توصیه شده روزه داری^۸ (FA) است. ماه مبارک رمضان را می توان فرصتی مناسب برای

¹ Obesity² World Health Organization³ 5-alpha Reductase⁴ Aromatase⁵ Dihydrotestosterone⁶ Androgen⁷ Satiety⁸ Fasting

چاق روزه‌دار مورد بررسی قرار گرفت.

روش‌ها

نمونه‌ها و محیط پژوهش: در این پژوهش پس‌آزمون با گروه کنترل، از ۴۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار هشت هفته‌ای با میانگین وزنی 200 ± 19 گرم که از دانشگاه بقیه الله ایران خریداری شده بود استفاده گردید. این حیوانات در قفس‌های پلی‌کربنات شفاف و در شرایط کنترل شده با دمای 22 ± 2 درجه سانتی‌گراد، رطوبت 50 ± 5 درصد و چرخه روشنایی-تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت با دسترسی کنترل شده با آب و غذای ویژه موش‌های صحرایی نگهداری شدند. پس از انتقال حیوانات به محیط پژوهش به مدت یک هفته جهت سازگاری با محیط آزمایشگاه بدون مداخله‌ای در شرایط جدید نگهداری شدند. در ادامه پرتکل القای چاقی شروع شد و سپس موش‌های صحرایی چاق شده به‌طور تصادفی به پنج گروه هشت‌تایی، ۱-روزه‌دار چاق^۲ (OB.FA)، ۲-روزه‌دار چاق-تمرین استقامتی^۳ (MIT.FA)، ۳-روزه‌دار چاق-تحریک الکتریکی^۴ (ES.FA)، ۴-روزه‌دار چاق-تمرین استقامتی-تحریک الکتریکی^۵ (MIT.ES.FA) و ۵-چاق بدون روزه-کنترل^۶ (CO) تقسیم شدند.

برنامه القا چاقی: برای چاق کردن حیوانات از رژیم غذایی استاندارد با برنامه غذایی پُرچرب موش‌های صحرایی که از بادام زمینی، شکلات شیری و بیسکویت‌های شیرین به نسبت ۳:۲:۱ تشکیل شده بود استفاده شد. این رژیم حاوی ۲۰ گرم پروتئین، ۲۰ گرم چربی، ۴۸ گرم کربوهیدرات، چهار گرم فیبر بوده که در هر ۱۰۰ گرم رژیم غذایی مخلوط و سپس آسیاب و در اختیار آنها قرار گرفت تا بر حسب شاخص لی وزن موش‌های صحرایی در محدود ۳۱۰ گرم قرار گیرد [۲۴].

برنامه غذایی با محدودیت کالری: پس از القای چاقی کلیه گروه‌های پژوهشی (به‌جز کنترل) تحت برنامه $16/8$ محدودیت غذایی (هشت ساعت محدودیت، ۱۶ ساعت بدون محدودیت کالری) با غذای استاندارد (۲۳ گرم پروتئین، ۴۹ گرم کربوهیدرات، چهار گرم چربی و پنج گرم فیبر در هر ۱۰۰ گرم) قرار گرفتند. همچنین آب مورد نیاز هر حیوان به‌صورت آزاد و در بطری‌های ۵۰۰ میلی‌لیتری ویژه حیوانات آزمایشگاهی در ساعات غیر روزه‌داری با رعایت دیگر پرتکل‌ها در اختیار حیوانات

جلوگیری از خطر افزایش وزن و کاهش چاقی در بین مردم قلمداد کرد. در حال حاضر رژیم روزه‌داری متناوب مورد توجه قرار گرفته و در کاهش وزن از آن استفاده می‌شود [۱۸]. تأثیر روزه‌داری بر ترکیب بدنی، تغییرات هورمونی و عوامل التهابی و ریسک فاکتورهای قلبی-عروقی در برخی از تحقیقات تأیید شده است [۱۹]. از طرفی Cienfuegos و همکاران (۲۰۲۲) نشان داده‌اند ممکن است روزه‌داری باعث کاهش آندروژن در مردان شود که می‌تواند بر سلامت متابولیک و میل جنسی تأثیر منفی بگذارد [۲۰]. لذا در پژوهش فوق به‌عنوان یک مداخله در افراد چاق و با مشکلات جنسی به‌عنوان یک مسئله مورد بررسی قرار گرفت. همچنین استفاده از تحریک الکتریکی^۱ (ES) به‌عنوان یک مدالیت دیگر در کاهش وزن از دیگر روش‌های تأیید شده است. در کنار تمرینات استقامتی ES موجب فراخوانی حداکثری واحدهای عضلانی و کاهش بافت چربی می‌شود [۲۱]. Iwami و همکاران (۲۰۱۳) نشان دادند ES منجر به افزایش ترموژنز بافت‌های چربی BAT می‌گردد [۲۲]. همچنین تحقیقات Hamida و همکاران (۲۰۱۱) نیز نشان داده شد ES موجب القای لیپولیز سلول‌های چربی می‌گردد [۲۳]. با توجه به مطالعات انجام شده انتظار می‌رود ES در کنار فعالیت بدنی یک روشی دیگر برای توانبخشی بیماران قلبی و چاق باشد. پژوهش‌گران تحقیقاتی که 5αR و آروماتاز را متعاقب فعالیت‌های بدنی، روزه‌داری و تحریک الکتریکی در نمونه‌های چاق بر روی بافت بیضه بررسی کرده باشند مشاهده نکردند. بحث فاکتورهای التهابی، سیستم ایمنی و واسطه‌ها و پاسخ‌های آن به فعالیت‌های ورزشی، روزه‌داری و تحریک الکتریکی، کاملاً جدید است و مطالعه‌ای در این زمینه صورت نگرفته و نظریه واحدی نیز در این خصوص وجود ندارد. با توجه به پیشینه و نتایج متفاوت پژوهشی این‌که تمرینات هوازی به‌همراه دیگر مداخله‌ها می‌توانند با تأثیرگذاری بر ادیپوسیت‌ها و افزایش ترموژنز با کاهش بافت چربی و تقویت بافت بیضه در ارتباط به نشان‌گرهای فوق تردید وجود دارد. لذا به‌دلیل در دست نبودن مطالعه‌ای در ارتباط با مسئله فوق، محقق به‌دنبال پاسخگویی به این سؤال بود که آیا انجام فعالیت بدنی هوازی به‌همراه روزه‌داری می‌تواند فرآیندهای جنسی افراد چاق مفید باشد؟ بدین ترتیب پژوهش ذیل با هدف بررسی تأثیر یک دوره تمرین استقامتی به‌همراه تحریک الکتریکی بر بیان ژن برخی از نشان‌گرهای جنسی بافت بیضه موش‌های صحرایی

¹ Electrical Stimulation

² Obesity

³ Moderate Intensity Training

⁴ Electrical Stimulation- Fasting

⁵ Moderate Intensity Training- Electrical Stimulation- Fasting

⁶ Control

قرار گرفت. با توجه به زمان بندی ایام رمضان محدودیت کالری هم برای یک ماه در برنامه غذای حیوانات در نظر گرفته شد [۲۵].

آشنایی با تردمیل: مرحله آشناسازی موش های صحرایی با تردمیل در هفته دوم، به مدت یک هفته، هفته ای پنج روز، هر روز به مدت ۱۰ دقیقه و با سرعت ۱۰ متر/دقیقه انجام شد. بررسی ها نشان داده است که این میزان تمرین در حدی نیست که منجر به تغییرات بارزی در ظرفیت هوازی نمونه های تحقیقی شود. برای دودن موش های صحرایی از طریق صدا و تحریک شرطی سازی استفاده شد تا از نزدیک شدن، استراحت و برخورد با بخش شوک الکتریکی در بخش انتهای دستگاه خودداری کنند.

برنامه تمرینی: پس از سازگاری، القا چاقی و آشناسازی با تردمیل، ابتدای به مدت پنج دقیقه، با سرعت ۱۰ متر/دقیقه و با شیب صفر درجه عمل گرم کردن انجام شد. تمرین استقامتی روی نوارگردان برای چهار هفته، هر هفته پنج جلسه، هر جلسه به مدت ۶۰ دقیقه، با سرعت ۲۰ تا ۲۹ متر/دقیقه و شدت بین ۵۰ تا ۶۵ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی انجام شد (جدول ۱). سرد کردن هم همانند گرم کردن بعد از پایان تمرین انجام شد [۲۶].

برنامه تحریک الکتریکی: برای ایجاد تحریک الکتریکی در این پژوهش از دستگاه استیمولیتور^۱ R12 ساخت شرکت پرتو دانش استفاده شد. میزان شدت جریان الکتریسیته در این برنامه ۰/۵ میلی آمپر، به مدت ۲۰ دقیقه و ۳ روز در هفته در نظر گرفته شد که از طریق خروجی های استیمولیتور با به دستگاه فوت شوک ارسال شد [۲۷].

استخراج بافت: گروه ها دو روز پس از پایان پروتکل تمرین و تحریک با ترکیبی از کتامین (۷۵ میلی گرم/کیلوگرم) و زایلازین (۱۰ میلی گرم/کیلوگرم) به روش درون صفاقی بی هوش و کشته شدند. در کلیه مراحل مختلف پژوهش ضمن رعایت مسائل اخلاقی سعی شد از هر گونه آزار جسمی و روش های غیرضروری اجتناب شود. نمونه بافت تحقیقی از بیضه موش های صحرایی برداشته و با استفاده از محلول بافر فسفات سالین^۲ (PBS) شستشو شد. سپس بلافاصله در ازت مایع منجمد گردید و تا زمان استخراج RNA به فریزر با دمای منفی ۸۰ درجه سانتی گراد انتقال داده شد.

استخراج RNA: برای شروع ارزیابی ملکولی ابتدا بافت ها از

فریزر خارج و کوبیده شد. به پودر ناشی از بافت هموژن ۷۰۰ میکرولیتر بافر محلول^۳ (LR) و ۳/۵ میکرولیتر محلول بتامرکاپتواتانول^۴ (β-ME مرک آلمان) اضافه و نمونه ها برای یک دقیقه ورتکس^۵ شدند. در ادامه به نمونه ها ۲۰۰ میکرولیتر کلروفرم^۶ (TCM مرک آلمان) اضافه گردید و ۳۰ ثانیه ورتکس مجدد انجام شد. سپس میکروتیوب های حاوی ترکیبات فوق برای ۳ دقیقه در دمای اتاق انکوبه^۷ و در سانتریفوژ (سیگما آمریکا) برای ۱۰ دقیقه با ۱۱ هزار دور/دقیقه قرار داده شد. در ادامه ۴۰۰ میکرولیتر از فاز رویی محلول به یک میکروتیوب جدید انتقال داده و با ۴۰۰ میکرولیتر اتانول مطلق^۸ (EA مرک آلمان) میکس گردید و مجدد سانتریفوژ انجام شد. پس از خروج محلول داخلی کلکتور، عمل واشینگ^۹ برای دو بار تکرار گردید و سانتریفوژ شد. ستون استخراج شده به یک میکروتیوب جدید انتقال و با محلول ۵۰ میکرولیتر ایلوشن بافر^{۱۰} (BS سیگما الدریج آلمان) ترکیب گردید. محلول حاصل سانتریفوژ شده و سپس RNA استخراج و در یخچال برای مراحل دیگر نگهداری شد.

استخراج cDNA: مطابق پروتکل شرکت سازند (Fermentas, K1622, USA) به ازای استخراج هر RNA یک میکروتیوب جدید در نظر گرفته شد. بر حسب میکروتیوب های حاوی RNA معادل یک نانوگرم ترکیب بافر ۱۰ میکرولیتر و دو میکرولیتر آنزیم اضافه گردید تا حجم نهایی با افزودن آب دیپس^{۱۱} (DW) به ۲۰ میکرولیتر افزایش یابد. سپس میکروتیوب های حاوی ترکیبات فوق به مدت زمان ۱۰ دقیقه در ۲۵ درجه سانتی گراد، ۶۰ دقیقه در ۴۷ درجه سانتی گراد و در نهایت پنج دقیقه در ۸۵ درجه سانتی گراد انکوبه شد. در انتها نمونه ها با استفاده از دستگاه نانودراپ^{۱۲} (سونی ۲۰۴۸) از نظر کمی و کیفی بررسی و همچنین کیفیت DNA نمونه ها نیز بر روی ژل الکتروفورز لود و مورد بررسی قرار گرفت.

Real Time-PCR: واکنش زنجیره پلیمرز PCR با استفاده از دستگاه لایو تکنولوژی آمریکا و مواد اولیه شرکت کیاژن (Kiagene) در آزمایشگاه دانشگاه آزاد اراک انجام گردید. در

³ Buffer Solution Laboratory Reagent

⁴ Beta Mercaptoethanol

⁵ Vortex

⁶ Chloroform or Trichloromethane

⁷ Incubation

⁸ Ethanol Absolute

⁹ Washing

¹⁰ Buffer Solution

¹¹ DEPC Water

¹² Nanodrop

¹ Stimulator

² Phosphate Buffered Saline

تجزیه و تحلیل قرار گرفت. توالی پرایمرها نیز از پایگاه داده‌های مرکز ملی اطلاعات بیوتکنولوژی (National Center for Biotechnology Information: NCBI) تهیه و سپس طراحی پرایمرهای هر دو ژن با استفاده از برنامه پرایمر مورد بررسی قرار گرفت که در جدول ۲ آمده است.

همین راستا مقدار ۶/۵ میکرولیتر آب دپس، ۱۰ میکرولیتر مسترمیکس (Mastermix)، ۰/۵ میکرولیتر روکس (Rox)، دو میکرولیتر پرایمر پیش‌رو و معکوس با یک میکرولیتر cDNA ترکیب گردید تا یک محلول ۲۰ میکرولیتری تشکیل گردد. این ترکیب در دستگاه ریل تایم با دما و سیکل‌های متفاوت مورد

جدول ۱- برنامه تمرین استقامتی

ردیف	هفته اول	هفته دوم	هفته سوم	هفته چهارم	هفته پنجم
مرحله اول	آشناسازی				
سرعت (متر/دقیقه)	۱۰	۲۰	۲۵	۲۷	۲۹
مدت (دقیقه)	۱۰			۶۰	
روز	۵			۵	
شدت	-			۶۵-۵۰ درصد VO_{2max}	
شیب	۰			۰	

جدول ۲- پرایمرهای به کار رفته در PCR

نام ژن	توالی پرایمرها
5αR	پیش‌رو CTGAGAAAACCAGGGGAA
	معکوس CAAAGCCACACCACTCC
آروماتاز	پیش‌رو GAACACCCCAGCCAAAG
	معکوس TCCAGCTTCTTTCCCAA
HKG	باز ۱۶ CCAAGCCGCATTTTT
	باز ۱۸ TCCAAGCCGCATTTTT

داد. نتایج ناشی از آزمون تعقیبی توکی افزایش معنی‌داری در گروه MIT.FA نسبت به ES.FA، OB.FA نشان داد ($F=27/5$ و $P=0/0001$). همچنین این تفاوت بین ES.FA نسبت به گروه‌های MIT.FA، OB.FA، CO نیز معنی‌دار بود ($F=33/3$ و $P=0/0001$). گروه چاق روزه‌دار OB.FA نیز با MIT.FA، ES.FA، FA تفاوت معنی‌داری از خود نشان داد ($F=24$ و $P=0/0001$). اما بین MIT.FA، MIT.FA، CO با MIT.FA و CO تفاوت معنی‌داری از خود نشان نداد ($F=0/946$ و $P=0/564$). آمار توصیفی و تحلیلی سطوح آروماتاز با توجه به مداخله تمرین استقامتی و تحریک الکتریکی در جدول ۴ ارائه شده است. همچنین شکل ۲ مقدار بیان ژن آروماتاز در گروه‌های مورد مطالعه را نشان می‌دهد. نتایج تحلیل واریانس تفاوت معنی‌داری بین گروه‌ها نشان داد. نتایج ناشی از آزمون تعقیبی توکی افزایش معنی‌داری در گروه MIT.FA نسبت به OB.FA نشان داد ($F=9/7$ و $P=0/0001$). همچنین این تفاوت بین ES.FA نسبت به گروه‌های OB.FA و CO نیز معنی‌دار بود ($F=9/6$ و $P=0/0001$). گروه چاق روزه‌دار OB.FA نیز CO تفاوت معنی‌داری از خود نشان داد ($F=20$ و

تجزیه و تحلیل آماری: بیان کمی نتایج ژن‌های 5αR و آروماتاز با روش $2^{-\Delta\Delta Ct}$ و با ژن کنترل هاوسکیپینگ^۱ (HKG) انجام شد. برای مقایسه میانگین بین گروه‌ها، از آنالیز واریانس (آنووا) دوطرفه و آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. تجزیه و تحلیل‌های آماری با استفاده از نرم‌افزار آماری گراف‌پد (نسخه ۸) در سطح معنی‌داری ($P<0/05$) و سطح اطمینان ۹۵٪ انجام شد.

ملاحظات اخلاقی: این مطالعه با کد اخلاق IR.IAU.ARAK.REC.1403.101 توسط کمیته اخلاق پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد اراک به تصویب رسیده است.

یافته‌ها

آمار توصیفی و تحلیلی سطوح 5αR با توجه به مداخله تمرین استقامتی و تحریک الکتریکی در جدول ۳ ارائه شده است. همچنین شکل ۱ مقدار بیان ژن 5αR در گروه‌های مورد مطالعه را نشان می‌دهد. نتایج تحلیل واریانس تفاوت معنی‌داری بین گروه‌ها نشان

¹ Housekeeping Genes

اما بین MIT.FA با ES.FA، MIT.ES.FA با ES.FA ($P=0/0001$)

و MIT.ES.FA با OB.FA تفاوتی معنی‌داری آزمون توکی نشان

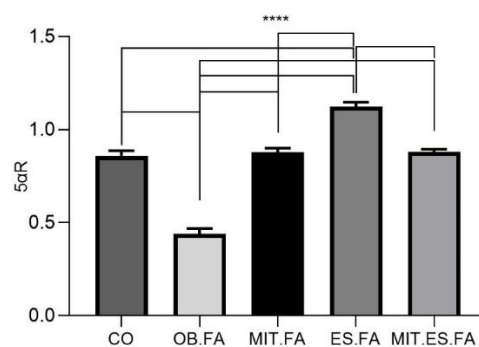
نداد ($F=3/13$ و $P=0/233$).

جدول ۳-توصیف و مقایسه متغیر 5αR در گروه‌های مختلف شرکت‌کننده در تحقیق

گروه‌ها	میانگین	مقدار SE	مقدار DF	مقدار F	مقدار P
MIT.ES.FA با MIT.FA	۰/۸۸۰۱۳	۰/۰۱۶	۱۳	۰/۲۴	۰/۹۹۹
ES.FA با MIT.FA	۰/۶۶۷۱۲	۰/۰۱۶	۱۳	۲۰	۰/۰۰۰۱***
OB.FA با MIT.FA	۰/۶۵۹۰۱	۰/۰۱۶	۱۳	۳۷	۰/۰۰۰۱***
CO با MIT.FA	۰/۸۶۹۰۰	۰/۰۱۶	۱۳	۱/۶	۰/۷۷۷
ES.FA با MIT.ES.FA	۱/۰۰۲۱	۰/۰۱۶	۱۳	۲۰	۰/۰۰۰۱***
OB.FA با MIT.ES.FA	۰/۶۹۷۸۵	۰/۰۱۶	۱۳	۳۷	۰/۰۰۰۱***
CO با MIT.ES.FA	۰/۸۷۰۴۷	۰/۰۱۶	۱۳	۱	۰/۶۷۵
OB.FA با ES.FA	۰/۷۸۱۰۴	۰/۰۱۶	۱۳	۵۷	۰/۰۰۰۱***
CO با ES.FA	۰/۹۹۱۰۲	۰/۰۱۶	۱۳	۲۳	۰/۰۰۰۱***
CO با OB.FA	۰/۶۴۹۳۵	۰/۰۱۶	۱۳	۳۵	۰/۰۰۰۱***

***نشانه تفاوت معنی‌دار بین گروه OB.FA: چاق-روزه‌دار و سایر گروه‌ها؛ MIT.FA: فعالیت استقامتی روزه‌دار؛ MIT.ES.FA: فعالیت

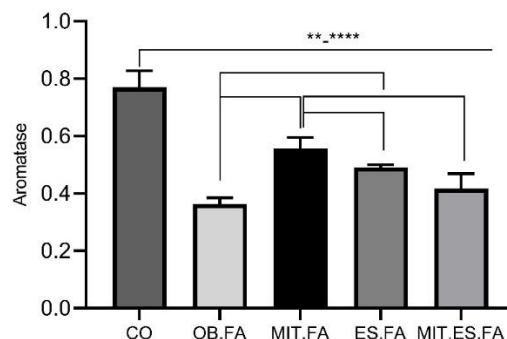
استقامتی-تحریک الکتریکی روزه‌دار؛ ES.FA: تحریک الکتریکی روزه‌دار و CO: کنترل بدون روزه؛ سطح معنی‌داری $P<0/0001$



شکل ۱-مقایسه بین گروه‌های شرکت‌کننده در تحقیق

*نشانه تفاوت معنی‌دار بین گروه OB.FA: چاق-روزه‌دار و سایر گروه‌ها؛ MIT: فعالیت استقامتی روزه‌دار؛ MIT.ES.FA: فعالیت استقامتی-تحریک الکتریکی روزه‌دار؛

ES.FA: تحریک الکتریکی روزه‌دار و CO: کنترل بدون روزه؛ سطح معنی‌داری $P<0/0001$



شکل ۲-مقایسه بین گروه‌های شرکت‌کننده در تحقیق

*نشانه تفاوت معنی‌دار بین گروه OB.FA: چاق-روزه‌دار و سایر گروه‌ها؛ MIT.FA: فعالیت استقامتی روزه‌دار؛ ES.FA: تحریک الکتریکی روزه‌دار و CO: کنترل بدون

روزه؛ سطح معنی‌داری $P<0/0001$

جدول ۴- توصیف و مقایسه متغیر آروماتاز در گروه‌های مختلف شرکت‌کننده در تحقیق

مقدار P	مقدار F	مقدار DF	مقدار SE	میانگین	گروه‌ها
۰/۰۰۱**	۶/۹	۱۳	۰/۰۲۸	۰/۷۷۸۴۴	MIT.ES.FA با MIT.FA
۰/۲۰۳	۳/۲	۱۳	۰/۰۲۸	۰/۵۳۳۷۷	ES.FA با MIT.FA
۰/۰۰۰۱****	۹/۵	۱۳	۰/۰۲۸	۰/۴۵۹۹۹	OB.FA با MIT.FA
۰/۰۰۰۱****	۱۰	۱۳	۰/۰۲۸	۰/۶۶۳۶۱	CO با MIT.FA
۰/۱۱۹	۳/۶	۱۳	۰/۰۲۸	۰/۴۱۰۶۲	ES.FA با MIT.ES.FA
۰/۳۷۷	۲/۶	۱۳	۰/۰۲۸	۰/۳۴۶۸۰	OB.FA با MIT.ES.FA
۰/۰۰۰۱****	۱۷	۱۳	۰/۰۲۸	۰/۵۵۰۴۶	CO با MIT.ES.FA
۰/۰۰۳**	۶/۳	۱۳	۰/۰۲۸	۰/۴۲۷۳۰	OB.FA با ES.FA
۰/۰۰۰۱****	۱۳	۱۳	۰/۰۲۸	۰/۶۳۰۳۹	CO با ES.FA
۰/۰۰۰۱****	۲۰	۱۳	۰/۰۲۸	۰/۵۶۷۱۵	CO با OB.FA

**نشانه تفاوت معنی‌دار بین گروه OB.FA و سایر گروه‌ها؛ MIT.FA فعالیت استقامتی روزه‌دار؛ MIT.ES.FA: فعالیت استقامتی-تحریک

الکتریکی روزه‌دار؛ ES.FA: تحریک الکتریکی روزه‌دار، OB.FA: چاق -روزه‌دار و CO: کنترل بدون روزه؛ سطح معنی‌داری ۰/۰۰۰۱ < P

بحث

هدف از پژوهش حاضر بررسی تأثیر یک دوره تمرین استقامتی به همراه تحریک الکتریکی بر بیان ژن برخی از نشانگرهای جنسی بافت بیضه موش‌های صحرایی چاق روزه‌دار بود. از یافته‌های مهم این پژوهش می‌توان به افزایش معنی‌دار سطوح ژن $5\alpha R$ در کلیه گروه‌ها نسبت به گروه چاق روزه‌دار اشاره نمود. همچنین سطوح ژن آروماتاز در گروه تمرین نسبت به گروه چاق افزایش معنی‌داری از خود نشان داد. تستوسترون، فراوان‌ترین آندروژن موجود در سرم بوده که توسط سلول‌های لایدیگ^۱ بیضه و تحت کنترل هیپوتالاموس و غده هیپوفیز قدامی سنتز می‌شود. از پنج میلی گرم تستوسترونی که روزانه توسط بیضه‌ها تولید می‌شود، نزدیک به شش تا هشت درصد آن توسط $5\alpha R$ متابولیزه شده تا $0/3$ میلی گرم DHT بسازد [۲۸]. تستوسترون این فرایند را در درون سلول و از طریق لیگاندی به نام $5\alpha R$ برای انتقال فعال گیرنده آندروژن و تبدیل آن به DHT به صورت ترجیحی انجام می‌دهد. پس از اتصال لیگاند و انتقال فعال، کمپلکس DHT و گیرنده آندروژن از سیتوپلاسم به هسته انتقال یافته و رونویسی از ژن‌های تنظیم‌کننده گیرنده آندروژن فعال می‌شود. DHT در دوران جنینی برای تمایز و رشد غده پروستات، آلت تناسلی، کیسه بیضه، بلوغ و رشد موهای صورت و بدن مهم است. DHT دو تا پنج مرتبه تمایل بیشتری به اتصال با گیرنده آندروژن و در حدود ۱۰ مرتبه توانایی بالاتر در القای سیگنالینگ گیرنده آندروژن دارد [۲۹]. شواهد مطالعاتی نشان می‌دهد تمرینات ورزشی، در پیش‌گیری و درمان آسیب‌های عملکردی بیضه، اختلالات اسپرمی

ناشی از آن و آنزیم‌های مترشحه از آن در افراد چاق و دارای اضافه‌وزن مؤثر است [۳۰]. همچنین یافته‌های دیگری حاکی از تأثیر مفید فعالیت ورزشی بر پارامترهای اسپرمی مردان نابارور و بهبود عملکرد سیستم تولید مثل در این بیماران را نشان می‌دهد [۳۱]. Sadeghi و همکاران (۲۰۱۷) در مطالعه خود به بررسی تأثیر تمرین مقاومتی بر بیان ژن‌ها $5\alpha R$ در بافت بیضه موش‌های صحرایی پرداختند و نشان دادند تمرینات ورزشی منجر به افزایش بیان ژن فوق می‌شود [۱۶]. در پژوهش دیگری از Aizawa و همکاران (۲۰۱۱) نشان داده شد تمرینات استقامتی منجر به افزایش غلظت DHT عضلانی از طریق $5\alpha R$ در عضلات اسکلتی موش‌های صحرایی می‌شود [۱۷]. Okamoto و همکاران (۲۰۱۲) نیز در پژوهشی عنوان کردند که فعالیت منظم دودیدن، افزایش DHT در هیپوکامپ را به همراه خواهد داشت. این افزایش از طریق مسیر گلوتاماترژیک^۲ ایجاد شده و نوروزن در هیپوکامپ را تقویت نموده و منجر به افزایش معنی‌داری سطوح $5\alpha R$ می‌شود [۳۲]. در تحقیق دیگری Bhasin و همکاران (۲۰۱۲) به بررسی مکمل تستوسترون با و بدون مهارکننده $5\alpha R$ روی توده بدون چربی مردان با منع تولید تستوسترون پرداختند. نتایج آنها نشان داد که تغییرات در توده بدون چربی در پاسخ به دوزهای تستوسترون تدریجی در مردانی که DHT آنها سرکوب شد در مقایسه با گروه دارونما تفاوتی نداشت [۳۳]. کلیه نتایج تحقیقات فوق افزایش $5\alpha R$ را نشان دادند که با نتایج تحقیق فوق همسو بود. از دیگر نتایج تحقیق حاضر افزایش معنی‌دار آروماتاز با تمرین استقامتی نسبت به گروه چاق روزه‌دار بود. آروماتاز جزء ویژه‌ای از سیستم

² Glutamatergic Pathway

¹ Leydig cells

فرکانس پایین باعث افزایش معنی‌دار DHEA و تستوسترون هورمون‌های جنسی مردان شد [۳۸]. همچنین Acar و همکاران (۲۰۱۴) گزارش کردند طب سوزنی الکتریکی با بهبود جریان خون بیضه در عملکرد بیضه نتایج مثبتی را در مدل آزمایشی موش صحرایی دارای پیچ‌خوردگی بیضه داشته است [۳۹]. آقای Ranjbar-Shayan و همکاران (۲۰۲۳) در پژوهش خود به اثربخشی درمان تحریک فراجمجمه‌ای مغز با جریان مستقیم بر اختلال میل جنسی مردان پرداختند و نشان دادند ۱۰ جلسه ۲۰ دقیقه‌ای ES منجر به کاهش معنی‌دار اختلالات جنسی آنها شده است [۴۰]. به نظر می‌رسد ES با اثرگذاری بر مسیرهای ضدالتهابی کولینرژیک، آزاد شدن میانجی‌های التهابی را مهار می‌کند، در نتیجه با پیشرفت بیماری‌های مختلف مانند چاقی که در ارتباط با التهاب هستند را کندتر می‌کند. همچنین می‌تواند آزادسازی سایتوکین‌های پیش‌التهابی مانند $IL-1b^2$ ، $TNF-\alpha^3$ ، $IL-6^4$ و $IL-17^5$ را در بیماران نیز مهار کند [۴۱]. به دلیل جدید بودن موضوع و تحقیقات مربوط به بازتوانی ورزشی به همراه تحریک الکتریکی در شرایط روزه‌داری بررسی اثرات متقابل آن با تحریک‌ها و شدت‌های متفاوت و به‌ویژه در غالب بیان ژن نیاز به تحقیقات بیش‌تری خواهد داشت و پیشینه‌ای در این خصوص مشاهده نشد.

نتیجه‌گیری

به نظر می‌رسد تمرین استقامتی و تحریک الکتریکی در حین روزه‌داری با افزایش بیان ژن‌های ۵-آلفا ردوکتاز و آروماتاز در نمونه‌های چاق در سلامت جنسی آنها مؤثر بوده و منجر به بهبود آن می‌شود. همچنین تلفیقی از تحریک الکتریکی و تمرین ورزشی نیز می‌تواند اثرات مثبتی بر این روند داشته باشد اما نیازمند مطالعات بیش‌تری است.

حامی مالی

این تحقیق هیچ‌گونه کمک مالی از سازمان‌های تأمین مالی در بخش‌های عمومی، تجاری یا غیرانتفاعی دریافت نکرد.

سپاسگزاری

این مقاله حاصل رساله دکتري نویسنده اول بوده و از همه افرادی که در این تحقیق مشارکت داشتند تشکر و قدردانی می‌نمایم.

آنزیمی سیتوکروم P450 است که مسئول تبدیل پیش‌سازهای آندروژن به استروژن در بسیاری از بافت‌های بدن از جمله بیضه است. فعالیت آروماتاز غلظت استروژن را با اثرات آندوکراین، پاراکراین و اتوکراین بر بافت‌های هدف تنظیم می‌کند [۳۴]. استروژن‌ها در بیضه تولید شده و بالاترین سطوح آنها در مردها در درون مجرای تناسلی است [۳۵]. به هر حال نقش استروژن‌ها در تولید مثل مردان به‌طور کامل شناخته نشده است و باید به‌طور گسترده مورد بررسی قرار گیرد. مشخص شده است که مهارکننده‌های آروماتاز بلوغ اسپرماتید را، در موش‌های صحرایی کاهش می‌دهند. همچنین موش‌های صحرایی نر که فاقد ژن آروماتاز عملکردی یا گیرنده‌های استروژنی هستند، تغییراتی در اسپرماتوژنز ایجاد می‌کنند که به تدریج باعث ناباروری می‌شود [۳۶]. توانایی بیضه در تبدیل آندروژن به استروژن به‌حضور کمپلکس آنزیمی میکروزومال به نام آروماتاز بستگی دارد. به نظر می‌رسد تستوسترون روی بخش‌های عصبی مؤثر بر رفتار جنسی به‌طور مستقیم و با عنوان یک آندروژن عمل نکرده و به ۱۷-بتا استرادیول تبدیل می‌شود. این هورمون در منطقه پراپتیک^۱ مغز توسط آنزیم آروماتاز کاتالیز شده و برای فعال شدن رفتار تناسلی مرد مهم و حیاتی است [۱۴]. از همین‌رو انجام فعالیت‌های ورزشی هوازی به‌ویژه برای افرادی که چاق و دارای اضافه‌وزن بوده در راستای فعال‌سازی ژن فوق و اثرگذاری مثبت بر رویکرد فیزیولوژیک جنسی داری اهمیت است. Aizawa و همکاران (۲۰۱۱) نشان دادند تمرینات استقامتی منجر به افزایش معنی‌داری ژن آروماتاز موش‌های صحرایی نسبت به گروه کنترل شد [۱۷]. همچنین Sadeghi و همکاران (۲۰۱۷) نیز در مطالعه خود نشان دادند تمرینات مقاومتی نیز منجر به افزایش بیان ژن آروماتاز در بافت بیضه موش‌های صحرایی و بیستار شد [۱۶]. در مطالعه دیگری Aghaie و همکاران (۲۰۱۸) به بررسی تأثیر فعالیت ورزشی بر بیان ژن آروماتاز در موش‌های صحرایی پرداختند و افزایش معنی‌داری را نشان دادند [۳۷]. در خصوص نتایج ژن فوق نیز محققین پژوهش حاضر نتایج تضادی یافت نکردند. از دیگر نتایج تحقیق فوق افزایش معنی‌دار بیان ژن $5\alpha R$ و آروماتاز موش‌های صحرایی با ES نسبت به گروه چاق روزه‌دار بود. همچنین تلفیقی از ES و تمرین ورزشی تغییرات معنی‌داری در مقادیر ژن $5\alpha R$ نشان داد. محققین پژوهشی با مداخلات فوق بر افراد چاق روزه‌دار در خصوص ES مشاهده نکردند. در نتایج تحقیق Kim (۲۰۱۳) نشان داده شد ۶۰ دقیقه تحریک الکتریکی با

¹ Preoptic Area

² Interleukin-1 Beta

³ Tumor necrosis factor- α

⁴ Interleukin-6

⁵ Interleukin-17

References

- World Health Organization. Facts in Pictures: Obesity. <https://www.who.int/news room/facts-in-pictures/detail/6-facts-on-obesity> 2022.
- Abiri B, Ahmadi AR, Amini S, Akbari M, Hosseiniapanah F, Madinehzad SA, Hejazi M, Rishehri AP, Naserghandi A, Valizadeh M. Prevalence of overweight and obesity among Iranian population: a systematic review and meta-analysis. *J Health Popul Nutr.* 2023; 42(1):70.
- SM F. Obesity: Risk factors, complications, and strategies for sustainable long-term weight management. *J Am Assoc Nurse Pract.* 2017; 29:S3-14.
- Homan GF, Davies M, Norman R. The impact of lifestyle factors on reproductive performance in the general population and those undergoing infertility treatment: a review. *Hum Reprod Update.* 2007; 13(3):209-23.
- Nasiri K, Akbari A, Nimrouzi M, Ruyvaran M, Mohamadian A. Safflower seed oil improves steroidogenesis and spermatogenesis in rats with type II diabetes mellitus by modulating the genes expression involved in steroidogenesis, inflammation and oxidative stress. *J Ethnopharmacol.* 2021; 275:114139.
- Hackett G. Type 2 diabetes and testosterone therapy. *World J Mens Health.* 2018; 37(1):31-44.
- Kumar G, Barboza-Meca JJ. *5-Alpha-Reductase Deficiency*. [Updated 2022 Oct 17]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2025 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK539904/>
- Hartgens F, Kuipers H. Effects of androgenic-anabolic steroids in athletes. *Sports Med.* 2004; 34(8):513-54.
- Santollo J, Eckel LA. Estradiol decreases the orexigenic effect of neuropeptide Y, but not agouti-related protein, in ovariectomized rats. *Behav Brain Res.* 2008;191(2):173-7.
- Ghosh D, Griswold J, Erman M, Pangborn W. Structural basis for androgen specificity and oestrogen synthesis in human aromatase. *Nature.* 2009; 457(7226):219-23.
- Jakimiuk AJ, Weitsman SR, Brzechffa PR, Magoffin DA. Aromatase mRNA expression in individual follicles from polycystic ovaries. *Mol Hum Reprod.* 1998; 4(1):1-8.
- Merchenthaler I, Lane MV, Numan S, Dellovade TL. Distribution of estrogen receptor alpha and beta in the mouse central nervous system: in vivo autoradiographic and immunocytochemical analyses. *J Comp Neurol.* 2004; 473(2):270-91.
- AL K. Orexins in the brain-gut axis. *Endocr Rev.* 2002; 23(1-15).
- Balthazart J, Baillien M, Cornil CA, Ball GF. Preoptic aromatase modulates male sexual behavior: slow and fast mechanisms of action. *Physiol Behav.* 2004; 83(2):247-70.
- Wang JM, Gong TY, Zhao ZJ. Effects of exercise on sex hormones and expression of relevant genes in the hypothalamus in obese mice. *J Biol Regul Homeost Agents.* 2019; 33(2):517-523.
- Sadeghi M, Abbassi Dalooi A, Ziaolhagh S. Effect of 6 Weeks of Resistance Training and Boldenone Supplementation on 5-alpha Reductase and Aromatase Gene Expression in Testes Tissue of Male Wistar Rats. *Intern Med Today.* 2017; 23 (3):193-198.
- Aizawa K, Iemitsu M, Maeda S, Mesaki N, Ushida T, Akimoto T. Endurance exercise training enhances local sex steroidogenesis in skeletal muscle. *Med Sci Sports Exerc.* 2011; 43(11):2072-80.
- Welton S, Minty R, O'Driscoll T, Willms H, Poirier D, Madden S, Kelly L. Intermittent fasting and weight loss: Systematic review. *Can Fam Physician.* 2020; 66(2):117-125.
- Mattson MP, Longo VD, Harvie M. Impact of intermittent fasting on health and disease processes. *Ageing Res Rev.* 2017; 39:46-58.
- Cienfuegos S, Corapi S, Gabel K, Ezpeleta M, Kalam F, Lin S, Pavlou V, Varady KA. Effect of Intermittent Fasting on Reproductive Hormone Levels in Females and Males: A Review of Human Trials. *Nutrients.* 2022; 14(11):2343.
- Greenway F, Zheng J. Electrical stimulation as treatment for obesity and diabetes. *J Diabetes Sci Technol.* 2007; 1(2):251-9.
- Iwami M, Alkayed F, Shiina T, Taira K, Shimizu Y. Activation of brown adipose tissue thermogenesis by electrical stimulation to the dorsal surface of the tissue in rats. *Biomed Res.* 2013; 34(4):173-8.
- Hamida ZH, Comtois AS, Portmann M, Boucher JP, Savard R. Effect of electrical stimulation on lipolysis of human white adipocytes. *Appl Physiol Nutr Metab.* 2011; 36(2):271-5.
- Duarte FO, Sene-Fiorese M, Manzoni MS, de Freitas LF, Cheik NC, Garcia de Oliveira Duarte AC, Nonaka KO, Dâmaso A. Caloric restriction and refeeding promoted different metabolic effects in fat depots and impaired dyslipidemic profile in rats. *Nutrition.* 2008; 24(2):177-86.
- Estadella D, Oyama LM, Dâmaso AR, Ribeiro EB, Oller Do Nascimento CM. Effect of palatable hyperlipidic diet on lipid metabolism of sedentary and exercised rats. *Nutrition.* 2004; 20(2):218-24.
- Vincent HK, Powers SK, Stewart DJ, Demirel HA, Shanely RA, Naito H. Short-term exercise training improves diaphragm antioxidant capacity and endurance. *Eur J Appl Physiol.* 2000; 81(1-2):67-74.
- Malekipooa M. Response of acute incremental aerobic activity along with electrical stimulation on some markers of angiogenesis in Isoproterenol induced rats. *EBNESINA* 2024; 26(1):28-37.
- Gruntmanis U. The Role of 5 α -Reductase Inhibition in Men Receiving Testosterone Replacement Therapy. *JAMA.* 2012; 307(9).
- Beato M. Gene regulation by steroid hormones. *Cell.* 1989; 56(3):335-44.
- Yi X, Gao H, Chen D, Tang D, Huang W, Li T, Ma T, Chang B. Effects of obesity and exercise on testicular leptin signal transduction and testosterone biosynthesis in male mice. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2017; 312(4):R501-R510.

31. Hajizadeh Maleki B, Tartibian B. Moderate aerobic exercise training for improving reproductive function in infertile patients: A randomized controlled trial. *Cytokine*. 2017; 92:55-67.
32. Okamoto M, Hojo Y, Inoue K, Matsui T, Kawato S, McEwen BS, Soya H. Mild exercise increases dihydrotestosterone in hippocampus providing evidence for androgenic mediation of neurogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2012; 109(32):13100-5.
33. Bhasin S, Travison TG, Storer TW, Lakshman K, Kaushik M, Mazer NA, Ngyuen AH, Davda MN, Jara H, Aakil A, Anderson S, Knapp PE, Hanka S, Mohammed N, Daou P, Miciek R, Ulloor J, Zhang A, Brooks B, Orwoll K, Hede-Brierley L, Eder R, Elmi A, Bhasin G, Collins L, Singh R, Basaria S. Effect of testosterone supplementation with and without a dual 5 α -reductase inhibitor on fat-free mass in men with suppressed testosterone production: a randomized controlled trial. *JAMA*. 2012; 307(9):931-9.
34. Merlotti D, Gennari L, Stolakis K, Nuti R. Aromatase activity and bone loss in men. *J Osteoporos*. 2011; 2011:230671.
35. Hess RA. Oestrogen in fluid transport in efferent ducts of the male reproductive tract. *Rev Reprod*. 2000; 5(2):84-92.
36. Robertson KM, O'Donnell L, Jones ME, Meachem SJ, Boon WC, Fisher CR, Graves KH, McLachlan RI, Simpson ER. Impairment of spermatogenesis in mice lacking a functional aromatase (cyp 19) gene. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1999; 96(14):7986-91.
37. Aghaie F, Khazali H, Hedayati M, Akbarnejad A. The Effects of Exercise on Expression of CYP19 and StAR mRNA in Steroid-Induced Polycystic Ovaries of Female Rats. *Int J Fertil Steril*. 2018; 11(4):298-303.
38. Kim J. Effects of low frequency electrical stimulation on the change of male sex hormones in normal men. *Toxicology and Environmental Health Sciences*. 2013; 5(1):20-5.
39. Acar O, Esen T, Colakoglu B, Camli MF, & Cakmak YO. Improving Testicular Blood Flow With Electroacupuncture-Like Percutaneous Nerve Stimulation in an Experimental Rat Model of Testicular Torsion. *Neuromodulation: Technology at the Neural Interface*. 2014; 18(4):324-8.
40. Ranjbar-Shayan H TSM, Panahali A. Comparing the Effectiveness of Transcranial Direct Current Stimulation and Cognitive Behavioral Therapy Treatments on Sexual Desire Disorder in Men. *Journal of Psychology*. 2023; 27 (3):313-22.
41. Sun X LM SD HL, Cai RL, Wu ZJ, et al. Effects of Acupuncture Neiguan (PC 6) and Xinshu (BL 15) on the expression of MMP-9 with coronary heart disease rats. *J Tradit Chin Med*. 2013;036:5-9.