

Comparison of the Effect of Interval Training and Continuous Training on Sirtuin Genes and Antioxidant Defense Factors in Cardiac Muscle of Elderly Rats

Sareh Almasi Ghale¹, Mandana Gholami², Behzad Bazgir³, Hossein Abednatanzi⁴

1. Department of Exercise Physiology, Faculty of Literature, Humanities and Social Sciences, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran. [E-mail: almasiphd@gmail.com](mailto:almasiphd@gmail.com)
2. Corresponding Author, Department of Physical Education and Sport Sciences, Faculty of Literature, Humanities and Social Sciences, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran. [E-mail: Gholami_man@yahoo.com](mailto:Gholami_man@yahoo.com)
3. Exercise Physiology Research Center, Lifestyle Institute, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran. [E-mail: Bazgirbehzad@bmsu.ac.ir](mailto:Bazgirbehzad@bmsu.ac.ir)
4. Department of Professional Physical Education and Sport Sciences, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran. [E-mail: h-abednatanzy@srbiau.ac.ir](mailto:h-abednatanzy@srbiau.ac.ir)

Article Info

Article type:

Research

Article history:

Received:

5 January 2024

Received in revised form:

8 June 2024

Accepted:

2 September 2024

Published online:

18 June 2025

Keywords:

Antioxidant

Autophagy

Cardiac

Exercise Training

Rats.

ABSTRACT

Introduction: Autophagy is a key anti-aging process and plays a crucial role in maintaining the health of cardiomyocytes. On the other hand, with increasing age, the levels of free radicals (ROS) in cardiac muscle cells and mitochondria increase. Sirtuins are one of the primary molecular pathways involved in autophagy, which is related to cell longevity and enhances antioxidant defense.

Methods: Twenty-four old Wistar male rats with an average weight of 350 ± 50 grams were randomly divided into control, moderate-intensity continuous training (MICT), and high-intensity interval training (HIIT) groups and were trained for 8 weeks. The expression of Sirt1 and Sirt3 genes was measured using the real-time PCR technique, and the concentration of SOD and GPX was measured by optical absorption. To compare the groups, a one-way analysis of variance test was used at the alpha level of 0.05.

Results: The gene expression values of Sirt1 and Sirt3 in the HIIT and MICT groups were significant compared to the control group (percentage change 72.06% and 70.14%, respectively; $P < 0.05$). There was no significant difference in Sirt1 between the HIIT and MICT groups (percentage change 6.44%; $P > 0.05$), but a significant difference was observed in Sirt3 (percentage change 31.68%; $P < 0.05$). The concentration of SOD in both HIIT and MICT groups was significantly higher compared to the control group (percentage change: 26.37% and 23.36%, respectively; $P < 0.05$). The GPX concentration in both HIIT and MICT groups was also significant compared to the control group (percentage change 43.34% and 18.50%, respectively; $P < 0.05$).

Conclusion: Both types of exercise, compared to the non-exercise group, modulated the gene expression of Sirt1 and Sirt3, suggesting that exercise likely activates the anti-aging pathway of sirtuins in old rats. Additionally, the concentration of antioxidant factors increased due to exercise, especially high-intensity interval training.

Cite this article: Almasi Ghale S., Gholami M., Bazgir B., & Abednatanzi H. Comparison of the Effect of Interval Training and Continuous Training on Sirtuin Genes and Antioxidant Defense Factors in Cardiac Muscle of Elderly Rats. *Journal of Sport Biosciences*. 2023; 17 (1): 23-36.

DOI: <http://doi.org/10.22059/JSB.2025.3706560.1623>.



Journal of Sport Biosciences by University of Tehran Press is licensed under [CC BY-NC 4.0](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/).
| Web site: <https://jsb.ut.ac.ir/> | Email: jsb@ut.ac.ir.

Extended Abstract

Introduction

Aging is associated with a gradual decline in cardiac function and an imbalance between the production of reactive oxygen species (ROS) and antioxidant defense systems. This imbalance leads to increased oxidative stress and a higher risk of cardiovascular diseases. The sirtuin gene family, especially SIRT1 and SIRT3, plays a crucial role in regulating cellular metabolism, responding to oxidative stress, and maintaining mitochondrial function, all of which are linked to aging and longevity. Exercise is recognized as an effective non-pharmacological approach to enhance cardiac function and improve antioxidant capacity. This study aimed to compare the effects of moderate-intensity continuous training (MICT) and high-intensity interval training (HIIT) on the expression of SIRT1 and SIRT3 genes, as well as on the activities of antioxidant enzymes in the cardiac muscle of aged male rats.

Methods

Twenty-four male Wistar rats, aged 20 months, were randomly divided into three groups: a control group (no exercise), a moderate intensity continuous training (MICT) group, and a high-intensity interval training (HIIT) group, with eight rats in each group. The MICT group engaged in continuous treadmill running at a moderate intensity (approximately 60-70% of their maximum capacity) for 30 minutes per session, five days a week. The HIIT group performed high-intensity running intervals (80-90% of maximum capacity) interspersed with active recovery periods, maintaining the same session frequency and duration as the MICT group. After eight weeks of training, the rats were euthanized, and cardiac muscle tissue was collected for molecular and biochemical analyses. The gene expression levels of SIRT1 and SIRT3 were measured using quantitative real-time PCR, while the activities of key antioxidant enzymes, including catalase (CAT), superoxide dismutase (SOD), and glutathione peroxidase (GPx), were assessed spectrophotometrically. Data analysis was conducted using one-way ANOVA followed by Tukey's post hoc test, with p-values less than 0.05 considered statistically significant.

Results

Both exercise protocols significantly increased the expression of the SIRT1 and SIRT3 genes in cardiac muscle when compared to the sedentary control group ($p < 0.05$). The group that participated in HIIT exhibited a greater increase in gene expression than the MICT

group ($p < 0.05$), indicating that HIIT has a stronger stimulatory effect on sirtuin pathways. Furthermore, the activities of antioxidant enzymes—catalase (CAT), superoxide dismutase (SOD), and glutathione peroxidase (GPx)—were significantly elevated in both training groups compared to the controls ($p < 0.05$), with the highest enzyme activities observed in the HIIT group. These findings suggest that exercise, particularly HIIT, effectively activates molecular pathways associated with longevity and oxidative stress resistance in the cardiac tissue of aged rats.

Conclusion

This study demonstrates the positive effects of both MICT and HIIT on cardiac health in older rats. The findings indicate that HIIT is more effective than moderate-intensity training in enhancing sirtuin gene expression and increasing antioxidant enzyme activity. Implementing HIIT protocols could provide a more effective strategy for combating age-related declines in cardiac function and oxidative damage. These results offer valuable insights for designing targeted exercise interventions aimed at promoting cardiovascular health and longevity in the elderly population.

Ethical Considerations

Compliance with ethical guidelines: All research ethics protocols and guidelines for working with laboratory animals were implemented and approved by the Research Ethics Committee of Islamic Azad University, Tehran Science and Research Branch, in accordance with the Research Ethics Code IR.IAU.SRB.REC.1400.192.

Funding: This research received no funding.

Authors' contribution: All authors contribute equally to this study.

Conflict of interest: The authors declared no conflicts of interest.

Acknowledgments: The author would like to express their sincere gratitude to all who helped them with this research.

مقایسه اثر تمرینات تناوبی و تداومی بر ژن‌های سیرتوئین و عوامل دفاع ضد اکسایشی در عضله قلب رت‌های سالمند

ساره الماسی قلعه^۱ ID، ماندانا غلامی^۲ ID، بهزاد بازگیر^۳ ID، حسین عابد نطنزی^۴ ID

۱. گروه فیزیولوژی ورزش، دانشکده ادبیات، علوم انسانی و علوم اجتماعی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران. رایانامه: almasiphd@gmail.com
۲. نویسنده مسؤول، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشکده ادبیات، علوم انسانی و علوم اجتماعی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران. رایانامه: Gholami_man@yahoo.com
۳. مرکز تحقیقات فیزیولوژی ورزش، مؤسسه سبک زندگی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله (عج)، تهران، ایران. رایانامه: Bazgirbehzad@bmsu.ac.ir
۴. گروه حرفه‌ای تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران. رایانامه: h-abadnatanzy@srbiau.ac.ir

اطلاعات مقاله	چکیده
نوع مقاله: پژوهشی تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۱۰/۱۵ تاریخ بازنگری: ۱۴۰۳/۰۳/۱۹ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۶/۱۲ تاریخ انتشار: ۱۴۰۴/۰۳/۲۹	مقدمه: اتوفاژی یک فرایند ضدپیری است و در سلامت کاردیومیوسیت‌ها بسیار ضروری است. از طرفی با افزایش سن سطوح رادیکال‌های آزاد (ROS) در سلول‌های عضله قلبی و میتوکندری افزایش می‌یابد. سیرتوئین‌ها (Sirtuins) یکی از مسیرهای مولکولی اصلی اتوفاژی است که مرتبط با عمر سلول است و دفاع ضد اکسایشی را تقویت می‌کند. روش پژوهش: تعداد ۲۴ سر رت بر نژاد ویستار با میانگین وزن 350 ± 50 گرم به صورت تصادفی به گروه‌های کنترل، گروه تمرین تداومی با شدت متوسط (MICT)، گروه تمرین تناوبی شدید (HIIT) تقسیم شدند و هشت هفته تمرین داده شدند. بیان ژن‌های Sirt1، Sirt3 با استفاده از تکنیک Real time-PCR و سنجش غلظت SOD و GPX به وسیله جذب نوری اندازه‌گیری شد. برای مقایسه گروه‌ها از آزمون تحلیل واریانس یک‌راهه در سطح آلفای ۰/۰۵ استفاده شد. یافته‌ها: مقادیر بیان ژن Sirt1 و Sirt3 در گروه HIIT و MICT نسبت به گروه کنترل معنادار بود (درصد تغییر به ترتیب ۷۲/۰۶ و ۷۰/۱۴) ($P < ۰/۰۵$)؛ همچنین در Sirt1 بین گروه HIIT و MICT تفاوت معنادار وجود نداشت (درصد تغییر ۶/۴۴) ($P > ۰/۰۵$) و بر عکس در Sirt3 تفاوت معنادار وجود داشت (درصد تغییر ۳۱/۶۸) ($P < ۰/۰۵$). غلظت SOD در هر دو گروه HIIT و MICT نسبت به گروه کنترل معنادار بود (درصد تغییر به ترتیب ۲۶/۳۷ و ۲۳/۳۶) ($P < ۰/۰۵$). غلظت GPX در هر دو گروه HIIT و MICT نسبت به گروه کنترل معنادار بود (درصد تغییر به ترتیب ۴۳/۳۴ و ۱۸/۵۰) ($P < ۰/۰۵$). نتیجه‌گیری: هر دو نوع تمرین نسبت به گروه بدون تمرین، سبب تعدیل بیان ژن‌های Sirt1 و Sirt3 شدند که احتمالاً تمرینات ورزشی مسیر ضدپیری سیرتوئین‌ها را در موش‌های پیر فعال می‌کند. همچنین غلظت عوامل آنتی‌اکسیدانی بر اثر تمرین و به خصوص تمرین تناوبی شدید افزایش یافت.

کلیدواژه‌ها:
 اتوفاژی،
 آنتی‌اکسیدان‌ها،
 تمرینات ورزشی،
 قلب،
 موش صحرائی.

استناد: الماسی قلعه، ساره؛ غلامی، ماندانا؛ بازگیر، بهزاد؛ عابد نطنزی، حسین. مقایسه اثر تمرینات تناوبی و تداومی بر ژن‌های سیرتوئین و عوامل دفاع ضد اکسایشی در عضله قلب رت‌های سالمند. نشریه علوم زیستی ورزشی. ۱۴۰۰؛ ۱(۱): ۳۶-۳۳.

DOI: <http://doi.org/10.22059/JSB.2025.3706560.1623>

دسترسی به این نشریه علمی، رایگان است و حق مالکیت فکری خود را بر اساس لایسنس کپی‌رایت کامنز (CC BY-NC 4.0) به نویسندگان واگذار کرده است. آدرس نشریه: <https://jsb.ut.ac.ir/> | ایمیل: jsb@ut.ac.ir



مقدمه

در روند پیری، تعداد زیادی از سلول‌های قلبی دچار آپوپتوزیس می‌شوند و انواع مرگ سلولی در بافت قلب بر اثر افزایش سن اتفاق می‌افتد. با افزایش سن سطوح رادیکال‌های آزاد (ROS) در سلول‌های عضله قلبی و میتوکندری این سلول‌ها به دلیل کاهش سطوح سیرتوئین‌ها و NAD^+ ، افزایش می‌یابد که محصولات اکسیدشده و نیتروزیده‌شده ناشی از حمله رادیکال‌های آزاد از نظر فعالیت بیولوژیکی سبب نقص در عملکرد سلول شده و به از دست رفتن متابولیسم انرژی، سیگنالینگ سلول، انتقال و دیگر عملکردهای مهم منجر می‌شود [۱]. بر اساس نتایج تحقیقی، افزایش ۲۰۰ درصدی آپوپتوزیس در قلب موش‌های ۲۴ ماهه در مقایسه با رت‌های ۱۲ ماهه وجود دارد [۲].

[۳]

یکی از مسیرهای مولکولی اصلی که در ارتباط با اتوفاژی و ضدپیری عمل می‌کند، مسیر سیرتوئین‌ها (Sirtuins) است [۴]. سیرتوئین‌ها یک حس‌کننده وضعیت تغذیه‌ای و انرژی‌تیک سلول و متأثر از سطح NAD^+ و یا نسبت $NAD^+/NADH$ است و با میانجی‌گری، نقش کلیدی در مسیر پاسخ محدودیت کالری جهت تنظیم آپوپتوز، مقاومت به استرس اکسیداتیو، قابلیت تولید مثل و طول عمر ایفا می‌کند [۵]. پژوهشگران نشان داده‌اند Sirt1 بقای سلول را ارتقا می‌دهد [۶، ۷] و نیز به طور مستقیم از طریق فسفوریلاسیون و داستیلاسیون بر فعالیت PGC1- α تأثیر می‌گذارد. PGC1- α می‌تواند سبب افزایش فعالیت آنزیم‌های GPX و SOD بشود که خط اول دفاع ضد اکسایشی هستند [۴، ۷].

Sirt3 میتوکندریایی، پروتئینی است که از طریق استیل‌زدایی در بسیاری از جنبه‌های مرتبط با عملکرد میتوکندری از جمله اکسیداسیون مواد مغذی، سنتز آدنوزین تری فسفات و مقابله با تولید ROS مؤثر است. افزون بر این فقدان و کمبود Sirt3 احتمالاً با افزایش سرعت ابتلا به بیماری‌های مرتبط با افزایش سن مانند سرطان، نشانگان سوخت‌وسازی بیماری‌های قلبی-عروقی و بیماری‌های مرتبط با دستگاه عصبی در ارتباط است [۷]. در پژوهشی نشان داده شد که کمبود Sirt3 در میتوکندری موش‌ها سبب اختلال در عملکرد چرخه انتقال الکترون می‌شود [۸]. همچنین Sirt3 در تنظیم محتوا و زیررده‌های میتوکندری از طریق PGC1- α شرکت دارد. از طرفی مهار SIRT3 در موش‌ها موجب افزایش تولید ROS و نیز کاهش آنزیم SOD2 در میتوکندری شود [۷]. یکی دیگر از سازوکارهای اثر Sirt3 این است که ROS تولیدشده در میتوکندری و هسته را به وسیله تحریک MnSOD و کاتالاز و از طریق فعال‌سازی FOXO3a کاهش می‌دهد و مانع هاپیرتروفی قلبی می‌شود. در روند پیری و بر اثر تمایل سلول و میتوکندری به آپوپتوزیس، ROS تجمع پیدا می‌کند و به استرس اکسیداتیو منجر می‌شود [۹-۷].

داشتن تأثیرات مختلف فعالیت‌های ورزشی بر پروتئین‌های تنظیمی درگیر در کنترل روند پیری و بیوژنز میتوکندریایی ممکن است به بهبود راهکارهای پیشگیرانه و درمانی افراد سالمند کمک کند. با توجه به گوناگونی تمرینات ورزشی از نظر ساختار و روش اجرا، تمرینات تناوبی با شدت بالا (HIIT) شامل تناوب‌های فعالیت ورزشی با شدت بالا و دفعات استراحتی فعال با شدت کم تا متوسط است که برای افراد مختلف به فراخور موقعیت و شرایط جسمانی قابلیت تغییر دارد [۸]. تمرین تناوبی شدید با فعال‌سازی مسیر AMPK/Sirt1 و فعال کردن SOD و GPX سبب افزایش بیان PGC1- α در عضله قلبی و اسکلتی می‌شود و در نهایت موجب افزایش بیوژنز میتوکندریایی در عضلات قلبی و اسکلتی می‌شود [۹، ۱۰]. در خصوص تمرینات تداومی با شدت متوسط نیز نشان داده شده است که هشت هفته تمرین تداومی، بیان هر سه شاخص بیوژنز میتوکندری یعنی PGC1 α ، Sirt1 و DNA میتوکندری را افزایش می‌دهد [۱۰]. تمرینات ورزشی از طریق اثرگذاری بر PGC1- α و Sirt3 به ترتیب موجب افزایش فرایندهای مرتبط با بیوژنز میتوکندریایی و کاهش تولید ROS، افزایش

اکسیژن مصرفی بیشینه، بهبود اکسیداسیون لیپید و فسفوریلاسیون اکسایشی می‌شود. افزون بر این Sirt3 از طریق تعدیل نسبت NAD به $\text{NADH} + \text{H}^+$ سیتوزولی در انقباضات عضلانی، نقش مهمی در بروز سازگاری‌های عضله قلب با تمرینات ورزشی استقامتی دارد [۱۱]. تحقیقات در مورد تمرینات HIIT و اتوفاژی ناشی از مسیر سیرتوئین بسیار محدود است. همچنین نشان داده شده است که تمرینات تناوبی شدید به سبب تنوع در مراحل تمرینی زیربیشینه و بیشینه می‌توانند فشار وارد به تارهای عضلانی کند و تندانقباض را با هم و به یک اندازه و در زمان تمرینی کوتاه‌تر اعمال کنند، اما این موضوع در مورد افراد سالمند تاکنون بررسی نشده است. اما همچنان تمرینات تداومی با شدت متوسط طرفدارانی دارد که مطرح کرده‌اند، این تمرینات به سبب اثر پیوسته‌ای که در بتا اکسیداسیون هوازی دارد، مانع تولید بیش از حد متابولیت‌ها و ROS ها می‌شود و نیز برخی پژوهشگران معتقدند ممکن است تمرینات تناوبی با شدت بالا علی‌رغم تأثیرات خود در بهبود سیستم متابولیسمی سلول، سازوکار کاملی در دفع متابولیت و ROS ها نداشته باشد [۸، ۱۰]. بنابراین این پژوهش در پی پاسخگویی این پرسش‌هاست که آیا بین تأثیر دو مدل تمرین تناوبی شدید و تداومی با شدت متوسط بر پروتئین‌های مرتبط با مسیر اتوفاژی از جمله سیرتوئین‌ها و سطوح سرمی عوامل دفاع ضد اکسایشی رت‌های سالمند تفاوت وجود دارد؟

روش‌شناسی پژوهش

روش انجام این پژوهش از انواع تجربی-بنیادی بود. تحقیق روی ۲۴ سر رت نر پیر نژاد ویستار (تقریباً ۲۰ ماهه) با میانگین وزن 350 ± 50 گرم انجام شد. رت‌ها از انستیتو پاستور ایران خریداری و به آزمایشگاه دانشگاه علوم پزشکی ایران برای انجام مداخله منتقل شدند. در پژوهش حاضر تمامی پروتکل‌های اخلاق در پژوهش و دستورالعمل‌های کار با حیوانات آزمایشگاهی اجرا شد و با شناسه اخلاق در پژوهش IR.IAU.SRB.REC.1400.192 مصوب دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران تأیید شد. گروه‌های پژوهش شامل گروه کنترل (۸ سر) (Control)، گروه تمرین تداومی با شدت متوسط (۸ سر) (MICT)، گروه تمرین تناوبی شدید (۸ سر) (HIIT) بود.

روش نگهداری حیوانات

حیوانات در آزمایشگاه مخصوص حیوانات در شرایط استاندارد نگهداری حیوان‌های آزمایشگاهی (دمای $23-25$ درجه سانتی‌گراد، رطوبت $45-50$ درصد، سیکل روشنایی- تاریکی $12:12$) نگهداری شدند. در کل مدت پژوهش رت‌ها به وسیله پلت استاندارد مخصوص موش آزمایشگاهی تغذیه شدند و دسترسی به آب و غذا محدود نبود. همه حیوانات از مرکز تکثیر و پرورش حیوانات آزمایشگاهی انستیتو پاستور ایران تحویل گرفته شدند. رت‌ها ابتدا بر اساس سن و سپس بر اساس وزن همگن و یکسان‌سازی شدند.

پروتکل تمرین

گروه‌های تمرین ورزشی شامل تمرین تداومی و تناوبی شدید برای آشنایی و راه رفتن روی نوار گردان یا تردمیل (شرکت دانش‌سالار ایرانیان) قرار گرفتند و تردمیل با سرعت آهسته ۳ متر بر دقیقه تنظیم شد. گروه کنترل در هیچ‌گونه برنامه فعالیت ورزشی شرکت نکرد. هر گروه پروتکل مربوط به خود را پنج روز در هفته به مدت هشت هفته انجام داد.

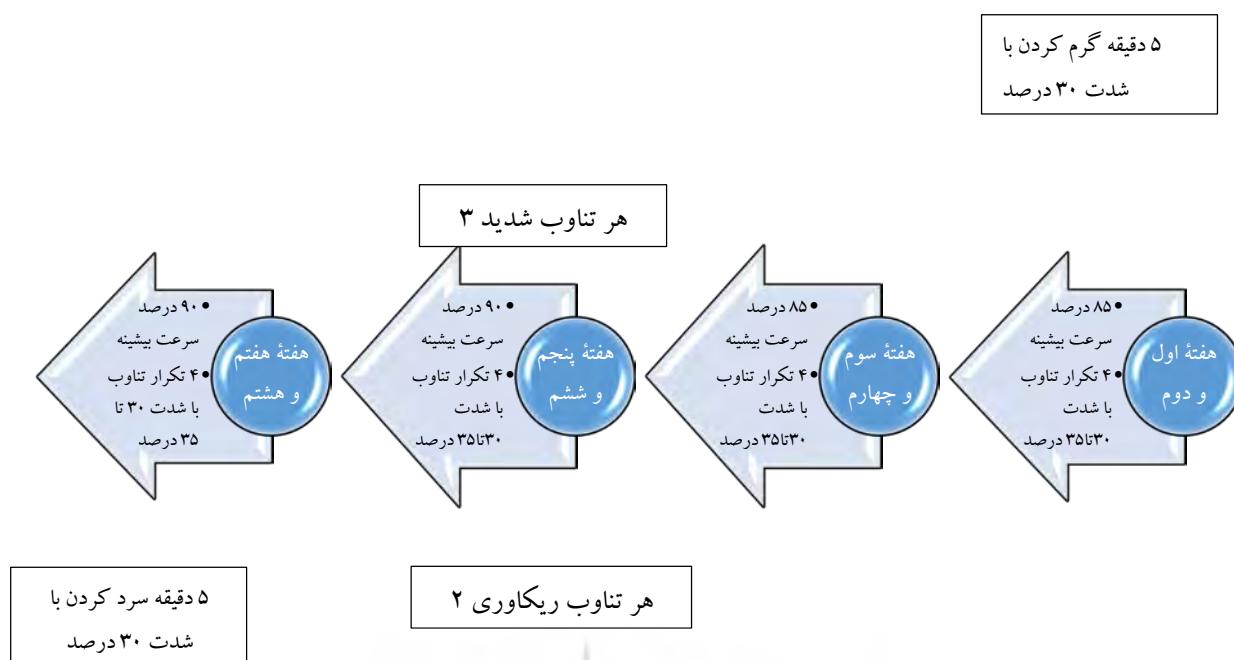
روز ششم هر هفته، حداکثر اکسیژن مصرفی (VO_{2max}) سنجیده شد. هر هفته یک روز برای استراحت در نظر گرفته شد. هر دو پروتکل تمرین تداومی و تناوبی به لحاظ شدت تمرین، طبق تحقیق هویدال و همکاران (۲۰۰۷) همگن شدند [۱۲].

پروتکل تمرین تداومی شامل ۵ دقیقه گرم کردن با شدت ۳۰ تا ۴۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی، ۳۰ دقیقه دویدن با شدت ۶۰ تا ۶۵ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی، ۵ دقیقه سرد کردن با شدت ۳۰ تا ۴۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی بود.

پروتکل تمرین تناوبی شدید شامل هر جلسه ۳۰ دقیقه‌ای دویدن با تردمیل شامل هشت تناوب بود که مراحل آن عبارت است از: ۱. گرم کردن با شدت ۳۰-۴۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی (پنج دقیقه)؛ ۲. هر تناوب با شدت ۹۰ تا ۸۵ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی (سه دقیقه) و ریکاوری با شدت ۳۰ تا ۳۵ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی بین هر تناوب (دو دقیقه). تناوب شدید در هفته‌های اول با ۸۵ درصد انجام شد؛ ۳. سرد کردن با شدت ۳۰-۴۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی (پنج دقیقه). از آنجایی که در تحقیقات پیشین برای تعیین شدت تمرین، همبستگی بالایی بین سرعت دویدن و حداکثر اکسیژن مصرفی در موش‌های صحرایی نشان داده شده است، شدت تمرین برای هر هفته بر اساس سرعت دویدن تنظیم و تعیین شد. بر این اساس شدت تمرین هر هفته ۰/۰۲ متر بر ثانیه افزایش یافت [۱۳].

پروتکل ارزیابی توان هوازی و ظرفیت ورزشی

در موش‌های صحرایی آزمون ظرفیت ورزشی و ظرفیت عملکردی قلب با استفاده از آزمون حداکثر شدت تمرین اندازه‌گیری شد. ابتدا، همه موش‌ها به مدت ۱۵ دقیقه به مدت سه روز متوالی تحت یک دوره سازگاری روی تردمیل (دانش‌سالار ایرانیان) با سرعت ۰/۳ کیلومتر در ساعت قرار گرفتند. سپس آزمون حداکثر تمرین به صورت جداگانه با سرعت اولیه ۰/۳ کیلومتر در ساعت با افزایش ۰/۳ کیلومتر در ساعت (هر سه دقیقه) انجام شد. آزمون حداکثر تمرین قبل و بعد از دوره تمرین ورزشی انجام شد. آزمون تا زمانی انجام می‌شد که موش‌ها قادر نبودند با سرعت ثابتی بدوند و بلافاصله پس از آن با افزایش سرعت قادر به دویدن نبودند (شیب تردمیل صفر درجه بود). یک آزمون میانی پنج هفته پس از شروع برنامه تمرینی انجام شد تا هرگونه تعدیل در شدت تمرین که برای در نظر گرفتن سازگاری‌های مورد انتظار ضروری بود، انجام شود. رسیدن به حداکثر سرعت با غلظت لاکتات بالاتر از ۶ mmol/l و نسبت تبادل تنفسی VCO_2/VO_2 معادل ۱/۵ است. تحقیقات نشان داده‌اند ارتباط زیادی بین سرعت تردمیل و vVO_{2max} در رت‌ها وجود دارد [۱۳].



شکل ۱. طرح شماتیک تمرین تناوبی شدید

سنجش متغیرهای پژوهش

موش‌ها پس از گذشت یک شبانه‌روز ناشتایی و همزمان ۲۴ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی به وسیله تزریق درون صفاقی کتامین (۹۰ میلی گرم بر کیلوگرم) و زایلازین (۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم) بی‌هوش شدند. برای سنجش فاکتورهای دفاع آنتی‌اکسیدانی، نمونه خونی مستقیم از قلب آنها گرفته شد. به وسیله سانتریفیوژ کردن خون تازه در دمای ۱۵ درجه، با دور ۳۰۰۰ و زمان ۱۵ دقیقه جداسازی سرم و پلاسما انجام شد. پلاسما جداسازی شده در ازت مایع با دمای منفی ۸۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. برای سنجش‌های بافت و بررسی بیان ژنی، بافت بطن چپ عضله قلبی بلافاصله پس از شست‌وشو در سرم فیزیولوژیک به همراه سرم، در ازت مایع منجمد و برای تجزیه و تحلیل بعدی به دانشگاه علوم پزشکی منتقل و در فریزر منفی ۸۰ نگهداری شد. برای آماده‌سازی نمونه‌های بافتی پس از قرار دادن نمونه‌ها در دمای محیط، از حالت فریز خارج شدند. سپس حدود ۵۰ میلی گرم از نمونه‌ها وزن شدند و از هر نمونه در میکروتیوب با حجم ۱/۵ کد و نامگذاری شده قرار داده شدند. نمونه‌ها روی یخ گذاشته شدند تا دیگر مراحل کار انجام شود.

سنجش ژن‌های مورد بررسی

در این تحقیق به منظور بررسی تغییرات بیان ژن از تکنیک qRT-PCR استفاده شد. استخراج RNA با استفاده از ۵۰ میلی گرم از مقادیر ژن‌های سیرتوئین انجام شد. بیوفوتومتر (اپندورف، آلمان) با طول موج ۲۶۰ نانومتر برای اندازه‌گیری کیفیت مقادیر استخراج شده RNA استفاده شد. RNA میانگین OD های خوانده شده ۱/۷۷ بود که نشان می‌دهد کیفیت خوب RNA استخراج شده مناسب است.

طبق دستورالعمل شرکت سازنده کیت‌ها، قبل از ارزیابی نهایی بیان ژن از طریق Real Time PCR تکنیک مورد نیاز برای ارزیابی کارایی مرجع ژن (*gapdh*) و ژن هدف (*Med*) استفاده شد. با استفاده از تکنیک Real Time PCR (یک مرحله‌ای) ترکیب اصلی SYBR Green (Applied Biosystems) و سطح بیان ژن نسبی بررسی شد.

برنامه Real-time PCR برای ژن‌های سیرتوئین در چرخه دمایی، در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه و ۴۵ چرخه ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ ثانیه، ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ ثانیه و ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ ثانیه انجام پذیرفت. پرایمرها توسط شرکت زیست نیکا ژن ایران طراحی شد. توالی پرایمری ژن‌های هدف و میزبان در جدول ۱ نشان داده شده است.

جدول ۱. توالی پرایمری ژن‌های مورد بررسی

ژن‌ها		(3' → 5') توالی پرایمر
Sirt1	Forward	GGATGGCTGCACTAACAGCGG
	Reverse	CAACCAATGAAACACTAG
Sirt3	Forward	GCAAGATGCACATTACCCTCTG
	Reverse	CAGCGTGTGATCTTGCATC
GAPDH	Forward	TCAGTGAACCCCTCTG GAACGCC
	Reverse	ATTAC TCGTTGCGCAATCTG

اندازه‌گیری فعالیت سوپراکسید دیسموتاز (*SOD*) و گلوتاتیون پروکسیداز (*GPX*)

ابتدا یخ‌زدایی نمونه‌های سرمی منجمد شده جهت انجام سنجش‌ها انجام شد. از کیت‌های اختصاصی طبق دستورالعمل ارائه شده توسط شرکت انگلیسی REODX جهت سنجش *SOD* و *GPX* با استفاده از دستگاه اتو آنالایزر (شرکت Biosystem - ساخت اسپانیا) با حساسیت اندازه‌گیری ۲ میکرومول آهن دوز فیتی استفاده شد. میزان غلظت *SOD* و *GPX* بر پایه واکنش با تیوباریوتوریک اسید (TBA) و به وسیله بوتانل نرمال استخراج شد. میزان سطح سرمی به صورت اسپکتروفتومتری برای اندازه‌گیری جذب نوری با روش اسپکتروفتومتر (BioRad ساخت آمریکا) با جذب نوری در طول موج ۵۳۲ نانومتر توسط منحنی استاندارد تعیین شد. نتایج نیز بر حسب نانوگرم بر میلی‌گرم پروتئین (ng/mg of protein) گزارش شد.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

در تحقیق حاضر از آمار توصیفی برای توصیف داده‌های پژوهش استفاده شد که در آن از شاخص‌های پراکندگی و انحراف معیار برای ترسیم نمودارها استفاده شد. از آزمون شاپیروویلک برای نرمال بودن داده‌ها استفاده شد. از آنوای یک‌راهه و آزمون تعقیبی توکی برای تعیین اختلافات بین گروهی در سطح معناداری $P < 0.05$ استفاده شد. از فرمول $2^{-\Delta\Delta Ct}$ (۲ به توان منفی $\Delta\Delta Ct$) برای کمی‌سازی مقادیر بیان ژن و مقادیر fold change محاسبه شد. تحلیل داده‌ها با نرم‌افزار Version 8 Graph pad prism انجام شد.

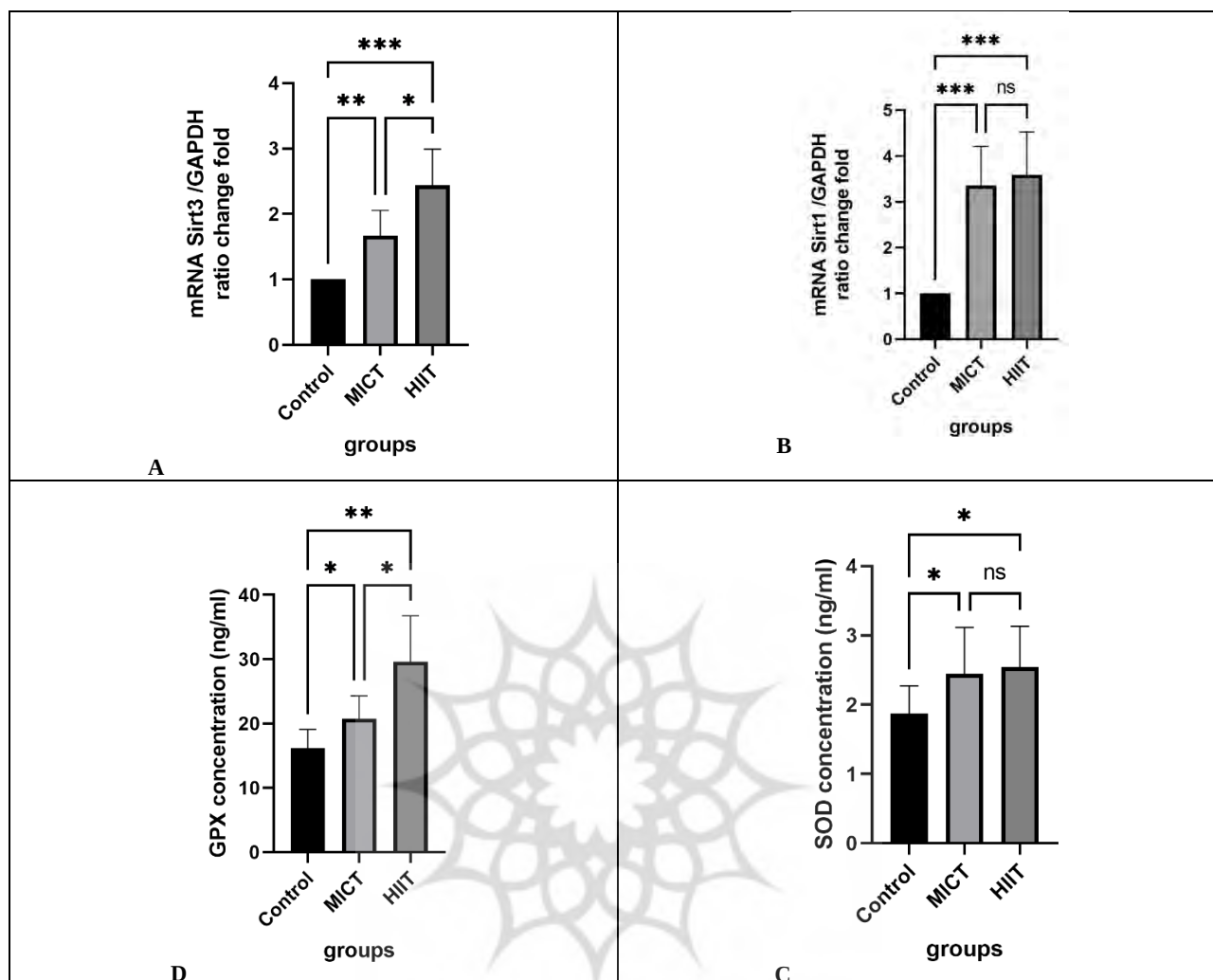
یافته‌های پژوهش

یافته‌های تحقیق حاضر نشان داد مقادیر بیان ژن Sirt1 در گروه HIIT و MICT نسبت به گروه کنترل معنادار است. در مقایسه مقادیر بیان این ژن در دو گروه تمرینی، نتایج نشان داد بین گروه HIIT و MICT تفاوت معنادار وجود ندارد، بدین معنا که تفاوت نوع تمرین در بیان ژن Sirt1 مؤثر نبوده است، اما خود تمرین نسبت به بی‌تمرینی سبب تغییرات این ژن می‌شود. مقادیر بیان ژن Sirt3 در هر دو گروه HIIT و MICT نسبت به گروه کنترل معنادار بود. همچنین در مقایسه مقادیر بیان این ژن در دو گروه تمرینی، نتایج نشان داد بین گروه HIIT و MICT تفاوت معنادار وجود دارد؛ بدین معنا که بیان ژن Sirt3 در گروه‌های تمرینی HIIT و MICT نسبت به هم متفاوت بوده و تفاوت نوع تمرین در تغییر بیان این ژن مؤثر بوده است. غلظت SOD در هر دو گروه HIIT و MICT نسبت به گروه کنترل معنادار بود. همچنین در مقایسه غلظت SOD در دو گروه تمرینی، نتایج نشان داد بین گروه HIIT و MICT تفاوت معنادار وجود ندارد، بدین معنا که غلظت SOD در گروه تمرین HIIT بیشتر از گروه تمرین MICT نبوده و به صورت کلی، تفاوت نوع تمرین در بیان این ژن مؤثر نبوده است. غلظت GPX در هر دو گروه HIIT و MICT نسبت به گروه کنترل معنادار بود. همچنین در مقایسه غلظت GPX در دو گروه تمرینی، نتایج نشان داد بین گروه HIIT و MICT تفاوت معنادار وجود دارد، بدین معنا که غلظت GPX در گروه تمرین HIIT بیشتر از گروه تمرین MICT بوده و به صورت کلی، تفاوت نوع تمرین در بیان این ژن مؤثر بوده است. جدول ۲ به وسیله آزمون توکی تفاوت‌های بین گروهی را نشان می‌دهد.

جدول ۲. آزمون توکی

متغیر	گروه (I)	گروه (J)	سطح معناداری
Sirt1(pg/ml)	Control	MICT	۰/۰۰۰۳
		HIIT	۰/۰۰۰۳
Sirt3(pg/ml)	Control	MICT	۰/۰۰۴
		HIIT	۰/۰۰۰۴
SOD(ng/ml)	Control	MICT	۰/۰۲۱
		HIIT	۰/۰۴۳
GPX(ng/ml)	Control	MICT	۰/۰۱۳
		HIIT	۰/۰۰۴
	MICT	HIIT	۰/۰۲۶

Control: گروه کنترل، MICT: گروه تمرین تداومی، HIIT: گروه تمرین تناوبی شدید،



شکل ۲. (A) تغییرات بیان ژن Sirt1 به تفکیک گروه‌های پژوهش. (B) تغییرات بیان ژن Sirt3 به تفکیک گروه‌های پژوهش. (C) تغییرات غلظت SOD به تفکیک گروه‌های پژوهش. (D) تغییرات غلظت GPX به تفکیک گروه‌های پژوهش.

$P \leq 0.0001$ ****, $P \leq 0.0001$ ****, $P \leq 0.001$ ***, $P \leq 0.05$ *

بحث و نتیجه‌گیری

در پژوهش حاضر دو مدل تمرین تناوبی با شدت بالا و تداومی با شدت متوسط بر ژن‌های سیرتوئین و عوامل ضد اکسیداتیو در عضله قلب رت‌های سالمند مقایسه شد. نتایج نشان داد مقادیر بیان ژن Sirt1 در گروه HIIT و MICT نسبت به گروه کنترل معنادار بود. همچنین بین گروه HIIT و MICT تفاوت معنادار وجود نداشت. مقادیر بیان ژن Sirt3 در هر دو گروه HIIT و MICT نسبت به گروه کنترل معنادار بود؛ و بین گروه HIIT و MICT تفاوت معنادار وجود داشت. غلظت SOD در هر دو گروه HIIT و MICT نسبت به گروه

کنترل معنادار بود و بین گروه HIIT و MICT تفاوت معنادار وجود نداشت. غلظت GPX در هر دو گروه HIIT و MICT نسبت به گروه کنترل معنادار بود و بین گروه HIIT و MICT تفاوت معنادار وجود داشت.

سازگاری سلولی به تمرینات ورزشی می‌تواند به عوامل سلولی و مولکولی و مسیرهای پیام‌رسانی مرتبط با اتوفازای در عضله قلب و میتوکندری‌های کاردیومیوسیت‌ها مربوط باشد که با ایجاد هیپرتروفی و تجدید کاردیومیوسیت‌ها به رشد قلبی منجر می‌شود و نیز سبب تکثیر، تفکیک و جابه‌جایی سلول‌های عضله قلب می‌شود [۱۴]. در تحقیق حاضر، هر دو شیوه فعالیت ورزشی موجب بهبود بیان ژن‌های سیرتوئین‌ها و افزایش غلظت دو فاکتور دفاع آنتی‌اکسیدانی شد. ضمن اینکه تأثیرات تمرینات تناوبی با شدت بالا در تعدیل بیان ژن‌های مورد بررسی مؤثرتر بود. این تغییرات می‌تواند وابسته به آبشار پیام‌رسانی مسیر AMPK/Sirt1 و فعال کردن SOD و GPX به سبب افزایش بیان PGC1- α در عضله قلبی و اسکلتی باشد. افزون بر این AMPK که حسگر سلولی انرژی است، در حین فعالیت ورزشی دچار نوسانات غلظتی می‌شود؛ با فعال‌سازی سیرتوئین ۱ و ۳ به صورت غیرمستقیم سبب تغییر بیان و غلظت پروتئین‌های مرتبط با اتوفازای می‌شوند [۱۵]. طبق پژوهش‌های انجام گرفته در تمرینات استقامتی با شدت متوسط، مقادیر Sirt و PGC1 صعودی بوده است، اما شاهد روند نزولی مقادیر بیان پروتئین‌های FOXO3a و بکلین بوده‌اند که شاخص‌های اتوفازای هستند [۱۶] یا بر عکس [۴]. شدت، مدت و نوع تمرینات و محدودیت‌های غذایی یا کالریک می‌تواند دلیل این تفاوت‌ها باشد یا ناشی از وضعیت سن، آزمودنی‌های مورد بررسی باشد. بررسی تقابل دو شیوه سنتی و بروز تمرینات ورزشی می‌تواند تأثیر شدت، مدت و نوع تمرین را در تغییرات مولکولی و جایگزینی پروتئین‌های درگیر در مسیر پیام‌رسانی اتوفازای عضله قلب روشن‌تر کند و اثربخشی هر کدام از این تمرینات را با نوع دیگر مقایسه کند [۸، ۹، ۱۰].

در فاکتور ژنی Sirt3 و فاکتور آنزیمی GPX شاهد افزایش مقادیر ژنی و غلظت عامل در گروه تمرین تناوبی شدید نسبت به تمرین تداومی بودیم. این نتایج می‌تواند ناشی از نقش تمرینات تناوبی شدید در بیان شاخص‌های بیونز میتوکندری یعنی PGC1 α ، Sirt3 و DNA میتوکندری باشد [۱۰]. همچنین عنوان شده است تمرین تناوبی شدید با افزایش Vo2max، افزایش بتا اکسیداسیون لیپید و فسفوریلاسیون اکسایشی از طریق تعدیل نسبت NAD به NADH + سیتوزولی توسط Sirt3 در انقباضات عضلانی، نقش مهمی در بروز سازگاری‌های عضله قلب با تمرینات ورزشی استقامتی دارد [۹، ۱۰، ۱۱] مرتبط و همسو با نتایج این تحقیق مبنی بر آثار تمرینات تناوبی شدید نسبت به تمرین تداومی وانگ و همکاران نشان دادند، پنج هفته رژیم‌های تمرینی HIIT سه دقیقه تناوبی با شدت ۴۰ تا ۸۰ درصد VO2max و MCT با شدت ۶۰ درصد VO2max سبب بهبود در سطوح کاهش یافته اتوفازای و آپوپتوز تقویت شده می‌شود [۱۷].

نتایج تحقیق ماریا دنیاکو و همکاران (۲۰۱۹) در بررسی تأثیرات مراقبتی قلب را با تمرین با شدت متوسط و تمرین مسافت طولانی مدت را از طریق مسیر سیرتوئین نشان داد تمرین با افزایش مقادیر Sirt1/3 سبب کاهش آپوپتوزیس و آسیب‌های اکسایشی در موش‌ها شده است [۱۶]. پژوهش لین و همکاران (۲۰۱۴) نیز با عنوان «بررسی همزمان مقادیر FOXO3a و مسیر پیام‌رسانی PI3K/Akt/SIRT1 متأثر از تمرین ورزشی، مکمل رزوراتول در رت‌های سالمند» انجام شد. نتایج این تحقیق نشان داد عملکرد قلبی در همه گروه‌های تمرینی بهبود یافت و در گروه سالمند بدون تمرین مقادیر TNF-a، آپوپتوز سلولی و فیبروزیس نسبت به گروه تمرین افزایش داشته است. مقادیر PI3K/Akt در همه گروه‌های تمرین افزایش یافته اما مقادیر Sirt1 در گروهی که مکمل رزوراتول دریافت کرده بود بیشتر از سایرین افزایش داشته [۱۸]. در تحقیق هو و همکاران (۲۰۲۲) که به بررسی نقش ورزش و پپتیدها بر مسیر PGC1 α /SIRT1/AMPK FOXO3/FOXO3 پرداختند، فعالیت ورزشی هوازی تداومی هشت هفته‌ای را به عنوان یک رویکرد درمانی برای موش‌های با فشار خون بالا عنوان کردند. نتایج تحقیق آنها نشان داد بیان پروتئین مسیر FOXO3/1PGC1 α /SIRT1/AMPK با تجویز ترکیبی پپتیدها و ورزش تداومی

افزایش یافت. داده‌های این پژوهش نشان داد که فعالیت ورزشی تداومی، با فعال کردن مسیر بیوژنر میتوکندری، در کاهش فشار خون بالا عمل می‌کند. نوری و همکاران (۲۰۲۲) تأثیرات مکمل رزوراترول را به‌تنهایی و همراه با فعالیت ورزشی تداومی و تناوبی بر روی قند خون، انسولین، پروفایل لیپیدی، بیومارکرهای آپوپتوز و بیان Sirt1 در موش‌های دیابتی بررسی کردند و نشان دادند در هر دو نوع تمرین، مقادیر SIRT ۱ به یک اندازه نسبت به گروه کنترل بی‌تمرین افزایش یافته بود.

بابود و همکاران (۲۰۱۲) Sirt1 و پارامترهای اکسیداتیو را با ۳۶ هفته تمرین به این کیفیت که رت‌ها به مدت ۳۰ دقیقه از هفته اول با سرعت ۴/۲ متر بر دقیقه به ۱۲ متر بر دقیقه در هفته آخر روی تردمیل می‌دویدند، بررسی کردند. مقادیر آنتی‌اکسیدانی تام (TAC) و SOD نیز در این تحقیق بررسی شد. نتایج نشان داد تمرین با شدت متوسط می‌تواند مسیر PGC1-A/AMPK/SIRT1 را فعال کند. مقادیر سرمی دفاع ضد اکسایشی بر اثر این نوع تمرینات نیز افزایش چشمگیری پیدا کرد [۴]. در همین زمینه زارع و همکاران (۲۰۲۲) در مطالعه خود کاهش وضعیت استرس اکسیداتیو از طریق فعالیت ورزشی منظم و ماده مؤثر هسته انگور در مدل قلب موش ایسکمی شده را سنجیدند. این تحقیق نشان داد جدای از تأثیرات مکمل، تمرین با شدت کم و متوسط از کاهش آنتی‌اکسیدان‌ها پس از MI جلوگیری کرد و سطوح سوپراکسید دیسموتاز، گلووتاتیون پراکسیداز و کاتالاز را پس از ۱۴ هفته افزایش داد.

پژوهش‌های انجام شده به‌عنوان نتیجه‌گیری بیان کردند که فعال‌سازی کمپلکس سیرتوئین ۱ و ۳ و سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی روند پیری را به تأخیر می‌اندازد. سازوکار این فرایند به عوامل بسیاری ارتباط دارد که این تحقیق تنها بخشی از این فرایند را بررسی کرد و پیشنهاد می‌شود مطالعات آتی از انواع دیگر تمرین و سایر اقسام مرتبط با مسیر پیام‌رسانی اتوفازی مرتبط با کاردیومیوسیت‌ها را انجام دهند. پیشنهاد می‌شود علاوه بر سنجش بیان ژنی، سنتز پروتئینی نیز بررسی شود و نیز تحقیقاتی در حوزه بیوژنر میتوکندریایی مرتبط با اتوفازی در جمعیت انسانی انجام پذیرد. پیشنهاد می‌شود در پژوهش‌های بعدی عملکرد قلبی شامل کسر تخلیه‌ای و کسر کوتاه‌شدگی، ساختار قلب شامل حجم‌های پایان دیاستولی و پایان سیستولی در قلب رت‌های سالمند در کنار ژن‌های مرتبط با اتوفازی سنجش شود. عدم دسترسی به نمونه انسانی در تحقیقات بنیادی، محدود بودن و ناکافی بودن اطلاعات در خصوص اثر مداخلات مختلف تمرینی در اتوفازی و نیز نپرداختن به تغییرات عملکرد و ساختار قلب از محدودیت‌های تحقیق حاضر بود. همان‌طور که اکسیداتیو استرس نقش مهمی در پاتوژنز بیماری‌های قلبی - عروقی ایفا می‌کند [۱۹]، انتظار می‌رود نتایج این تحقیق نشان دهد که فعال کردن مسیر سیگنالینگ Sirt1 می‌تواند یک هدف درمانی بالقوه در بیماری‌های مرتبط با ROS و میتوکندری باشد.

نتایج تحقیق حاضر نشان داد، هر دو نوع تمرین نسبت به گروه بدون تمرین، سبب تعدیل بیان ژن‌های Sirt1 و Sirt3 شدند. این نتیجه بیانگر این است که تمرینات ورزشی مسیر ضدپیری سیرتوئین‌ها را در موش‌های پیر فعال می‌کند. همچنین غلظت عوامل آنتی‌اکسیدانی بر اثر تمرین و به‌خصوص تمرین تناوبی شدید افزایش یافت. شاید بتوان گفت تمرینات HIIT در راستای بهبود سوخت‌وساز مرگ تعدیل شده، دارای آثار به‌مراتب بهتری در مقابله با ROSها و پیری عضله قلب در مقایسه با دیگر انواع تمرین هستند. با وجود این، تأثیر فیزیولوژیکی این‌گونه تمرینات بر سلسله مسیرهای پیام‌رسانی اتوفازی و سالمندی به‌درستی درک نشده است و نیز نتایج کاملی وجود ندارد و بهتر است تحقیقات جامع‌تری در این زمینه انجام شود.

تقدیر و تشکر

این تحقیق بخشی از رساله نویسنده اول در رشته فیزیولوژی ورزشی گروه فیزیولوژی ورزشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران است، بدین‌وسیله از همه استادان گرانقدری که در انجام آن به ما یاری رساندند، سپاسگزاریم.

References

- [1]. González-Montero J, Brito R, Gajardo AI, Rodrigo R. Myocardial reperfusion injury and oxidative stress: Therapeutic opportunities. *World Journal of Cardiology*. 2018;10(9):74.
- [2]. Phaneuf S, Leeuwenburgh C. Cytochrome c release from mitochondria in the aging heart: a possible mechanism for apoptosis with age. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*. 2002;282(2):R423-R30.
- [3]. Liu Z, Ren Z, Zhang J, Chuang C-C, Kandaswamy E, Zhou T, et al. Role of ROS and nutritional antioxidants in human diseases. *Frontiers in physiology*. 2018;9:477.
- [4]. Bayod S, Del Valle J, Lalanza J, Sanchez-Roige S, de Luxan-Delgado B, Coto-Montes A, et al. Long-term physical exercise induces changes in sirtuin 1 pathway and oxidative parameters in adult rat tissues. *Experimental gerontology*. 2012;47(12):925-35.
- [5]. Rajabi S, Noori S, Zal F, Jahanbazi Jahan-Abad A. Oxidative stress and its different roles in neurodegenerative diseases. *The Neuroscience Journal of Shefaye Khatam*. 2017;5(1):73-86.
- [6]. Jokar M, Sherafati Moghadam M, Daryanoosh F. The Effect of an 8-Week Endurance Training Program on the Content of FOXO3a and Beclin-1 Proteins in Heart Muscle of Rats with Type 2 Diabetes. *The Journal of Qazvin University of Medical Sciences*. 2020;23(6):484-493.
- [7]. Hashemkandi Asadi R, Arshadi S, Banaei Far A, Haji Rasouli M. The Effect of 12 Weeks of Aerobic Training with or without Dietary Restriction on the Expression Levels of SIRT3, PGC1- α and SOD2 of Soleus muscle in Male Rats. *Iranian Journal of Nutrition Sciences & Food Technology*. 2019;14(2):21-30.
- [8]. Ramos JS, Dalleck LC, Tjonna AE, Beetham KS, Coombes JS. The impact of high-intensity interval training versus moderate-intensity continuous training on vascular function: a systematic review and meta-analysis. *Sports medicine*. 2015;45(5):679-92.
- [9]. Mohsenzadeh M, Aghaei F, Nameni F. The effect of high intensity interval training on SIRT1 and PGC1- α gene expression in soleus muscle of type 2 diabetes in male rat. *Medical Journal of Tabriz University of Medical Sciences and Health Services*. 2020;42(4):447-55.
- [10]. Taylor CW, Ingham SA, Hunt JE, Martin NR, Pringle JS, Ferguson RA. Exercise duration-matched interval and continuous sprint cycling induce similar increases in AMPK phosphorylation, PGC-1 α and VEGF mRNA expression in trained individuals. *European journal of applied physiology*. 2016;116(8):1445-54.

- [11]. Suwa M, Nakano H, Radak Z, Kumagai S. Endurance exercise increases the SIRT1 and peroxisome proliferator-activated receptor γ coactivator-1 α protein expressions in rat skeletal muscle. *Metabolism*. 2008;57(7):986-98.
- [12]. Høydal MA, Wisløff U, Kemi OJ, Ellingsen Ø. Running speed and maximal oxygen uptake in rats and mice: practical implications for exercise training. *European Journal of Preventive Cardiology*. 2007;14(6):753-60.
- [13]. Kraljevic J, Marinovic J, Pravdic D, Zubin P, Dujic Z, Wisloff U, et al. Aerobic interval training attenuates remodelling and mitochondrial dysfunction in the post-infarction failing rat heart. *Cardiovascular research*. 2013;99(1):55-64
- [14]. Jokar M, Sherafati Moghadam M, Daryanoosh F. The Effect of an 8-Week Endurance Training Program on the Content of FOXO3a and Beclin-1 Proteins in Heart Muscle of Rats With Type 2 Diabetes. *Journal of Inflammatory Disease*. 2020;23(6):484-493
- [15]. Vargas-Ortiz K, Perez-Vazquez V, Diaz-Cisneros FJ, Figueroa A, Jiménez-Flores LM, Rodriguez-DelaRosa G, et al. Aerobic training increases expression levels of SIRT3 and PGC-1 α in skeletal muscle of overweight adolescents without change in caloric intake. *Pediatric Exercise Science*. 2015;27(2):177-84.
- [16]. Donniacuo M, Urbanek K, Nebbioso A, Sodano L, Gallo L, Altucci L, et al. Cardioprotective effect of a moderate and prolonged exercise training involves sirtuin pathway. *Life sciences*. 2019;222:140-147
- [17]. Weng T-P, Huang S-C, Chuang Y-F, Wang J-S. Effects of interval and continuous exercise training on CD4 lymphocyte apoptotic and autophagic responses to hypoxic stress in sedentary men. *PloS one*. 2013;8(11):e80248.
- [18]. Lin C-H, Lin C-C, Ting W-J, Pai P-Y, Kuo C-H, Ho T-J, et al. Resveratrol enhanced FOXO3 phosphorylation via synergetic activation of SIRT1 and PI3K/Akt signaling to improve the effects of exercise in elderly rat hearts. *Age*. 2014;36(5):9705.
- [19]. Tian H, Chen P, Ren J. Physical exercise, autophagy and cardiometabolic stress in aging. *Aging (Albany NY)*. 2019;11(15):5287.