

Sport Physiology

Sport Sciences Research Institute of Iran

Fall 2023/ Vol. 15/ No. 59/ Pages 115-126

Effect of High-Intensity Interval Training on Cardiac SIRT3/FOXO3a Pathway and Oxidative Stress in Rats with Heart Failure

Alireza Ghardashi Afousi 

1. Assistant Professor, Department of Exercise Physiology, Faculty of Sport Science and Health, University of Tehran, Tehran, Iran.

Received: 2023/10/02

Accepted: 2024/01/02

Ghardashi Afousi, A. R. (2023). Effect of High-Intensity Interval Training on Cardiac SIRT3/FOXO3a Pathway and Oxidative Stress in Rats with Heart Failure. *Sport Physiology*, 15(59), 115-126. In Persian. DOI: 10.22089/SPJ.2024.15898.2290

Abstract

Objective: Heart failure is a clinical syndrome known as final stage of cardiovascular disease. Oxidative stress is an important pathogenesis factor in development of heart failure and seems any intervention that improves oxidative stress balance help to these conditions. The purpose of this study was to investigate the high-intensity interval training on myocardial protein expression of SIRT3, FOXO3a, SOD2 and cardiac function.

Methods and Materials: Twenty-four male Wistar rats with 8-weeks and 200 ± 50 weight were randomly divided into three groups: health control, heart failure-control and heart failure-high-intensity interval training. Heart failure was induced by 130 mg/kg isoproterenol for 4 days. Exercise training including 5 intervals, 4 minutes at 85-90% maximum oxygen consumption separated with 2 minutes at 50-60% maximum oxygen consumption. 48 hours after last session training, tissue was collected and protein expression was done by western blotting. Data were analyzed through SPSS and one-way ANOVA and Tukey post hoc.

Results: The results indicated that SIRT3 ($P < 0.001$), FOXO3a ($P < 0.05$) and SOD2 ($P < 0.01$) significantly reduced after exercise intervention. Additionally, interstitial fibrosis decreases after 8-week high intensity interval training concomitant with increase in ejection fraction, fractional shortening, and decrease of left ventricular internal systolic ($P < 0.001$).

Conclusions: High-intensity interval training decreases oxidative stress and improves cardiac function via SIRT3/FOXO3a/SOD2 signaling pathway in rats with heart failure.

KeyWords: Heart Failure, Oxidative Stress, Exercise Training, Isoproterenol

* Corresponding Author: Alireza Ghardashi Afousi, Tel: 09126187815, E-mail: ghardashi.a@ut.ac.ir, <https://orcid.org/0000-0001-5075-2225>



Copyright: © 2023 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Extended Abstract

Background and Purpose

Heart failure (HF) is a clinical syndrome characterized by the impaired ability of ventricular filling pressure or depressed cardiac output that result in neurohormonal dysfunction, inflammation, structural and functional integrity disorder (such as coronary or myocardial disease) (1). HF associated with pathophysiological alteration in cellular events such as hypertrophic growth, fibrosis, inflammation, oxidative stress and cell death. Oxidative stress is an important characteristic of HF reflects an imbalance between the systemic reactive oxygen species generation and intracellular antioxidant defense. Sirtuins are a family of enzymes that catalyze NAD-dependent acetylation and known as oxidative stress sensors and cellular redox modulators (2). Evidence suggests that SIRT3 protect the heart against oxidative stress by mitochondrial signaling cascade response involving FOXO3-dependent transcription of SOD2 (3). Exercise training is accepted as a non-pharmacological strategy to improve cardiac function induced increase of oxygen uptake, attenuation of cardiac remodeling, cell death, oxidative stress, and increase of antioxidant capacity in cardiovascular disease (4). Exercise intensity is effective parameter on cardiovascular adaptation. Evidence indicated that high-intensity interval training (HIIT) versus traditional training has greater effects on pathological remodeling, systolic and diastolic function in HF patients (5). However, the precise mechanism of HIIT cardioprotective effects in HF models remain unclear. Therefore, researchers hypothesis that HIIT improves cardiac function SIRT3/FOXO3a/SOD2 signaling pathway in rats with HF.

Materials and Methods

Twenty-four male Wistar rats (8 weeks old, weighing 200-250 g) were used in this study and divided into healthy control (CTR), heart failure control (HF-CTR), and heart failure-HIIT (HF-HIIT). HF was induced by 130 mg/kg of isoproterenol solved in sterile saline and subcutaneously injection for 4 days, while the control group received sterile saline. Echocardiography was performed using a 10-MHz linear array transducer connected to a Vivid 7 expert ultrasound system at a speed of 100 mm/s. The HIIT session consisted of 5 intervals of 4 min at 85–90% VO_{2max} separated by 2 min at 50–60% VO_{2max} for 8-week, 3 day/week. At the beginning and end of every session training, 5 min at 50–60% VO_{2max} animals were performed for warm-up and cool-down. The CTR and HF-CTR animals were only located on the treadmill without any exercise training. Heart tissues removed 48-h after last session of training animals were anesthesia with Ketamine and Xylazine. The protein expression of SIRT-3, FOXOa3 and SOD2 were measured by western blot method. Data were expressed as mean \pm SEM and analyzed via the SPSS 25 and GraphPad Prism was used to create the graphs. The level of statistical significance was set at $P < 0.05$. A Shapiro-Wilk test was used to confirm that the distribution of all outcome variables was normal. One-way AN. VA followed by Tukey's *post hoc* test were used to determine of differences between groups.

Findings

The results indicated that myocardial protein expression of SIRT-3 increased in HF-HIIT versus HF-CTR ($P < 0.001$). Post intervention suggests that protein expression of FOXO3a ($P < 0.05$) and SOD2 ($P < 0.01$) increased in HF-HIIT versus HF-CTR. Additionally, interstitial fibrosis in HF-CTR versus CTR remarkably increased while 8-week HIIT attenuate fibrosis in HF-HIIT versus HF-CTR ($P < 0.001$). Moreover, ejection fraction and fractional shortening known as myocardial contractility were decreased in HF-CTR versus CTR. Post intervention indicated increase of ejection fraction and fractional shortening in HF-HIIT versus HF-CTR ($P < 0.001$).

Conclusion

The improvement of cardiac function may be related to rise stroke volume. HIIT increases blood flow fluctuations between high and low intensities that poses challenge for heart caused by improvement of the systolic left ventricular intra diameter. Aerobic training increased ATP demand during exercise that may result in increase of NAD^+ and NAD^+/NADH ratio which stimulate SIRT-3 expression in heart tissue (6).

Article Message

The study found that protein expression of SIRT-3/FOXO3a/SOD2 signaling pathway increased after 8 weeks HIIT and played key role in regulation of oxidative stress in HF. Additionally, improvement of fibrosis and systolic left ventricular intra diameter, increase of ejection fraction and fractional shortening improves myocardial contractility in rats with HF.

Ethical Considerations

Compliance with Ethical Guidelines

All experimental procedures and protocols were approved by the Animal Ethics Committee of Tehran University (IR.UT.SPORT.REC.1402.115) with the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals published by the United States National Institutes of Health (NIH Publication, 8th Edition, 2011).

Funding

This study received no funding from public, commercial, or non-profit organizations.

Authors' Contributions

All authors have participated in designing, implementing and writing all parts of the present study.

Conflict of Interest

The authors declare that there is no conflict of interest.

Acknowledgments

The authors thank all those who participated in this study.

References

1. Miller RJ, Howlett JG, Fine NM. A novel approach to medical management of heart failure with reduced ejection fraction. *Canadian Journal of Cardiology*. 2021; 1;37(4):632-43.
2. Chalkiadaki A, Guarente L. Sirtuins mediate mammalian metabolic responses to nutrient availability. *Nature Reviews Endocrinology*. 2012; 8(5):287-96.
3. Jacobs KM, Pennington JD, Bisht KS, Aykin-Burns N, Kim HS, Mishra M, Sun L, Nguyen P, Ahn BH, Leclerc J, Deng CX. SIRT3 interacts with the daf-16 homolog FOXO3a in the mitochondria, as well as increases FOXO3a dependent gene expression. *International journal of biological sciences*. 2008;4(5):291.
4. Farah C, Kleindienst A, Bolea G, Meyer G, Gayraud S, Geny B, Obert P, Cazorla O, Tanguy S, Reboul C. Exercise-induced cardioprotection: a role for eNOS uncoupling and NO metabolites. *Basic research in cardiology*. 2013;108:1-3.
5. Neto MG, Duraes AR, Conceição LS, Saquetto MB, Ellingsen Ø, Carvalho VO. High intensity interval training versus moderate intensity continuous training on exercise capacity and quality of life in patients with heart failure with reduced ejection fraction: a systematic review and meta-analysis. *International journal of cardiology*. 2018;15; 261: 134-41.
6. White AT, Schenk S. NAD^+/NADH and skeletal muscle mitochondrial adaptations to exercise. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*. 2012;1;303(3): E308-21.



پښتو ښکته ځاښه علوم انساني و مطالعات فرښکته
پرتال جامع علوم انساني

فیزیولوژی ورزشی

پژوهشگاه تربیت بدنی

پاییز ۱۴۰۲، دوره ۱۵، شماره ۵۹، صفحه‌های ۱۲۶-۱۱۵

تأثیر تمرین تناوبی خیلی شدید بر مسیر SIRT3/FOXO3a و کاهش استرس اکسایشی قلب

موش‌های صحرایی نر مبتلا به نارسایی قلبی

علیرضا قارداشی افوسی 

۱. استادیار گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی و تندرستی، دانشگاه تهران، تهران، ایران.

Ghardashi Afousi, A. R. (2023). Effect of High-Intensity Interval Training on Cardiac SIRT3/FOXO3a Pathway and Oxidative Stress in Rats with Heart Failure. *Sport Shysiology*, 15(59), 115-126. In Persian. DOI: 10.22089/SPJ.2024.15898.2290

دریافت مقاله: ۱۴۰۲/۰۷/۱۰

پذیرش مقاله: ۱۴۰۲/۱۰/۱۲

چکیده

نارسایی قلبی سندرم بالینی پیچیده‌ای است که آن را مرحله نهایی بیماری‌های قلبی عروقی می‌شناسند. استرس اکسایشی یکی از مهم‌ترین عوامل پاتولوژیک مؤثر در توسعه نارسایی قلبی است و به نظر می‌رسد، هرگونه مداخله‌ای که بتواند استرس اکسایشی را متعادل کند، در بهبود این شرایط کمک می‌کند. هدف پژوهش حاضر، بررسی آثار تمرین تناوبی خیلی شدید بر بیان پروتئین SIRT3، FOXO3a، SOD2 و عملکرد قلبی بود. تعداد ۲۴ سر موش صحرایی نژاد ویستار هشت‌هفته‌ای و میانگین وزن 50 ± 200 گرم تصادفی به سه گروه کنترل سالم، نارسایی قلبی-کنترل و نارسایی قلبی-تمرین تناوبی خیلی شدید، تقسیم شدند. القای نارسایی قلبی با تزریق ۱۳۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن ایزوپروتونول به مدت چهار روز انجام شد. برنامه تمرینی شامل هشت هفته، سه جلسه در هفته و پنج تناوب چهار دقیقه‌ای با شدت ۸۵ تا ۹۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی با دو دقیقه بازیابی با شدت ۵۰ تا ۶۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی بود. ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی بافت‌برداری انجام شد و بیان پروتئین‌ها به روش وسترن بلات انجام شد. داده‌ها با نرم‌افزار اسپ‌اس‌اس و آزمون واریانس یک‌راهه و آزمون تعقیبی توکی تجزیه و تحلیل شد. یافته‌های پژوهش نشان داد، بیان پروتئین SIRT3 ($P < 0.001$)، FOXO3a ($P < 0.05$) و SOD2 ($P < 0.01$) پس از مداخله تمرینی کاهش بارزی به همراه داشت. به علاوه، نشان داده شد فیبروز بینابینی پس از هشت هفته تمرین تناوبی خیلی شدید کاهش یافت که با افزایش کسر تزریقی، کسر کوتاه‌شدگی و کاهش قطر داخلی بطن چپ در سیستم همراه بود ($P < 0.001$). تمرین تناوبی خیلی شدید از راه مسیر سیگنالینگ SIRT3/FOXO3a/SOD2 به کاهش استرس اکسایشی و بهتر شدن عملکرد قلبی موش‌های صحرایی نر مبتلا به نارسایی قلبی منجر می‌شود.

واژگان کلیدی: نارسایی قلبی، استرس اکسایشی، تمرین ورزشی، ایزوپروتونول.

* Corresponding Author: Alireza Ghardashi Afousi, Tel: 09126187815, E-mail: ghardashi.a@ut.ac.ir, <https://orcid.org/0000-0001-5075-2225>



Copyright: © 2023 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

مقدمه

نارسایی قلبی، بیماری پیچیده‌ای است که با مرگ زیاد و رویدادهای مولکولی و سلولی گوناگون از جمله تغییرات ژنتیکی، رشد هیپرتروفیک، فیبروز، التهاب، استرس اکسایشی و مرگ سلولی همراه است (۱). استرس اکسایشی یکی از مهم‌ترین ویژگی نارسایی قلبی است که آن را اختلال در تنظیم بین تولید گونه‌های فعال اکسیژنی (ROS) و سازوکارهای دفاعی درون‌زا تعریف می‌کنند. در غلظت‌های کم، ROS نقش مهمی در هومئوستاز سلولی ایفا می‌کند؛ با وجود این، افزایش به اختلال عملکرد سلولی، پراکسیداسیون پروتئین و لیپید، آسیب DNA و در نهایت آسیب برگشت‌ناپذیر مرگ سلولی منجر می‌شود (۲). تولید ROS در قلب عمدتاً توسط میتوکندری‌ها و با نیکوتین آمید آکسیداز (NADPH) اکسیداز، گزانتین اکسیداز و نیتریک اکسید سنتاز به دست می‌آید. NADPH آزیمی است که انتقال الکترون از NADPH به O_2 مولکولی را کاتالیز می‌کند و یکی از مولدهای اصلی ROS دستگاه گردش خون است (۳). فعالیت گزانتین اکسیداز و NADPH اکسیداز در اثر نارسایی قلبی افزایش می‌یابد که خود به افزایش تولید ROS منجر می‌شود؛ در نتیجه به آسیب قلبی و ازهم‌گسیختگی ساختاری، اختلال عملکردی و ریمودلینگ بطن چپ می‌انجامد (۴). از سویی، با افزایش استرس اکسایشی، نارسایی قلبی با فرسودگی سازوکار دفاعی آنتی‌اکسیدان درون‌زا نیز همراه است. اجزای درون‌زای اصلی سازوکار دفاعی آنتی‌اکسیدان کاردیومیوسیت‌ها عبارت‌اند از: سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، کاتالاز، گلووتاتیون پراکسیداز، گلووتاتیون و نیکوتین آمید آکسیداز (NAD⁺) که در مدل نارسایی قلبی کاهش می‌یابند (۵).

سیرتوئین‌ها، خانواده‌ای از NAD⁺ وابسته به کلاس III هیستون داستیلاز هستند که هفت عضو دارند و در تنظیم بسیاری از فرایندهای سلولی از جمله ریتم شبانه‌روزی، متابولیسم، رونویسی ژن، چرخه سلولی و آپوپتوز نقش دارند (۶). سیرتوئین ۳ (SIRT3) در سیتوپلاسم و میتوکندری بیان می‌شود. استیلاسیون پروتئین میتوکندری برای حفظ یکپارچگی هومئوستاز سلولی ضروری است. بیشترین میزان SIRT3 در میتوکندری یافت می‌شود و نقش مهمی در کنترل عملکرد آنزیم‌های متابولیک میتوکندریایی دارد (۷). نشان داده شده است که SIRT3 در بسیاری از جنبه‌های التهاب قلبی، استرس اکسایشی، آپوپتوز، اتوفاژی، کنترل کیفیت میتوکندری، متابولیسم مواد و انرژی سلولی نقش دارد (۸، ۹). شواهد در حال افزایش نشان می‌دهد که SIRT3 نقش مهمی در ایجاد بیماری‌های قلبی عروقی دارد (۱۰). بیان SIRT3 در نارسایی قلبی کاهش می‌یابد که به افزایش استیلاسیون پروتئین‌های پیروات دهیدروژناز و ATP سنتاز و کاهش تنفس سلولی منجر می‌شود (۱۱). SIRT3^{-/-} به پتانسیل غشای میتوکندری آسیب می‌رساند و باعث افزایش تولید ROS، فعال کردن اینفلازوم پیرین دمنین - حاوی ۳ (LRP3) می‌شود که به بدتر شدن آسیب قلبی می‌انجامد (۱۲). SIRT3 از طریق سازوکارهای گوناگونی، آثار محافظت قلبی وابسته به کنترل استرس اکسایشی را بر عهده دارد. SIRT3 به شکل مستقیم با انتقال هسته‌ای عامل رونویسی جعبه چنگال FOXO3 (FOXO3) در داستیلاسیون SOD2 نقش دارد که در نهایت به افزایش SOD2 و کاهش استرس اکسایشی منجر می‌شود (۱۳). به علاوه، از راه داستیلاسیون ایزوسیترات دهیدروژناز ۲ به تنظیم افزایشی NADPH و افزایش گلووتاتیون پراکسیداز می‌انجامد (۱۴). نشان داده شده است که کاهش یا مهار SIRT3 به افزایش پاسخ استرس اکسایشی، ناهنجاری‌های OXPHOS می‌انجامد که عملکرد تنفس میتوکندری را کاهش می‌دهد. در مقابل، افزایش SIRT3 با فعال‌سازی FOXO3 به افزایش SOD2 و مهار مالون دی‌آلدید (MDA) می‌شود که به کاهش فیبروز قلبی می‌انجامد (۱۵).

کنترل استرس اکسایشی اهمیت زیادی در پاتوژنز بیماری‌های قلبی عروقی دارد و راهبردهای مهم دارویی به‌عنوان راه‌های درمانی برای کاهش استرس اکسایشی و مرگ سلولی در بیماری‌های قلبی عروقی ظهور می‌کند. تمرین ورزشی یکی از روش‌های غیردارویی مؤثر بر کاهش خطر بیماری‌های قلبی عروقی و مرگ‌ومیر است؛ با وجود این، آثار تمرین ورزشی هوازی به‌خوبی بر بهتر شدن عملکرد قلب و عروق ثابت شده است (۱۶). نشان داده شده است که تمرین هوازی به افزایش اکسیژن مصرفی، کاهش اندازه انفارکتوس، کاهش ریمودلینگ قلبی، افزایش بیوژنز و دینامیک میتوکندریایی، کاهش مرگ سلولی، کاهش استرس اکسایشی و افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در بیماران قلبی-عروقی منجر شده است (۱۸، ۱۷). تمرین ورزشی هوازی با افزایش بیان ژن و پروتئین SIRT3، کاهش ROS تولیدی، NLRP3 و اینترلوکین ۱ بتا هیپوکمپ موش‌های مبتلا به افسردگی به کاهش علائم افسردگی منجر می‌شود (۱۹). تمرین ورزشی منظم در موش‌های مبتلا به هانتینگتون و صرع با افزایش پروتئین SIRT3 و SOD2 به کاهش ROS میتوکندری مغزی می‌شود؛ درحالی‌که تمرین ورزشی در مدل SIRT3^{-/-} تأثیری بر SOD2 و ROS میتوکندری ندارد (۲۰).

با وجود این، نشان داده شده است شدت تمرین ورزشی یکی از پارامترهای مهم و مؤثر بر سازوکارهای قلبی عروقی است؛ به‌گونه‌ای که تمرین تناوبی خیلی شدید (HIIT) در مقایسه با تمرین سنتی تأثیر بهتری در ریمودلینگ پاتولوژیکی، عملکرد سیستولی و دیاستولی بیماران مبتلا به نارسایی قلبی دارد (۲۱). مطالعه‌ای فراتحلیل نشان داد که HIIT در مقایسه با تمرین هوازی سنتی به افزایش بیشتر VO_{2peak} در بیماران نارسایی قلبی با کسر تزریقی حفظ شده منجر شده است (۲۲)؛ با این حال، آثار تمرین هوازی به شدت تمرین وابسته است و HIIT در مقایسه با تمرین هوازی با شدت کم تا متوسط در بیماران قلبی آثار برتری دارد (۲۱). با توجه به اطلاعات موجود، تأثیر تمرین ورزشی بر مسیر SIRT3/FOXO3a/SOD2 بافت قلبی نارسایی قلبی بررسی نشده است؛ بنابراین هدف پژوهش حاضر، بررسی آثار HIIT بر مقادیر پروتئین SIRT3، FOXO3a، SOD2 و عملکرد قلبی در موش‌های صحرایی مبتلا به نارسایی قلبی بود.

روش پژوهش

در این مطالعه ۲۴ سر موش صحرایی نژاد ویستار هشت‌هفته‌ای با میانگین وزنی 50 ± 200 گرم از انستیتو پاستور تهران خریداری شدند و سپس به آزمایشگاه تحقیقات الکتروفیزیولوژی بیمارستان امام خمینی انتقال داده شدند. حیوانات در دمای 22 ± 2 درجه سانتی‌گراد، رطوبت ۴۵ تا ۵۵ درصد و چرخه تاریکی به روشنایی ۱۲:۱۲ ساعته در قفس‌های پلی کربنات شفاف نگهداری شدند. طی دوره پژوهش، حیوانات به‌صورت آزاد به آب و غذا دسترسی داشتند. بعد از یک هفته سازگاری، موش‌ها به سه گروه کنترل سالم (CTR, n=8)، نارسایی قلبی کنترل (HF-CTR, n=8) و نارسایی قلبی - HIIT (HF-HIIT, n=8) تقسیم شدند. نارسایی قلبی به‌وسیله تزریق ایزوپروترونول (سیگما الدریج، آمریکا) در چهار روز متوالی به‌صورت تزریق زیرپوستی با دوز ۱۳۰ میلی‌گرم به ازای کیلوگرم وزن بدن انجام شد. گروه کنترل نیز نرمال سالین دریافت کرد. ۲۸ روز پس از آخرین روز تزریق ایزوپروترونول، اکوکاردیوگرافی توسط متخصص اکوکاردیوگرافی در بیمارستان دامپزشکی دانشگاه تهران انجام شد. تمام روش‌های آزمایشگاهی و پروتکل‌ها با تأیید کمیته اخلاق دانشکده علوم ورزشی و تندرستی دانشگاه تهران و سیاست‌های حمایت از حیوانات (بر اساس خط‌مشی‌های قرارداد هلسینکی) و قوانین راهنمای انستیتوی ملی سلامت در نگهداری حیوانات آزمایشگاهی انجام شد.

اکوکاردیوگرافی: حیوانات با تیوپنتال سدیم (۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، درون صفاقی) بی‌هوش شدند. اکوکاردیوگرافی ترانس توراسیک با استفاده از مبدل خطی ۱۰ مگا هرتز متصل به دستگاه سونوگرافی Vivid 7 با سرعت ۱۰۰ میلی‌متر در ثانیه (General Electric- Vingmed Ultrasound, Horten, Norway) چهار هفته پس از آخرین دوز تزریق ایزوپروترونول و ۲۴ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی در تمام گروه‌ها انجام شد. تصاویر پاراسترنال دوبعدی و حالت M-mode محور کوتاه در سطح عضلات پاپیلاری برای ارزیابی پارامترهای اکوکاردیوگرافی استفاده شد (۲۳).

آزمون و تمرین ورزشی: بعد از القای نارسایی قلبی، آزمون بیشینه ورزشی ویژه هر موش صحرایی به صورت انفرادی انجام شد. برای برآورد حداکثر اکسیژن مصرفی، در ابتدا گرم کردن با سرعت پنج متر در دقیقه به مدت پنج دقیقه انجام شد و سپس سرعت به ۱۰ متر بر دقیقه رسید تا آزمون ورزشی شروع شود. در ادامه به صورت خودکار هر دو دقیقه سرعت تردمیل معادل دو متر بر دقیقه افزایش یافت؛ تا جایی که موش‌های صحرایی قادر به ادامه فعالیت ورزشی نبودند. سپس براساس مطالعه هویدال و همکاران، از فرمول $Y = 162x - 1$ برای برآورد سرعت مطلوب معادل شدت تمرینی ویژه هر موش صحرایی استفاده شد (۲۴). برنامه تمرینی تردمیل ویژه حیوانات، سه روز در هفته و شامل پنج دقیقه گرم کردن و سرد کردن با شدت ۴۰ تا ۵۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی (VO_{2max}) و ۳۰ دقیقه دویدن تناوبی بود. هر تناوب شامل چهار دقیقه دویدن خیلی شدید (تقریباً ۸۵ تا ۹۰ درصد VO_{2max}) و دو دقیقه بازیافت فعال (تقریباً با شدت ۵۰ تا ۶۰ درصد VO_{2max}) بود. شدت تمرین در هر هفته یک متر بر دقیقه افزایش یافت (۲۴، ۲۵).

جمع‌آوری نمونه‌ها: ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی، حیوانات پس از ۱۲ ساعت ناشتایی با کتامین و زایلازین بی‌هوش شدند. بافت قلب برای تجزیه و تحلیل آزمایشگاهی ابتدا در نیتروژن مایع قرار گرفت و سپس به فریزر منفی ۸۰ درجه سانتی‌گراد منتقل شد.

وسترین بلات: بافت قلب با بافر RIPA هموزن شد و سپس در ۱۴۰۰۰ دور در دقیقه در دمای چهار درجه سانتی‌گراد و به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. از روش بردفورد برای تعیین غلظت پروتئین مطابق دستورالعمل سازنده (Sigma) (Aldrich, B6916, 82024 Taufkirchen, Germany) استفاده شد. مقادیر مساوی پروتئین (۲۰ μ g) با بافر بارگذاری (۲X) تکمیل با بتا-مرکاپتواتانول مخلوط شد و در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت پنج دقیقه جوشانده شد. سپس پروتئین‌ها با ژل الکتروفورز SDS- پلی آکریل آمید (۱۰-۱۲ درصد) جدا شد و به غشاهای پلی وینیلیدین دی فلوراید (PVDF) منتقل شد. غشاهای PVDF با BSA ۵ درصد (Sigma Aldrich, A-7888, MO, USA) یا TBST (50 mM Tris- HCl (pH 7.4), 154 mM NaCl, and 0.1% Tween 20) به مدت دو ساعت در دمای محیط و فضای تاریک بلاک شدند. سپس غشاها به مدت یک ساعت در دمای چهار درجه سانتی‌گراد و تاریک با آنتی‌بادی‌های اولیه پلی کلونال خرگوش آنتی بادی (SIRT3 (1.1000, 2627S, Cell Signaling), FOXO3a (1.1000, 2497S, Cell Signaling), SOD2 (1.1000, 13141S, Cell Signaling) و بتا اکتین (1.2500, ab8227, Abcam) در TBS-Tween 20- 5% BSA آنکوبه شدند. در ادامه غشاها سه بار با بافر TBST به مدت ۱۵ دقیقه شست‌وشو داده شدند و سپس با آنتی‌بادی ثانویه (goat anti-rabbit IgG HRP, 1/10000, ab6721; Abcam) آنکوبه شدند. غشاها سپس با سوبسترای

افزایش یافته نورتابی شیمیایی (ECL) به مدت یک تا دو دقیقه انکوبه شدند. مقدار نسبی پروتئین با چگالی سنجی و نرم افزار Image J اندازه گیری و به نسبت بتا اکتین بیان شد.

سنجش هیستولوژی: قلب موش‌ها ابتدا در فرمالین ۱۰ درصد تثبیت شد و سپس با دهیدراتاسیون و جاسازی قرار گرفت. سپس بافت‌ها به صورت متوالی از پایه تا رأس به ضخامت پنج میکرومتر برش داده شدند. فیروز بینابینی با رنگ آمیزی تری کروم ماسون (G1006, Servicebio Technology, Wuhan, China) انجام شد. داده‌ها با استفاده از نرم افزار Image J از طریق اعمال دکانولوشن رنگ آن، کمی سازی شدند.

داده‌های جمع آوری شده به کمک نرم افزار آماری اسپاس^۱ نسخه ۲۵ تجزیه و تحلیل شدند. برای تعیین طبیعی بودن داده‌های کمی از آزمون شاپیرو-ویلک استفاده شد. برای تعیین تفاوت بین گروه‌ها از آزمون آماری تحلیل واریانس یک راهه و آزمون تعقیبی توکی در سطح معنای $P < 0.05$ استفاده شد. داده‌ها به شکل میانگین \pm خطا استاندارد بیان شده‌اند. برای ترسیم شکل‌ها نرم افزار GraphPad Prism نسخه ۹ به کار رفت.

نتایج

نتایج وزن بدن، قلب و نسبت وزن قلب به وزن بدن در جدول شماره یک ارائه شده است. وزن بدن موش‌های صحرائی در شروع مطالعه تفاوتی وجود نداشت. وزن بدن در انتهای مداخله تمرینی در گروه CTR در مقایسه با گروه HF-HIIT افزایش بارزی مشاهده شد ($P < 0.05$). وزن قلب در پایان هشت هفته مداخله تمرینی تفاوت معناداری نداشت؛ با وجود این، نسبت وزن قلب به وزن بدن در گروه HF-HIIT در مقایسه با گروه HF-CTR افزایش را نشان داد ($P < 0.05$).

جدول ۱- وزن بدن، وزن قلب و نسبت وزن قلب به وزن بدن پس از مداخله

Table 1- Body weight, heart weight and ratio of heart weight to body weight after intervention

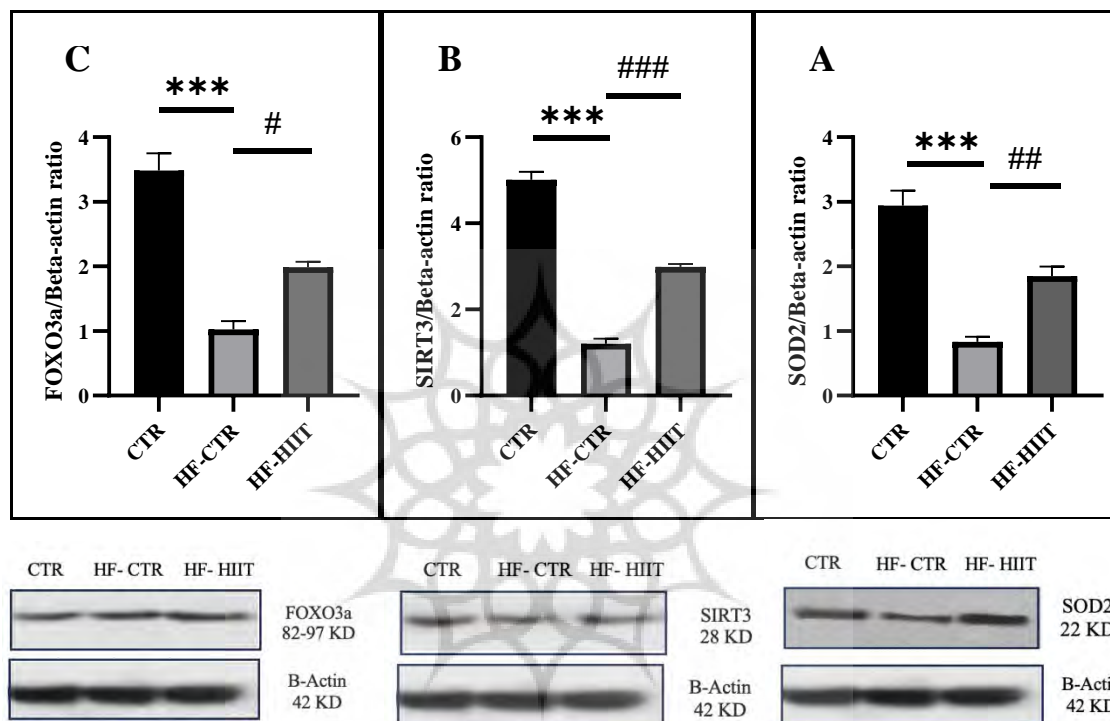
معناداری	HF-HIIT	HF-CTR	CTR	
0.738	240.6 \pm 9.7	231.4 \pm 7.6	256.3 \pm 8.1	وزن بدن اولیه (گرم)
0.046	309.7 \pm 11.8 #	326.8 \pm 13.2	369.6 \pm 14.3	وزن بدن پایانی (گرم)
0.089	1187.9 \pm 80.6	1104.1 \pm 97.8	1091.6 \pm 78.4	وزن قلب (میلی گرم)
0.023	3.83 \pm 0.4 *	2.95 \pm 0.5	3.29 \pm 0.2	نسبت وزن قلب به وزن بدن (میلی گرم/گرم)

* سطح معناداری $P < 0.05$ در مقایسه با گروه HF-CTR، # سطح معناداری $P < 0.05$ در مقایسه با گروه CTR

تأثیر HIIT بر بیان پروتئین SIRT3, FOXO3a و SOD2 میوکارد: همان طور که در شکل شماره یک مشاهده می کنید، HIIT بیان پروتئین‌های SIRT3, FOXO3a و SOD2 در بافت میوکارد را افزایش داد. بیان پروتئین SOD2 به دنبال نارسایی قلبی در گروه HF-CTR در مقایسه با گروه CTR سالم کاهش بارزی داشت؛ با وجود این، بعد از هشت هفته HIIT بیان پروتئین SOD2 در گروه HF-HIIT در مقایسه با گروه HF-CTR افزایش بارزی داشت (شکل شماره یک قسمت A، $P < 0.01$).

1. SPSS

بیان پروتئین SIRT3 به دنبال نارسایی قلبی در گروه HF-CTR در مقایسه با گروه CTR سالم کاهش بارزی داشت؛ با وجود این، بعد از هشت هفته HIIT بیان پروتئین SIRT3 در گروه HF-HIIT در مقایسه با گروه HF-CTR افزایش بارزی داشت (شکل شماره یک، قسمت B، $P < 0.001$). بیان پروتئین FOXO3a به دنبال نارسایی قلبی در گروه HF-CTR در مقایسه با گروه CTR سالم کاهش بارزی داشت؛ با وجود این، بعد از هشت هفته HIIT بیان پروتئین FOXO3a در گروه HF-HIIT در مقایسه با گروه HF-CTR افزایش بارزی داشت (شکل شماره یک، قسمت C، $P < 0.05$).



شکل ۱- A: مقادیر بیان پروتئین SOD2 میوکارد، B: مقادیر بیان پروتئین SIRT3 میوکارد و C: مقادیر بیان پروتئین FOXO3a میوکارد

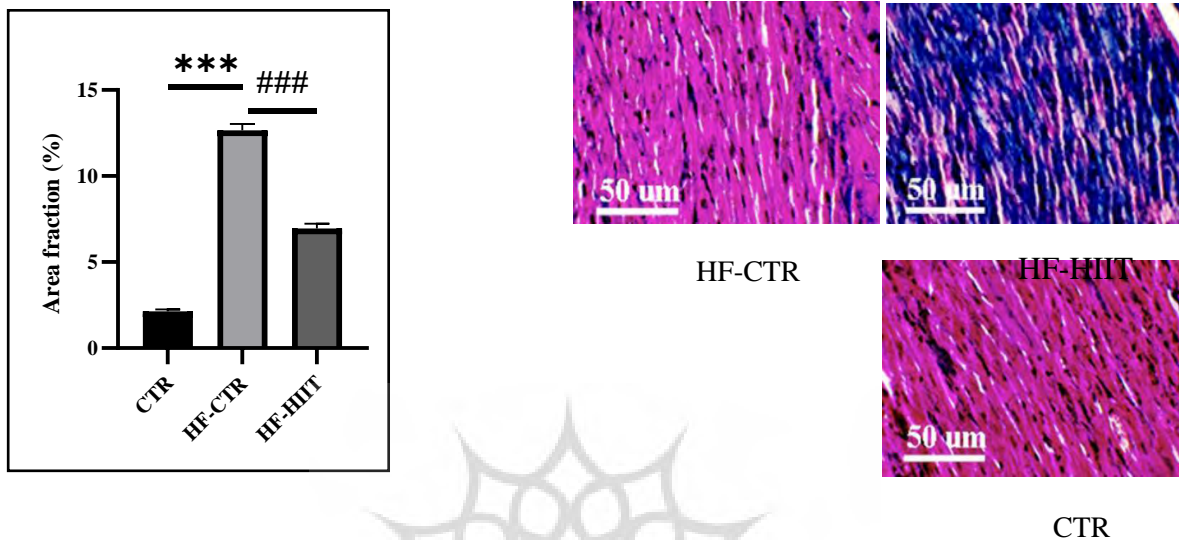
داده‌ها به صورت میانگین \pm خطای استاندارد بیان شدند. *** سطح معناداری $P < 0.001$ گروه CTR با گروه HF-CTR، # سطح معناداری $P < 0.05$ گروه HF-HIIT با گروه HF-CTR را نشان می‌دهد.

Figure 1- A show myocardial SOD2 protein expression, B myocardial SIRT3 protein expression and C myocardial FOXO3a protein expression

Data are expressed as mean \pm SEM. *** $P < 0.001$ CTR vs. HF-CTR, # $P < 0.05$ HF-HIIT vs. HF-CTR and ### $P < 0.001$ HF-HIIT vs. HF-CTR.

تأثیر HIIT بر بیان فیبروز بینابینی بافت میوکارد: شکل شماره دو، فیبروز بینابینی میوکاردی را نشان می‌دهد که پس از HIIT کاهش یافته است. فیبروز بینابینی به دنبال نارسایی قلبی در گروه HF-CTR در مقایسه با گروه CTR سالم افزایش

بارزی یافت ($P < 0.001$)؛ در حالی که هشت هفته HIIT به کاهش بارز فیروز بینابینی میوکارد گروه HF-HIIT در مقایسه با گروه HF-CTR منجر شد ($P < 0.001$).



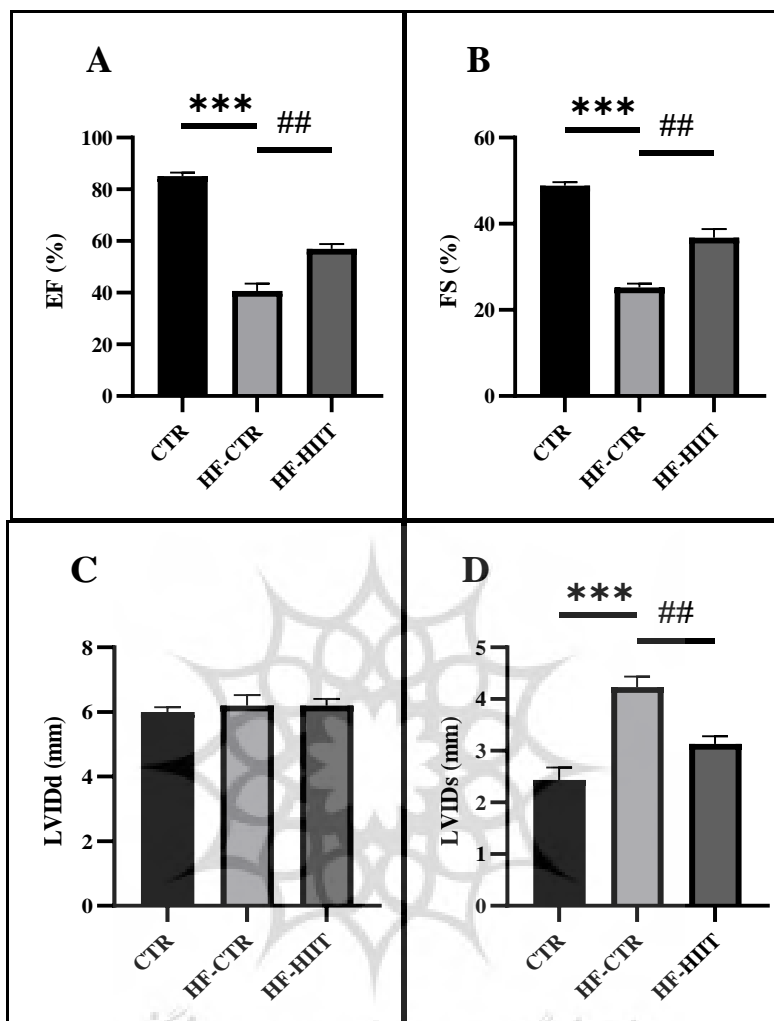
شکل ۲- فیروز بینابینی و ارزیابی بافت شناسی قلبی با استفاده از تری کروم ماسون

داده‌ها به صورت میانگین \pm خطای استاندارد بیان شدند. *** سطح معناداری $P < 0.001$ گروه CTR با گروه HF-CTR و ### سطح معناداری $P < 0.001$ گروه HF-HIIT با گروه HF-CTR را نشان می‌دهد.

Figure 2- Interstitial fibrosis and histological assessment of cardiac fibrosis using Masson's trichrome staining.

Data are expressed as mean \pm SEM. *** $P < 0.001$ CTR vs. HF-CTR, ### $P < 0.001$ HF-HIIT vs. HF-CTR.

تأثیر HIIT بر عملکرد قلبی: کسر کوتاه‌شدگی (FS)، کسر تزریقی (EF) به دنبال نارسایی قلبی در گروه HF-CTR در مقایسه با گروه CTR سالم کاهش بارزی یافت ($P < 0.001$)؛ در حالی که هشت هفته HIIT به افزایش بارز EF و FS قلبی گروه HF-HIIT در مقایسه با گروه HF-CTR منجر شد (شکل شماره سه، قسمت A و B). $P < 0.001$ قطر داخلی بطن چپ در دیاستول (LVIDd) تفاوتی بین گروه‌ها نداشت (شکل شماره سه، قسمت C)؛ در حالی که قطر داخلی بطن چپ در سیستول (LVIDs) در گروه HF-CTR در مقایسه با گروه CTR سالم افزایش بارزی یافت ($P < 0.001$). هشت هفته HIIT به کاهش بارز LVIDs در گروه HF-HIIT در مقایسه با گروه HF-CTR منجر شد (شکل شماره سه، قسمت D، $P < 0.001$).



شکل ۳- عملکرد قلبی با استفاده از اکوکاردیوگرافی

داده‌ها به صورت میانگین \pm خطای استاندارد بیان شدند. *** سطح معناداری $P < 0.001$ گروه CTR با گروه HF-CTR و ## سطح معناداری $P < 0.01$ گروه HF-HIIT با گروه HF-CTR را نشان می‌دهد.

Figure 3- Cardiac function with echocardiography. Data are expressed as mean \pm SEM

*** $P < 0.001$ CTR vs. HF-CTR, ## $P < 0.01$ HF-HIIT vs. HF-CTR

بحث و نتیجه‌گیری

در مطالعه حاضر تأثیر HIIT بر بیان پروتئین SIRT3/FOXO3a/SOD2، فیروز و عملکرد قلبی در موش‌های صحرائی مبتلا به نارسایی قلبی بررسی شد. نارسایی قلبی با کاهش برون‌ده قلبی و عملکرد سیستولی شامل اختلال در EF و FS شناسایی می‌شود. نتایج پژوهش حاضر نشان داد، هشت هفته HIIT به افزایش EF و FS و کاهش LVIDs موش‌های مبتلا به نارسایی قلبی منجر شد؛ درحالی که تأثیری بر LVIDd نداشت. EF و FS به‌عنوان قدرت انقباض پذیری قلب

شناخته می‌شود که در نارسایی قلبی کاهش می‌یابد و به دنبال HIIT افزایش بارزی در مقایسه با گروه HF-CTR به همراه داشت. از سویی، LVIDs با نارسایی قلبی افزایش می‌یابد که با دیلاسیون قلبی همراه است. HIIT نه تنها از افزایش LVIDs جلوگیری کرده، بلکه به کاهش LVIDs منجر شده و از دیلاسیون بطنی جلوگیری کرده است. سازگاری‌های فیزیولوژیک عملکرد قلب به تمرین ورزشی شامل ریمودلینگ ساختاری و متابولیکی است. همان‌طور که داووز و همکاران نشان دادند، بهتر شدن عملکرد قلب با افزایش حجم ضربه‌ای همراه است. افزایش حجم ضربه‌ای همراه با کاهش حجم پایان سیستولی بود و تغییراتی در حجم پایان دیاستولی ندارد (۲۶). پژوهش حاضر نیز نشان داد که HIIT با کاهش LVIDs همراه بود؛ درحالی‌که تغییر بارزی در LVIDd مشاهده نشد. کاهش LVIDs به معنای افزایش قدرت انقباض پذیری و افزایش حجم ضربه‌ای است. افزایش انقباض پذیری به افزایش بهتر شدن اکسیژن رسانی، رگ‌زایی و حساسیت به نیتریک اکساید نسبت داده شده است (۲۷). از سویی، نشان داده شده است بخشی از بهتر شدن عملکرد قلب در کاهش کلاژن و فیبروز بین بافتی عضله میوکارد ریشه دارد. پژوهش حاضر نشان داد که HIIT به کاهش فیبروز بین بافتی عضله میوکارد موش‌های صحرایی مبتلا به نارسایی قلبی شد؛ درحالی‌که ورباون و همکاران نشان دادند که HIIT فیبروز بافتی میوکارد موش‌های صحرایی سالم را کاهش داده است؛ باین‌حال، پارامترهای انقباض پذیری میوکارد تغییری را نشان ندادند (۲۸).

استرس اکسایشی یکی از سازوکارهای مهم بیماری نارسایی قلبی است که به توسعه آسیب قلبی منجر می‌شود. استرس اکسایشی با افزایش تولید ROS، کاهش وضعیت آنتی‌اکسیدانی و پروتئین‌های سم‌زدای سیتوپلاسمی همراه است. نشان داده شده است که مقادیر و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی میتوکندری مانند پراکسیدروکسین-۳ و تیوردوکسین-۲ به دنبال آسیب قلبی کاهش می‌یابد (۲۹). آنتی‌اکسیدازهای میتوکندریایی اولین مانع در برابر آسیب استرس اکسایشی هستند؛ با وجود این، سازوکارهای تنظیم‌کننده این پروتئین‌ها تا شناسایی SIRT3 نامشخص بود (۳۰). SIRT3 عضوی از خانواده پروتئین سیرتوئین مستقر در میتوکندری است که در پاسخ‌های متعدد سلولی از جمله آسیب استرس اکسایشی درگیر است. نشان داده شده است که پروتئین SIRT3 در کاردیومیوپاتی‌های ناشی از دوکسوروبیسین (۳۱) و نارسایی قلبی کاهش می‌یابد (۳۲). شواهد نشان می‌دهد که افزایش SIRT3 به افزایش بیان FOXO3a هسته‌ای می‌انجامد که در نتیجه رونویسی ژن‌های آنتی‌اکسیدانی وابسته به FOXO مانند SOD2 و کاتالاز را افزایش می‌دهد و از آسیب اکسایشی جلوگیری می‌کند (۱۳). نتایج پژوهش حاضر نشان داد، هشت هفته HIIT بیان پروتئین SIRT3، FOXO3a و SOD2 میوکارد موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار مبتلا به نارسایی قلبی را افزایش داد. در این راستا، ژیانگ و همکاران نشان دادند که تمرین تناوبی هوازی به افزایش بیان پروتئین SIRT3 منجر شد که با افزایش مقادیر بافتی SOD و کاهش مالون دی‌آلدئید همراه بود (۳۳). در طرف مقابل نشان داده شد که ۱۰ هفته تمرین مقاومتی تأثیری بر بیان SIRT3 عضله اسکلتی افراد بزرگسال و سالمند نداشت (۳۴). در مطالعه‌ای دیگر گزارش شد که مقادیر پروتئین SIRT3 به دنبال ۱۲ هفته تمرین هوازی در عضله اسکلتی جوانان چاق افزایش یافت؛ درحالی‌که ۱۲ هفته تمرین مقاومتی تأثیری بر مقادیر پروتئین SIRT3 عضله اسکلتی جوانان چاق نداشت (۳۵). به نظر می‌رسد، نوع تمرین ورزشی یکی از عوامل مؤثر بر بیان پروتئین SIRT3 باشد. در طول تمرین مقاومتی انرژی موردنیاز برای سنتز ATP ترجیحاً از فسفوکراتین و گلیکوژن عضلانی تأمین می‌شود؛ یعنی تمرینات مقاومتی استرس متابولیکی کافی برای فعال کردن فسفوریلاسیون اکسایشی و مسیرهای متابولیکی را به همراه ندارد که به فعال شدن SIRT3 منجر شود (۳۵). نشان

داده‌اند که تمرین مقاومتی حاد به افزایش کیناز فعال‌شده با AMP زیر واحد الف ۲ (AMPK2a) منجر شده، اما دو ساعت پس از تمرین کاهش یافته است و احتمالاً استرس متابولیکی لازم برای فعال کردن محور AMPK/PGC-1a/SIRT3 را تأمین نکند (۳۶). با توجه به اینکه فعالیت ورزشی هوازی استرس متابولیکی را به همراه دارد، به تغییرات مقادیر NAD⁺ منجر می‌شود (۳۷). نیکوتین آمید فسفوریبوزیل ترانسفراز (NAMPT) یکی از آنزیم‌های مهمی است که در سنتز NAD⁺ نقش دارد. مشاهده شده است که این آنزیم در بافت میوکارد به فراوانی یافت شده و به کاهش استرس اکسایشی در کاردیومیوپاتی دیابتی منجر می‌شود. کاهش SIRT3 در میتوکندری ممکن است NAD⁺ را افزایش دهد؛ زیرا SIRT3 مصرف‌کننده اصلی NAD⁺ است و عملکرد NAMPT را تقویت می‌کند (۳۸). فعالیت ورزشی هوازی با افزایش تقاضای ATP در طول فعالیت ورزشی به افزایش مقادیر NAD⁺ و نسبت NAD⁺/NADH منجر می‌شود که در واقع سوپسترای لازم برای SIRT3 را تأمین می‌کند. افزایش تولید ATP به وسیله SIRT3 تسهیل می‌شود که آنزیم‌های زنجیره اسیدتری کربوکسیلیک، بتا اکسیداسیون و زنجیره انتقال الکترون را داستیله و فعال می‌کند (۳۷).

AMPK یکی از عوامل مؤثر بر بیان SIRT3 است که به دنبال چهار هفته تمرین هوازی باعث افزایش بیان SIRT3 و SOD2 عضله اسکلتی شده است. برای تأیید آثار AMPK2a بر SIRT3 پس از فعالیت ورزشی، از موش‌های فاقد PGC-1a استفاده کردند. نشان داده شد که سازگاری فعال‌سازی SIRT3 و افزایش بیان SOD2 پس از حذف PGC-1a از بین رفت. این امر نشان می‌دهد که این مسیر سیگنالینگ به تعادل ردوکس ناشی از SIRT3 کمک می‌کند و به کاهش ROS پایه می‌انجامد. درمقابل نشان دادند که حذف SIRT3 کاهش ROS ناشی از افزایش PGC-1a را از بین برد (۳۹). نشان داده شده است که HIIT در مقایسه با تمرین هوازی به افزایش درخور توجهی در نسبت‌های AMP/ATP و ADP/ATP سلولی منجر می‌شود که به فعال‌سازی بیشتر AMPK می‌انجامد (۴۰).

پیام مقاله

نتایج مطالعه حاضر نشان داد، مسیر سیگنالینگ SIRT3/FOXO3a/SOD2 که نقش مهمی در تنظیم استرس اکسایشی در نارسایی قلبی دارد، با HIIT افزایش یافت. از سویی، HIIT با کاهش فیبروز میوکارد، کاهش قطر بطن چپ در پایان سیستول، افزایش کسر تزریقی و کسر کوتاه‌شدگی به بهتر شدن انقباض پذیری میوکارد در موش‌های مبتلا به نارسایی قلبی منجر شد.

منابع

1. Joseph P, Leong D, McKee M, Anand SS, Schwalm JD, Teo K, et al. Reducing the Global Burden of Cardiovascular Disease, Part 1: The Epidemiology and Risk Factors. *Circ Res*. 2017;121(6):677-694.
2. Wolfram R, Oguogho A, Palumbo B, Sinzinger H. Enhanced oxidative stress in coronary heart disease and chronic heart failure as indicated by an increased 8-epi-PGF(2alpha). *Eur J Heart Fail*. 2005;7(2):167-172.
3. Petrônio MS, Zeraik ML, Fonseca LM, Ximenes VF. Apocynin: chemical and biophysical properties of a NADPH oxidase inhibitor. *Molecules*. 2013;18(3):2821-2839.
4. Takimoto E, Champion HC, Li M, Ren S, Rodriguez ER, Tavazzi B, et al. Oxidant stress from nitric oxide synthase-3 uncoupling stimulates cardiac pathologic remodeling from chronic pressure load. *J Clin Invest*. 2005;115(5):1221-1231.

5. Khaper N, Kaur K, Li T, Farahmand F, Singal PK. Antioxidant enzyme gene expression in congestive heart failure following myocardial infarction. *Mol Cell Biochem.* 2003;251(1-2):9-15.
6. Bugger H, Witt CN, Bode C. Mitochondrial sirtuins in the heart. *Heart Fail Rev.* 2016;21(5):519-528.
7. Matsushima S, Sadoshima J. The role of sirtuins in cardiac disease. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2015;309(9):H1375-1389.
8. Wang CC, Lee AS, Liu SH, Chang KC, Shen MY, Chang CT. Spironolactone ameliorates endothelial dysfunction through inhibition of the AGE/RAGE axis in a chronic renal failure rat model. *BMC Nephrol.* 2019;20(1):351.
9. Shumin C, Wei X, Yunfeng L, Jiangshui L, Youguang G, Zhongqing C, et al. Genipin alleviates vascular hyperpermeability following hemorrhagic shock by up-regulation of SIRT3/autophagy. *Cell Death Discov.* 2018;4:52.
10. Wang X, Huang Y, Zhang K, Chen F, Nie T, Zhao Y, et al. Changes of energy metabolism in failing heart and its regulation by SIRT3. *Heart Fail Rev.* 2023;28(4):977-992.
11. Zhang X, Ji R, Liao X, Castellero E, Kennel PJ, Brunjes DL, et al. MicroRNA-195 regulates metabolism in failing myocardium via alterations in sirtuin 3 expression and mitochondrial protein acetylation. *Circulation.* 2018;137(9):2052-67.
12. Song S, Ding Y, Dai GL, Zhang Y, Xu MT, Shen JR, et al. Sirtuin 3 deficiency exacerbates diabetic cardiomyopathy via necroptosis enhancement and NLRP3 activation. *Acta Pharmacol Sin.* 2021;42(2):230-241.
13. Tseng AH, Shieh SS, Wang DL. SIRT3 deacetylates FOXO3 to protect mitochondria against oxidative damage. *Free Radic Biol Med.* 2013;63:222-234.
14. Bergaggio E, Riganti C, Garaffo G, Vitale N, Mereu E, Bandini C, et al. IDH2 inhibition enhances proteasome inhibitor responsiveness in hematological malignancies. *Blood.* 2019;133(2):156-167.
15. Hu B, Tian T, Li XT, Hao PP, Liu WC, Chen YG, et al. Dexmedetomidine postconditioning attenuates myocardial ischemia/reperfusion injury by activating the Nrf2/Sirt3/SOD2 signaling pathway in the rats. *Redox Rep.* 2023;28(1):2158526.
16. Haskell WL, Lee IM, Pate RR, Powell KE, Blair SN, Franklin BA, et al. Physical activity and public health: updated recommendation for adults from the American College of Sports Medicine and the American Heart Association. *Circulation.* 2007;116(9):1081-1093.
17. Farah C, Meyer G, André L, Boissière J, Gayrard S, Cazorla O, et al. Moderate exercise prevents impaired Ca²⁺ handling in heart of CO-exposed rat: implication for sensitivity to ischemia-reperfusion. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2010;299(6):H2076-2081.
18. Farah C, Kleindienst A, Bolea G, Meyer G, Gayrard S, Geny B, et al. Exercise-induced cardioprotection: a role for eNOS uncoupling and NO metabolites. *Basic Res Cardiol.* 2013;108(6):389.
19. Wang L, Liu Y, Xu T. Aerobic Exercise Improves Depressive-like Behavior in CUMS-Induced Rats via the SIRT3/ROS/NLRP3 Signaling Pathway. *Life (Basel).* 2023; (8):13.
20. Cheng A, Yang Y, Zhou Y, Maharana C, Lu D, Peng W, et al. Mitochondrial SIRT3 Mediates Adaptive Responses of Neurons to Exercise and Metabolic and Excitatory Challenges. *Cell Metab.* 2016;23(1):128-142.
21. Kemi OJ, Wisloff U. High-intensity aerobic exercise training improves the heart in health and disease. *J Cardiopulm Rehabil Prev.* 2010;30(1):2-11.
22. Gomes Neto M, Durães AR, Conceição LSR, Saquetto MB, Ellingsen Ø, Carvalho VO. High intensity interval training versus moderate intensity continuous training on exercise capacity and quality of life in patients with heart failure with reduced ejection fraction: A systematic review and meta-analysis. *Int J Cardiol.* 2018;261:134-141.
23. Scheer P, Sverakova V, Doubek J, Janeckova K, Uhríkova I, Svoboda P. Basic values of M-mode echocardiographic parameters of the left ventricle in outbred Wistar rats. *Veterinárni medicína.* 2012;57(1):42-52.

24. Høydal MA, Wisløff U, Kemi OJ, Ellingsen O. Running speed and maximal oxygen uptake in rats and mice: practical implications for exercise training. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil.* 2007;14(6):753-760.
25. Ghardashi Afousi A, Gaeini A, Rakhshan K, Naderi N, Darbandi Azar A, Aboutaleb N. Targeting necroptotic cell death pathway by high-intensity interval training (HIIT) decreases development of post-ischemic adverse remodelling after myocardial ischemia / reperfusion injury. *J Cell Commun Signal.* 2019;13(2):255-267.
26. Dawes TJ, Corden B, Cotter S, de Marvao A, Walsh R, Ware JS, et al. Moderate Physical Activity in Healthy Adults Is Associated With Cardiac Remodeling. *Circ Cardiovasc Imaging.* 2016;9(8):e004712.
27. Johnson EJ, Dieter BP, Marsh SA. Evidence for distinct effects of exercise in different cardiac hypertrophic disorders. *Life Sci.* 2015;123:100-106.
28. Verboven M, Cuypers A, Deluyker D, Lambrechts I, Eijnde BO, Hansen D, et al. High intensity training improves cardiac function in healthy rats. *Sci Rep.* 2019;9(1):5612.
29. Sonn SK, Song EJ, Seo S, Kim YY, Um JH, Yeo FJ, et al. Peroxiredoxin 3 deficiency induces cardiac hypertrophy and dysfunction by impaired mitochondrial quality control. *Redox Biol.* 2022;51:102275.
30. Haigis MC, Guarente LP. Mammalian sirtuins--emerging roles in physiology, aging, and calorie restriction. *Genes Dev.* 2006;20(21):2913-2921.
31. Sun Z, Fang C, Xu S, Wang B, Li D, Liu X, et al. SIRT3 attenuates doxorubicin-induced cardiotoxicity by inhibiting NLRP3 inflammasome via autophagy. *Biochem Pharmacol.* 2023;207:115354.
32. Chen J, Chen S, Zhang B, Liu J. SIRT3 as a potential therapeutic target for heart failure. *Pharmacol Res.* 2021;165:105432.
33. Jiang HK, Miao Y, Wang YH, Zhao M, Feng ZH, Yu XJ, et al. Aerobic interval training protects against myocardial infarction-induced oxidative injury by enhancing antioxidant system and mitochondrial biosynthesis. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 2014;41(3):192-201.
34. Lamb DA, Moore JH, Mesquita PHC, Smith MA, Vann CG, Osburn SC, et al. Resistance training increases muscle NAD(+) and NADH concentrations as well as NAMPT protein levels and global sirtuin activity in middle-aged, overweight, untrained individuals. *Aging (Albany NY).* 2020;10(2):9447-60.
35. Vargas-Ortiz K, Pérez-Vázquez V, Figueroa A, Díaz FJ, Montaña-Ascencio PG, Macías-Cervantes MH. Aerobic training but no resistance training increases SIRT3 in skeletal muscle of sedentary obese male adolescents. *Eur J Sport Sci.* 2018;18(2):226-34.
36. Dreyer HC, Fujita S, Cadenas JG, Chinkes DL, Volpi E, Rasmussen BB. Resistance exercise increases AMPK activity and reduces 4E-BP1 phosphorylation and protein synthesis in human skeletal muscle. *J Physiol.* 2006;576(Pt 2):613-624.
37. White AT, Schenk S. NAD(+)/NADH and skeletal muscle mitochondrial adaptations to exercise. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2012;303(3):E308-321.
38. Oka SI, Byun J, Huang CY, Imai N, Ralda G, Zhai P, et al. Nampt Potentiates Antioxidant Defense in Diabetic Cardiomyopathy. *Circ Res.* 2021;129(1):114-130.
39. Kong X, Wang R, Xue Y, Liu X, Zhang H, Chen Y, et al. Sirtuin 3, a new target of PGC-1alpha, plays an important role in the suppression of ROS and mitochondrial biogenesis. *PLoS One.* 2010;5(7):e11707.
40. Casuso RA, Plaza-Díaz J, Ruiz-Ojeda FJ, Aragón-Vela J, Robles-Sanchez C, Nordsborg NB, et al. High-intensity high-volume swimming induces more robust signaling through PGC-1 α and AMPK activation than sprint interval swimming in m. triceps brachii. *PLoS One.* 2017;12(10):e0185494.