

## **The Effect of High Intensity Interval Training on Hormonal Hypothalamic-Pituitary-Gonadal Axis and Fertility in Type 2 Diabetic Male Rats**

Mohammad Parastesh<sup>1\*</sup>, Nader Shavandi<sup>2</sup>

1. Assistant Professor, Department of Sport Physiology and Pathology, Faculty of Sport Sciences, Arak University, Arak, Iran.

2. Associate Professor, Department of Sport Physiology and Pathology, Faculty of Sport Sciences, Arak University, Arak, Iran.

Received: 5 Feb 2018, Accepted: 4 Mar 2018

---

### **Abstract**

**Background:** Diabetes mellitus is associated with reductions in fertility indices. Interval training, on the other hand, through reducing the adverse effects of diabetes, exerts a positive impact on diabetic individuals. The aim of the present study was to examine the effects of ten weeks of High Intensity Interval Training (HIIT) on reproductive hormones and sperm parameters in Wistar rats with diabetes mellitus type 2.

**Materials and Methods:** In this experimental study, 36 Wistar rats with mean weight of 200±48 were randomly assigned to healthy control, diabetic control and diabetic + high intensity interval training groups. The diabetic training group received ten weeks of HIIT training by treadmill following the induction of diabetes. Twenty-four hours after the last training session, left epididymis of the rats was examined for studying sperm parameters and blood serum samples were examined for evaluating reproductive hormones. Data were analyzed by one-way ANOVA and Tukey's post hoc test at a significant level of 0.05%.

**Results:** Ten weeks of HIIT training reduces fasting blood glucose ( $p=0.001$ ) and significantly increases serum testosterone ( $p=0.001$ ), LH ( $p=0.042$ ) and FSH ( $p=0.024$ ) levels in the HIIT training group in comparison to the diabetic group. In addition, sperm parameters (sperm count, survival rate and motility) presented significant improvements compared to the diabetic group ( $p<0.05$ ).

**Conclusion:** It seems that HIIT training can improve sperm count, survival rate and motility, through increasing serum testosterone, LH and FSH levels (reproductive hormones) in rats with diabetes mellitus type 2.

**Keywords:** Diabetes mellitus type 2, HIIT training, Reproductive hormones, Sperm parameters

\*Corresponding Author:

Address: Department of Sport Physiology and Pathology, Faculty of Sport Sciences, Arak University, Arak, Iran.

Email: Mohamad.parastesh@gmail.com

## اثر تمرین تناوبی با شدت بالا بر محور هورمونی هیپوتالاموس - هیپوفیز - گنادال و باروری موش‌های صحرایی نر دیابتی نوع ۲

محمد پرستش<sup>۱\*</sup>، نادر شوندی<sup>۲</sup>

۱. استادیار، گروه فیزیولوژی و آسیب شناسی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه اراک، اراک، ایران.

۲. دانشیار، گروه فیزیولوژی و آسیب شناسی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه اراک، اراک، ایران.

تاریخ دریافت: ۹۶/۱۱/۱۶، تاریخ پذیرش: ۹۶/۱۲/۱۳

### چکیده

**زمینه و هدف:** دیابت ملیتوس با کاهش شاخص‌های باروری همراه است. از طرفی، تمرین تناوبی با شدت بالا با کاهش عوارض دیابت تأثیر مثبتی بر افراد دیابتی دارد. هدف از مطالعه حاضر، بررسی اثر ۱۰ هفته اثر تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT) بر سطوح سرمی هورمون‌های جنسی و پارامترهای اسپرم موش‌های صحرایی دیابتی نوع ۲ بود.

**مواد و روش‌ها:** در این مطالعه تجربی، ۳۶ سر موش صحرایی از نژاد ویستار در محدوده وزنی  $200 \pm 48$  به طور تصادفی به سه گروه (کنترل سالم، کنترل دیابتی و دیابتی همراه با تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT)) تقسیم شدند. گروه دیابتی تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT) یک هفته بعد از القاء دیابت، به مدت ۱۰ هفته تمرینات HIIT منظم را به وسیله تردمیل انجام دادند. ۲۴ ساعت بعد از آخرین جلسه تمرین، اپیدیم چپ جهت بررسی پارامترهای اسپرم و سرم خون موش‌های صحرایی جهت بررسی هورمون‌های جنسی جمع آوری شد. داده‌ها با استفاده از آزمون تحلیل واریانس یک طرفه و آزمون تعقیبی توکی در سطح معناداری ۰/۰۵ بررسی شدند.

**یافته‌ها:** ۱۰ هفته تمرین HIIT موجب کاهش معنادار در قند خون ناشتا ( $p=0/001$ ) و افزایش معنادار سطوح سرمی تستوسترون ( $p=0/001$ )، LH ( $p=0/042$ ) و FSH ( $p=0/024$ ) در گروه تمرین HIIT نسبت به گروه کنترل دیابتی شد. همچنین پارامترهای اسپرم (تعداد، قابلیت حیات و تحرک) در گروه تمرین HIIT نسبت به گروه دیابتی بهبود یافت ( $p<0/05$ ).

**نتیجه‌گیری:** به نظر می‌رسد تمرین HIIT از طریق افزایش سطوح سرمی هورمون‌های جنسی تستوسترون، LH و FSH موجب بهبود تعداد، زنده ماندن و قابلیت حرکت اسپرم در موش‌های دیابتی نوع ۲ می‌شود.

**واژگان کلیدی:** دیابت نوع ۲، پارامترهای اسپرم، هورمون‌های جنسی، تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT)

\*نویسنده مسئول: ایران، اراک، دانشگاه اراک، دانشکده علوم ورزشی، گروه فیزیولوژی و آسیب شناسی ورزشی

Email: Mohamad.parastesh@gmail.com

## مقدمه

دیابت شیرین یک اختلال درون ریز است که از طریق هیپرگلیسمی مزمن که نتیجه نقص در تولید انسولین و یا مقاومت به آن می باشد مشخص و شناخته می شود. دیابت در تمامی کشورهای توسعه یافته و در حال توسعه از جمله ایران رو به افزایش است. گزارش ها نشان می دهد که هم اکنون تقریباً ۱۰ درصد از جمعیت جهان به این بیماری مبتلا هستند (۱، ۲). در دیابت نوع ۲ مشاهده شده که عوامل ژنتیکی، چاقی و کم تحرکی نقش مهمی در ابتلای فرد دارد. در دیابت سرعت و توانایی بدن در استفاده و سوخت و ساز کامل گلوکز کاهش می یابد، از این رو میزان قند خون افزایش یافته که با آن هایپرگلیسمی می گویند. وقتی این افزایش قند در درازمدت در بدن وجود داشته باشد، رگ های بسیار ریز بدن تخریب می شوند که می توانند اعضای مختلف بدن از جمله کلیه، چشم و اعصاب را درگیر کنند. همچنین دیابت با افزایش خطر بیماری های قلبی عروقی ارتباط مستقیمی دارد. بیماران دیابتی مستعد مشکلات جنسی شامل کاهش هیجان جنسی، توانایی جنسی و نازایی می باشند (۲). دیابت اثرات منفی متنوعی بر عملکرد و ساختارهای سیستم تولید مثل جنس مذکر بر جای می گذارد که از جمله مهم ترین آن ها می توان به کاهش سطح تستوسترون، تحلیل غدد ضمیمه تولیدمثلی و کاهش میل و رفتارهای جنسی اشاره کرد. این بیماری بر اسپرم سازی نیز تأثیر منفی دارد (۳). بیماری بیشتر مبتلایان به دیابت نوع ۱ قبل از سن ۳۰ سالگی تشخیص داده می شود و این یک زنگ خطر برای کودکان و بزرگسالان مبتلا به دیابت نوع ۱ و نوع ۲ به شمار می رود (۴). به علاوه رژیم های غذایی پر کالری، سبک زندگی و چاقی در افراد جوان به طور مؤثری در افزایش شیوع دیابت نوع ۲ جوانان نقش دارد (۵). با این که شکی نیست که این بیماری مسئول برخی از تغییرات پاتولوژیکی و بیوشیمیایی است که باعث کاهش باروری مردان می شود، اثر واقعی دیابت ملیتوس بر سلامت باروری مردان به صورت یک بحث بزرگ و متوقف شده باقی مانده

است. اختلالات جنسی مانند اختلال در نعوظ یا ضعف در انزال در افراد دیابتی تشخیص داده شده و شناخته شده اند و معمولاً به کاهش میل جنسی که اغلب با یک خستگی و بیزاری جنسی مرتبط با شرایط هایپرگلیسمی می باشد ختم می شود (۶). به علاوه اختلال در کارکرد انسولین که در افراد دیابتی وجود دارد ممکن است عملکرد غدد جنسی را تغییر دهد. در مطالعه ای درباره شیوع مقاومت به انسولین در مردان با مشکل نعوظ، مشخص شد که این مردان مقاومت بالایی به انسولین دارند، بنابراین این موضوع نقش مؤثر انسولین در سلامت باروری مردان را ثابت می کند (۷). به علاوه، کیفیت مایع منی در افراد مبتلا به دیابت نوع ۱ و ۲ که شامل کاهش حرکت اسپرم و تعداد آن و نیز افزایش اسپرم های ناهنجار می باشد، گزارش شده است (۸). دیگر محققان گزارش کردند در مردانی که نسبت به انسولین مقاوم هستند ترشح تستوسترون در سلول های لایدیگ کاهش یافته و مشکلات ناباروری جدی به وجود می آید (۹). همچنین گانلی و همکاران گزارش کردند که تغییرات بافتی بیضه در موش های صحرایی دیابتی، در اثر تغییر ایجاد مرگ سلولی آپوپتوزی، آتروفی لوله های اسپرم ساز، کاهش قطر توبول و کاهش مجموعه های سلولی اسپرماتوژنیک ایجاد می شود (۱۰). در تأیید این مطالب ویگنون و همکاران گزارش دادند که دیابت سبب افزایش ضخامت غشاء پایه لوله های اسپرم ساز می شود که با کاهش میزان تولید اسپرم همراه است، همچنین کاهش در تعداد سلول های سرتولی منجر به کاهش سلول های اسپرماتوگونی می شود (۱۱). نتایج بسیاری از مطالعات صورت گرفته بر روی ارتباط بین دیابت و تأثیر آن بر باروری نشان می دهد که افراد دیابتی از اختلالات ناباروری رنج می برند که این امر با کاهش سطوح هورمون های LH، FSH و متعاقب آن تستوسترون، کاهش اسپرماتوژنز و تغییرات منفی در پارامترهای اسپرم همراه است (۱۲). از طرفی، فعالیت بدنی می تواند پاسخ عضله اسکلتی به انسولین را از طریق افزایش بیان و یا فعالیت های پروتئین های درگیر در متابولیسم و سیگنالینگ انسولین بالا

ناشی از آن از جمله اختلال در میل جنسی و کاهش کیفیت باروری افراد دیابتی یکی از نگرانی‌های جدی جوامع در حال توسعه است. از این رو، این مطالعه با هدف اثر تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT) بر محور هورمونی هیپوتالاموس-هیپوفیز-گنادال و باروری موش‌های صحرایی دیابتی نوع ۲ انجام شد.

### مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر از نوع تجربی است که به شیوه‌ی آزمایشگاهی انجام شد. در این تحقیق از ۳۶ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار بالغ با دامنه وزنی  $48 \pm 20$  گرم و سن ۸ هفته استفاده شد که از دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله تهیه گردیدند. موش‌ها در محیطی با دمای  $22 \pm 2$  درجه سانتی-گراد، چرخه روشنایی و تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت و در قفس‌های پلی کربنات (۵ موش در هر قفس) نگهداری شدند. جهت ایجاد دیابت نوع ۲ بعد از ۱۲ ساعت ناشتا بودن موش‌های صحرایی مورد نظر، از محلول نیکوتین آمید (ساخت شرکت سیگما، آمریکا) محلول شده در نرمال سالین با دوز ۱۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و بعد از ۱۵ دقیقه از محلول استرپتوزوتوسین (STZ) (ساخت شرکت سیگما، آمریکا) محلول در بافر سترات ۰/۱ مولار با دوز ۶۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت تزریق درون صفاقی استفاده شد. ۷۲ ساعت پس از تزریق جهت اطمینان از دیابتی شدن، موش‌های صحرایی که میزان قند خون آن‌ها بیشتر از ۲۵۰ میلی‌گرم بر دسی لیتر بود به عنوان دیابتی در نظر گرفته شدند (۱۷). سطوح قند خون در موش‌های صحرایی در هر مرتبه بعد از ۱۲ ساعت ناشتا بودن توسط گلوکومتر (بورر مدل GL42، ساخت کشور آلمان) اندازه‌گیری شد. در ادامه، موش‌های صحرایی دیابتی شده به طور تصادفی به دو گروه دیابتی تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT) (۱۲ سر) و گروه کنترل دیابتی (۱۲ سر) تقسیم شدند و یک گروه دیگر از موش‌های صحرایی که قند

برد. به طوری که فعالیت بدنی فعالیت گلیکوژن سنتاز و بیان پروتئین‌های ناقل گلوکز (GLUT4) را افزایش می‌دهد. در افراد مبتلا به دیابت نیز آمادگی بدنی با کاهش اکسیداسیون چربی و جابه‌جایی به سمت اکسیداسیون بیشتر کربوهیدرات در تمام شدت‌های ورزشی همراه است. در بیماران دیابتی که نقص در عملکرد انسولین دارند، تمرینات بدنی منظم موجب می‌شود از طریق افزایش حساسیت به انسولین و هم‌چنین در غیاب انسولین ورود قند به داخل سلول‌های عضلانی و در نتیجه مصرف آن تسهیل گردد. هم‌چنین فعالیت‌های ورزشی با افزایش سطوح GLUT4 باعث کاهش مقاومت به انسولین می‌گردند (۱۳). مطالعات نشان داده‌اند که تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT) می‌تواند سطوح سرمی تستوسترون را بعد از یک دوره تمرین افزایش دهد (۱۴) که این موضوع ظاهراً می‌تواند یک جنبه مثبت تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT) برای باروری افراد دیابتی باشد. از طرفی در حالی که اثرات مثبت تمرینات تداومی با شدت پایین تا متوسط در مطالعات علمی انکارناپذیر است، اکنون با توجه به نتایج تحقیقات جدید روشن شده است هنگامی که سلامت کلی فرد، فواید عملکردی و کمبود زمان برای افراد در نظر گرفته می‌شود، تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT) نسبت به تمرینات تداومی با شدت متوسط معمولاً نتایج مطلوب‌تری را در زمان کوتاه‌تری حاصل می‌کند. در تحقیق دندیل و همکاران (۲۰۰۹) به وضوح مشخص شد که تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT) نسبت به تمرینات تداومی با شدت متوسط موجب کاهش بیشتر قند خون ناشتا و میزان انسولین و افزایش بیشتر حساسیت به انسولین در افراد دارای دیابت نوع ۲ می‌شود (۱۵). هم‌چنین نیز می‌توان بیان کرد افرادی که قصد شرکت در فعالیت‌های ورزشی را دارند نمی‌توانند کمبود زمان برای پرداختن به فعالیت را در این گونه تمرینات بهانه کنند، زیرا تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT) نسبت به تمرینات تداومی جهت کسب مزایای فعالیت بدنی نیاز به صرف زمان کمتری دارند (۱۶). افزایش شیوع دیابت در سراسر دنیا و مشکلات

تمرینی در ابتدا ۵ دقیقه برای گرم کردن (با شدت ۱۶ متر در دقیقه) و در انتها ۵ دقیقه برای سرد کردن (شدت ۱۶ متر در دقیقه و با کاهش تدریجی شدت به کمترین مقدار) فعالیت می‌کردند (جدول ۱) (۱۸). تمامی آزمودنی‌ها، ۷۲ ساعت پس از آخرین جلسه‌ی تمرین، با کلروفورم بیهوش، تشریح و نمونه‌گیری شدند. نمونه‌های خونی بعد از خون‌گیری و لخته شدن در ساترفیوژ قرار گرفتند و سرم آن‌ها با دور ۳۵۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه استخراج و جهت اندازه‌گیری در دمای ۷۰- درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شد. اندازه‌گیری سطوح سرمی هورمون‌های جنسی شامل تستوسترون (T) با حساسیت ۰/۲۵ mIU/ml و دامنه‌ی سنجش ۰/۱۰۰ - ۰/۵، هورمون لوتئینه‌کننده (LH) با حساسیت ۰/۱۱ mIU/ml و دامنه‌ی سنجش ۰/۶۰ - ۰/۰۲، هورمون محرکه فولیکولی (FSH) با حساسیت ۰/۱۱ mIU/ml و دامنه‌ی سنجش ۰/۶۰ - ۰/۰۲، توسط کیت‌های الیزا شرکت ایست بیوفارم مخصوص موش صحرائی (ساخت کشور چین) طبق دستورالعمل شرکت سازنده صورت گرفت.

خون طبیعی داشتند به عنوان گروه کنترل سالم (۱۲ سر) در نظر گرفته شدند.

#### برنامه تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT)

برنامه تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT) روی تردمیل ۵ کاناله به دلیل کنترل آسان‌تر سرعت و مدت زمان دویدن اجرا شد. موش‌ها در گروه تمرین به مدت ۸ هفته، هر هفته ۶ روز تمرین کردند. کل دوره تمرین به ۳ مرحله آشنایی، اضافه بار، حفظ و تثبیت شدت کار تقسیم شد. در مرحله آشنایی (هفته اول) موش‌ها هر روز به مدت ۱۰ تا ۱۵ دقیقه با سرعت ۸ متر بر دقیقه بر روی نوارگردان راه رفتند. در مرحله اضافه بار (هفته دوم تا چهارم) موش‌ها در روزهای فرد ۲ تا ۶ تناوب ۳ دقیقه‌ای و با سرعت ۴۰ متر در دقیقه و در روزهای زوج ۳ تا ۲۰ تناوب ۳۰ ثانیه‌ای و با سرعت ۵۴ متر در دقیقه روی نوارگردان دویدند و در نهایت در مرحله حفظ و تثبیت شدت کار به مدت ۳ هفته تمرین، پروتکل تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT) را اجرا کردند. هم‌چنین در بین هر تناوب ۱ دقیقه جهت ریکاوری استراحت فعال (با شدت ۱۶ متر در دقیقه) وجود داشت. در ضمن، موش‌ها در هر جلسه

جدول ۱. مختصات پروتکل تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT) طی ۱۰ هفته روی تردمیل

روز فرد	روز زوج	ایام	هفته
	۲ تناوب، ۴۰ متر/دقیقه، ۳ دقیقه	۱	هفته ۱
۳ تناوب، ۵۴ متر/دقیقه، ۳۰ ثانیه		۲	
	۲ تناوب، ۴۰ متر/دقیقه، ۳ دقیقه	۳	
۵ تناوب، ۵۴ متر/دقیقه، ۳۰ ثانیه		۴	
	۲ تناوب، ۴۰ متر/دقیقه، ۳ دقیقه	۵	
۷ تناوب، ۵۴ متر/دقیقه، ۳۰ ثانیه		۶	
	۳ تناوب، ۴۰ متر/دقیقه، ۳ دقیقه	۱	هفته ۲
۹ تناوب، ۵۴ متر/دقیقه، ۳۰ ثانیه		۲	
	۳ تناوب، ۴۰ متر/دقیقه، ۳ دقیقه	۳	
۱۱ تناوب، ۵۴ متر/دقیقه، ۳۰ ثانیه		۴	
	۳ تناوب، ۴۰ متر/دقیقه، ۳ دقیقه	۵	
۱۳ تناوب، ۵۴ متر/دقیقه، ۳۰ ثانیه		۶	
	۴ تناوب، ۴۰ متر/دقیقه، ۳ دقیقه	۱	هفته ۳
۱۵ تناوب، ۵۴ متر/دقیقه، ۳۰ ثانیه		۲	
	۴ تناوب، ۴۰ متر/دقیقه، ۳ دقیقه	۳	
۱۷ تناوب، ۵۴ متر/دقیقه، ۳۰ ثانیه		۴	
	۵ تناوب، ۴۰ متر/دقیقه، ۳ دقیقه	۵	
۱۹ تناوب، ۵۴ متر/دقیقه، ۳۰ ثانیه		۶	
	۵ تناوب، ۴۰ متر/دقیقه، ۳ دقیقه	۱	هفته ۴
۱۹ تناوب، ۵۴ متر/دقیقه، ۳۰ ثانیه		۲	
	۶ تناوب، ۴۰ متر/دقیقه، ۳ دقیقه	۳	
۲۰ تناوب، ۵۴ متر/دقیقه، ۳۰ ثانیه		۴	
	۶ تناوب، ۴۰ متر/دقیقه، ۳ دقیقه	۵	
۲۰ تناوب، ۵۴ متر/دقیقه، ۳۰ ثانیه		۶	
۲۰ تناوب، ۵۴ متر/دقیقه، ۳۰ ثانیه تا پایان هفته ۱۰	۴۰ متر/دقیقه، ۳ دقیقه تا پایان هفته ۱۰	۶	هفته ۹-۵

در این روش، سر اسپرم‌های زنده به رنگ سفید، در حالی که سر اسپرم‌های مرده به رنگ قرمز متمایل به بنفش ظاهر شد. مورفولوژی اسپرم: قبل از بررسی مورفولوژیک اسپرم‌های هر گروه، ابتدا گسترش‌های تهیه شده از مخلوط اسپرم و محیط کشت به روش پاپانیکولائو رنگ آمیزی (شکل ۱ c) و پس از خشک شدن بر اساس دستورالعمل سازمان بهداشت جهانی (WHO) مورد استفاده قرار گرفتند. برای هر نمونه ۱۰۰ اسپرم با بزرگ‌نمایی ۱۰۰۰ میکروسکوپ نوری بررسی و ناهنجاری موجود به صورت درصد بیان گردید (۱۹).

#### تحلیل آماری

نتایج به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار برای نمونه‌های موجود در هر گروه بیان شد. جهت آنالیز آماری پس از اطمینان از نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون برآورد نرمالی شاپیرو-ویلک و برای بررسی فرض برابری واریانس‌ها از آزمون لون استفاده شد. پس از مشخص شدن طبیعی بودن توزیع داده‌ها و برقراری فرض برابری واریانس‌ها، به منظور تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها و مقایسه بین گروه‌ها از آزمون تحلیل واریانس یک طرفه و آزمون تعقیبی توکی با سطح معناداری  $p \leq 0.05$  استفاده شد. تمام محاسبات آماری با استفاده از نرم افزار آماری SPSS نسخه ۱۶ صورت گرفت.

شمارش اسپرم: بلافاصله بعد از تشریح حیوان و وزن کردن بیضه چپ آن، انتهای اپیدیدیم خارج و در ۵ سی سی محیط کشت (DMEM-F12) انتقال یافت و به منظور خروج اسپرم به درون محیط کشت به قطعات کوچکی بریده و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۲۷ درجه سانتی‌گراد آنکوبه شد. بعد از این مرحله ۱ میلی لیتر از مخلوط محیط کشت و اسپرم به ۹ میلی لیتر از محیط کشت رقیق و فیکس شد. شمارش سرهای اسپرم با استفاده از لام نئوبار و به روش هموسیتومتری (شکل ۱ a) انجام گرفت و سپس تعداد اسپرم‌ها در میلی لیتر محاسبه گردید. شمارش اسپرم‌ها بر اساس دستورالعمل ارائه شده از طرف سازمان بهداشت جهانی (WHO) انجام شد (۱۹).

قابلیت تحرک اسپرم: سنجش حرکات اسپرم بر اساس دستورالعمل ارائه شده توسط WHO انجام شد (۱۹). به طور خلاصه ۱۰ میکرولیتر مخلوط محیط کشت و اسپرم بر روی لام مخصوص ارزیابی حرکات اسپرم قرار گرفت. حداقل ۵ میدان میکروسکوپی جهت ارزیابی حرکت حداقل ۲۰۰ اسپرم از هر نمونه مورد بررسی قرار گرفت. سپس درصد اسپرم‌های متحرک محاسبه گردید.

قابلیت حیات اسپرم: قابلیت حیات اسپرم‌های هر گروه بر اساس دستورالعمل سازمان بهداشت جهانی (WHO) (۱۹) به روش رنگ آمیزی ائوزین-نیگروزین بررسی شد (شکل ۱ b). به طور خلاصه، ائوزین (۱ درصد، مرک، آلمان) و نیگروزین (۱۰ درصد، مرک، آلمان) در آب مقطر آماده شد.

ابتدا یک حجم مخلوط محیط کشت و اسپرم با دو حجم ائوزین مخلوط و پس از گذشت ۳۰ ثانیه حجم مساوی نیگروزین به مخلوط ساخته شده اضافه گردید.

سپس گسترش‌های نازکی از مخلوط تهیه و پس از خشک شدن در دمای آزمایشگاه توسط میکروسکوپ نوری با بزرگ‌نمایی  $10 \times 100$  تعداد ۱۰۰ اسپرم شمارش و نسبت درصد اسپرم‌های زنده در گروه‌های مختلف محاسبه گردید.

## یافته‌ها

بررسی قند خون و وزن بدن و وزن بیضه چپ میانگین داده های مربوط به وزن بدن موش‌های صحرايي، ۷۰ روز بعد از اعمال متغیرهای مستقل دیابت و تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT) بین هیچ یک از گروه های اختلاف معنی داری نشان نداد (جدول ۱). میانگین داده‌های مربوط به وزن بیضه چپ نشان داد که بین وزن بیضه چپ گروه کنترل دیابتی با گروه کنترل سالم کاهش معنی داری مشاهده شد ( $p=0/018$ ) (جدول ۱).

در بررسی میزان قند خون گروه‌های مختلف بعد از ۱۰ هفته گروه دیابتی تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT) قند خون ناشتا گروه تمرین HIIT دیابتی نسبت به گروه کنترل دیابتی کاهش معنادار یافت ( $p=0/001$ ) هم‌چنین بین گروه دیابتی تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT) و گروه کنترل سالم تفاوت معناداری مشاهده نشد ( $p=0/992$ ) (جدول ۱).

## بررسی تعداد اسپرم

از مقایسه تعداد اسپرم در گروه کنترل دیابتی نسبت به گروه کنترل سالم کاهش معناداری ( $p=0/000$ ) مشاهده شد. میانگین تعداد اسپرم در گروه دیابتی تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT) در مقایسه با گروه کنترل دیابتی افزایش معناداری را نشان داد ( $p=0/022$ ). به عبارت دیگر، تمرین HIIT توانسته اثر مخرب دیابت نوع ۲ را بر تعداد اسپرم جبران کرده و بهبود بخشد (جدول ۲).



شکل ۱. نحوه شمارش اسپرم به روش هموسیتمتری، (b) بررسی زنده مانی به روش رنگ آمیزی رنگ آمیزی آنوزین - نیگروزین، (c) بررسی مورفولوژی طبیعی به روش رنگ آمیزی پاپانیکولاو

جدول ۲. مقایسه قند خون ناشتا، وزن بدن و وزن بیضه چپ در گروه های مختلف.

گروه	وزن بدن (g)	قند خون (mg/dl)	وزن بیضه (g)
کنترل سالم بی تمرین	پیش آزمون ۲۴۲/۹ ± ۲۳ پس آزمون ۲۸۱/۱ ± ۴۳	پیش آزمون ۸۹/۲ ± ۱۵ پس آزمون ۱۱۵/۲ ± ۷۶	۱/۶۳ ± ۰/۱۸
کنترل دیابتی بی تمرین	پیش آزمون ۲۳۰/۴ ± ۳۷ پس آزمون ۲۵۹/۳ ± ۴۸	پیش آزمون ۲۶۴/۶ ± ۱۴ <sup>a</sup> پس آزمون ۳۳۴/۸ ± ۸۵ <sup>a</sup>	۱/۳۷ ± ۰/۱۳ <sup>a</sup>
دیابتی تمرین HIIT	پیش آزمون ۲۳۳/۹ ± ۱۹ پس آزمون ۲۶۹/۲ ± ۳۵	پیش آزمون ۲۸۳/۵ ± ۳۱ <sup>a</sup> پس آزمون ۱۲۵/۸ ± ۱۲۹	۱/۴۸ ± ۰/۱۱

a. نشان دهنده تفاوت معنادار در مقایسه با گروه کنترل سالم و گروه دیابتی تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT). C. نشان دهنده تفاوت معنادار در مقایسه با گروه کنترل دیابتی و گروه دیابتی تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT). مقادیر به صورت میانگین ± انحراف معیار.

## بررسی قابلیت حیات اسپرم

میانگین درصد اسپرم‌های زنده که معادل قابلیت حیات اسپرم می‌باشد، در گروه کنترل دیابتی نسبت به کنترل سالم کاهش معناداری ( $p=0/000$ ) یافت. از طرفی، قابلیت حیات اسپرم در گروه دیابتی تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT) در مقایسه با گروه کنترل دیابتی افزایش معنی داری ( $p=0/013$ ) را نشان داد. به عبارت دیگر، تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT) توانست اثرات مخرب دیابت را در خصوص قابلیت حیات اسپرم در مقایسه با گروه کنترل دیابتی به طور معنی‌داری جبران نماید (جدول ۳).

## بررسی مورفولوژی

میانگین درصد مورفولوژیک طبیعی اسپرم در موش‌های صحرایی مورد آزمایش تفاوت معناداری بین گروه کنترل سالم و کنترل دیابتی را نشان داد ( $p=0/000$ ) اما این تفاوت در بین دو گروه دیابتی تمرین تناوبی با شدت بالا

(HIIT) و کنترل دیابتی مشاهده نشد ( $p=0/003$ ) که نشان دهنده این است که گروه دیابتی تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT) نتوانسته تأثیر مثبتی در کاهش عوارض مورفولوژیک دیابت داشته باشد (جدول ۲).

## قابلیت تحرک اسپرم

میانگین درصد اسپرم‌های قابل حرکت در گروه کنترل دیابتی نسبت به کنترل سالم کاهش معناداری ( $p=0/000$ ) یافت. از طرفی قابلیت تحرک اسپرم در گروه دیابتی تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT) در مقایسه با گروه کنترل دیابتی افزایش معناداری ( $p=0/016$ ) را نشان داد. به عبارت دیگر، در گروه دیابتی تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT)، تمرین توانسته اثرات مخرب دیابت را در خصوص قابلیت تحرک اسپرم در مقایسه با گروه کنترل دیابتی به طور معناداری جبران نماید (جدول ۳).

جدول ۳. مقایسه پارامترهای اسپرم در گروه‌های مختلف.

گروه	تعداد ( $10^6$ )	مورفولوژی (درصد)	قابلیت حیات (درصد)	قابلیت تحرک (درصد)
کنترل سالم بی‌تمرین	$42/12 \pm 12$	$94/6 \pm 0/9$	$77/1 \pm 4$	$60/3 \pm 7$
کنترل دیابتی بی‌تمرین	$13/1 \pm 5^{ab}$	$84/8 \pm 11^a$	$22/3 \pm 6^{ab}$	$32/5 \pm 2^{ab}$
دیابتی تمرین HIIT	$31/6 \pm 11$	$90/8 \pm 5/7$	$48/1 \pm 23^a$	$42/6 \pm 5^a$
	$0/000^a$	$0/000^a$	$0/000^a$	$0/000^a$
p	$0/023^b$	$0/0013^b$	$0/0003^b$	$0/000^b$
	$0/089^c$	$0/059^c$	$0/013^c$	$0/016^c$

a. نشان دهنده تفاوت معنادار در مقایسه گروه کنترل سالم با کنترل دیابتی. b. نشان دهنده تفاوت معنادار در مقایسه با گروه کنترل سالم و گروه دیابتی تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT). c. نشان دهنده تفاوت معنادار در مقایسه با گروه کنترل دیابتی و گروه دیابتی تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT). مقادیر به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار

## بررسی هورمون‌های جنسی

میانگین هورمون تستوسترون ( $p=0/001$ )، FSH و LH ( $p=0/024$ ) در گروه کنترل دیابتی نسبت به کنترل سالم کاهش معناداری یافت. از طرفی، تستوسترون ( $p=0/037$ ) در گروه دیابتی تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT) در مقایسه با گروه کنترل

دیابتی افزایش معناداری را نشان داد. به عبارت دیگر، به نظر می‌رسد در گروه دیابتی تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT)، تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT) نتوانسته اثرات مخرب دیابت در خصوص کاهش هورمون‌های جنسی تستوسترون، FSH و LH در مقایسه با گروه کنترل دیابتی را به طور معناداری جبران نماید (جدول ۴).



جدول ۴. مقایسه هورمون‌های تستوسترون، LH و FSH در گروه‌های مختلف.

FSH (mIU/ml)	LH(mIU/ml)	تستوسترون (mIU/ml)	گروه
۴/۴±۱/۱	۷/۱±۳/۷	۶/۹±۱/۱	کنترل سالم بی‌تمرین
۳±۰/۵ <sup>a</sup>	۳/۶±۰/۵ <sup>a</sup>	۳/۹±۰/۷ <sup>ab</sup>	کنترل دیابتی بی‌تمرین
۴/۵±۱/۷	۵/۳±۲/۸	۵/۵±۱/۸	دیابتی تمرین HIIT
۰/۰۴۲ <sup>a</sup>	۰/۰۲۴ <sup>a</sup>	۰/۰۰۱ <sup>a</sup>	p
۰/۲۷۳ <sup>b</sup>	۰/۷۰۲ <sup>b</sup>	۰/۰۳۷ <sup>b</sup>	
۰/۸۵۰ <sup>c</sup>	۰/۲۶۸ <sup>c</sup>	۰/۰۹۰ <sup>c</sup>	

b. نشان دهنده تفاوت معنادار در مقایسه با گروه کنترل سالم و گروه دیابتی تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT). C. نشان دهنده تفاوت معنادار در مقایسه با گروه کنترل دیابتی و گروه دیابتی تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT). مقادیر به صورت میانگین ± انحراف معیار

## بحث

در طول دهه گذشته، دیابت و ناباروری به شکل همزمان رو به گسترش بوده است. گزارش‌های علمی در مورد ارتباط ناباروری و دیابت محدود می‌باشد. به طور کلی، نتایج مؤید این موضوع هستند که دیابت اثر منفی بر پارامترهای استاندارد مایع سیمن دارد. براساس گزارش سازمان بهداشت جهانی در مورد ملاک آنالیز مایع سیمن، در افراد دیابتی تعداد، تحرک پذیری، زنده مانی و مورفولوژی اسپرم پایین‌تر از افراد طبیعی جامعه است (۲۰). در پژوهش حاضر نیز مشاهده شد که پارامترهای باروری اسپرم از جمله تعداد، مورفولوژی و قابلیت تحرک اسپرم موش‌های دیابتی کمتر از گروه کنترل سالم بود. هدف از مطالعه حاضر، تعیین اثر تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT) بر سطوح سرمی هورمون‌های محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-گنادال و پارامترهای اسپرم موش‌های صحرایی دیابتی نوع ۲ بود. در این ارتباط و همسو با یافته‌های پژوهش حاضر، روزتی و همکاران (۲۰۱۴) دریافتند که حجم مایع سیمن، تعداد اسپرم، مورفولوژی، تحرک‌پذیری و بقای اسپرم در مردان دیابتی، کمتر از هم‌سالان با شرایط طبیعی می‌باشد (۲۱). هم‌چنین، وریت و همکاران (۲۰۱۴) در پژوهش خود نشان دادند که در افراد مبتلا به دیابت نوع ۲، تمامی پارامترهای اسپرماتوزن پایین‌تر از حد طبیعی سطح متوسط جامعه می‌باشد (۲۲).

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که دیابت نوع ۲ موجب کاهش معنادار تعداد، مورفولوژی طبیعی، قابلیت

حیات و قابلیت تحرک اسپرم موش‌های صحرایی دیابتی می‌شود. هم‌چنین تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT) موجب بهبود و افزایش معنادار تعداد و قابلیت تحرک اسپرم نسبت به گروه دیابتی شد که این موارد به نظر می‌رسد به دلیل افزایش معنادار هورمون‌های جنسی تستوسترون، LH و FSH باشد. در هر حال، یافته‌های پژوهش حاضر از این عقیده حمایت می‌کند که دیابت نوع ۲ با کاهش پارامترهای باروری اسپرم و ظرفیت باروری جنس نر همراه است. مطالعات آزمایشگاهی حاکی از آن هستند که دیابت و مقاومت به انسولین با تأثیر بر محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-گناد منجر به کاهش هورمون آزادکننده گنادوتروپین، LH، FSH و تستوسترون می‌شود (۲۳). در پژوهش حاضر نیز مشاهده شد که مقادیر هورمون‌های جنسی LH، FSH و تستوسترون در موش‌های کنترل دیابتی نوع ۲ در مقابل موش‌های کنترل سالم کمتر می‌باشد که این امر با یافته‌های سینگ و همکاران (۲۰۱۴) (۲۰) و راما و همکاران (۲۰۱۲) که نشان دادند سطح هورمون‌های جنسی در افراد دیابتی در مقابل افراد سالم کمتر است (۲۳)، همخوانی دارد. در واقع، پژوهش حاضر همسو با این مطالعات از این عقیده حمایت می‌کند که کاهش آندروژن‌های جنسی احتمالاً یکی از سازوکارهای اصلی اختلال در شاخص‌های باروری افراد دیابتی می‌باشد.

این یافته‌ها نشان می‌دهد که برنامه تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT) اثرات مثبتی بر کاهش عوارض دیابت بر باروری دارد. نتایج این تحقیق همسو با مطالعات پیشین است

بخشد. در واقع، این یافته نشان می‌دهد که احتمالاً ورزش در افراد دیابتی از طریق بهبود سطح قندخون و شرایط هورمون-های جنسی، با افزایش کارایی باروری اسپرم همراه می‌باشد.

در مطالعات نشان داده شده که کاهش میزان آندروژن‌های بیضه‌ای بعد از دیابتی شدن به دلیل کاهش تبدیل پرگنولون و پروژسترون به تستوسترون است. بنابراین، دیابت علاوه بر تأثیر مستقیم بر بافت بیضه می‌تواند با اثر بر گنادوتروپین‌های هیپوفیزی (LH و FSH) در بیوستت و تولید تستوسترون اختلال ایجاد کند (۳۰). موافق با این مطالعه، کاهش معنادار LH و FSH در گروه کنترل دیابتی نسبت به گروه کنترل سالم مشاهده شد. اما در گروه تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT) تفاوت معناداری در تستوسترون، LH و FSH نسبت به گروه کنترل سالم مشاهده نشد که این موضوع نشان می‌دهد تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT) بر روی موش‌های صحرایی دیابتی توانسته هورمون‌های جنسی هیپوفیز (LH و FSH) که مسئول ترشح تستوسترون در بیضه هستند را به سطوح نرمال خود برساند.

از طرفی، نتایج این تحقیق مبنی بر کاهش معنادار قند خون ناشتای موش‌های صحرایی دیابتی نوع ۲ متعاقب ۱۰ هفته تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT) موافق با مطالعات مشابه دال بر این‌که تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT) موجب کاهش معنادار قند خون می‌شود (۳۱) بود. بنابراین به نظر می‌رسد تأثیرات مثبت تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT) بر بهبود پارامترهای اسپرم و هورمون‌های جنسی می‌تواند به دلیل کاهش قند خون باشد.

در مجموع، نتایج پژوهش حاضر نشان می‌دهد که انجام ۱۰ هفته تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT) همزمان با کاهش قندخون و بهبود وضعیت محور هورمونی هیپوتالاموس-هیپوفیز-گنادال، موجب بهبود کیفیت اسپرماتوزن در موش‌های صحرایی دیابتی نوع ۲ می‌شود.

که بیان می‌نمایند دیابت به طور مشخص موجب کاهش پارامترهای اسپرم از جمله مورفولوژی طبیعی، قابلیت حیات و قابلیت تحرک می‌شود (۲۴).

همان‌طور که اشاره شد، یکی از سازوکارهای محتمل اثر منفی دیابت بر باروری مردان، اختلالات هورمونی و افزایش قند خون است. شواهد نشان می‌دهد که افزایش گلوکز خون و مقاومت به انسولین در این بیماران از طریق سازوکارهایی هم‌چون افزایش استرس اکسیداتیو در بافت بیضه و تخریب سلول‌های سازنده هورمون آزادکننده گنادوتروپین در هیپوتالاموس منجر به کاهش هورمون‌های جنسی (از جمله تستوسترون) و پارامترهای باروری اسپرم می‌شود (۲۵). نقش مهم گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) نیز در ایجاد مشکلات و ناهنجاری‌های بافت بیضه در موش‌های صحرایی دیابتی شده، گزارش شده است (۲۶). آسیب دیدگی DNA ناشی از رادیکال‌های آزاد می‌تواند فرآیند آپوپتوزیس سلول‌های جنسی را سرعت بخشیده و باعث کاهش تعداد سلول‌های جنسی شود که در نهایت منجر به ناباروری می‌شود (۲۷).

تغییرات فراساختاری سلول‌های دیواره لوله‌های منی‌ساز در بافت بیضه در موش‌های صحرایی نر دیابتی با تغییر در میزان هورمون‌های دخیل در فرآیند اسپرماتوزن می‌تواند موجب اختلال در روند اسپرماتوزن و در نتیجه کاهش باروری شود (۲۸).

موافق با مطالعه حاضر، نتایج مطالعات پیشین کاهش تولید تستوسترون، LH و FSH را در افراد مبتلا به دیابت نشان می‌دهد (۲۸). کاهش قابل توجه تستوسترون می‌تواند یکی از علل تغییرات مشاهده شده در بافت بیضه باشد. این کاهش موجب آسیب سلول‌های بافت بینابینی و تحلیل اپیتلیوم زاینده لوله‌های منی‌ساز می‌شود (۲۹).

افزایش هورمون تستوسترون در گروه دیابتی تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT) نشان داد که تمرین تناوبی با شدت بالا توانسته آثار تخریبی ناشی از دیابت را بهبود

5. Gregg EW. The changing tides of the type 2 diabetes epidemic—smooth sailing or troubled waters ahead? Kelly West Award Lecture 2016. *Diabetes care*. 2017; 40(10):1289-97.
6. Pinhas-Hamiel O, Zeitler P. The global spread of type 2 diabetes mellitus in children and adolescents. *J Pediatr*. 2005; 146(5):693-700.
7. Bansal TC, Guay AT, Jacobson J, Woods BO, Nesto RW. Incidence of metabolic syndrome and insulin resistance in a population with organic erectile dysfunction. *J Sex Med*. 2005; 2(1):96-103.
8. Ghasemi M, Talebi A, Rahmnyan M, Nahangi H, Ghanizadeh T. Effects of Diabetes Mellitus type 2 on Semen Parameters. *SSU\_Journals*. 2017;25(8):621-8.
9. Pitteloud N, Hardin M, Dwyer AA, Valassi E, Yialamas M, Elahi D, et al. Increasing insulin resistance is associated with a decrease in Leydig cell testosterone secretion in men. *J Clin Endocrinol Metab*. 2005;90(5):2636-41.
10. Guneli E, Tugyan K, Ozturk H, Gumustekin M, Cilaker S, Uysal N. Effect of melatonin on testicular damage in streptozotocin-induced diabetes rats. *Europaische chirurgische Forschung Recherches chirurgicales europeennes*. 2008;40(4):354-60.
11. Tavares RS, Portela JM, Sousa MI, Mota PC, Ramalho-Santos J, Amaral S. High glucose levels affect spermatogenesis: an in vitro approach. *Reproduction, Fertility and Development*. 2017; 29(7):1369-78.
12. Chandrashekar V, Bartke A. The impact of altered insulin-like growth factor-I secretion on the neuroendocrine and testicular functions. *Minerva ginecologica*. 2005;57(1):87-97.
13. Roessner C, Paasch U, Kratzsch J, Glander HJ, Grunewald S. Sperm apoptosis signalling in diabetic men. *Reproductive biomedicine online*. 2012; 25(3):292-9.
14. Herbert P, Hayes LD, Sculthorpe NF, Grace FM. HIIT produces increases in muscle power and free testosterone in male masters athletes. *Endocrine connections*. 2017;6(7):430-6.
15. Hansen D, Dendale P, Jonkers RA, Beelen M, Manders RJ, Corluy L, et al. Continuous low- to

## نتیجه گیری

تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT) با افزایش غلظت سرمی تستوسترون، LH، FSH و تأثیر مثبت و بهبود پارامترهای اسپرم موجب افزایش باروری در موش‌های صحرایی دیابتی می‌شود. پیشنهاد می‌شود این پژوهش در مردان دیابتی و سایر روش‌های تمرینی که باعث کاهش عوارض دیابت می‌شود نیز انجام گیرد تا بتوان راه کارهای مناسبی برای کاهش عوارض دیابت بر هورمون‌های محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-گنادال و پارامترهای اسپرم ارائه کرد.

## تشریح و قدردانی

پژوهش حاضر برگرفته از طرح پژوهشی تصویب شده در تاریخ ۱۳۹۶/۰۳/۰۸ به شماره ۹۶/۲۳۴۰ در معاونت پژوهشی و فن‌آوری دانشگاه اراک می‌باشد که هزینه‌های این طرح توسط این معاونت تأمین شده است. کد اخلاق نیز به شرح IR.Arakmu.rec.1394.329 در کمیته اخلاق طرح‌های پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اراک اخذ گردیده است. هم‌چنین بدین وسیله نویسندگان مراتب قدردانی خود را از تمامی کسانی که در انجام این مطالعه همراهی نمودند اعلام می‌دارند.

## منابع

1. Alves MG, Martins AD, Rato L, Moreira PI, Socorro S, Oliveira PF. Molecular mechanisms beyond glucose transport in diabetes-related male infertility. *Biochimica et biophysica acta*. 2013;1832(5):626-35.
2. Zhu J-Z, Dong X-Y, Liang J-J, Zhang Z-Q, Hu X-Y, Li L-K. Effects of diabetes mellitus on semen quality in adult men: a systematic review and meta-analysis. *Int J Clin Exp Med*. 2017;10(8):11290-303.
3. Vignera S, Condorelli R, Vicari E, D'Agata R, Calogero AE. Diabetes mellitus and sperm parameters. *Journal of andrology*. 2012; 33(2):145-53.
4. Silink M. Childhood diabetes: a global perspective. *Horm Res*. 2002; 57 Suppl 1:1-5.

- moderate-intensity exercise training is as effective as moderate- to high-intensity exercise training at lowering blood HbA(1c) in obese type 2 diabetes patients. *Diabetologia*. 2009; 52(9):1789-97.
16. Cassidy S, Thoma C, Hallsworth K, Parikh J, Hollingsworth KG, Taylor R, et al. High intensity intermittent exercise improves cardiac structure and function and reduces liver fat in patients with type 2 diabetes: a randomised controlled trial. *Diabetologia*. 2016; 59(1):56-66.
17. Punitha IS, Rajendran K, Shirwaikar A, Shirwaikar A. Alcoholic stem extract of *Coscinium fenestratum* regulates carbohydrate metabolism and improves antioxidant status in streptozotocin-nicotinamide induced diabetic rats. *Evidence-based complementary and alternative medicine : eCAM*. 2005;2(3):375-81.
18. Kim H-J, So B, Son JS, Song HS, Oh SL, Seong JK, et al. Resistance training inhibits the elevation of skeletal muscle derived-BDNF level concomitant with improvement of muscle strength in Zucker diabetic rat. *Journal of exercise nutrition & biochemistry*. 2015; 19(4):281.
19. Wang Y, Yang J, Jia Y, Xiong C, Meng T, Guan H, et al. Variability in the morphologic assessment of human sperm: use of the strict criteria recommended by the World Health Organization in 2010. *Fertility and sterility*. 2014;101(4):945-9.
20. Singh AK, Tomar S, Chaudhari Ramji Singh AR, Verma N. Type 2 diabetes mellitus affects male fertility potential. 2014.
21. Rosety-Rodriguez M, Rosety J, Fornieles G, Rosety M, Diaz A, Rosety I, et al. Home-based treadmill training improved seminal quality in adults with type 2 diabetes. *Actas Urológicas Españolas (English Edition)*. 2014; 38(9):589-93.
22. Verit A, Verit FF, Oncel H, Ciftci H. Is there any effect of insulin resistance on male reproductive system? *Archivio Italiano di Urologia e Andrologia*. 2014; 86(1):5-8.
23. Rama Raju G, Jaya Prakash G, Murali Krishna K, Madan K, Siva Narayana T, Ravi Krishna C. Noninsulin dependent diabetes mellitus: effects on sperm morphological and functional characteristics, nuclear DNA integrity and outcome of assisted reproductive technique. *Andrologia*. 2012; 44(s1):490-8.
24. Mulholland J, Mallidis C, Agbaje I, McClure N. Male diabetes mellitus and assisted reproduction treatment outcome. *Reproductive biomedicine online*. 2011; 22(2):215-9.
25. Shetty G, Wilson G, Huhtaniemi I, Shuttlesworth GA, Reissmann T, Meistrich ML. Gonadotropin-releasing hormone analogs stimulate and testosterone inhibits the recovery of spermatogenesis in irradiated rats. *Endocrinology*. 2000;141(5):1735-45.
26. Shrilatha B, Muralidhara. Occurrence of oxidative impairments, response of antioxidant defences and associated biochemical perturbations in male reproductive milieu in the Streptozotocin-diabetic rat. *International journal of andrology*. 2007;30(6):508-18.
27. Agarwal A, Saleh RA, Bedaiwy MA. Role of reactive oxygen species in the pathophysiology of human reproduction. *Fertility and sterility*. 2003; 79(4):829-43.
28. Castellano JM, Navarro VM, Fernandez-Fernandez R, Roa J, Vigo E, Pineda R, et al. Expression of hypothalamic KiSS-1 system and rescue of defective gonadotropic responses by kisspeptin in streptozotocin-induced diabetic male rats. *Diabetes*. 2006; 55(9):2602-10.
29. Turk G, Sonmez M, Aydin M, Yuce A, Gur S, Yuksel M, et al. Effects of pomegranate juice consumption on sperm quality, spermatogenic cell density, antioxidant activity and testosterone level in male rats. *Clinical nutrition*. 2008; 27(2):289-96.
30. Schoeller EL, Albanna G, Frolova AI, Moley KH. Insulin rescues impaired spermatogenesis via the hypothalamic-pituitary-gonadal axis in Akita diabetic mice and restores male fertility. *Diabetes*. 2012; 61(7):1869-78.
31. Castaneda C, Layne JE, Munoz-Orians L, Gordon PL, Walsmith J, Foldvari M, et al. A randomized controlled trial of resistance exercise training to improve glycemic control in older adults with type 2 diabetes. *Diabetes care*. 2002; 25(12):2335-41.