

Research Paper

The Effect of Six Weeks of A High-Intensity Interval Training (HIIT) Swimming and Resveratrol Supplements on the Area of Hepatocytes and Polyploid Nuclei in Aged Male Rats Wistar Race

M. Kiani¹, M. Moazzami², M. Fathi, M³, Asadi-Shekari⁴

1. Department of Exercise Physiology, Faculty of Sport Sciences, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.
2. Ferdowsi University of Mashhad, Department of Exercise Physiology, Faculty of Sport Sciences, Mashhad, Iran. (Corresponding Author)
3. Ferdowsi University of Mashhad, Department of Exercise Physiology, Faculty of Sport Sciences, Mashhad, Iran
4. Neuroscience Research Center, Neuropharmacology Institute, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran.

Received: 2021/09/06

Accepted: 2021/10/06

Abstract:

Polyploid nuclei are formed as a result of a defective cell division cycle, which is strongly associated with the aging process and leads to an increase in the area of hepatocytes, i.e. cell inflammation. The purpose of this study was to evaluate the effect of a period high-intensity interval training (HIIT) swimming with resveratrol (R) supplementation on the area of liver cells and polyploid nuclei in aged rats. In this study, 40 male Wistar aged rats (twenty-month-old, weight of 350-450 g) that the NOVEL test of whom was negative and had no motor disorder, were divided into five groups (control (C), HIIT training (HIT), supplement and HIIT training (HITR), supplement (R), Solvent (S). Rats in the (HIT) and (HITR) groups performed (HIIT) swimming for six weeks (three days a week) the initial load applied (in the first week) was 9% of body weight per rat and 1% was added every week. Also, eight young rats (three-month-old, weight of 150-180 g) was placed in a group (Y) for comparison. At the end of the protocol and after biopsy, 5 healthy tissues were obtained from each group. Variables were stained with Hematoxylin and Eosin (HE) and, ImageJ software was used to calculate the area of hepatocyte and one-way analysis of variance and Tukey's post hoc test were used to compare the groups. After six weeks of HIIT swimming with and without resveratrol, there was a significant decrease between the mean levels of hepatocytes in the study groups, which was significant in the training group compared to the other groups. However, this change in polyploid nuclei was not significant ($p \leq 0.05$). There was a significant difference between the mean area of hepatocytes in the research groups ($P=0.0001$) (Table 1). According to Figure 1, Tukey's test showed that this significant difference was in the mean area of hepatocytes between the control and exercise ($P=0.0001$), control and youth ($P=0.0001$), solvent and supplement ($P=0.012$), solvent and training ($P=0.0001$), solvent and youth ($P=0.0001$), supplement and training + supplement ($P=0.0001$), supplement and training ($P=0.002$), supplement and youth

1.Email : Minakiani78@yahoo.com

2.Email : Moazami@um.ac.ir

3.Email : mfathei@um.ac.ir

4.Email : Majidasadi@kmu.ac.ir



($P=0.003$), training + supplement and training ($P=0.0001$), and training + supplement and youth groups ($P=0.0001$). There was no significant difference between the other groups. It seems HIIT swimming exercise with resveratrol supplements can lower liver cell levels.

Keywords: High-intensity interval training swimming, resveratrol, area of hepatocytes, polyploid nuclei.

Extended Abstract

Background and purpose

Increase in age and ageing process is an important period that may be with major and basic risk factors for many chronic diseases, including metabolic syndrome, Alzheimer's disease, cancer, and liver disease (1). The progressive loss of homeostasis at genomic, cellular, tissue, and whole-organism levels may be happening with ageing process that can lead to a decreased ability to respond to functional decline, stress, and increased situation of morbidity and mortality (2). One of the most persistent changes in aging cells is the accumulation of damaged organelles and macromolecules, that is associated with the reduction of different catabolic mechanisms and pathways. Polyploid nuclei are caused by the defective cell division cycle, which is strongly related to the aging process and leads to an increase in the area of hepatocytes, cellular inflammation. Therefore, this research is aimed to evaluate the effect of (HIIT) swimming and resveratrol on the area of hepatocytes and polyploid nuclei in aged rats.

Materials and methods

In this study, 40 male Wistar aged rats (twenty-month-old, weight of 350–450 g) that the NOVEL test of whom was negative and had no motor disorder, were divided into five groups (control (C), HIIT training (HIT), supplement and HIIT training (HITR), supplement (R), Solvent (S)). Also eight young rats (three-month-old, weight of 150–180 g) was placed in a group (Y) for comparison

HIIT swimming consisted of fourteen 20-second sets with 10 seconds of resting between each set. This training was performed for six weeks (three days per week) (3). In the interval training, the initial applied load (in the first week) was 9% of the rat's body weight and 1% was added each week (4). Hence, in the last week, the rats exercised with 14% of their body weight.

The rats in all six groups were kept in a polycarbonate cage for rodents (3 rats per cage) under controlled environmental conditions with the average temperature of 22 ± 4 and 12/12 light/dark cycle (7AM to 7PM) and access to standard water and food ad libitum.



All the aged rats were introduced to the animal pool (180 cm in diameter and 80 cm in height) one week before the onset of the main training (5).

The (C) group did not participate in practice. The rats of the (R) group only received 1% from the resveratrol dissolved in methylcellulose through gauge (10 mg per rat's body weight (kg) per day), and the rats in the HITR group did the swimming training while receiving resveratrol. The (S) group received 1% methylcellulose solution via gavage tube. It was performed in the morning for three groups (HITR, R, and S), so that the rats in the HITR group began their training 8 hours after gavage (to relieve the stress caused by the gavage). HIIT swimming workout was performed in the evening (which is the best training time in the normal activity of rats). At the end of the protocol and after biopsy, 5 healthy tissues were obtained from each group. Variables were stained with Hematoxylin and Eosin (HE) and, Image J software was used to calculate the area of hepatocyte and one-way analysis of variance and Tukey's post hoc test were used to compare the groups.

Findings

At the end of the research, the results of the present study showed that, after six weeks of HIIT swimming with and without resveratrol supplements, there was a significant difference between the mean area of hepatocytes in the research groups ($P=0.0001$). Tukey's test showed that this significant difference was in the mean area of hepatocytes between the control and exercise ($P=0.0001$), control and youth ($P=0.0001$), Solvent and supplement ($P=0.012$), Solvent and training ($P=0.0001$), Solvent and youth ($P=0.0001$), supplement and training + supplement ($P=0.0001$), supplement and training ($P=0.002$), supplement and youth ($P=0.003$), training + supplement and training ($P=0.0001$), and training + supplement and youth groups ($P=0.0001$). There was no significant difference between the other groups.

Following six weeks of HIIT swimming training, there was also a significant difference between the mean of polyploid nuclei in the research groups ($P=0.010$). Tukey's test showed this significant difference was between the mean of polyploid nuclei between control and young ($P=0.01$) and Solvent and young groups ($P = 0.01$). There was no significant difference between the other groups.



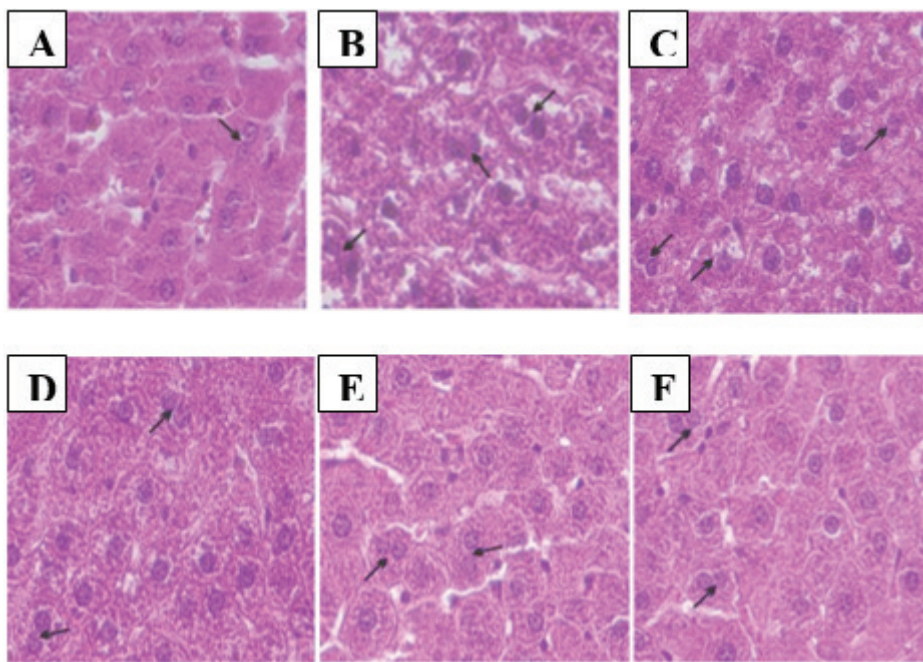


Image1 - Histological assessment of liver of male aged rats in A : Young Group, B : Control Group, C :Solvent Group, D : Exercise Group, E : Resveratrol Group, F : Exercise + Resveratrol Group. Black arrow shows bi-nucleated hepatocyte in different groups, (X400).

Conclusion

The results of the present research showed that HIIT swimming with and without resveratrol supplements can reduce the area of hepatocytes; the reduced area of hepatocyte in the training group was higher than other groups, which indicated less inflammation of cells. Reduction through resveratrol supplements was lower than the training group. In contrast, HIIT swimming with and without resveratrol supplements could not cause any significant difference in the polyploid nuclei, which can be related to training conditions, such as intensity, duration of training, as well as conditions of older participants.

Oxidative stress has been identified in the pathophysiology of fatty liver and the use of phytochemicals with antioxidant properties is one of the new approaches and is considered as an effective treatment for liver disease. One of these antioxidants is resveratrol (6). However, in the resveratrol supplement group as well as the training + supplement group, a decrease was seen in comparison to the control group. It should be noted that exercises could be useful when combined with the intake of supplements



such as resveratrol. Numerous experimental and pre-experimental studies have shown the beneficial effects of this substance on preventing the accumulation of fat, reducing oxidative stress in hepatocytes (7)

Since the enlargement of the cell is the most obvious consequence of liver polyploidization (8), decreased hepatocyte area in the exercise group may represent reduced polyploidization.

Keywords: High-intensity interval training swimming, resveratrol, area of hepatocytes, polyploid nuclei.

Article Message:

Due to structural problems of the organs in the elderly and since swimming is a sport activity in the water which reduces the effect of body weight on swimming, and due to the reduction in the area of hepatocytes in the HIIT swimming group, short-term swimming exercises are recommended.

References

1. Niccoli T, Partridge L. Ageing as a risk factor for disease. *Current Biology*. 2012 Sep 11;22(17): R741–52.
2. López-Otín C, Blasco MA, Partridge L, Serrano M, Kroemer G. The hallmarks of aging. *Cell*. 2013 Jun 6;153(6):1194–217.
3. Ramos-Filho D, Chicaybam G, de-Souza-Ferreira E, Martinez CG, Kurtenbach E, Casimiro-Lopes G, Galina A. High intensity interval training (HIIT) induces specific changes in respiration and electron leakage in the mitochondria of different rat skeletal muscles. *PLoS one*. 2015 Jun 29;10(6): e0131766.
4. Casimiro-Lopes G, Ramos D, Sorenson MM, Salerno VP. Redox balance and mitochondrial glycerol phosphate dehydrogenase activity in trained rats. *European Journal of Applied Physiology*. 2012 Nov 1;112(11):3839–46.
5. Farzanegi P, Habibian M, Alinejad H. The combined effect of regular aerobic exercise with garlic extract on renal apoptosis regulatory factors in aged rats with chronic kidney disease. *Majallah-i dānishgāh-i 'ulūm-i pizishkī-i Arāk*. 2016 Jan 1;19(3):62–70.
6. Vitaglione P, Morisco F, Caporaso N, Fogliano V. Dietary antioxidant compounds and liver health. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2005 Feb 10;44(7–8):575–86.
7. Rubiolo JA, Mithieux G, Vega FV. Resveratrol protects primary rat hepatocytes against oxidative stress damage: Activation of the Nrf2 transcription factor and augmented activities of antioxidant enzymes. *European journal of pharmacology*. 2008 Sep 4;591(1–3):66–72.
8. Wang MJ, Chen F, Lau JT, Hu YP. Hepatocyte polyploidization and its association with pathophysiological processes. *Cell Death & Disease*. 2017 May;8(5): e2805–.



تأثیر شش هفته تمرین تناوبی شدید شنا و مکمل رزوراترول بر مساحت هیپاتوسیت‌ها و هسته‌های پلی‌پلوئید در موش‌های صحرایی نر پیر نژاد ویستار مینا کیانی^۱، مهتاب معظمی^۲، مهرداد فتحی^۳، مجید اسدی شکاری^۴

۱. دانشجوی دکتری بیوشیمی و متابولیسم ورزشی، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

۲. دانشیار گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران (نویسنده مسئول)

۳. دانشیار گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

۴. استاد بافت شناسی مرکز تحقیقات علوم اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۳/۱۹

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۷/۱۷

چکیده

هسته‌های پلی‌پلوئید از چرخه تقسیم سلولی ناقص شکل می‌گیرند که ارتباط شدیدی با فرایند افزایش سن و سالخوردگی دارند و به افزایش مساحت هیپاتوسیت‌ها که نشان‌دهنده التهاب سلولی است، منجر می‌شوند؛ بنابراین این پژوهش با هدف بررسی تأثیر شش هفته تمرین تناوبی شدید شنا و مکمل دهی رزوراترول بر مساحت هیپاتوسیت‌ها و هسته‌های پلی‌پلوئید در موش‌های صحرایی پیر انجام شد. در این پژوهش ۴۰ سر موش صحرایی نر پیر نژاد ویستار (بیست‌ماهه با وزن ۳۵۰-۴۵۰ گرم) که آزمون ناول آن‌ها منفی بود و اختلال حرکتی نیز نداشتند، به پنج گروه کنترل (C)، تمرین تناوبی (HIT)، مکمل رزوراترول (R)، مکمل + تمرین (HITR) و حلال (S) تقسیم شدند. تمرین تناوبی شنا به مدت شش هفته (سه روز در هفته یک روز در میان) انجام شد و میزان بار اعمال شده در هفته اول، نه درصد وزن بدن هر موش صحرایی بود که هر هفته یک درصد به آن اضافه می‌شد. همچنین هشت سر موش صحرایی جوان (سه‌ماهه با وزن ۱۵۰-۱۸۰ گرم) برای مقایسه استفاده شدند. در انتهای پروتکل و پس از بافت‌برداری، از هر گروه پنج بافت سالم کبد به دست آمد. متغیرها به روش هماتوکسیلین و اتوزین (H&E) رنگ‌آمیزی شدند و مساحت هیپاتوسیت‌ها با استفاده از نرم‌افزار Image J محاسبه شد. همچنین از آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی توکی برای مقایسه گروه‌ها استفاده شد. نتایج نشان داد که به دنبال شش هفته تمرین تناوبی شدید شنا با و بدون مکمل دهی رزوراترول، در میانگین مساحت هیپاتوسیت‌ها در گروه‌های پژوهش کاهش معناداری وجود داشت که این کاهش در گروه تمرین در مقایسه با دیگر گروه‌ها درخور توجه بود، اما این تغییر در هسته‌های پلی‌پلوئید معنادار نبود ($P \leq 0.05$). این تفاوت معنادار بین میانگین مساحت هیپاتوسیت‌ها در بین گروه‌های کنترل و تمرین ($P = 0.0001$)، کنترل و جوان ($P = 0.0001$)، حلال و مکمل ($P = 0.012$)، حلال و تمرین ($P = 0.0001$)، حلال و جوان ($P = 0.0001$)، مکمل و تمرین + مکمل ($P = 0.0001$)، مکمل و تمرین ($P = 0.002$)، مکمل و جوان ($P = 0.003$)، تمرین + مکمل و تمرین ($P = 0.0001$) و تمرین + مکمل و جوان ($P = 0.0001$) بود. بین سایر گروه‌ها تفاوت معنادار وجود نداشت. به نظر می‌رسد انجام دادن یک دوره شش هفته‌ای تمرین شدید تناوبی شنا با مکمل دهی رزوراترول می‌تواند مساحت هیپاتوسیت‌ها را کاهش دهد.

واژگان کلیدی: تمرین تناوبی شدید شنا، رزوراترول، مساحت هیپاتوسیت‌ها، هسته‌های پلی‌پلوئید.

1. Email: Minakiani78@yahoo.com

2. Email: Moazami@um.ac.ir

3. Email: mfathei@um.ac.ir

4. Email: Majidasadi@kmu.ac.ir



مقدمه

افزایش سن یک عامل خطر مهم و اساسی برای بسیاری از بیماری‌های مزمن از جمله آلزایمر، سرطان، دیابت، بیماری‌های کبدی و قلبی-عروقی است (۱). پیری فرایندی پیچیده و چندعاملی است که عوامل کلیدی از جمله التهاب، آسیب ماکرومولکولی، تغییرات اپی‌ژنتیک و تجمع سلول‌های پیر را به دنبال دارد. با افزایش سن، عملکردهای سلولی کارآمدی کمتری دارند و در نهایت به مرگ سلولی و عواقب برگشت‌ناپذیر منجر می‌شوند (۲). کبد عضو متابولیک پیچیده‌ای است که برای حفظ طیف هموستاز^۱ بدن از طریق تنظیم متابولیسم انرژی، گزنوبیوتیک^۲ و اندوبیوتیک^۳ و بیوسنتز مولکولی ضروری است. افزایش سن از عوامل بسیار مهم تأثیرگذار بر عملکرد کبد است که می‌تواند در تولید انرژی اختلال ایجاد کند؛ به‌عنوان مثال، کبد سوخت‌وساز انرژی را از طریق گلوکونئوز^۴ و هموستاز چربی، بیوسنتز یا تخریب استروئید و سیگنال انسولین تنظیم می‌کند که اختلال در این مسیرها به بروز بیماری‌های کبدی منجر می‌شود (۳). نشانه‌های پیری تأثیری مستقیم بر انواع مختلف سلول‌های کبدی هیپاتوسیت‌ها^۴، سلول‌های اندوتلیال سینوسی کبد (LSECs)^۵، سلول‌های ماهواره‌ای کبدی (HSCs)^۶ و سلول‌های کوپفر (KCs)^۷ می‌گذارند (۴).

هیپاتوسیت‌ها سلول‌های اصلی بافت کبد هستند که حدود هشتاد درصد از بافت کبد را تشکیل می‌دهند و مسئول بیشتر عملکردهای کبدی هستند. هیپاتوسیت‌ها به سنتز آلبومین، فیبرینوژن و لیپوپروتئین منجر می‌شوند و در تنظیم اسید چرب و متابولیسم کربوهیدرات، سنتز کلسترول و نمک‌های صفراوی و مشارکت در متابولیسم داروها و ژنوبیوتیک نقش دارند (۵). همچنین سلول‌های کبدی رشد و ترمیم کبد از طریق آزاد شدن فاکتورهای رشدی و فاکتور رشد اندوتلیال عروقی^۸ (VEGF) را کنترل می‌کنند (۶).

با افزایش سن تغییراتی در کبد رخ می‌دهد که عبارت‌اند از: تغییر در حجم سلول‌ها، افزایش پلی‌پلوئیدهای^۹ هیپاتوسیت، انباشتگی لیپوفوسین‌ها^{۱۰} در درون سلول‌ها، کاهش بافت مشبک اندوپلاسمیک و کاهش تعداد و عملکرد میتوکندری‌ها. با نزدیک شدن به سن بلوغ، حجم سلول‌های کبد نیز افزایش می‌یابد، اما با مسن تر شدن این حجم شروع به کم شدن می‌کند (۷). هسته‌های پلی‌پلوئید از چرخه تقسیم سلولی ناقص شکل می‌گیرد که ارتباط شدیدی با فرایند افزایش سن و سالخوردگی دارند. نتایج پژوهش‌ها بیانگر کاهش درصد هسته

1. Homeostasis
2. Xenobiotic
3. Endobiotic
4. Hepatocytes
5. Liver Sinusoidal Endothelial Cells (LSECs)
6. hepatic Stellate Cells (HSCs)
7. Kü pffer Cells (KCs)
8. Vascular endothelial growth factor
9. Polyploidy
10. Lipofuscin



پلی‌پلوئیدها در پی انجام تمرینات ورزشی هوازی است (۸). پلی‌پلوئیدهای هیپاتوسیت‌ها با بالارفتن سن و پیری افزایش می‌یابند و باعث کاهش تعداد و عملکرد میتوکندری‌ها می‌شوند که در نهایت به کاهش سطح آدنوزین تری‌فسفات^۱ منجر می‌شود. همچنین فضای بافت‌های مشبک اندوپلاسمایی کم می‌شود و تولید آن و سنتز پروتئین‌های میکروزومال^۲ را در کبد کاهش می‌دهد (۷).

استفاده از آنتی‌اکسیدان‌ها و همچنین فعالیت منظم ورزشی یکی از مهم‌ترین فاکتورهایی است که امروزه نظر پژوهشگران زیادی را به‌منظور کنترل و درمان بیماری‌های کبدی و سایر بیماری‌های مرتبط با آن به خود جلب کرده است (۹). انجام دادن برخی فعالیت‌های بدنی و ورزش یکی از مؤثرترین روش‌های درمانی برای برخی اختلال‌ها و بیماری‌ها محسوب می‌شود (۱۰).

در سال‌های اخیر، تمرین تناوبی با شدت زیاد (HIIT) به‌عنوان مداخله ورزشی مؤثر شناخته شده است که می‌تواند مزایای مشابه یا بیشتری در مقایسه با تمرینات تداومی با شدت‌های متفاوت داشته باشد (۱۱). تمرین HIIT به وهله‌های تکراری با فعالیت‌های تناوبی به‌نسبت کوتاه با شدت تمام یا شدتی نزدیک به شدتی که حداکثر اکسیژن مصرفی^۳ به دست می‌آید ($VO_{2\text{peak}} \geq \text{of } 90\%$) نسبت داده می‌شود. با توجه به شدت تمرینات، یک تلاش HIIT ممکن است از چند ثانیه تا چندین دقیقه طول بکشد که وهله‌های گوناگون به‌وسیله چند دقیقه استراحت یا فعالیت با شدت کم از هم جدا می‌شوند (۱۲). در پژوهشی هانگ^۴ و همکاران (۱۳) به بررسی تأثیر تمرین شنا بر کارکرد سلول‌های کبدی در موش‌های پیر پرداختند. دوازده هفته تمرین ورزش شنا توانست از آسیب کبدی یا نشانگرهای زیستی مرتبط با پیری در موش صحرایی جلوگیری کند. این نتایج نشان می‌دهد که برنامه ورزشی دوازده‌هفته‌ای شنا موجب سرکوب نشانگرهای پیری و کم‌شدن واسطه التهابی در بافت کبدی می‌شود.

رزوراترول^۵، فایتالکسین موجود در بیش از ۳۰۰ گیاه خوراکی از جمله انگور، انواع توت‌ها و بادام زمینی است که توسط گیاهان به‌عنوان مکانیسمی دفاعی علیه آسیب‌های میکروبی، عفونت قارچی و استرس‌های محیطی تولید می‌شود. فعالیت آنتی‌اکسیدانی رزوراترول به محافظت از بافت‌هایی مانند کبد، کلیه و مغز در برابر انواع آسیب‌های ناشی از استرس اکسیداتیو منجر می‌شود. رزوراترول در کبد، تجمع چربی، استرس اکسیداتیو و التهاب را از طریق مسیر AMPK^۶ بهبود می‌بخشد، اختلال عملکرد میتوکندری و اختلال‌های متابولیک را کاهش می‌دهد، سمیت مواد مخدر و الکل را تعدیل می‌کند و به‌عنوان عامل ضدتوموری و ضدفیبروز خواص آنتی‌اکسیدانی آن در مدل‌های مختلف هیپاتیت در نظر گرفته می‌شود. همچنین می‌تواند از طریق تعدیل

1. Adenosine Triphosphate (ATP)

2. Microsomal Proteins

3. Peak Oxygen Uptake) $VO_{2\text{peak}}$ (

4. Huang CC et al., 2013.

5. Resveratrol

6. Adenosine Monophosphate-Activated Protein Kinase



مقاومت به انسولین و پروفایل لیپیدی در نمونه های حیوانی، استئاتوز کبدی را کاهش دهد (۱۴). به تازگی در پژوهشی وانگ^۱ و همکاران (۱۵) نشان دادند رزوراترول با کاهش تولید گونه های فعال اکسیژن^۲ و کاهش بیان سیتوکاین های التهابی و همچنین افزایش سطح میانجی های ضدالتهابی و آنتی اکسیدان ها به کاهش التهاب و استرس اکسیداتیو منجر می شود.

از آنجا که افزایش سطح استرس اکسیداتیو و التهاب هم اکنون به عنوان فاکتورهای مهم در پیشرفت بیماری کبد و همچنین سایر بیماری های مرتبط با آن محسوب می شود، به نظر می رسد مصرف آنتی اکسیدان ها همراه با فعالیت ورزشی منظم با بهبود این بیماری ها، کمک زیادی به درمان و کاهش شدت اثرات آن می کند (۱۶). از طرفی افزایش سن می تواند به افزایش التهاب سلول های کبدی و همچنین هسته پلی پلوئیدها منجر شود که این امر می تواند در عملکرد کبد نقص و اختلال ایجاد کند. همه این عوامل با هم می توانند ضرورت و اهمیت انجام دادن این پژوهش را مشخص کنند؛ بنابراین پژوهش حاضر با هدف بررسی تأثیر یک دوره تمرین تناوبی شدید شنا و مکمل دهی رزوراترول بر مساحت هیپاتوسیت ها و هسته های پلی پلوئید در موش های صحرایی پیر انجام شد.

روش پژوهش

پژوهش حاضر از نوع کاربردی-توسعه ای و به لحاظ روش کار از نوع پژوهش های تجربی با پیش آزمون و پس آزمون بود که با شش گروه کنترل (C)، تمرین تناوبی (HIT)، مکمل رزوراترول (R)، مکمل + تمرین (HITR)، حلال (S) و گروه جوان (Y) انجام شد. در این پژوهش ۷۰ سر موش صحرایی نر (۶۰ سر موش صحرایی نر بیست ماهه پیر (۱۶) با وزن ۳۵۰-۴۵۰ گرم و ۱۰ سر موش صحرایی نر جوان سه ماهه با وزن ۱۵۰-۱۸۰ گرم نژاد ویستار) از مرکز تحقیقات علوم اعصاب دانشگاه علوم پزشکی کرمان خریداری شدند. مشخص شده است کاهش شناختی شاخص برجسته ای از شروع فرایند پیری است (۱۷)؛ بنابراین به منظور ارزیابی شناختی موش های صحرایی پیر (به عنوان شاخص پیری) و تداخل نداشتن با پروتکل ورزشی، یک ماه قبل از شروع پژوهش از موش های صحرایی آزمون ناول^۳ گرفته شد. علاوه بر این به منظور بررسی اختلال حرکتی نداشتن موش های صحرایی پیر، آزمون میدان باز انجام شد. موش های صحرایی پیر هر پنج گروه در قفس مخصوص جوندگان از جنس پلی کربنات (هر قفس سه سر) و در وضعیت کنترل شده محیطی با میانگین دمای 22 ± 4 درجه سانتی گراد و چرخه روشنایی/تاریکی ۱۲/۱۲ (۷ صبح تا ۷ شب) و دسترسی آزادانه به آب و غذای استاندارد نگهداری شدند. سپس ۴۰ سر موش صحرایی پیر که آزمون ناول آن ها منفی بود و اختلال حرکتی نیز نداشتند، وارد پژوهش شدند. همه موش های صحرایی پیر به مدت یک هفته مرحله آشناسازی با

1. Wang H et al., 2018.

2. Reactive Oxygen Species (ROS)

3. NOVEL Test (Object Recognition)



استخر حیوانات (قطر ۱۸۰ سانتی متر و ارتفاع ۸۰ سانتی متر) قبل از شروع تمرین اصلی داشتند (۱۸)؛ به این ترتیب که در روز اول، موش‌های صحرایی با نهایت دقت و آرامش در استخر حیوانات با عمق آب ۵۰ سانتی متر (۱۹) و میانگین دمای ۳۰ ± ۰/۵ درجه سانتی گراد قرار گرفتند و با سرعت دلخواه به مدت پنج دقیقه شنا کردند. در جلسات بعد که موش‌های صحرایی به خوبی با استخر مخصوص حیوانات آشنا شدند، برای آشنایی با نوع تمرین تناوبی، بعد از ۲۰ ثانیه شنا به وسیله صفحه استراحت از آب بیرون آورده می شدند و دوباره در آب قرار داده می شدند. بعد از گذشت ۴۸ ساعت از زمان آخرین جلسه آشناسازی، موش‌های صحرایی پیر به روش تصادفی ساده به پنج گروه تقسیم بندی شدند. همچنین هشت سر موش صحرایی جوان براساس تعداد رت‌های هر گروه پیر برای مقایسه همسان سازی شدند (جدول شماره یک).

جدول ۱- میانگین وزنی گروه های مورد مطالعه

Table 1- Weight average of the studied groups

میانگین وزن (گرم)	گروه
415 ± 34	کنترل Control
404 ± 30	تمرین Exercise
400 ± 30	مکمل Supplement
401 ± 31	مکمل + تمرین Exercise + Supplement
400 ± 31	حلال Solvent
165 ± 15	جوان Youth

پروتکل تمرینی: این پروتکل شامل ۱۴ ست بیست ثانیه ای شنا با ۱۰ ثانیه استراحت بین هر ست بود. این برنامه ورزشی به مدت شش هفته (سه روز در هفته یک روز در میان) انجام شد (۲۰). در تمرین تناوبی میزان بار اعمال شده اولیه (در هفته اول) ۹ درصد از وزن بدن هر موش صحرایی بود که هر هفته یک درصد به آن اضافه می شد (۲۱)؛ به طوری که در هفته آخر، موش‌های صحرایی با ۱۴ درصد وزن بدن خود تمرین می کردند. موش‌های صحرایی گروه کنترل (C) تمرین نمی کردند. موش‌های صحرایی گروه مکمل (R) فقط از مکمل رزوراترول محلول در متیل سلولز یک درصد از طریق گاواژ (۲۲) (روزانه ۱۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن هر موش صحرایی (۲۳)) دریافت می کردند و موش‌های صحرایی گروه مکمل + تمرین (HITR)، تمرین HIIT شنا را همراه با دریافت رزوراترول انجام می دادند. گروه حلال (S) محلول متیل سلولز



یک درصد را از طریق گاوژ دریافت می‌کردند. گاوژ موش‌های صحرایی سه گروه (S و R، H1TR) هنگام صبح انجام می‌شد؛ به طوری که موش‌های صحرایی گروه H1TR هشت ساعت بعد از گاوژ، تمرین خود را به دلیل از بین رفتن استرس ناشی از گاوژ شروع می‌کردند. تمرین HIIT شنا هنگام عصر - که بهترین زمان تمرین در ریتم فعالیت طبیعی موش‌های صحرایی است - در زیر نور قرمز به دلیل کمترین استرس زایی انجام می‌گرفت (۲۴). به منظور ارزیابی شدت تمرین، هر جلسه لاکتات خون موش‌های صحرایی هر دو گروه تمرینی بلافاصله در پایان ست آخر (چهاردهم) از رگ انتهای دم (به وسیله دستگاه لاکتومتر EKF-Scout) اندازه‌گیری می‌شد (۲۱). در این پژوهش، میانگین میزان لاکتات در گروه تمرین $1/54 \pm 8/9$ میلی‌مول/لیتر و در گروه تمرین و مکمل $1/79 \pm 8/5$ میلی‌مول/لیتر بود؛ در حالی که این میزان در گروه کنترل پیر $0/22 \pm 2/0$ میلی‌مول/لیتر بود. سرعت و مسافت شنای هر موش صحرایی به وسیله سیستم ردیابی ویدئویی هوشمند (Noldus Ethovision® system, version 7, Netherland) که به صفحه نمایش یک کامپیوتر متصل بود، محاسبه شد. در شش هفته پروتکل تمرین، از هر گروه پیر، سه سر موش صحرایی به پایان تمرینات رسیدند یا بافت کبدشان در زمان قربانی شدن آسیب دید.

روش آماده‌سازی نمونه‌های بافت‌شناسی: برای از بین بردن آثار حاد تمرین و متغیرهای کنترل‌نشده و استرس حاصل از اجرای برنامه ورزشی در موش‌های صحرایی، ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین (۲۰)، موش‌ها با رعایت اصول اخلاقی در دسی‌کاتور متصل به کپسول دی‌اکسیدکربن بی‌هوشی سبک (۲۵) شدند و قربانی شدند. سپس کبد آن‌ها بلافاصله استخراج شد. نیمی از نمونه‌های کبدی برای بررسی‌های مورفولوژی در فرمالین^۱ بافری ۱۰ درصدی و نیمی برای بررسی‌های مولکولی بلافاصله در ازت مایع (تانک ازت مایع) به مدت ۱۵-۳۰ ثانیه فیکس قرار داده شد و تا زمان اندازه‌گیری (تا حدود سه ماه پس از بافت‌برداری برای انجام دادن ادامه کار) در فریزر منهای ۸۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

روش رنگ‌آمیزی بافت‌شناسی^۲: نمونه‌های فیکس شده در فرمالین (به مدت ۴۸ ساعت) با استفاده از دستگاه پردازشگر بافت^۳ پارافینه شدند و با دستگاه پارافین دیسپنسر^۴ قالب‌گیری شدند. سپس آبیگری بافت‌ها انجام شد و در انتها بلوک‌های پارافینی تشکیل شد.

برش بافت پارافینی و تهیه لام: ابتدا بلوک‌های پارافینی با استفاده از دستگاه میکروتوم^۵ دوار و به ضخامت پنج میکرون برش داده شد. سپس برش‌های بافتی ابتدا در حمام آب گرم و در مرحله بعد روی لام قرار داده شد و مقاطع تهیه شده به روش هماتوکسیلین و ائوزین (H&E) رنگ‌آمیزی شد. پس از آن، مساحت هیپاتوسیت‌ها با استفاده از نرم‌افزار Image J محاسبه و ثبت شد.

1. Formalin
2. Histological method
3. Tissue Prosser
4. Dispenser
5. Microtome



نحوه محاسبه مساحت متوسط سلول: فتومیکروگرافها از بخش‌های رنگ آمیزی H & E به دست آمدند. مساحت هر سلول (area) به میکرومترمربع (μm^2) با استفاده از نرم‌افزار Image J اندازه‌گیری شد. برای محاسبه میانگین مساحت سلول برای هر گروه، نمونه کبیدی پنج حیوان بررسی شد؛ به طوری که از هر کبید سه برش تهیه شد و از هر برش ۱۰ تصویر با بزرگ‌نمایی ۴۰۰ گرفته شد که در هر کدام از تصاویر ۳۰ سلول اندازه‌گیری شد.

ملاحظات اخلاقی: برای تمامی حیوانات پژوهش، ضوابط اخلاقی کمیته اخلاق پژوهشی زیستی دانشگاه فردوسی مشهد رعایت شد (کد کمیته اخلاق دانشگاه: IR.UM.REC.1398.071).

روش آماری: تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار اسپ‌اس‌اس^۱ نسخه ۱۹ انجام شد. ابتدا از آزمون شاپیرو-ویلک برای تعیین نرمال بودن توزیع داده‌های پژوهش استفاده شد. با توجه به نرمال بودن توزیع داده‌ها در متغیرها، از آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی توکی برای مقایسه گروه‌ها استفاده شد. نتایج پژوهش در قالب جدول ارائه شده است. سطح معناداری تجزیه و تحلیل آماری، $P \leq 0.05$ در نظر گرفته شد.

نتایج

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که به دنبال شش هفته تمرین HIIT شنا با و بدون مکمل رزوراترول، بین میانگین مساحت هیپاتوسیت‌ها در گروه‌های پژوهش تغییر معنادار مشاهده شد ($P = 0.0001$) (جدول شماره دو). با توجه به نتایج آزمون تعقیبی توکی، انجام دادن تمرین HIIT در گروه تمرین توانست در مقایسه با گروه کنترل ($P = 0.0001$)، گروه حلال ($P = 0.0001$)، گروه مکمل ($P = 0.002$) و گروه تمرین + مکمل ($P = 0.002$) تفاوت معنادار ایجاد کند. همچنین مصرف مکمل رزوراترول در گروه مکمل در مقایسه با گروه حلال ($P = 0.012$)، گروه تمرین + مکمل ($P = 0.0001$)، گروه تمرین ($P = 0.002$) و گروه جوان ($P = 0.003$) تفاوت معناداری را نشان داد. این مطلب نشان‌دهنده تأثیر هر دو عامل تمرین و مکمل بر دیگر گروه‌های پژوهش است و نشان می‌دهد انجام دادن تمرین ورزشی و مصرف مکمل رزوراترول بر فاکتورهای کبیدی مؤثر است. نتایج دیگر پژوهش، تفاوت معناداری را بین جفت گروه‌های کنترل و جوان ($P = 0.0001$)، حلال و جوان ($P = 0.0001$) و تمرین + مکمل و جوان ($P = 0.0001$) نشان داد. بین دیگر گروه‌ها تفاوت معنادار مشاهده نشد.

1. SPSS



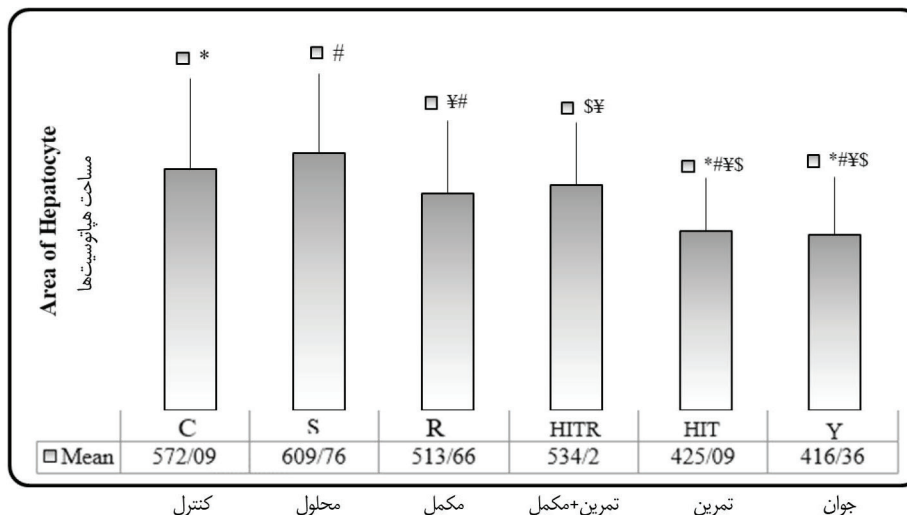
جدول ۲- نتایج تحلیل آزمون تعقیبی توکی (تفاوت بین جفت گروه‌ها) برای مساحت هپاتوسیت‌ها

Table 2- Results of Tukey post hoc analysis (difference between pairs of groups) for area of hepatocytes

P	تفاوت میانگین Mean difference	گروه Group	گروه Group	متغیر Variable
0.80	37.67	حلال Solvent	کنترل Control	مساحت هپاتوسیت‌ها Area of hepatocytes (um ²)
0.33	58.43	مکمل Supplement		
0.77	37.89	مکمل + تمرین Exercise + Supplement		
0.0001*	146.99	تمرین Exercise		
0.0001*	155.72	جوان Youth		
0.01*	96.10	مکمل Supplement	حلال Solvent	
0.09	75.56	مکمل + تمرین Exercise + Supplement		
0.0001*	184.66	تمرین Exercise		
0.0001*	193.39	جوان Youth		
0.0001*	109.10	مکمل + تمرین Exercise + Supplement	مکمل Supplement	
0.002*	88.56	تمرین Exercise		
0.003*	97.29	جوان Youth		
0.0001*	109.10	تمرین Exercise	مکمل + تمرین Exercise + Supplement	
0.0001*	117.83	جوان Youth		
0.99	8.72	جوان Youth	تمرین Exercise	

*P ≤ 0.05





شکل ۱- میانگین و انحراف استاندارد مساحت هپاتوسیت‌ها

Figure 1- Mean and standard deviation of area of hepatocytes

*: تفاوت معنادار بین گروه کنترل در مقایسه با دیگر گروه‌ها

#: تفاوت معنادار بین گروه حلال در مقایسه با دیگر گروه‌ها

¥: تفاوت معنادار بین گروه مکمل در مقایسه با دیگر گروه‌ها

\$: تفاوت معنادار بین گروه تمرین + مکمل در مقایسه با دیگر گروه‌ها

همچنین به دنبال شش هفته تمرین HIIT شنا، تغییر معناداری بین میانگین هسته‌های پلی‌پلوئید در گروه‌های پژوهش مشاهده شد ($P = 0.010$) (جدول شماره سه). با توجه به شکل شماره دو، آزمون تعقیبی توکی نشان داد که این تفاوت معنادار بین میانگین هسته‌های پلی‌پلوئید در بین گروه‌های کنترل و جوان ($P = 0.01$) و حلال و جوان ($P = 0.01$) بود. این نتایج درباره هسته‌های پلی‌پلوئیدی نشان‌دهنده اختلال و نقص در عملکرد کبد در گروه‌های کنترل و حلال در مقایسه با گروه جوان است. بین دیگر گروه‌ها تفاوت معنادار مشاهده نشد.

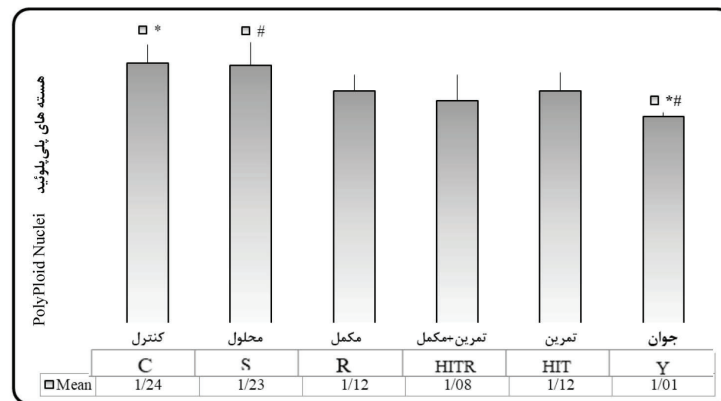
جدول ۳- نتایج تحلیل آزمون تعقیبی توکی (تفاوت بین جفت گروه‌ها) برای هسته‌های پلی‌پلوئید

Table 3- Results of Tukey post hoc analysis (difference between pairs of groups) for polyploid nuclei

P	تفاوت میانگین Mean difference	گروه Group	گروه Group	متغیر Variable
1.00	0.01	حلال Solvent	کنترل Control	هسته‌های پلی‌پلوئید Polyploid nuclei
0.43	0.11	مکمل Supplement		
0.13	0.16	مکمل + تمرین Exercise + Supplement		
0.42	0.11	تمرین Exercise		
0.01*	0.23	جوان Youth		
0.53	0.10	مکمل Supplement	حلال Solvent	
0.18	0.15	مکمل + تمرین Exercise + Supplement		
0.52	0.10	تمرین Exercise		
0.01*	0.22	جوان Youth		
0.97	0.04	مکمل + تمرین Exercise + Supplement	مکمل Supplement	
1.00	0.001	تمرین Exercise		
0.41	0.11	جوان Youth		
0.97	0.04	تمرین Exercise	مکمل + تمرین Exercise + Supplement	
0.84	0.07	جوان Youth		
0.42	0.11	جوان Youth	تمرین Exercise	

*P 0.05

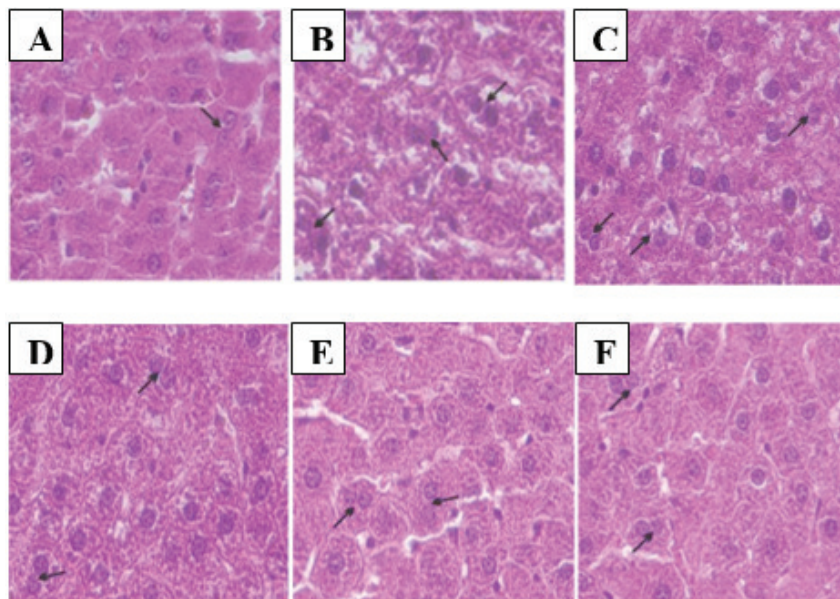




شکل ۲- میانگین هسته‌های پلی پلوئید در گروه‌های مختلف

Figure 2- Mean polyplod nuclei in different groups

*: تفاوت معنادار بین گروه کنترل در مقایسه با دیگر گروه‌ها
#: تفاوت معنادار بین گروه حلال در مقایسه با دیگر گروه‌ها



شکل ۳- ارزیابی هیستولوژیک کبد موش‌های صحرایی نر پیر در A: گروه جوان، B: گروه کنترل، C: گروه حلال، D: گروه تمرین، E: گروه مکمل، F: گروه مکمل + تمرین. پیکان سیاه سلول‌های کبدی دو هسته‌ای را در گروه‌های مختلف نشان می‌دهد (X400).

Figure 3- Histological assessment of liver of male aged rats in A: Young Group, B: Control Group, C: Solvent Group, D: Exercise Group, E: Resveratrol Group, F: Exercise + Resveratrol Group. Black arrow shows bi-nucleated hepatocyte in different groups (X400).



بحث و نتیجه گیری

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که یک دوره تمرین شدید تناوبی شنا با و بدون مکمل دهی رزوراترول به تغییر معنادار مساحت هپاتوسیت های کبدی منجر می شود. مساحت هپاتوسیت ها در گروه تمرین کاهش چشمگیری داشت، اما تمرین شدید تناوبی شنا همراه با مصرف مکمل دهی رزوراترول به تغییر معناداری در هسته های پلی پلوئید منجر نشد. اگرچه مکانیسم واقعی تأثیر مثبت فعالیت ورزشی بر کاهش سطح استرس اکسیداتیو و التهاب هنوز به خوبی روشن نشده است، به نظر می رسد یکی از مکانیسم های اثر ورزش های تناوبی بر بهبود وضعیت استرس اکسیداتیو و التهاب، از طریق افزایش ژن های آنتی اکسیدانی و ضدالتهابی است (۲۶). در این راستا در تحقیق کینوشیتا^۱ و همکاران (۲۷) به بررسی فعالیت ورزشی با شدت زیاد بر آسیب سلول های کبدی پرداختند. نتایج پژوهش آن ها افزایش آسیب سلول های کبدی را در موش های صحرایی پس از ورزش با شدت زیاد نشان داد. همچنین در پژوهشی افزایش بیان ژن های درگیر در التهاب و بازآرایی ژن های تنظیم شده توسط فرآیندهای التهابی در سلول ها مشاهده شد (۲۸).

نتایج پژوهش حاضر با نتایج تحقیق کینوشیتا و همکاران (۲۷) هم راستا نیست. در پژوهش حاضر تمرین ورزشی HIIT به کاهش مساحت هپاتوسیت ها منجر شد. همان طور که در نتایج می بینیم، تمرین ورزشی موجب شده است که مساحت هپاتوسیت ها در گروه تمرین پیر هم راستای گروه جوان قرار گیرد. بالا بودن مساحت هپاتوسیت ها در گروه های دیگر در مقایسه با گروه جوان و تمرین ورزشی نشان دهنده التهاب سلولی است که بر اثر افزایش سن به وجود می آید. این تغییرات در ساختار سلول های هپاتوسیت می تواند از طریق این موارد ایجاد شود: ۱- ازدست دادن سطوح صاف آندوپلاسمی، ۲- افزایش حجم سلول ها، برای مثال لیزوزوم ثانویه یا لیپوفوسین ها و ۳- افزایش پلی پلوئیدی هپاتوسیت. از سوی دیگر، داده هایی وجود دارند که نشان می دهند تغییرات خاص مرتبط با سن از جمله کاهش حجم کبد و کاهش پرفیوژن کبدی هر دو ممکن است بر برخی از عملکردهای کبدی تأثیر بگذارند (۲۹).

در پژوهشی دیگر نوچی^۲ و همکاران (۳۰) به بررسی تأثیر تمرین مقاومتی بر ساختار و کارکرد کبد موش های پیر پرداختند. نتایج این پژوهش نشان داد که تمرینات مقاومتی موجب افزایش تعداد هسته های هپاتوسیت شد و این نشان می دهد که این نوع تمرینات ورزشی باعث افزایش چرخه های میتوتیک هپاتوسیت ها و افزایش تراکم عددی و حفظ سطح آن در طول سن می شوند. نتایج پژوهش حاضر با کاهش مساحت هپاتوسیت ها از طریق تمرین HIIT شنا توانست التهاب سلول های کبد را تا میزان مساحت هپاتوسیت ها در گروه جوان کم کند. این نتایج می تواند در راستای نتایج پژوهش نوچی و همکاران (۳۰) باشد که تمرینات مقاومتی توانستند بر ساختار و کارکرد کبد موش های پیر تأثیری مثبت داشته باشند. پیری موجب آسیب سلول های کبدی و افزایش

1. Kinoshita

2. Nucci



مساحت هیپاتوسیت‌ها که نشان‌دهنده التهاب و تخریب سلولی است می‌شود (۳۰). در پژوهش حاضر، کاهش مساحت هیپاتوسیت‌ها در گروه تمرین در مقایسه با گروه‌های دیگر مشاهده شد که نشان می‌دهد فعالیت ورزشی می‌تواند موجب سودمندی شود و معایبی مانند افزایش مساحت هیپاتوسیت‌ها را کاهش دهد که بر اثر پیری ایجاد می‌شود.

وجود استرس اکسیداتیو در پاتوفیزیولوژی کبد چرب مشخص شده است و استفاده از فیتوکمیکال‌ها با خواص آنتی‌اکسیدانی از رویکردهای جدید ذکر شده به شمار می‌آید و همچنین درمان مؤثر بیماری‌های کبدی تلقی می‌شود. یکی از این آنتی‌اکسیدان‌ها، رزوراترول است (۳۱). در گروه مکمل رزوراترول و همچنین گروه تمرین + مکمل کاهش مساحت هیپاتوسیت‌ها در مقایسه با گروه کنترل مشاهده شد. باید گفت فعالیت ورزشی هنگامی که همراه با مصرف مکمل همانند مکمل رزوراترول باشد، می‌تواند مفید باشد. مطالعات تجربی متعدد (۳۳)، اثرات سودمند این مکمل را در ممانعت از تجمع چربی، کاهش استرس اکسیداتیو در هیپاتوسیت‌ها و پیشگیری و درمان کبد چرب در مدل‌های حیوانی نشان داده‌اند. رزوراترول اثرات آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی خود را با القای آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، تعدیل متابولیسم چربی و کاهش پراکسیداسیون چربی اعمال می‌کند (۳۴). در سلول‌های کبدی در حضور رزوراترول، فعال شدن پروتئین‌های مهم مانند SIRT1 و داستیل‌شدن $PGC1\alpha$ به افزایش بیوژنز میتوکندری منجر می‌شود. در پژوهشی تانگ^۱ و همکاران (۳۵) نشان دادند که درمان ترکیبی رزوراترول و تمرین‌های ورزشی خواص ضدپیری دارند و فعالیت چندین آنزیم دخیل در فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی درون‌زا را در کبد حیوانات پیر افزایش می‌دهند. همچنین سبب حفظ آنزیم‌های مهمی همچون کاتالازها^۲ در حیوانات پیر می‌شوند.

از سوی دیگر به خوبی مشخص شده است که فعالیت بدنی منظم خواص متعددی برای سلامتی دارد. حیدری و همکاران (36) به بررسی تأثیر هشت هفته تمرین استقامتی با شدت کم و تمرین تناوبی شدید (HIIT) بر میزان بیان ژن HIG2 و محتوای TG بافت چربی احشایی موش‌های صحرایی نر مبتلا به کبد چرب غیرالکلی (NAFLD) پرداختند. نتایج پژوهش آن‌ها نشان داد که پروتکل‌های تمرینی HIIT و با شدت کم می‌توانند میزان تری‌گلیسیرید بافت چربی احشایی و توده بدنی را در رت‌های مبتلا به NAFLD کاهش دهند و موجب بهبودی بیماری کبد چرب شوند. پژوهش حیدری و همکاران (36) با نتایج پژوهش حاضر مبنی بر اینکه فعالیت HIIT موجب کاهش مساحت هیپاتوسیت‌ها و ایجاد سودمندی از طریق فعالیت ورزشی شد، هم‌راستاست.

فونتانا^۳ و همکاران (۸) نشان دادند که ورزش هوازی موجب کاهش هسته‌های پلی‌پلوئیدی می‌شود. پلی‌پلوئیدها

1. Tung
2. Catalase
3. Fontana



از چرخه میتوزی ناقص حاصل می شود که با روند پیری مرتبط است (۸). براساس نظریه «دو ضربه»^۱ تبدیل و پیشرفت استئاتوز ساده به استئاتوهپاتیت و فیبروز پیشرفته، نتیجه دو ضربه است که ضربه اول تجمع چربی در کبد است و می تواند در اثر مقاومت به انسولین ایجاد می شود و ضربه دوم ایجاد استرس اکسایشی در نتیجه تجمع چربی در کبد است که باعث تسریع در ایجاد التهاب، پیشرفت استئاتوز و فیبروز می شود و می تواند در نهایت به سیروز کبدی و مرگ بیمار منجر شود (۳۷). در وضعیت پاتولوژیک، هسته های پلی پلوئیدی کبد عمدتاً میزان شدت صدمات را نشان می دهند؛ یعنی هرچه میزان هسته های پلی پلوئیدی بیشتر باشد، کبد بیشتر صدمه دیده است (۳۸). نتایج پژوهش حاضر تغییر معناداری را در سطوح هسته های پلی پلوئیدی در اثر تمرین HIIT شنا و مصرف مکمل رزوراترول نشان نداد. این یافته با نتایج پژوهش فوتنانا و همکاران (۸) که تمرین ورزشی توانست هسته های پلی پلوئیدی را کاهش دهد، همراستا نیست. از عوامل تأثیرگذار در عدم تغییر معنادار در سطوح هسته های پلی پلوئیدی در این پژوهش، می توان به شدت فعالیت ورزشی اشاره کرد. در پژوهش حاضر تمرینات HIIT انجام شد که می تواند به تولید گونه های اکسیژن فعال (ROS) منجر شود. در مجموع، فعالیت ورزشی می تواند مانند یک شمشیر دولبه عمل کند. فعالیت ورزشی می تواند با مصرف اکسیژن و تولید گونه های اکسیژن فعال (ROS) به آسیب اکسیداتیو به اسیدهای نوکلئیک در سلول منجر شود (۳۹). پیری باعث کاهش تعداد هیپاتوسیت های کبدی و افزایش مساحت کبد می شود (۴۰) و بزرگ شدن اندازه سلول بارزترین نتیجه پلی پلوئیداسیون کبد است (۴۱). کبد بالغ حاوی سلول های کبدی پلی پلوئیدی است که با افزایش سن میزان درصد آن تغییر می کند. این هسته ها در افراد جوان حدود ۱۰ درصد سلول های کبدی و در یک فرد مسن (۸۰ ساله) حدود ۳۰ تا ۴۰ درصد است. سلول های کبدی دیپلوئید سریع تر از پلی پلوئیدها تکثیر می شوند؛ بنابراین هسته های پلی پلوئیدی می توانند به عنوان یک نشانگر پیری سلولی در نظر گرفته شوند (۴۰).

در نهایت، نتایج پژوهش حاضر نشان داد که انجام دادن یک دوره تمرین شدید تناوبی شنا با و بدون مکمل دهی رزوراترول می تواند مساحت هیپاتوسیت ها را کاهش دهد. کاهش مساحت هیپاتوسیت ها در گروه تمرین در مقایسه با دیگر گروه ها بیشتر بود که نشان دهنده کاهش التهاب سلول هاست. کاهش مساحت هیپاتوسیت ها از طریق مکمل دهی رزوراترول در مقایسه با گروه تمرین کمتر بود. در مقابل، تمرین شدید تناوبی شنا با و بدون مکمل دهی رزوراترول نتوانست در هسته های پلی پلوئید تغییر معنادار ایجاد کند که می تواند در ارتباط با شرایط تمرین مانند شدت، مدت زمان تمرین و همچنین وضعیت آزمودنی ها یعنی پیروی باشد. برای روشن شدن اثرات تمرین تناوبی و مکمل ها به انجام دادن پژوهش های بیشتری نیاز است.

قابل کنترل نبودن استرس ناشی از قرارگرفتن در آب برای تمرین شنا و میزان استرس وارده به هر رت و همچنین استرس ناشی از بستن وزنه به دم رت ها، غیرقابل کنترل بودن و یکسان نبودن میزان استرس ناشی از ورود نیدل گاواژ در دهان رت ها، همچنین غیرقابل کنترل بودن تفاوت های وراثتی از جمله محدودیت های

1. Two-Stroke Theory



پژوهش حاضر بودند.

پیام مقاله

با توجه به مشکلات ساختاری اندامها در افراد سالمند و اینکه شنا فعالیتی ورزشی در آب است که موجب کاهش اثر وزن بدن در ورزش شنا می شود و همچنین با توجه به کاهش مساحت هیپاتوسیتها در گروه فعالیت ورزشی شنا، انجام دادن ورزشهای کوتاهمدت شنا توصیه می شود.

تشکر و قدردانی

از دانشکده علوم اعصاب دانشگاه علوم پزشکی کرمان و همچنین آزمایشگاه سارا تبریز و سرکار خانم دکتر کریمی مسئول آزمایشگاه برای همکاری در انجام دادن این رساله کمال تشکر را دارم.

منابع

1. Niccoli T, Partridge L. Ageing as a risk factor for disease. *Current Biology*. 2012 Sep 11;22(17):R741-52.
2. Kennedy BK, Berger SL, Brunet A, Campisi J, Cuervo AM, Epel ES, Franceschi C, Lithgow GJ, Morimoto RI, Pessin JE, Rando TA. Geroscience: linking aging to chronic disease. *Cell*. 2014 Nov 6;159(4):709-13.
3. Rui L. Energy metabolism in the liver. *Comprehensive physiology*. 2014 Jan;4(1):177.
4. Hunt NJ, Kang SW, Lockwood GP, Le Couteur DG, Cogger VC. Hallmarks of aging in the liver. *Computational and Structural Biotechnology Journal*. 2019 Aug 7.
5. Gong Z, Tas E, Yakar S, Muzumdar R. Hepatic lipid metabolism and non-alcoholic fatty liver disease in aging. *Molecular and cellular endocrinology*. 2017 Nov 5; 455:115-30.
6. Timchenko NA. Aging and liver regeneration. *Trends in Endocrinology & Metabolism*. 2009 May 1;20(4):171-6.
7. Kim H, Kisseleva T, Brenner DA. Aging and liver disease. *Current opinion in gastroenterology*. 2015 May;31(3):184.
8. Fontana K, Aldrovani M, Paoli FD, Oliveira HC, Campos Vidal BD, da Cruz Hoflingl MA. Hepatocyte nuclear phenotype, the cross-talk between anabolic androgenic steroids and exercise in transgenic mice. *Histology and histopathology*. 2008.
9. Inoue H, Kishimoto A, Ushikoshi-Nakayama R, Hasaka A, Takahashi A, Ryo K, et al. Resveratrol improves salivary dysfunction in a non-obese diabetic (NOD) mouse model of Sjogren's syndrome. *J Clin Biochem Nutr* 2016;59(2):107-12.
10. Park HG, Lee YR, Jun JK, Lee WL. Exercise training is more effective than resveratrol supplementation on alleviation of inflammation in peritoneal macrophages of high fat diet mice. *J Exerc Nutrition Biochem* 2014;18(1):79-87.
11. Little JP, Jung ME, Wright AE, Wright W, Manders RJ. Effects of high-intensity interval exercise versus continuous moderate-intensity exercise on postprandial glycemic control assessed by



- continuous glucose monitoring in obese adults. *Applied physiology, nutrition, and metabolism*. 2014 Feb 18;39(7):835-41.
12. Cassidy S, Thoma C, Houghton D, Trenell MI. High-intensity interval training: a review of its impact on glucose control and cardiometabolic health. *Diabetologia*. 2017;60(1):7-23.
 13. Huang CC, Chiang WD, Huang WC, Huang CY, Hsu MC, Lin WT. Hepatoprotective effects of swimming exercise against D-galactose-induced senescence rat model. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2013;Oct;2013.
 14. Faghihzadeh F, Hekmatdoost A, Adibi P. Resveratrol and liver: a systematic review. *Journal of Research in Medical Sciences: The Official Journal of Isfahan University of Medical Sciences*. 2015;20(8):797.
 15. Wang H, Jiang T, Li W, Gao N, Zhang T. Resveratrol attenuates oxidative damage through activating mitophagy in an in vitro model of Alzheimer's disease. *Toxicol Lett*. 2018;282:100-8.
 16. Monserrat Hernandez E, Serrano Garcia C, Antonio Viquez Roque R, Diaz A, Monroy E, Rodriguez Moreno A, et al. Chronic administration of resveratrol prevents morphological changes in prefrontal cortex and hippocampus of aged rats. *Synapse*. 2016;70(5):206-17.
 17. Dutt Way W, Soga T, Parhar IS. Aging and chronic administration of serotonin-selective reuptake inhibitor citalopram upregulate Sirt4 gene expression in the preoptic area of male mice. *Frontiers in Genetics*. 2015;6:281.
 18. Farzanegi P, Habibian M, Alinejad H. The combined effect of regular aerobic exercise with garlic extract on renal apoptosis regulatory factors in aged rats with chronic kidney disease. *J Arak Uni Med Sci*. 2016;19(3):62-70.
 19. Terada S, Yokozeki T, Kawanaka K, Ogawa K, Higuchi M, Ezaki O, Tabata I. Effects of high-intensity swimming training on GLUT-4 and glucose transport activity in rat skeletal muscle. *Journal of Applied Physiology*. 2001;90(6):2019-24.
 20. Ramos-Filho D, Chicaybam G, de-Souza-Ferreira E, Martinez CG, Kurtenbach E, Casimiro-Lopes G, et al. High intensity interval training (HIIT) induces specific changes in respiration and electron leakage in the mitochondria of different rat skeletal muscles. *PloS One*. 2015;10(6):e0131766.
 21. Casimiro-Lopes G, Ramos D, Sorenson MM, Salerno VP. Redox balance and mitochondrial glycerol phosphate dehydrogenase activity in trained rats. *European Journal of Applied Physiology*. 2012;112(11):3839-46.
 22. Shadfar S, Couch ME, McKinney KA, Weinstein LJ, Yin X, Rodriguez JE, et al. Oral resveratrol therapy inhibits cancer-induced skeletal muscle and cardiac atrophy in vivo. *Nutrition and Cancer*. 2011;63(5):749-62.
 23. Ungvari Z, Orosz Z, Labinsky N, Rivera A, Xiangmin Z, Smith K, et al. Increased mitochondrial H₂O₂ production promotes endothelial NF- κ B activation in aged rat arteries. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*. 2007;293(1):H37-47.
 24. Shafee A, Kordi M, Gaeini A, Soleimani M, Nekouei A, Hadidi V. The effect of eight week of high intensity interval training on expression of mir-210 and ephrinA3 mRNA in soleus muscle healthy male rats. *J Arak Uni Med Sci*. 2014;17(3):26-34
 25. Marosi K, Bori Z, Hart N, Srga L, Koltai E, Radk Z, et al. Long-term exercise treatment reduces



- oxidative stress in the hippocampus of aging rats. *Neuroscience*. 2012;226:21-8.
26. Hajighasem A, Farzanegi P, Mazaheri Z. Effects of combined therapy with resveratrol, continuous and interval exercises on apoptosis, oxidative stress, and inflammatory biomarkers in the liver of old rats with non-alcoholic fatty liver disease. *Archives of Physiology and Biochemistry*. 2019;125(2):142-9.
 27. Kinoshita S, Yano H, Tsuji E. An increase in damaged hepatocytes in rats after high intensity exercise. *Acta Physiologica Scandinavica*. 2003;178(3):225-30.
 28. D rnen J, Sieler M, Weiler J, Keil S, Dittmar T. Cell fusion-mediated tissue regeneration as an inducer of polyploidy and aneuploidy. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020;21(5):1811.
 29. Schmucker DL, Sanchez H. Liver regeneration and aging : a current perspective. *Current Gerontology and Geriatrics Research*. 2011 Oct ;2011.
 30. Nucci RA, Teodoro AC, Krause Neto W, Silva WD, de Souza RR, Anaruma CA, et al. Effects of resistance training on liver structure and function of aged rats. *The Aging Male*. 2018;21(1):60-4.
 31. Vitaglione P, Morisco F, Caporaso N, Fogliano V. Dietary antioxidant compounds and liver health. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2005;44(7-8):575-86.
 32. Alberdi G, Rodr guez VM, Macarulla MT, Miranda J, Churruga I, Portillo MP. Hepatic lipid metabolic pathways modified by resveratrol in rats fed an obesogenic diet. *Nutrition*. 2013;29(3):562-7.
 33. Cho SJ, Jung UJ, Choi MS. Differential effects of low-dose resveratrol on adiposity and hepatic steatosis in diet-induced obese mice. *British journal of nutrition*. 2012;108(12):2166-75.
 34. Schmatz R, Perreira LB, Stefanello N, Mazzanti C, Spanevello R, Gutierrez J, et al. Effects of resveratrol on biomarkers of oxidative stress and on the activity of delta aminolevulinic acid dehydratase in liver and kidney of streptozotocin-induced diabetic rats. *Biochimie*. 2012;94(2):374-83.
 35. Tung BT, Rodriguez-Bies E, Ballesteros-Simarro M, Motilva V, Navas P, Lopez-Lluch G. Modulation of endogenous antioxidant activity by resveratrol and exercise in mouse liver is age dependent. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2014;69(4):398-409.
 36. Heidari Shahreza A, Azamian Jazi A, Bani Talebi E, Palizban AA. Effect of Low-Intensity Endurance Training and High Intensity Interval Training on HIG2 Gene Expression and Visceral Adipose Tissue Triglyceride Content in NAFLD Rats. *Sports Physiology*. 1400; 13 (50) : 87-110. (In Persian).
 37. Petta S, Muratore C, Craxi A. Non-alcoholic fatty liver disease pathogenesis: the present and the future. *Digestive and Liver Disease*. 2009;41(9):615-25.
 38. Nucci RA, Teodoro AC, Gama EF. Liver regeneration and aging : a review. *Journal of Morphological Sciences*. 2016;33(04):179-82.
 39. Nakamoto H, Kaneko T, Tahara S, Hayashi E, Naito H, Radak Z, et al. Regular exercise reduces 8-oxodG in the nuclear and mitochondrial DNA and modulates the DNA repair activity in the liver of old rats. *Experimental Gerontology*. 2007;42(4):287-95.
 40. Wilkinson PD, Delgado ER, Alencastro F, Leek MP, Roy N, Weirich MP, et al. The polyploid state restricts hepatocyte proliferation and liver regeneration in mice. *Hepatology*. 2019;69(3):1242-58.
 41. Wang MJ, Chen F, Lau JT, Hu YP. Hepatocyte polyploidization and its association with pathophysiological processes. *Cell Death & Disease*. 2017;8(5):e2805.



ارجاع دهی

Kiani, M. Moazzami, M. Fathi, M. Asadi-Shekari, M. (2022) The effect of six weeks of a high-intensity interval training (HIIT) swimming and resveratrol supplements on the area of hepatocytes and polyploid nuclei in aged male rats Wistar race. *Sport Physiology*, 13 (52): 111-134 (Persian)

DOI: 10.22089/SPJ.2021.10581.2141

کیانی، مینا؛ معظمی، مهتاب؛ فتحی، مهرداد. اسدی شکاری، مجید. (۱۴۰۰). تأثیر شش هفته تمرین تناوبی شدید شنا و مکمل رزوراترول بر مساحت هپاتوسیت‌ها و هسته‌های پلی‌پلوئید در موش‌های صحرایی نر پیر نژاد ویستار. فیزیولوژی ورزشی، ۱۳ (۵۲): ۱۱۱-۱۳۴

شناسه دیجیتال : 10.22089/SPJ.2021.10581.2141



