

# The effect of 6-week endurance training with the consumption of nettle hydroalcoholic extract on testicular tissue apoptosis in streptozotocin-induced diabetic rats

Fateme Fatholahi, Masoud Rahmati\*, Rahim Mirnasori, Hadis Mehrabi Fard

Exercise Physiology Department, Faculty of Humanity Sciences, Lorestan University, Lorestan, Iran

\* Corresponding author e-mail: RAHMATLMAS@lu.ac.ir

## Abstract

**Background and Objective:** Diabetes is a metabolic disease that is associated with infertility disorders and testicular tissue apoptosis. The present study was conducted with the aim of investigating the effect of 6 weeks of endurance training along with the consumption of nettle hydroalcoholic extract on the apoptosis of the testicular tissue of diabetic rats.

**Materials and Methods:** 58 male Wistar rats were randomly divided into five groups: "healthy control", "control diabetes", "exercise diabetes", "supplementary diabetes" and "supplementary exercise diabetes". Diabetes was induced by intraperitoneal injection of 45 mg/kg STZ dissolved in fresh citrate buffer. Nettle plant extract was fed to the animals for 6 weeks. The endurance training protocol was performed for 6 weeks and 48 hours after the last training session, the rats were dissected and their testicular tissue was extracted. Tunnel staining method was used to check the apoptosis of testicular tissue. The results of the Kolmogorov Smirnov and Lunn tests were used to check the normality of the data and the homogeneity of the variances. Also, one-way analysis of variance (Tukey's post hoc test) was used to compare groups for the studied variables.

**Results:** Data analysis showed that apoptosis was significantly reduced in the "exercise diabetes", "supplementary diabetes" and "supplementary exercise diabetes" groups compared to the "control diabetes" group ( $P = 0.001$ ). Nettle plant extract and endurance exercise in diabetic rats reduced testicular tissue apoptosis.

**Conclusion:** Consumption of nettle hydroalcoholic extract along with endurance exercise can reduce the apoptosis of testicular tissue in diabetic rats. Therefore, it is suggested to have exercise as a non-pharmacological intervention and nettle plant, which is a non-chemical intervention, to reduce the complications caused by diabetes in the field of fertility.

**Keywords:** Endurance Training, Nettle hydroalcoholic extract, Apoptosis, Type 1 diabetes

**Received:** Nov 06, 2023

**Revised:** Dec 10, 2023

**Accepted:** Dec 24, 2023

**How to cite this article:** Fatholahi F, Rahmati M, Mirnasori R, Mehrabi Fard H. Survey the synergistic effect of the cotrimoxazole and *Nigella sativa* extract on methicillin resistant *Staphylococcus aureus* Bacteria. *Daneshvar Medicine* 2024; 31(5):92-103. doi: 10.22070/DANESHMED.2024.18442.1423

This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-Non Commercial License 4.0 (CCBYNC), where it is permissible to download, share, remix, transform, and buildup the work provided it is properly cited. The work cannot be used commercially without permission from the journal.

# تأثیر ۶ هفته تمرین استقامتی همراه با مصرف عصاره هیدروالکلی گزنه بر میزان آپوتوز بافت بیضه در موش‌های سفید بزرگ آزمایشگاهی دیابتی ناشی از استریتوزوتوسین

فاطمه فتح الهی، مسعود رحمتی\*، رحیم میرنصوری، حدیث مهرابی فرد

گروه علوم ورزشی، دانشکده ادبیات و علوم انسانی، دانشگاه لرستان، لرستان، ایران

Email: [RAHMATI.MAS@lu.ac.ir](mailto:RAHMATI.MAS@lu.ac.ir)

\*نویسنده مسئول: مسعود رحمتی

## چکیده

**مقدمه و هدف:** دیابت نوعی بیماری متابولیکی است که با اختلالات ناباروری و آپوتوز بافت بیضه همراه است. پژوهش حاضر با هدف بررسی تأثیر ۶ هفته تمرین استقامتی همراه با مصرف عصاره هیدروالکلی گزنه بر آپوتوز بافت بیضه موش‌های سفید بزرگ آزمایشگاهی دیابتی انجام گرفته است.

**مواد و روش‌ها:** ۵۸ سر موش سفید بزرگ آزمایشگاهی نر ویستار به‌طور تصادفی به پنج گروه «سالم کنترل»، «دیابت کنترل»، «دیابت تمرین»، «دیابت مکمل» و «دیابت تمرین مکمل» تقسیم شدند. با تزریق درون صفاقی محلول 45STZ mg/kg حل‌شده در بافر سترات تازه دیابت القا شد. عصاره گیاه گزنه به مدت ۶ هفته به حیوان گاوژ شد. پروتکل تمرین استقامتی به مدت ۶ هفته انجام شد و ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی، موش‌های سفید بزرگ آزمایشگاهی تشریح شدند و بافت بیضه‌شان استخراج شد. برای بررسی آپوتوز بافت بیضه از روش رنگ‌آمیزی تانل استفاده شد. برای بررسی نتایج از آزمون‌های کلموگروف اسمیرنوف و لون برای بررسی نرمال‌بودن داده‌ها و همگنی واریانس‌ها استفاده شد. همچنین برای مقایسه گروه‌ها در متغیرهای مورد مطالعه از تحلیل واریانس یک‌سویه (آزمون تعقیبی توکی) استفاده شد.

**نتایج:** آنالیز داده‌ها نشان داد که آپوتوز در گروه‌های «دیابت تمرین»، «دیابت مکمل» و «دیابت تمرین مکمل» نسبت به گروه «دیابت کنترل» کاهش معناداری داشت ( $P=0/001$ ). عصاره گیاه گزنه و تمرین استقامتی در موش‌های سفید بزرگ آزمایشگاهی دیابتی موجب کاهش آپوتوز بافت بیضه شدند.

**نتیجه‌گیری:** مصرف عصاره هیدروالکلی گزنه به همراه تمرین استقامتی می‌تواند باعث کاهش آپوتوز بافت بیضه موش‌های سفید بزرگ آزمایشگاهی دیابتی شود؛ لذا پیشنهاد می‌شود از ورزش به‌عنوان یک مداخله غیردارویی و گیاه گزنه که یک مداخله غیرشیمیایی است در جهت کاهش عوارض ناشی از دیابت در حیطة باروری استفاده شود.

**واژه‌های کلیدی:** تمرین استقامتی، عصاره هیدروالکلی گزنه، آپوتوز، دیابت نوع ۱

وصول مقاله: ۱۴۰۲/۰۸/۱۷

اصلاحیه نهایی: ۱۴۰۲/۰۹/۱۹

پذیرش: ۱۴۰۲/۱۰/۰۳

## مقدمه

دیابت نوعی بیماری متابولیکی است که به سطح بالای قند خون گفته می‌شود که یا بر اثر تولید ناکافی انسولین توسط سلول‌های پانکراس لوزالمعده و یا بر اثر عدم پاسخ مناسب به انسولین توسط سلول‌های بدن به وجود می‌آید (۱). دو نوع دیابت وابسته به انسولین (نوع I) و دیابت غیروابسته به انسولین (نوع II) معمول‌ترین انواع دیابت هستند (۲). دیابت نوع I در نتیجه کمبود انسولین در اثر تخریب خودایمنی سلول‌های بتا پانکراس ایجاد می‌شود. در این بیماران کمبود ترشح یا کاهش عملکرد انسولین منجر به اختلال سوخت و ساز کربوهیدرات، چربی و پروتئین می‌شود (۳). دیابت یک بیماری مزمن مادام‌العمر است که با پریشانی و پرادراری همراه است و عوارض بسیاری مثل درد، نوروپاتی، آسیب‌های چشمی، آسیب به عروق، آسیب‌های بیضه‌ای، اسیدوز و اختلال در تولید هورمون‌ها را به دنبال دارد (۴). یکی از مهم‌ترین عللی که باعث ناتوانی جنسی به‌خصوص در مردان می‌شود بیماری دیابت است (۵). عواملی که باعث عدم کارایی درست بیضه می‌شود و فرد را دچار ناتوانی جنسی می‌کند شامل کاهش در تعداد و فعالیت اسپرم و کاهش در عملکرد و تولید هورمون مردانه تستوسترون است (۶). ناباروری یکی از معضلات جوامع صنعتی است و تقریباً (۱۲-۸ درصد) از افراد جامعه نابارور هستند (۷). دیابت عوارض جانبی زیادی بر ارگان‌ها از جمله دستگاه تناسلی دارد. یکی از عوارض آن، اختلال در باروری است که منجر به کاهش نعوظ تا سه برابر در مردان (۸) و آتروفی بیضه، کاهش تعداد و تحرک اسپرم می‌شود (۹). دیابت موجب القای استرس اکسیداتیو، افزایش پراکسیداسیون لیپید، کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی بافت بیضه، کاهش مقادیر تستوسترون و ممانعت از اسپرماتوزنز می‌شود و در نهایت سلسله این رویدادها به آپوپتوز سلول‌های بیضه می‌انجامد (۱۰). آپوپتوز<sup>۱</sup> یک فرایند سلولی محافظت‌کننده است که نقش مهمی در توسعه و هومئوستاز بافت طبیعی و نیز عوامل پیدایش بیماری‌ها دارد. این پدیده در شرایط طبیعی باعث می‌شود که سلول‌های پیر، آسیب‌دیده، اضافی و مضر حذف شوند

و برای تکامل و ترمیم بافت ضروری است. هرگونه اختلال در روند آپوپتوز، کاهش یا افزایش نامتعارف مرگ سلولی و در نهایت بیماری را موجب می‌شود (۱۱-۱۴). فعالیت بیش‌ازحد طبیعی آپوپتوز سبب بیماری‌های دژنره‌کننده مانند آلزایمر و پارکینسون می‌شود (۱۵). از سوی دیگر، درمان‌های مکمل مورد استفاده در بیماری دیابت، رژیم‌های غذایی و تغییر سبک زندگی، استفاده از داروهای گیاهی حاوی عوامل ضددیابت و تمرینات ورزشی است (۱۶). درمان بر پایه گیاهان دارویی به‌طور معمول در مقایسه با درمان بر پایه شیمیایی ارزان‌تر، آسان‌تر و دردسترس‌تر است و در برخی موارد عوارض جانبی کمتری را به همراه دارد (۱۷). بسیاری از داروهای مورد استفاده در بیماری دیابت، علی‌رغم فواید غیرقابل انکار، دارای اثرات مخرب نیز هستند به همین دلیل استفاده از درمان‌های جایگزین یا مکمل مورد توجه محققان قرار گرفته است (۱۸). تیره گزنه<sup>۲</sup>، شامل گیاهانی است عموماً علفی، چندساله، به ارتفاع ۸۰-۱۰۰ سانتی‌متر و بیشتر اعضای هوایی آن پوشیده از کرک قلاب‌مانند و یا مخروطی‌شکل هستند (۱۹). از واریته‌های مختلف گزنه<sup>۳</sup> *Urtica dioica* به‌عنوان گیاه دارویی از زمان‌های بسیار دور مورد توجه قرار داشته است (۲۰). گیاه گزنه در طب سنتی ایران به‌عنوان داروی کمکی در درمان دیابت معرفی شده است. گزنه به‌عنوان ضدالتهاب، کاهنده قند خون، دیورتیک، ضد درد، بی‌حس‌کننده موضعی، رفع التهاب پروستات، قاعده‌آور و رفع اختلاط خونی به کار می‌رود. ترکیبات گزنه شامل فلاونوئید، ترکیبات هیدروفیلیک نظیر لکتین و پلی‌ساکاریدها، ترکیبات استروئیدی نظیر استیگومسترول و همچنین موادی نظیر هیستامین، اسیدفرمیک، استیل‌کولین، اسیداستیک، اسیدبوتیریک، لکوترین، ۵ هیدروکسی تریپامین است (۲۱-۲۲). گزارش‌هایی مبنی بر مفیدبودن استفاده از دم‌کرده یا عصاره برگ‌ها و یا دیگر قسمت‌های گیاه گزنه به‌صورت تزریقی یا خوراکی در دیابت وجود دارد (۲۳-۲۴). عصاره آبی گیاه گزنه با تأثیر بر جزایر ایزوله موش صحرایی و افزایش ترشح انسولین موجب

<sup>2</sup> *Urticaceae*<sup>3</sup> *Dioica Urtica*<sup>1</sup> *Apoptosis*

محل نگهداری حیوانات مرکز تحقیقات دانشگاه علوم پزشکی لرستان نگهداری شدند. موش‌های سفید بزرگ آزمایشگاهی در گروه‌های سه‌تایی در محیطی با میانگین دمای  $(22 \pm 2)$  درجه سانتی‌گراد و چرخه روشنایی- تاریکی ۱۲ به ۱۲ ساعت در قفس‌های مخصوص از جنس پلی‌کربنات نگهداری شدند. تمامی حیوانات به آب و غذای ویژه موش سفید بزرگ آزمایشگاهی دسترسی آزاد داشتند. غذای موش‌های سفید بزرگ آزمایشگاهی از شرکت دام پارس تهیه شد. در تمام مراحل پژوهش، موش‌های سفید بزرگ آزمایشگاهی توسط یک نفر جابه‌جا و دست‌کاری شدند و آب مورد نیاز حیوان به‌صورت آزاد در اختیار آنها قرار داشت. در پژوهش حاضر کار با حیوانات بر اساس کلیه اصول اخلاقی تأییدشده توسط کمیته اخلاق دانشگاه لرستان (*LU.ECRA.2019.17*) و دستورالعمل‌های سازمان بین‌المللی درد (*IASP*)<sup>1</sup> انجام پذیرفت.

پروتکل آشناسازی: ابتدا در طول مرحله آشناسازی، به‌منظور خوگیری به شرایط آزمایشگاه و نوارگردان، حیوانات ۵ روز در هفته به مدت (۱۵-۱۰) دقیقه و با سرعت (۱۰-۵) متر بر دقیقه روی نوارگردان راه رفتند و با نوارگردان و چگونگی دویدن روی آن آشنا شدند.

القای دیابت: پس از اتمام پروتکل آشناسازی، به‌منظور القای دیابت، ۱۲ ساعت پس از محرومیت از غذا محلول *STZ* با دوز  $40 \text{ mg/kg}$  حل‌شده در بافر سیترات تازه  $4/5 \text{ PH}$  به‌صورت درون صفاقی تزریق شد. به موش‌های سفید بزرگ آزمایشگاهی غیردیابتی نیز معادل حجمی بافر سیترات تزریق شد. ۴۸ ساعت پس از تزریق، با ایجاد یک جراحت از طریق لانتست روی ورید دم موش‌های سفید بزرگ آزمایشگاهی، یک قطره خون بر روی نوار گلوکومتر قرار داده و نوار با دستگاه گلوکومتر (*Glucotrend2* شرکت روشه آلمان) خوانده شد. موش‌های سفید بزرگ آزمایشگاهی که قند خون آنها بالاتر از  $300 \text{ mg/dl}$  بود به‌عنوان دیابتی در نظر گرفته شد. برای اطمینان از عدم بازگشت قند خون در طول ۶ هفته تمرین و نیز پایان دوره تمرین نیز قند خون موش‌های سفید بزرگ آزمایشگاهی اندازه‌گیری شد (۳۳).

کاهش قند خون می‌شود (۲۵). کنترل مناسب قند خون مهم‌ترین عامل در پیشگیری از به‌وجود آمدن عوارض حاد و مزمن ناشی از دیابت است (۲۶). به غیر از رژیم غذایی و دارو، ورزش یکی از سه روش اصلی درمان دیابت است (۲۷). افزایش برداشت گلوکز به‌واسطه عضلات در طی ورزش، باعث تسهیل عملکرد انسولین می‌شود (۲۸). شواهد نشان می‌دهد که فعالیت ورزشی جنبه‌های گوناگونی از فعالیت سلول‌های عصبی را تحت تأثیر قرار می‌دهد و ممکن است از مرگ سلول‌های عصبی جلوگیری کند (۲۹). مطالعات مختلف نشان داده‌اند که فعالیت ورزشی موجب بهبود عملکرد شناختی، حافظه و یادگیری، و همچنین کاهش اختلالات شناختی ناشی از آسیب‌های مغزی می‌شود (۳۰). فعالیت ورزشی منظم باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، افزایش مقاومت در برابر استرس اکسیداتیو و در نتیجه کاهش آسیب‌های اکسیداتیو می‌شود (۳۱). نتایج مطالعه چنگ و همکارانش (۲۰۱۳) نشان داده است، تمرین از طریق تقویت مسیر *PI3k/AKT* و خانواده *Bcl-2* باعث مقاومت در برابر آپوپتوز ناشی از دیابت می‌شود (۳۲). با توجه به عدم بررسی تأثیر تمرین و مصرف گیاه گزنه به‌صورت هم‌زمان بر میزان آپوپتوز، این پژوهش به دنبال این است که آیا تمرین استقامتی و گزنه بر میزان آپوپتوز در موش‌های سفید بزرگ آزمایشگاهی مبتلا به دیابت نوع ۱ تأثیرگذار است یا خیر؟

## مواد و روش

تحقیق حاضر، تجربی و از نوع کاربردی است. ۵۸ سر موش سفید بزرگ آزمایشگاهی نر و بیستار ۸ هفته‌ای با محدوده وزنی (۲۵۰-۲۰۰) گرم به‌عنوان نمونه تحقیق از مرکز نگهداری حیوانات دانشگاه علوم پزشکی لرستان به‌طور تصادفی خریداری شد. موش‌های سفید بزرگ آزمایشگاهی پس از آشنایی با محیط آزمایشگاه، به‌صورت تصادفی به ۵ گروه تقسیم شدند: ۱- گروه سالم کنترل (*HC*)، ۲- گروه دیابت کنترل (*DC*)، ۳- گروه دیابت تمرین (*DT*)، ۴- گروه دیابت مکمل (*DS*) و ۵- گروه دیابت تمرین مکمل (*DTS*).

نگهداری و تغذیه موش‌های سفید بزرگ آزمایشگاهی: تمامی موش‌های سفید بزرگ آزمایشگاهی در اتاقی در

<sup>1</sup> International Association for the Study of Pain

متر بر دقیقه برای ۲۰ دقیقه در هفته سوم، ۱۵ متر بر دقیقه برای ۳۰ دقیقه در هفته چهارم، به ۱۸ متر بر دقیقه برای ۳۰ دقیقه در هفته پنجم افزایش یافت (جدول شماره ۱). به‌منظور رسیدن سازگاری‌های به‌دست‌آمده به حالت یکنواخت، تمامی متغیرهای تمرینی در هفته پایانی ثابت نگه داشته شدند (۳۳). گروه‌های دیابت کنترل، سالم کنترل و دیابت مکمل در هیچ‌گونه برنامه تمرینی شرکت نکردند.

پروتکل تمرین استقامتی: برای تمرین استقامتی از شدت تمرینی متوسط استفاده شد؛ به این صورت که گروه‌های ورزشی در معرض تمرین نوارگردان برای ۵ جلسه در هفته و به مدت ۶ هفته قرار گرفتند. سرعت و مدت تمرین نوارگردان به تدریج افزایش یافت و از ۱۰ متر بر دقیقه برای ۱۰ دقیقه در هفته اول، ۱۰ متر بر دقیقه برای ۲۰ دقیقه در هفته دوم، ۱۵ متر بر دقیقه برای ۲۰ دقیقه در هفته سوم، ۱۵

جدول ۱. پروتکل تمرین استقامتی در ۶ هفته

هفته ششم	هفته پنجم	هفته چهارم	هفته سوم	هفته دوم	هفته اول	متغیر
۳۰	۳۰	۳۰	۲۰	۲۰	۱۰	مدت تمرین (دقیقه)
۱۸	۱۸	۱۵	۱۵	۱۰	۱۰	سرعت نوارگردان (متر در دقیقه)

بررسی آپوپتوز بافت بیضه: در این مطالعه برای اندازه‌گیری تعداد سلول‌های آپوپتوز شده از رنگ‌آمیزی Tunel استفاده شد. قطعه‌قطعه شدن فرایند غیرقابل برگشتی است که حتی قبل از اینکه تغییری در نفوذپذیری غشا روی دهد صورت می‌گیرد. به نظر می‌رسد فعال‌شدن آندونوکلیاز هسته‌ای وابسته به کلسیم و منیزیم باعث این رویداد می‌شود. این آنزیم به‌طور انتخابی DNA را در محل بین واحدهای نوکلئوزومی می‌شکند و با نشان‌دار کردن آنزیمی توسط تانل که قادر است انتهای شکست‌ها در زنجیره DNA را شناسایی کند بررسی می‌شود.

به کمک کیت Roche ( In Situ Cell Death ) (Detection Kit, POD; Germany) انجام می‌شود. به‌این‌ترتیب که پس از پارافین‌زدایی، نمونه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در گزیلول قرار گرفتند. سپس لام‌ها به‌ترتیب در الکل‌های (۱۰۰، ۹۶، ۸۰ و ۷۰) آبدهی شدند. پس از آن، لام‌ها با استفاده از محلول PBS شسته شدند. سپس در پروتئیناز K به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه انکوبه شدند و ۲ بار با بافر شستشوی PBS شستشو شدند در مرحله بعد، محلول رنگی کیت تانل به میزان ۵۰ میکرولیتر روی هر نمونه بافتی ریخته شد و پس از یک ساعت در دمای ۳۷ درجه انکوبه و شستشو شدند. سپس به‌منظور رنگ‌پذیری هسته‌ها از DAPI استفاده شد و در نهایت لام‌ها با میکروسکوپ فلورسنت (LABOMED TCM 400)

عصاره‌گیری گیاه گزنه: جهت تهیه عصاره هیدروالکلی گزنه به ۵۰۰ گرم از پودر خشک‌شده گیاه، سه برابر حجم، اتانول ۷۰ درصد اضافه و به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شد. ماده به‌دست‌آمده دو بار از کاغذ صافی شماره ۲ واتمن<sup>۱</sup> عبور داده شد. به‌منظور کاهش حجم حلال و تبخیر اتانول در دستگاه روتاری<sup>۲</sup> rotator در دمای ۶۰ درجه قرار گرفت. پس از آن عصاره به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور در دمای ۶۰ درجه قرار گرفت و اتانول آن کاملاً تبخیر شد و عصاره خشک گیاه به دست آمد. به میزان ۵۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن از عصاره خشک گیاه در یک سی‌سی آب مقطر حل و تا زمان آزمایش در یخچال نگهداری شد. در نهایت به مدت ۶ هفته روزانه به حیوان گاوژ شد. گروه‌های دیابت مکمل و دیابت تمرین مکمل عصاره هیدروالکلی گزنه را دریافت کردند.

تشریح: ۴۸ ساعت بعد از آخرین جلسه تمرینی، موش‌های سفید بزرگ آزمایشگاهی توسط تزریق درون صفاقی کتامین (۹۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) و زایلازین (۱۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) بیهوش شدند و برای جداسازی بافت بیضه آماده شد. سپس بافت بیضه استخراج و در فرمالین ۱۰ درصد و دمای ۸۰- فریزر، برای تجزیه و تحلیل نگهداری شد.

<sup>1</sup> Whatman<sup>2</sup> Evaporator

## یافته‌ها

## سطوح گلوکز خون

داده‌های مربوط به تغییرات سطوح گلوکز خون و وزن بدن در جدول ۲ نشان داده شده است و بیانگر این است که سطح گلوکز خون در تمام دوره تمرین در گروه‌های دیابتی بیشتر از  $300\text{mg/dl}$  بود، که به‌عنوان آستانه دیابتی در نظر گرفته شده است. در شروع برنامه تمرینی غلظت گلوکز خون در گروه‌های دیابتی نسبت به گروه سالم به‌طور معنادار بالا بود ( $P=0/001$ ). اطلاعات مربوط به سطح گلوکز خون گروه دیابت تمرین نسبت به گروه دیابت کنترل به‌طور معنادار پایین‌تر بود ( $P=0/001$ ). همچنین بیانگر این است که میانگین وزن بدن در پایان دوره تمرین در گروه دیابت تمرین کاهش و در گروه دیابت گزنه افزایش یافته است. میانگین وزن بدن در گروه دیابت تمرین گزنه در پایان دوره تمرین نسبت به شروع دوره تمرین کاهش یافته است. اطلاعات مربوط به مقادیر وزن گروه‌ها در ابتدا (۴۸ ساعت قبل از تمرین) و در انتها (هفته ششم)، همچنین اطلاعات مربوط به سطح گلوکز خون گروه‌ها در ابتدا (۴۸ ساعت قبل از تمرین) و در انتها (هفته ششم) در جدول ۲ نشان داده شده است.

مشاهده شدند. برای شمارش سلول‌های مرده ۵ فیلد در هر گروه مورد شمارش قرار گرفتند. سطحی معادل ۱ میلی‌متر مربع در هر گروه جهت شمارش در نظر گرفته شد. در این پروتکل برای رنگ‌آمیزی نمونه‌های کنترل مثبت از هر دو محلول TUNEL-Enzyme solution و TUNEL-Lable solution به نسبت ۱ به ۹ استفاده شد. برای نمونه‌های کنترل منفی نیز صرفاً از lable solution TUNEL-استفاده شد. سلول‌های آپوپتوزشده در این بافت، نقطه‌های روشن بودند که نمایانگر سلول‌های آپوپتوزشده نشان‌دار شده طی رنگ‌آمیزی تانل بودند.

روش آماری: برای توصیف داده‌ها و رسم نمودارها از آمار توصیفی استفاده شد. از آزمون‌های کلموگروف اسمیرنوف و لون برای بررسی نرمال بودن داده‌ها و همگنی واریانس‌ها استفاده شد. همچنین برای مقایسه گروه‌ها در متغیرهای مورد مطالعه از تحلیل واریانس یک‌سویه (آزمون تعقیبی توکی) استفاده شد. تمامی عملیات آماری با نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۲ انجام شد و سطح معناداری داده‌ها، برابر با  $P < 0/05$  در نظر گرفته شد.

جدول ۲. مقادیر تغییرات سطوح گلوکز خون و وزن بدن در گروه‌های مورد مطالعه پیش و پس از آزمون

معنی‌داری	F آماره	DTS	DS	DT	DC	HC	مراحل آزمون	سطوح گلوکز خون (mg/dl)
.001	135.880	499.28±39.21*	496.14±41.99*	494.00±43.43*	502.85±52.19*	105.85±4.05	قبل	
.001	710.516	363.42±12.60*#&	411.57±15.15*#&	382.14±17.92*#	534.85±22.18*	105.14±3.67	بعد	
.069	2.437	226.07±4.64	226.78±6.45	225.50±4.62	227.71±11.11	235.71±6.67	قبل	(وزن بدن)
.001	57.119	224.78±7.58*#	229.71±9.32*#	219.28±4.68*#	197.00±7.30*	258.57±8.99	بعد	

اختلاف میانگین‌ها در سطح  $0/05$  معنادار هستند. \* معناداری همه گروه‌ها در مقابل گروه HC، # معناداری گروه‌های DS، DT و DTS در مقابل DC

\$ معناداری گروه DS در مقابل DT، @ معناداری گروه DTS در مقابل DT، و معناداری گروه DTS در مقابل DS

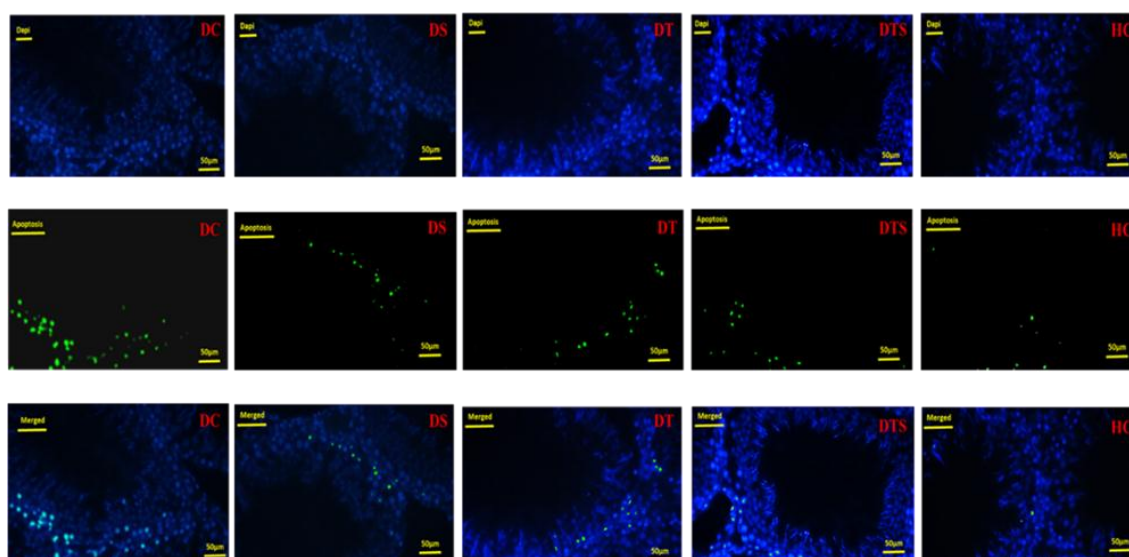
## میزان آپوپتوز

در گروه سالم کنترل ۴ درصد و در گروه دیابت کنترل ۳۸ درصد بوده است. با اندازه‌گیری‌ای که در پایان دوره تمرین انجام شد، مشاهده شد که میزان آپوپتوز در گروه دیابت

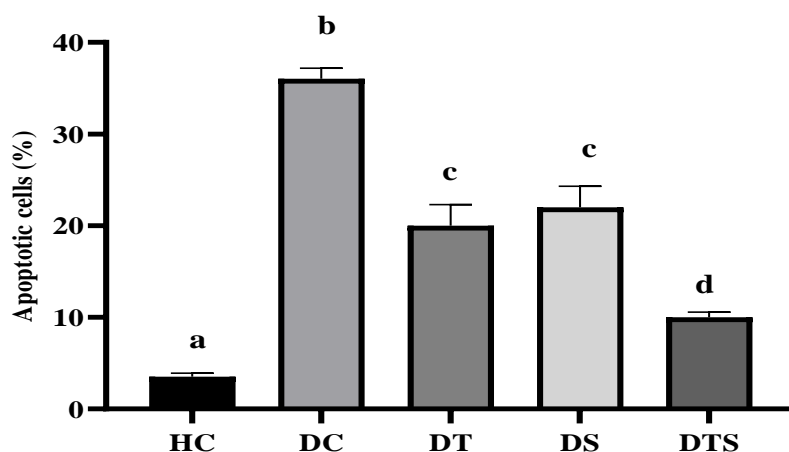
در نمودار ۲ سطح معناداری آپوپتوز در بافت بیضه موش سفید بزرگ آزمایشگاهی در گروه‌های مورد مطالعه نشان داده شده است و بیانگر این است که میزان آپوپتوز

کاهش معناداری داشت ( $P=0/001$ ). و در موش‌های سفید بزرگ آزمایشگاهی گروه «دیابت تمرین مکمل»، میزان آپوپتوز نسبت به موش‌های سفید بزرگ آزمایشگاهی گروه «دیابت کنترل» کاهش معنادارتری داشت ( $P=0/01$ ) و سطوح آپوپتوز کاهش بیشتری داشتند. در شکل شماره ۱ نتایج رنگ‌آمیزی تانل بافت بیضه نشان داده شده است. سلول‌های آپوپتوز شده در این بافت، نقطه‌های روشنی هستند که نمایانگر سلول‌های آپوپتوز شده نشان‌دار شده طی رنگ‌آمیزی تانل می‌باشند.

تمرین به ۱۷ درصد، در گروه دیابت گزنه به ۱۹ درصد و در گروه دیابت گزنه تمرین به ۱۱ درصد کاهش یافته است. نتایج نشان داد که القای دیابت، موجب افزایش آپوپتوز بافت بیضه موش‌های سفید بزرگ آزمایشگاهی شده است. تفاوت میزان آپوپتوز در گروه «دیابت کنترل» در مقایسه با گروه «سالم کنترل» از نظر آماری معنادار بود ( $P=0/001$ ). در موش‌های سفید بزرگ آزمایشگاهی گروه «دیابت تمرین» و «دیابت مکمل»، میزان آپوپتوز نسبت به موش‌های سفید بزرگ آزمایشگاهی گروه «دیابت کنترل»



شکل شماره ۱. نتایج رنگ‌آمیزی تانل



نمودار ۲. سطح معناداری آپوپتوز در بافت بیضه رت. حروف مختلف تفاوت معناداری را نشان می‌دهند ( $P < 0.001$ ).

بزرگ آزمایشگاهی دیابتی تأثیر معنادار داشته است ( $P=0.001$ ) و همچنین ۶ هفته مصرف عصاره هیدروالکلی گزنه منجر به کاهش معنادار آپوپتوز در بافت

## بحث

نتایج این تحقیق نشان داد که ۶ هفته تمرین استقامتی به‌تنهایی بر میزان آپوپتوز بافت بیضه موش‌های سفید

(از جمله کاسپاز ۳) نقش مهمی در آپوپتوز ایفا می‌کنند (۳۷). میتوکندری یک اندامک کلیدی در کنترل آپوپتوز است و دیپلاریزاسیون غشای آن باعث رها شدن عوامل پروآپوپتوزی می‌شود. پژوهشگران در توجیه کاهش میزان آپوپتوز در اثر تمرین استقامتی با شدت متوسط معتقدند که NO در غلظت‌های فیزیولوژیکی به صورت معکوس سیتوکروم اکسیداز را مهار می‌کند، که منجر به هایپرپلاریزاسیون غشای میتوکندری می‌شود و در نتیجه از آپوپتوز جلوگیری می‌کند (۳۹). همچنین فعالیت استقامتی باعث افزایش بیوژنو میتوکندری می‌شود (۳۹). پروتئین‌های مختلف آنتی‌آپوپتوزی درون سلولی مانند نیتریک اکسید سنتتاز القایی (iNOS<sup>۱</sup>)، لوسمی سلول میلوئیدی یا مغز استخوان (Mcl-1<sup>۲</sup>)، پروتئین تنظیم شده به وسیله گلوکز (GRP78<sup>۳</sup>) و اینترلوکین ۸ طی تمرین با شدت متوسط افزایش یافته و پس از بی‌تمرینی نیز در مقادیر بالا باقی مانده‌اند (۴۰). سطوح Mcl-1 به دلیل تخلیه مولکول اصلی پایین دست سیگنال NO، یعنی گوانوزین مونوفسفات حلقوی (CGMP<sup>۴</sup>) کاهش می‌یابد. به محض فعال‌سازی سیگنال NO-cGmp برخی بافت‌های بدن افزایش بیان Mcl-1 را حفظ کرده و روند آپوپتوز را کند می‌سازد. تمرین استقامتی با شدت متوسط از طریق افزایش مسیر iNOS-NO-cGMP-MCL-1 روند آپوپتوز را کند می‌کند (۴۰). سانتانا و همکاران (۲۰۱۴) کاهش قابل توجهی در بیان ژن فاکتورهای پروآپوپتوزیس و افزایش معناداری در میزان Act و سطح پروتئین Bcl-2 را پس از تمرین هوازی گزارش کردند (۴۱). دوستدار و همکارانش (۲۰۱۰) تمرین شنای استقامتی را بر کاهش تغییرات آپوپتوز مؤثر عنوان می‌کنند (۴۲). در مطالعه جعفری و همکاران (۲۰۱۵) کاهش در بیان ژن BAX نسبت به Bcl-2 عامل کاهش روند آپوپتوز بیان شد (۴۳). تعدادی از محققان عنوان کرده‌اند که انجام تمرینات

بیضه در موش‌های سفید بزرگ آزمایشگاهی دیابتی شده است (P=0.001)، به طور کلی ۶ هفته تمرین استقامتی همراه با مصرف عصاره هیدروالکلی گزنه تأثیر معناداری بر میزان آپوپتوز بافت بیضه در موش‌های سفید بزرگ آزمایشگاهی دیابتی داشت (P=0.001) و موجب کاهش آن شد. بالاترین درصد آپوپتوز در بافت بیضه مهره‌داران اتفاق می‌افتد؛ به طوری که ۷۵ درصد ژرم سل‌های تولید شده از طریق فرایند آپوپتوز از بین می‌روند. سلول‌های سرتولی، لیگاند Fas را بیان می‌کنند که با اتصال به Fas بر روی ژرم سل‌ها، باعث مرگ سلولی از طریق آپوپتوز می‌شوند و سلول‌های آپوپتوتیک را با فاگوسیتوز حذف می‌کنند، اما فرایند فاگوسیتوز در سلول‌های سرتولی همیشه به درستی انجام نمی‌شود. در برخی مواقع، ژرم سل‌های آپوپتوتیک با هسته آسیب دیده وارد فرایند بسته‌بندی دوباره کروماتین طی اسپرما توژنز می‌شوند (۳۴). یکی از نشانه‌های آپوپتوز، شکسته شدن هسته توسط آنزیم‌های اندونوکلاز هسته‌ای است (۳۵)، که در آسیب DNA اسپرم مشاهده می‌شود. دو مسیر وابسته به کاسپاز برای تنظیم آپوپتوز مشخص شده است که شامل مسیر میتوکندریایی (داخلی) و مسیر گیرنده مرگ (خارجی) هستند (۳۶). میتوکندری با باز کردن منافذ انتقال نفوذپذیری میتوکندریایی و رهایی پروتئین‌های آپوپتوتیک (به طور عمده سیتوکروم C)، در فرایند آپوپتوز شرکت دارد. آزادسازی سیتوکروم C فعال شدن کاسپاز ۹ را تسهیل می‌کند. اعضای خانواده Bcl-2، مانند خود Bcl-2 (پروتئین ضدآپوپتوتیک) و پروتئین پروآپوپتوتیک Bax به طور قوی در تنظیم منافذ انتقال نفوذپذیری میتوکندریایی نقش دارند (۳۷). مسیر گیرنده مرگ (خارجی) که با اتصال به لیگاندهای خارج سلولی (به عنوان مثال لیگاند Fas متعلق به خانواده فاکتور نکروز دهنده تومور آلفا) به گیرنده‌های سطحی سلولشان آغاز می‌شود، منجر به فعال‌سازی کاسپاز ۸ می‌شود (۳۸). هر دو مسیر خارجی و داخلی، با فعال‌سازی کاسپازهای افکتور پایین دست

<sup>1</sup> Inducible nitric oxide synthase

<sup>2</sup> Myeloid cell leukemia-1

<sup>3</sup> Grp78 Glucose-regulated

<sup>4</sup> Guanosine monophosphate cyclic



علاوه بر بررسی تأثیر گزنه در پایین آوردن گلوکز در موش‌های صحرایی دیابتی شده توسط استرپتوزوتوسین با بررسی هیستوپاتوزیک پانکراس موش‌های صحرایی، اثر حفاظتی گزنه را بر سلول‌های پانکراس مطرح کرده‌اند (۲۰). بسیاری از داروهای مورد استفاده در بیماری دیابت، علی‌رغم فواید غیرقابل انکار، دارای اثرات مخرب نیز می‌باشند به همین دلیل استفاده از درمان‌های جایگزین یا مکمل مورد توجه محققان قرار گرفته است (۱۸). مطالعه‌ای نشان داد که بسیاری از بیماران دیابتی، همراه با داروهای کنترل‌کننده قند خون از دیگر داروهایی نظیر گزنه استفاده می‌کنند (۵۴). درمان بر پایه گیاهان دارویی به طور معمول در مقایسه با درمان بر پایه شیمیایی ارزان‌تر، آسان‌تر و دردسترس‌تر است و در برخی موارد عوارض جانبی کمتری را به همراه دارد (۱۷). علاوه بر اینها و بر اساس نتایج حاصل از این مطالعه انجام تمرین استقامتی و مصرف عصاره هیدروالکلی گزنه تأثیر معناداری بر میزان آپوپتوز بافت بیضه در رت‌های دیابتی دارد.

### نتیجه‌گیری

نتایج این تحقیق نشان داد که ورزش استقامتی خود به‌تنهایی می‌تواند بر میزان آپوپتوز بافت بیضه تأثیرگذار باشد؛ همچنین عصاره هیدروالکلی گیاه گزنه به‌تنهایی نیز تأثیر معناداری بر کاهش آپوپتوز بافت بیضه داشت و به‌طور کلی ورزش استقامتی همراه با مصرف عصاره هیدروالکلی گزنه تأثیر معناداری بر آپوپتوز بافت بیضه موش‌های سفید بزرگ آزمایشگاهی دیابتی داشت؛ لذا پیشنهاد می‌شود از ورزش به‌عنوان یک مداخله غیردارویی و گیاه گزنه که یک مداخله غیرشیمیایی است در جهت کاهش عوارض ناشی از دیابت در حیطة باروری استفاده شود.

ورزشی با شدت متوسط و مداوم احتمالاً موجب کاهش آپوپتوز در بافت‌های مختلف می‌شود (۱۲، ۳۰، ۴۶-۴۴). این در حالی است که برخلاف تمرینات ورزشی، یک جلسه فعالیت ورزشی شدید تا ۴۸ ساعت می‌تواند موجب تسریع در فرایند آپوپتوز شود (۴۷-۴۸). کیم و همکاران (۲۰۱۰) گزارش کردند که تمرین هوازی میزان پروتئین ضدآپوپتوزی Bcl2 را افزایش و پروتئین Bax، نسبت به Bax/Bcl2 و فعالیت کاسپاز-۳ را در عضله دوقلوی موش‌های صحرایی کاهش می‌دهد (۴۹). همچنین مک میلان (۲۰۱۲) گزارش کرد که ۶ هفته تمرین استقامتی موجب کاهش قطعه‌قطعه شدن DNA، رهایش سیتوکروم C و پروتئین Bax می‌شود (۱۲). کی واک نیز بیان کرد که تمرین استقامتی، افزایش پیام‌رسانی آپوپتوزی و فرایند آپوپتوز را معکوس می‌کند و پیشنهاد کرد که تمرین استقامتی از قلب در مقابل آپوپتوز محافظت می‌کند (۵۰). با کاهش فاکتورهای مانند کاسپاز ۳ و افزایش سطح آنتی‌اکسیدان‌ها محافظت از بافت محیا می‌شود (۵۱). سه سازوکار احتمالی برای اثرات گزنه در کاهش قند خون بیان شده است که عبارت‌اند از: الف) افزایش تشکیل منافذ نفوذپذیر در سلول‌های ماهیچه که موجب افزایش برداشت گلوکز در عضلات می‌شود؛ ب) آزادسازی انسولین از سلول‌های بتای پانکراس و افزایش ترشح انسولین؛ ج) مهار فعالیت مهارکننده‌های هیدرولیز کربوهیدرات‌ها (مثل آلفا آمیلاز) (۵۲). از آنجایی که استفاده از داروهای مختلف، همواره با عوارض جانبی همراه است و امروزه تلاش‌ها بیشتر در جهت پیشگیری از بیماری‌هاست و نیز با توجه به مطالعات متفاوتی که در زمینه تأثیر برنامه‌های تمرینی درمانی مختلف بر شاخص‌های خون، مقاومت به انسولین، کاهش مصرف دارو و نیز بهبود وضعیت روانی انجام شده است، شرکت کردن در یک برنامه منظم و مدون ورزشی می‌تواند سهم عمده‌ای در کاهش عوارض دیابت، کاهش میزان مصرف دارو و بهبود سلامت روانی بیماران داشته باشد (۵۳). کاوالالی و همکاران (۲۰۰۳) در مطالعه خود

## تشکر و قدردانی

پژوهش حاضر برگرفته از پایان‌نامه رشته فیزیولوژی ورزشی گرایش فیزیولوژی فعالیت‌های بدنی و تندرستی در مقطع کارشناسی ارشد است. بدین‌وسیله از همه افرادی که در انجام این پژوهش ما را یاری کردند، تشکر و قدردانی می‌شود

## ملاحظات اخلاقی

در پژوهش حاضر کار با حیوانات بر اساس کلیه اصول اخلاقی تأییدشده توسط کمیته اخلاق دانشگاه لرستان (LU.ECRA.2019.17) و دستورالعمل‌های سازمان بین‌المللی درد (IASP) انجام پذیرفت.

## تعارض و منافع

نویسندگان مقاله اعلام می‌دارند که هیچ‌گونه تضادی در منافع وجود ندارد.

## منابع

1. Ansari S, Djalali M, Mohammadzadeh Honarvar N, Mazaherioun M, Zarei M, Gholampour Z. Assessing the effect of omega-3 fatty acids supplementation on serum BDNF (brain derived neurotrophic factor) in patients with type 2 diabetes: a randomized, double-blind, placebo-controlled study. *International Research Journal of Applied and Basic Sciences* 2016;4(10):380-3.
2. Nobahar M, Asgari M, Baba Mohammadi H, Soleymani M. [Book comprehensive Text Book of Medical Surgical Nursing ] 2nd ed. Tehran-Hakim Hidajy(Boshra) 2011:854-5.
3. Pishdad GR. Low incidence of type 1 diabetes in Iran. *Diabetes Care* 2005;28(4):927-9. PMID: 15793198 DOI: 10.2337/diacare.28.4.927
4. Dinh T, Veve A. Microcirculation of the diabetic foot. *Current Pharmaceutical Design* 2005; 11(18): 2301-2309.
5. Ahmadpour SH, Sadeghi Y. Effect of insulin and ascorbic acid therapy on plasma cu level in STZ-induced diabetic rats. *Journal of Nutrition Science and Vitaminology* 2008;4(54):321-8.
6. Figueroa Romero C, Sadidi M, Feldman EL. Mechanisms of disease the oxidative stress theory of diabetic neuropathy. *Journal of Nutrition Science and Vitaminology* 2008;4(54):213-8.
7. Kumar N, Singh A. Trends of male factor infertility, an important cause of infertility: A review of literature. *Journal of Human Reproductive Sciences* 2015;4(8):191-6.
8. De A, Singh M, Singh V, Ram V, Bisht S. Treatment effect of l-Norvaline on the sexual performance of male rats with streptozotocin induced diabetes. *European Journal of Pharmacology* 2016(771):247-54.
9. Ghanbari E, Nejati V, Najafi G, Khazaei M, Babaei M. Study on the effect of royal jelly on reproductive parameters in streptozotocin-induced diabetic rats. *International Journal of Fertility & Sterility*. 2015;1(9):113-20.
10. Ghanbari E, Nejati V, Khazaei M. Antioxidant and protective effects of Royal jelly on histopathological changes in testis of diabetic rats. *International Journal of Reproductive BioMedicine* 2016;8(14):519.
11. Favaloro B, Allocati N, Graziano V, Di Ilio C, De Laurenzi V. Role of apoptosis in disease. *Aging (Albany NY)* 2012;4(5):330-49. doi: 10.18632/aging.100459. PMID: 22683550; PMCID: PMC3384434.
12. McMillan E, Graham D, Rush J, Quadrilatero J. Decreased DNA fragmentation and apoptotic signaling in soleus muscle of hypertensive rats following 6 weeks of treadmill training. *Journal of Applied Physiology* 2012;7(113):1048-57.
13. Quadrilatero J, Bombardier E, Norris S, Talanian J, Palmer M, Logan H, et al. Prolonged moderate-intensity aerobic exercise does not alter apoptotic signaling and DNA fragmentation in human skeletal muscle. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism* 2010;3(298):E534-E47.
14. Siu PM. Muscle apoptotic response to denervation, disuse, and aging. *Medicine and Science in Sports and Exercise*. 2009 Oct;41(10):1876-1886. DOI: 10.1249/mss.0b013e3181a6470b. PMID: 19727026.
15. Offen D, Elkon H, Melamed E. Apoptosis as a general cell death pathway in neurodegenerative diseases. *Journal of Neural Transmission. Supplementa* 2000(21):153-66. PMID: 11128605 DOI: 10.1007/978-3-7091-6284-2\_13
16. Khademi Z, Imani E, HeidaryKhormizi M, PoordadKhodaei A, Sarneyzadeh M, Nikparvar M. A Study on The Variation of Medicinal Plants Used for Controlling Blood Sugar and Causes of Self Medication by Patients Referred to Bandarabbas Diabetic Center. *Journal of Diabetes Nursing* 2013;1(1):12-20.

17. Namazi N, Bahrami A. Effect of Hydroalcoholic Nettle Extract on Lipid Profiles and Blood Pressure in Type 2 Diabetes Patients. *Iran J Endocrinol Metabol* 2012;5(13):449-58.
18. Hunt L, Arar N, Akana L. Herbs, prayer, and insulin: Use of medical and alternative treatments by a group of Mexican-American diabetic patients. *J Fam Pract.* 2000(49):216-23.
19. Zargari A. Medicinal plants, 6th ed . Tehran University of Medical Sciences. 1375:401-9.
20. Kavalali G, Tuncel H, Goksel S, Hatemi H. Hypoglycemic activity of *Urtica pilulifera* in streptozotocin-diabetic rats *Ethanopharmacol. Journal of Ethnopharmacology* 2003;(84) 241-245.
21. Emmelin N, Feldberg W. Distribution of acetylcholine and histamine in nettle plants. *New Phytol* 1949(48):143-8.
22. Wagner H, Willer F, Samtleben R, Boos G. Search for the antiprostatic principle of stinging nettle (*Urtica dioica*) roots. *Phytomedicine. Volume 1, Issue 3, December 1994, Pages 213-224.*
23. Hasani-Ranjbar S, Larijani B, Abdollahi M. A systematic review of Iranian medicinal plants useful in diabetes mellitus. *Archives of Medical Science* 2008;3(4):285-292.
24. Fakhraee S, Jouyandeh Z, Mehri A, Larijani B, Hasaniranjbar S. Systematic review on the effectiveness and safety of nettle herb in treating diabetes. *Iranian Journal of Diabetes and Lipid Disorders* 2012;12(6):507-23.
25. Rezaeiaref TM, Latifpour M. Protective Effects of *Urtica Dioica* Extract on the Damage of Rat Small Intestinal Mucosa Caused by Diabetes. *Journal of Babol University of Medical Sciences* 2012;14(3):31-7.
26. Hasani AE, Ramezanpoor M. The effect of 8 weeks of regular aerobic exercise and nettle extract consumption on glucose level and insulin resistance index in type 2 diabetic women *Journal of Knowledge and Health* 2016;4(10):6-11.
27. Praet S, Van Loon L. Optimizing the therapeutic benefits of exercise in type 2 diabetes. *Journal of Applied Physiology* 2007;103(4):1113-20.
28. Suzanne CS, Bare B, Janice LH, Kerry H. [Cheever Brunner and Suddarth' s Textbook of Medical-Surgical Nursing (Two Volume Set)] 12th ed. Tehran-Jame enegar&Salemi 2010:155-66.
29. Gharakhanlou R, Chadan S, Gardiner P. Increased activity in the form of endurance training increases calcitonin gene-related peptide content in lumbar motoneuron cell bodies and in sciatic nerve in the Rat. *Neuroscience* 1999(89):1229-39.
30. Kim D, Ko I, Kim B, Kim T, Kim S, Shin M, et al. Treadmill exercise inhibits traumatic brain injury-induced hippocampal apoptosis. *Physiol Behav* 2010(101):660-5.
31. Mazzola P, Terra M, Rosa A, Mescka C, Moraes T, Piccoli B, et al. Regular exercise prevents oxidative stress in the brain of hyperphenylalaninemic rats. *Metabolic Brain Disease* 2011(26):291-7.
32. Cheng SM, Ho TJ, Yang AL, Chen IJ, Kao CL, Wu FN, et al . Exercise training enhances cardiac IGFI-R/PI3K/Akt and Bcl-2 family associated pro-survival pathways in streptozotocin-induced diabetic rats. *International journal of cardiology.* 2013 Jul 31;167(2):478-85.
33. Dakhili A, Gharakhanlou R, Movaheddin M, Khazani A, Keshavarz M. The Effect Of 6 Weeks Endurance Training On Gene Expression Of Nerve Growth Factor In Sensory Spinal Cord Of Rats With Diabetic Neuropathy. *Iranian Journal of Diabetes and Lipid Disorders* 2014; 13 (3): 263-271.
34. Avendano C, Franchi A, Duran H, Oehninger S. DNA fragmentation of normal spermatozoa negatively impacts embryo quality and intracytoplasmic sperm injection outcome. *Fertility and Sterility* 2010;94(2):549-57.
35. Wyllie A. Glucocorticoid-induced thymocyte apoptosis is associated with endogenous endonuclease activation. *Nature Reviews Genetics* 1980;284(5756):555-6.
36. Elmore S. Apoptosis: a review of programmed cell death. *Toxicologic pathology.* 2007 Jun;35(4):495-516.
37. Qiao X, Chen X, Wu D, Ding R, Wang J, Hong Q, et al. Mitochondrial pathway is responsible for aging-related increase of tubular cell apoptosis in renal ischemia/reperfusion injury. *The Journals of Gerontology Series A: Biological Sciences and Medical Sciences.* 2005;60(7):830-9.
38. Ashkenazi A, Dixit VM. Death receptors: signaling and modulation. *science.* 1998 Aug 28;281(5381):1305-8.
39. Mirdar Harijani S, Musavi N, et al. Effect of Endurance Swimming Training and Silymarin Treatment on Changes in Liver Apoptotic Index in Pregnant Rats Exposed to Cadmium. *Journal Mediine university Rafsanjan.* 2014;13(8):705-14.
40. Su SH, Jen CJ, Chen HL. NO signaling in exercise training-induced anti-apoptotic effects in human neutrophils. *Biochemical and Biophysical Research Communications.* 2011 Feb 4;405(1):58-63.
41. Santana ET, Serra AJ, Silva Junior JA, Bocalini DS, Barauna VG, Krieger JE, et al. Aerobic exercise training induces an anti-apoptotic milieu in myocardial tissue. *Motriz: Revista de Educação Física.* 2014 Apr;20:233-8.
42. Doustar Y, Mohajeri D, Rezaei A, Hashemi M. The effect of endurance swimming exercise on the occurrence of apoptosis in experimental diabetic myopathic rats. *Journal of Islamic Azad Uni Tabriz Branch.* 2010;3(4):629-36.

43. Jafari A, Pourrazi H, Nikookheslat S, Baradaran B. Effect of exercise training on Bcl-2 and bax gene expression in the rat heart. *Gene Cell Tissue. The Official Journal of Zahedan University of Medical Sciences* 2015;4(2).
44. Peterson J, Bryner R, Sindler A, Frisbee J, Alway S. Mitochondrial apoptotic signaling is elevated in cardiac but not skeletal muscle in the obese Zucker rat and is reduced with aerobic exercise. *Journal of Applied Physiology* 2008;105(6):1934-43.
45. Koçtürk S, Kayatekin B, Resmi H, Açıkgoz O, Kaynak C, Özer E. The apoptotic response to strenuous exercise of the gastrocnemius and solues muscle fibers in rats. *European journal of applied physiology.* 2008;102(5):515-24.
46. Phaneuf S, Leeuwenburgh C. Apoptosis and exercise. *Medicine & Science in Sports & Exercise* 2001 Mar 1;33(3):393-6.
47. Liu W, He W, Li H. Exhaustive training increases uncoupling protein 2 expression and decreases Bcl-2/Bax ratio in rat skeletal muscle. *Oxidative medicine and cellular longevity.* 2013. Article ID 780719 | <https://doi.org/10.1155/2013/780719>
48. Kalyani RR, Corriere M, Ferrucci L. Age-related and disease-related muscle loss: the effect of diabetes, obesity, and other diseases. *The lancet Diabetes & endocrinology.* 2014 ;2(10):819-29.
49. Guariguata L. By the numbers: new estimates from the IDF Diabetes Atlas Update for 2012. *Diabetes research and clinical practice.* 2012 ;98(3):524-5.
50. Kwak HB. Effects of aging and exercise training on apoptosis in the heart. *Journal of Exercise Rehabilitation* 2013;9(2):212.
51. Quindry J, French J, Hamilton K, Lee Y, Mehta JL, Powers S. Exercise training provides cardioprotection against ischemia-reperfusion induced apoptosis in young and old animals. *Experimental Gerontology* 2005 ;40(5):416-25.
52. Farkhaie F, Hosseini S, Edalat-Manesh M. The effect of endurance training with niglla sativa extract on lipid profile of diabetic rats. *The Journal of Nutrition, Fasting and Health* 2013;14(1):11-8.
53. Shahrjerdy SH, Shavandi N, Golpayegani M, Sheikh Hosseini R. Impact strength and resistance training on glycemic control, quality of life and mental health in women with type two diabetes. *Iran J Diabetes Lipid Disord.* 2009;9:35-44.
54. Ryan EA, Pick ME, Marceau C. Use of alternative medicines in diabetes mellitus. *Diabetic Medicine* 2001;18(3):242-5