

Research Paper

The Comparison of Effects of a Period of High Intensity Interval Training and continuous Training on SIRT3 and Antioxidant Defense System of Gastrocnemius Muscle in Aged Female Rats**A. Askarian¹, A. A. Gaeini², M. R. Kordi³, S. Choobineh³**

1. Ph.D. Student, Department of Exercise Physiology, Faculty of Sport Sciences, University of Tehran, Tehran, Iran.
2. Professor, Department of Exercise Physiology, Faculty of Sport Sciences, University of Tehran, Tehran, Iran. (Corresponding Author)
3. Associate Professor, Department of Exercise Physiology, Faculty of Sport Sciences, University of Tehran, Tehran, Iran.

Received: 2020/06/07

Accepted: 2020/10/12

Abstract

This study aimed to compare the effects of 12 weeks of high intensity interval training and continuous training on SIRT3 and superoxide dismutase (SOD) activity in gastrocnemius muscle of aged female Wistar rats. Fifteen female Wistar rats (age= 18-month, weight= 270-350 g) were selected and divided into 3 groups: High intensity interval training (HIIT), continuous training (CT), and control. After determining rat's VO_{2max} , progressive HIIT and CT protocols were designed with the intensity relating to 85-90% VO_{2max} and 65-70 % VO_{2max} , respectively, and training duration in HIIT was approximately half of CT. Forty-eight hours after the last training session, rats were sacrificed and their gastrocnemius muscle samples were saved for further analysis. The results showed a significant difference of SIRT3 between HIIT, CT, and control group ($p=0.001$) ($Control < CT < HIIT$). However, there was no significant difference between HIIT and CT ($p=0.641$). In addition, the results revealed a significant difference in SOD activity among groups ($p=0.031$); however, the difference between CT and control was not statistically significant ($Control < CT < HIIT$) ($p=0.244$). The findings showed that HIIT is more effective than CT in terms of SIRT3 protein level and SOD activity, hence, it can be used as a safe and time efficient training protocol.

Key Words: Training, Aging, Sirtuins, Free Radicals, Antioxidant Defense

1. Email: a.askarian@ut.ac.ir
2. Email: aagaieini@ut.ac.ir
3. Email: mrkordi@ut.ac.ir
4. Email: choobineh@ut.ac.ir



Extended Abstract

Background and Purpose

Aging is associated with decline in adaptation to stress leading to malfunctioning of various body organs. Mitochondria are responsible for producing the majority of cellular ATP(1). Moreover, they are involved in myriads of processes beyond energy production, including apoptosis, calcium and redox regulation (2). Sirtuins are NAD⁺-dependent protein deacetylase and regulate adaptive responses to a variety of stresses, including calorie restriction, metabolic stress and exercise. Sirtuin3 (SIRT3) is localized in the mitochondrial matrix, where it regulates the acetylation levels of different enzymes and influences almost every major aspect of mitochondrial biology. Recent studies have shown that Sirt3 plays a key role in mitochondrial ROS homeostasis. Sirt3 regulates ROS production by directly binding and deacetylating mitochondrial complex I and II (3, 4). Sirt3 also regulates ROS clearance via changes in the acetylation level of SOD2 -a major mitochondrial antioxidant enzyme. Thus, the aim of this study was to compare 12 weeks of high intensity interval training and continuous training on SIRT3 and superoxide dismutase (SOD) activity in gastrocnemius muscle of aged female Wistar rats.

Materials and Methods

All animal procedures were conducted in accordance with ethical guidelines approved by university of Tehran (IR.UT.SPORT.REC.1397.021). Female Wistar rats (n=36, 18 months) were obtained from Baqiatallah university of medical sciences (Tehran, Iran). Animals were housed in three cages and water and food were *ad libitum*. Animals were kept in 12/12 light-dark cycle at 25°C¹⁵. Female Wistar rats (age= 18-month, weight= 270-350 g) were selected and divided into three groups; high intensity interval training (HIIT), continuous training (CT), and control. Rats were familiarized to treadmill within a week. Maximum aerobic capacity was determined after a ramp protocol. Briefly, after five minutes of warm up at 10m/min on an inclined (10°) eight-lane motorized treadmill, speed increased 2m/2min until exhaustion. The last stage was considered as individual maximum speed used for the calculation of aerobic capacity (VO_{2max}). After determining rat's VO_{2max} based on the ramp protocol (5), progressive HIIT and CT protocols were designed with the intensity corresponding to 85-90% VO_{2max} and 65-70 % VO_{2max}, respectively, and HIIT lasted approximately half as long as CT. Three training sessions were held in each week for 12 weeks. The work:rest ratio in HIIT corresponded to 1:1. During intervention, weight and aerobic capacity of rats were measured every four weeks. 48 hours after the last training session, rats were sacrificed and their gastrocnemius muscle samples were saved



for further analysis. SIRT3 protein level was determined using standard Western-blot protocol and the activity of SOD was measured using ELISA commercial kit. One-way analysis of variance was used to analyze data.

Findings

This study showed a significant difference of SIRT3 between HIIT, CT, and control group ($p=0.001$) ($Control < CT < HIIT$). However, there was no significant difference between HIIT and CT ($p=0.641$). In addition, the results revealed a significant difference in SOD activity among groups ($p=0.031$), however, the difference between CT and control was not statistically significant ($Control < CT < HIIT$) ($p=0.244$). Aerobic capacity of HIIT and CT was significantly higher than control group. However, there was no significant difference between HIIT and CT ($p < 0.05$). On the other hand, the weight of HIIT and CT groups was significantly higher than control group. However, no significant difference was observed between HIIT and CT groups.

Conclusion

During this study, each HIIT training session lasted half as long as the continuous training. This study's findings showed that HIIT is more effective than CT in terms of SIRT3 protein level and SOD activity. On the other hand, no difference was observed between aerobic capacity and weight of aged rats regarding the type of training. Therefore, we can say that HIIT can be used as an effective and time efficient training protocol.

Key Words: Training, Aging, Sirtuins, Free Radicals, Antioxidant Defense

References

1. Picard M, Shirihai OS, Gentil BJ, Burelle Y. Mitochondrial morphology transitions and functions: implications for retrograde signaling? *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*. 2013;304(6):R393-R406.
2. Pradhan R, Kumar R, Shekhar S, Rai N, Ambashtha A, Banerjee J, et al. Longevity and healthy ageing genes FOXO3A and SIRT3: Serum protein marker and new road map to burst oxidative stress by *Withania somnifera*. *Experimental Gerontology*. 2017;95:9-15.
3. Hirschey MD, Shimazu T, Goetzman E, Jing E, Schwer B, Lombard DB, et al. SIRT3 regulates mitochondrial fatty-acid oxidation by reversible enzyme deacetylation. *Nature*. 2010;464(7285):121.



4. McDonnell E, Peterson BS, Bomze HM, Hirschey MD. SIRT3 regulates progression and development of diseases of aging. *Trends Endocrinol Metab.* 2015;26(9):486-92.
5. Høydal MA, Wisløff U, Kemi OJ, Ellingsen Ø. Running speed and maximal oxygen uptake in rats and mice: practical implications for exercise training. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil.* 2007;14(6):753-60.



مقایسه یک دوره تمرین تناوبی خیلی شدید و تداومی بر پروتئین SIRT3 و دفاع ضد اکسایشی عضله دوقولوی رت‌های ماده سالمند

علی عسکریان^۱، عباسعلی گائینی^۲، محمدرضا کردی^۳، سیروس چوبینه^۳

۱. دانشجوی دکتری، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت‌بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

۲. استاد، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت‌بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه تهران، تهران، ایران (نویسنده مسئول)

۳. دانشیار، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت‌بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۷/۲۱

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۳/۱۸

چکیده

اهداف: هدف پژوهش حاضر مقایسه ۱۲ هفته تمرین تناوبی خیلی شدید و تداومی بر مقادیر پروتئین سیرتوئین سه (SIRT3) و فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز عضله دوقولوی رت‌های ماده سالمند بود. مواد و روش‌ها: پانزده سر رت ماده نژاد ویستار (سن ۱۸ ماه، وزن 281 ± 17.34 گرم) انتخاب شدند و در سه گروه تمرین تناوبی خیلی شدید (HIIT)، تمرین تداومی (CT) و کنترل طبقه‌بندی شدند. پس از ارزیابی حداکثر اکسیژن مصرفی رت‌ها، تمرین‌های تناوبی خیلی شدید و تداومی به شکل پیش‌رونده و به ترتیب با شدت ۸۵-۹۰ درصد و ۶۵-۷۰ درصد VO_{2max} به‌گونه‌ای طراحی شدند که زمان HIIT تقریباً نصف زمان CT بود. چهل و هشت ساعت پس از آخرین جلسه تمرین، رت‌ها قربانی شدند و عضله دوقولوی آن‌ها برای تجزیه و تحلیل‌های آزمایشگاهی ذخیره شد. یافته‌ها: نتایج تفاوت معناداری را در مقادیر SIRT3 بین گروه‌های HIIT و کنترل و CT و کنترل (کنترل > HIIT > CT) نشان داد ($P=0.001$)؛ با وجود این، تفاوت معناداری بین HIIT و CT مشاهده نشد ($P=0.641$). همچنین، تفاوت معناداری بین گروه HIIT و کنترل در میزان فعالیت SOD (کنترل > HIIT > CT) مشاهده شد ($P=0.031$)، ولی تفاوت بین CT و گروه کنترل ($P=0.244$) و HIIT و CT ($P=0.244$) از نظر آماری معنادار نبود. نتیجه‌گیری: یافته‌های پژوهش نشان می‌دهد، تمرین تناوبی خیلی شدید (HIIT) که در پژوهش‌های گوناگون از آن به‌عنوان یک روش تمرینی

1. Email: a.askarian@ut.ac.ir

2. Email: aagaeini@ut.ac.ir

3. Email: mrkordi@ut.ac.ir

4. Email: choobineh@ut.ac.ir



بی خطر یاد می‌شود، در مقایسه با تمرین تداومی (CT) اثربخشی زیادتری بر مقادیر SIRT3 و فعالیت آنزیم SOD دارد و می‌تواند به‌عنوان روشی مقرون به صرفه از نظر زمان به کار گرفته شود.

واژگان کلیدی: تمرین، سالمندی، سیر توئین‌ها، رادیکال‌های آزاد، دفاع ضد اکسایشی.

مقدمه

سالمندی و تکامل انسان، فرایندهای پیچیده‌ای هستند که نتیجه آن تغییرهای گوناگونی است که با گذر زمان در موجود زنده پدیدار می‌شود (۱). برای به کنترل درآوردن و به تأخیر انداختن فرایند سالمندی، پژوهش‌های بی‌شماری انجام شده است که نتیجه این پژوهش‌ها دست‌کم سیصد نظریه است که برای آشنایی با فرایند سالمندی پیشنهاد و بررسی شده است. این نظریه‌ها نشان می‌دهند، این فرایند هنوز هم نقاط تاریکی دارد. تقریباً با هر کشف تازه‌ای در بیولوژی سلولی و مولکولی، خانواده جدیدی از نظریه‌های سالمندی معرفی می‌شود که همه آن‌ها شناخت ما را از فرایند سالمندی بیشتر می‌کنند (۲). سالمندی، بدون شک فرایندی چندعاملی است. در ابعاد گوناگون بیولوژیایی، نظریه‌های سالمندی با هم هم‌پوشانی و تداخل دارند (۳). از میان نظریه‌های سالمندی، نظریه رادیکال‌های آزاد، نظریه میتوکندریایی و تغییرات ناشی از سن میتوکندری‌ها، توجه بسیاری از پژوهشگران را به خود جلب کرده است. بسیاری از دانشمندان نشان داده‌اند، رادیکال‌های آزاد، مسئول مستقیم آسیب و نقصی است که در روند پیری سلولی به وجود می‌آید. بیشتر گونه‌های فعال اکسیژن درون سلولی، پیوسته در زنجیره انتقال الکترونی میتوکندری تولید می‌شوند؛ از این رو میگوئل^۱ و همکارانش در سال ۱۹۸۰، نظریه میتوکندریایی رادیکال‌های آزاد را در فرایند سالمندی مطرح کردند.

SIRT3 که فعالیت دی‌استیلازی وابسته به NAD⁺ دارد، پروتئینی است که به‌تازگی نقش آن در سالمندی و به‌ویژه سوخت‌وساز میتوکندریایی مدنظر قرار گرفته است. SIRT3 که بیشترین فعالیت دی‌استیلازی در میتوکندری و بیشترین ارتباط با طول عمر را دارد، خیلی از آنزیم‌های میتوکندریایی درگیر در سوخت‌وساز اسیدهای چرب، اسیدهای آمینه، بتا اکسیداسیون، زنجیره انتقال الکترون و دفاع ضد اکسایشی را دی‌استیله و فعال می‌کند (۴-۷). از آنجاکه تاکنون استیل ترانسفراز میتوکندریایی شناخته نشده است و SIRT3 دی‌استیلاز نیرومندی است، احتمالاً دی‌استیله‌شدن پروتئین‌های میتوکندریایی تحت تأثیر فعالیت این پروتئین است (۸). SIRT3 با توسعه چند بیماری وابسته به

1. Miquel



سالخوردگی همراه است و این پروتئین با توجه به نقش میتوکندری در تولید گونه‌های فعال اکسیژن (۹) می‌تواند پیشرفت تومورها را از راه دی‌استیله کردن سوپراکسید دیسموتاز (SOD)^۱ و ایزوسیترات دهیدروژناز (ICDH)^۲ و افزایش فعالیت ضد اکسایشی این آنزیم‌ها متوقف کند (۹، ۱۰). پژوهشگران به دنبال راهی برای کنترل یا به تعویق انداختن فرایند سالمندی و اختلال‌های وابسته به آن هستند و دانشمندان علوم ورزشی نیز همگام با آن‌ها به دنبال یافتن ابعاد جدیدی از تأثیر فعالیت‌های ورزشی بر این فرایند، در این راه گام بر می‌دارند. این دانشمندان نشان داده‌اند، تغییرات مفید ناشی از فعالیت‌های ورزشی منظم می‌تواند بیماری‌ها و کاهش عملکرد فیزیولوژیک وابسته به سالمندی را کاهش دهد (۱۱، ۱۲)؛ برای مثال، فعالیت‌های ورزشی منظم می‌تواند به بهتر شدن بیماری‌های قلبی-عروقی، دیابت، جلوگیری از کاهش توده عضلانی، افزایش ظرفیت اکسایشی میتوکندریایی، دستگاه دفاع ضد اکسایشی و... کمک کند (۱۱، ۱۳). جانسون^۳ و همکاران در پژوهش خود که بر افراد پیر و جوان انجام شد، گزارش کردند، هشت هفته تمرین استقامتی تنها در افراد جوان که پیش‌تر غیرفعال بوده‌اند، توانست آسیب اکسایشی پروتئین‌های میتوکندریایی را کاهش دهد. همچنین آن‌ها گزارش کردند، بیان پروتئین آنتی‌اکسیدان‌های درون‌زا در افراد مسن، هرچند در مقایسه با افراد جوان کمتر است، هشت هفته تمرین استقامتی فعالیت این آنزیم‌ها یعنی SOD و CAT را در مقایسه با گروه کنترل پیر افزایش می‌دهد (۱۲).

در پژوهش‌های بسیاری نشان داده شده است، تمرین‌های تناوبی خیلی شدید (HIIT)، فواید فیزیولوژیایی را در مقایسه با تمرین‌های تداومی سنتی، در مدت زمان کمتری تأمین می‌کند. همچنین، HIIT برای سالمندان سالم (بیش از هفتاد سال) نه تنها بدون خطر است، بلکه فوایدی مانند هایپرتروفی عضلات چهارسر و بهتر شدن عملکرد قلبی-عروقی و بهبود پروتئین‌های انقباضی و سارکوپلاسمی را نیز به همراه دارد (۱۴)؛ با وجود این، سایر فواید بالقوه‌ای که فعالیت‌های ورزشی تناوبی خیلی شدید می‌توانند در سالمندان به همراه داشته باشند، تاکنون به خوبی درک نشده است. بیشتر پژوهش‌ها در سالمندان از شدت‌های متوسط تمرین‌های ورزشی استفاده کرده‌اند. حجم تمرین، تنها عامل تعیین‌کننده در تجویز فعالیت ورزشی نیست؛ بلکه شدت تمرین یکی از اجزای مهم سازگاری میتوکندری‌ها به فعالیت ورزشی است. تمرین‌های تناوبی خیلی شدید در مقایسه با تمرین‌های با

1. Superoxide Dismutase
2. Isocitrate Dehydrogenase
3. Johnson



شدت متوسط، در تنظیم افزایشی محتوای میتوکندری مؤثرتر عمل می‌کنند (۱۶، ۱۵)؛ با وجود این، تفاوت آثار انواع تمرین‌های ورزشی در نمونه‌های سالمند به خوبی شناخته نشده است. فتحی و همکاران گزارش کردند، هشت هفته تمرین تناوبی خیلی شدید، مقادیر پروتئین SIRT3 را در عضله دوقلوی رت‌های ویستار چاق افزایش می‌دهد (۱۷). اجت^۱ و همکاران گزارش کردند، مقادیر پروتئین SIRT3 پس از شش هفته تمرین تناوبی در عضله افراد جوان تغییر معناداری نداشته، اما مقادیر بیان ژن PGC-1a افزایش معناداری داشته است (۱۸). اورتیز و همکاران نشان دادند، ۱۲ هفته تمرین هوازی با افزایش بیان ژن PGC-1a و SIRT3 در نوجوانان دارای اضافه‌وزن همراه است (۱۹). با توجه به پیشینه پژوهشی، به نظر می‌رسد هنوز مطالعات درباره نقش فعالیت‌های ورزشی گوناگون و پروتئین SIRT3 و رابطه آن با وضعیت اکسایشی و آسیب DNA میتوکندریایی، به‌ویژه در آزمودنی‌های سالمند در ابتدای راه است. از سویی نقش تمرین‌های استقامتی بر عوامل یادشده، بیشتر از دیگر تمرین‌ها و در نمونه‌های جوان بررسی شده است، اما درباره زمان و شدت و اینکه کدام نوع تمرین می‌تواند عوامل یادشده را بیشتر تحت‌تأثیر قرار دهد، اتفاق نظری وجود ندارد. همچنین بخش گسترده مطالعاتی که درباره فعالیت‌های ورزشی و SIRT3 و MnSOD انجام شده است، در جمعیت‌های جوان بوده است و با توجه به نقش مهمی که SIRT3 در تنظیم متابولیسم میتوکندریایی در سالمندی و ارتباط آن با MnSOD دارد، مطالعات خیلی کمی این جمعیت را هدف قرار داده و روش‌های گوناگون تمرینی را مقایسه کرده‌اند.

در پایان، با توجه به اهمیتی که استرس اکسایشی در فرایند سالمندی و احتمالاً اختلال‌های و بیماری‌ها وابسته به آن دارد و همچنین نقش تنظیم‌کنندگی SIRT3 بر این دو عامل، این پژوهش قصد دارد به این سؤال پاسخ دهد که آیا تمرین فعالیت ورزشی بر مقادیر SIRT3 عضله دوقلوی رت‌های پیر تأثیر دارد؟ آیا بین نوع تمرین ورزشی تفاوت وجود دارد؟

روش پژوهش

در پژوهش حاضر، ۱۵ سر رت ماده سالمند نژاد ویستار با سن ۱۸ ماه (۲۱، ۲۰) با وزن $281 \pm 17/34$ گرم از مرکز حیوانات دانشگاه بقیه‌الله اعظم (عج) تهیه شد. تعداد سه سر رت در هر قفس با دسترسی آزاد به آب و غذا و در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد با چرخه ۱۲/۱۲ ساعت روشنایی/تاریکی در آزمایشگاه حیوانات دانشکده تربیت‌بدنی و علوم ورزشی دانشگاه تهران نگهداری شد. رت‌ها پس از یک

1. Edget



هفته آشناسازی با محیط و نوارگردان، در سه گروه تمرین تناوبی خیلی شدید (HIIT)، تمرین تداومی (CT) و کنترل (C) به تعداد پنج رت در هر گروه تقسیم شدند. همه فرایندها با توجه به دستورالعمل کار با حیوانات آزمایشگاهی و با تأیید کمیته اخلاق دانشکده تربیت‌بدنی دانشگاه تهران انجام شد (IR.UT.SPORT.REC.1397.021).

پروتکل ارزیابی سرعت بیشینه: حداکثر سرعت دویدن رت‌ها با هدف طراحی پروتکل تمرین با توجه به درصدی از حداکثر سرعت دویدن (حداکثر اکسیژن مصرفی) و با استفاده از پژوهش هویدال^۱ و همکاران ارزیابی شد (۲۲). به‌طور خلاصه، رت‌ها در ابتدا به مدت پنج دقیقه با سرعت ۱۰ متر در دقیقه روی نوارگردان با شیب ۱۰ درجه گرم کردند. سپس هر دو دقیقه، دو متر بر ثانیه بر سرعت نوارگردان افزوده می‌شد، تا وقتی که رت‌ها توانایی دویدن با اعمال تحریک مکانیکی نداشتند (استفاده از خط‌کش برای وادار کردن رت‌ها به دویدن). آن سرعت به‌عنوان حداکثر سرعت دویدن رت‌ها در نظر گرفته شد. سپس با توجه به رابطه زیر، حداکثر اکسیژن مصرفی رت‌ها محاسبه شد (۲۲):

$$VO_{2max} = 160 \times \frac{Speed_{max}}{60} - 1$$

گفتنی است، این پروتکل به‌منظور اعمال شدت تمرین براساس اصل اضافه‌بار، هر چهار هفته اجرا شد و مقادیر جدید مبنای کار قرار گرفت.

تمرین تناوبی خیلی شدید: جدول شماره یک پروتکل تمرین تناوبی خیلی شدید را پس از سه دقیقه گرم کردن، با ۴۵-۵۰ درصد VO_{2max} نشان می‌دهد که با الهام‌گرفتن از مطالعات گوناگون طراحی شد (۲۳، ۲۴). در این پژوهش تناوب‌های دویدن و استراحت فعال با نسبت ۱:۱ و با مدت‌زمان دو دقیقه در نظر گرفته شد. مطالعه هویدال و همکاران نشان می‌دهد ارتباط قوی بین سرعت دویدن روی نوارگردان و VO_{2max} رت‌ها وجود دارد ($r=0.98-0.94$)؛ از این رو با استفاده از سرعت دویدن، درصدی از VO_{2max} برآورد شد (۲۲).

1. Hoydal



جدول ۱- پروتکل تمرین تناوبی خیلی شدید

Table 1-High intensity interval training protocol

زمان (دقیقه) Time (min)	شیب (درجه) Slope (degree)	شدت استراحت فعال (Vo2max درصد) Active rest intensity	شدت تمرین (درصد) (Vo2max Training intensity	هفته Week
19	10	4*45-50 %	4*85-90 %	.۱
19	10	4*45-50 %	4*85-90 %	.۲
23	10	5*45-50 %	5*85-90 %	.۳
23	10	5*45-50 %	5*85-90 %	.۴
23	10	5*45-50 %	5*85-90 %	.۵
27	10	6*45-50 %	6*85-90 %	.۶
27	10	6*45-50 %	6*85-90 %	.۷
27	10	6*45-50 %	6*85-90 %	.۸
31	10	7*45-50 %	7*85-90 %	.۹
31	10	7*45-50 %	7*85-90 %	.۱۰
31	10	7*45-50 %	7*85-90 %	.۱۱
31	10	7*45-50 %	7*85-90 %	.۱۲

تمرین تداومی: پروتکل تمرین تداومی که با توجه به مقاله کاظم حسین و همکاران طراحی شده (۲۵)، در جدول شماره دو گزارش شده است.

جدول ۲- پروتکل تمرین تداومی

Table 2- Continues training protocol

مدت زمان (دقیقه) Time (min)	شیب نوار (درجه) Slope (degree)	شدت (درصد VO2max) Intensity (% Vo2max)	هفته Week
30	10	65-70	.۱
30	10	65-70	.۲
45	10	65-70	.۳
45	10	65-70	.۴
45	10	65-70	.۵
50	10	65-70	.۶



ادامه جدول ۳- پروتکل تمرین تداومی

Table 2- Continues training protocol

مدت زمان (دقیقه)	شیب نوار (درجه)	شدت (درصد VO2max)	هفته
Time (min)	Slope (degree)	Intensity (% Vo2max)	Week
50	10	65-70	.۷
60	10	65-70	.۸
60	10	65-70	.۹
60	10	65-70	.۱۰
60	10	65-70	.۱۱
60	10	65-70	.۱۲

نمونه برداری: پس از بیهوشی رت‌ها با ترکیبی از کتامین و زایلازین، با استفاده از تیغ جراحی و قیچی، عضله دو قلو جدا شد و با سرم شست‌وشو داده شد. سپس بافت‌های چربی و بافت‌های تاندونی مشاهده‌شده از عضله جدا شد. بافت عضله دو قلو درون میکروتیوب ۱۵ul قرار داده شد و به‌طور مستقیم به تانک ازت (نیتروژن مایع) انتقال یافت. پس از نمونه برداری از همه رت‌ها، میکروتیوب‌های حاوی بافت به فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد انتقال داده شد.

سنجش مقادیر SIRT3: مقادیر پروتئین SIRT3 عضله دو قلو با استفاده از روش وسترن بلات سنجیده شد. به‌طور خلاصه، مقادیر پروتئین تام هر نمونه با استفاده از روش BCA سنجیده شد و مقدار مساوی پروتئین از هر نمونه در هر چاهک ژل SDS-PAGE ۱۲ درصد بارگذاری شد. پس از مرحله الکتروفورز، ژل به کاغذ PVDF انتقال داده شد و به مدت یک ساعت در محلول بلاکینگ انکوبه شد. سپس PVDF به مدت یک شبانه‌روز در محلول آنتی‌بادی اولیه (#ab189860 Anti-SIRT3 antibody) قرار داده شد. پس از شست‌وشو، PVDF در محلول آنتی‌بادی ثانویه (#ab6721 Goat Anti-Rabbit) به مدت یک ساعت انکوبه شد. از آنتی‌بادی بتا‌کتین (# ab8226) به عنوان کنترل استفاده شد و در پایان پس از ظهور عکس، با برنامه Image J ارزیابی شد.

سنجش مقادیر آنزیم سوپراکسید دیسموتاز: فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD) با روش رنگ‌سنجی آنزیمی سنجیده شد. بافت‌ها در ابتدا با PBS شست‌وشو داده شدند و سپس در محلول ۱۵۰ میلی مولار KCL و در دمای چهار درجه سانتی‌گراد هموزن شدند. پس از پنج دقیقه سانتریفیوژ در دمای چهار درجه و سرعت ۱۴۰۰۰g، از مایع رویی برای سنجش فعالیت SOD استفاده شد و



سایر مراحل با توجه به دستورالعمل کیت الایزا ویژه سنجش SOD (طب پژوهان رازی-ایران) انجام شد. در نهایت، میزان حضور آنزیم SOD در طول موج ۴۶۰ نانومتر خوانده شد. در این پژوهش، طبیعی بودن توزیع داده‌ها با استفاده از آزمون شاپیرو-ویلک بررسی شد. برای مقایسه مقادیر SIRT3 و سوپراکسیددیسموتاز از آزمون تحلیل واریانس یک-طرفه و آزمون تعقیبی توکی در سطح معناداری $P < 0.05$ استفاده شد. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها نرم‌افزارهای SPSS نسخه ۲۱ و اکسل نسخه ۲۰۱۶ به کار رفت.

نتایج

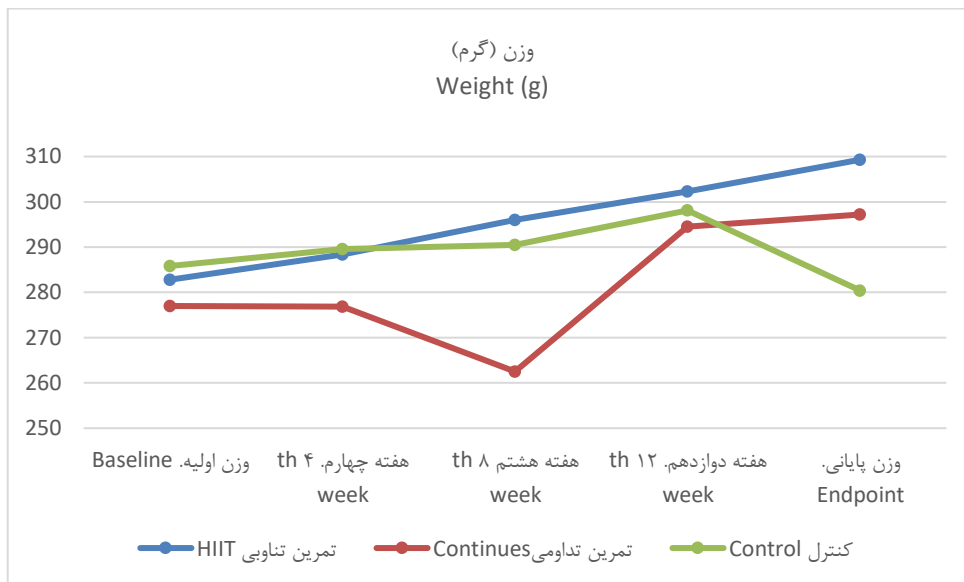
جدول شماره سه میانگین وزن نمونه‌ها و جدول شماره چهار تغییرات حداکثر سرعت دویدن آن‌ها را در طول ۱۲ هفته مداخله فعالیت ورزشی نشان می‌دهد.

جدول ۴- تغییرات وزنی گروه‌های مطالعه شده (میانگین \pm انحراف معیار)

Table 3- Weight trend in different group of study (mean \pm SD)

کنترل Control	تداومی Continues	تناوبی خیلی شدید HIIT	گروه Group
285.8 \pm 20.2	277 \pm 17.1	282.8 \pm 17.31	وزن اولیه (گرم) Baseline weight (g)
289.5 \pm 25.8	276 \pm 18.2	288.3 \pm 27.7	هفته چهارم (گرم) 4th week (g)
290.4 \pm 21.25	262.5 \pm 31.6	295.9 \pm 25.2	هفته هشتم (گرم) 8th week (g)
298.1 \pm 25	294.5 \pm 11.9	302.3 \pm 11.8	هفته دوازدهم (گرم) 12th week (g)
280.4 \pm 22	297.2 \pm 13.6	309.3 \pm 13.3	وزن پایانی (گرم) Endpoint weight (g)





شکل ۱- روند تغییرات وزن گروه‌های پژوهش طی ۱۲ هفته مطالعه (مقادیر بر حسب میانگین)
 Figure 1- Weight trend of study group during 12 weeks of intervention (mean)

جدول ۵- تغییرات حداکثر سرعت دویدن گروه‌های مطالعه‌شده (میانگین ± انحراف معیار)

Table 4- Maximum speed trend in study groups (mean±SD)

گروه	تناوبی خیلی شدید	تداومی	کنترل
Group	HIIT	Continues	Control
سرعت اولیه (متر در دقیقه) Baseline speed (m/min)	19.2±1.7	20.4±1.6	18.8±1
هفته چهارم (متر در دقیقه) 4 th week (m/min)	23.6±1.6	24.4±1.6	20±2
هفته هشتم (متر در دقیقه) 8 th week (m/min)	28±2	25.6±2.1	20.8±1.7
هفته دوازدهم (متر در دقیقه) 12 th week (m/min)	30.4±2.6	31.6±2.1	20.4±1.6

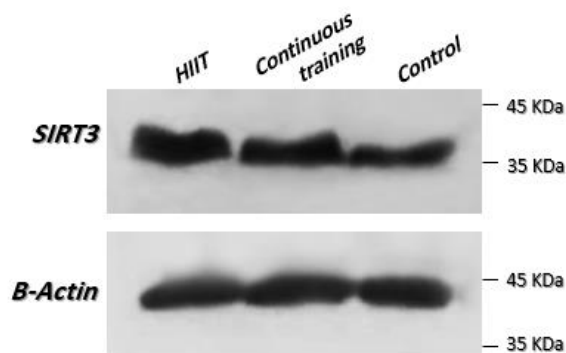


جدول ۶- تغییرات اکسیژن مصرفی بیشینه گروه‌های مطالعه‌شده در طول ۱۲ هفته تمرین (مقادیر بر حسب میانگین و انحراف معیار)

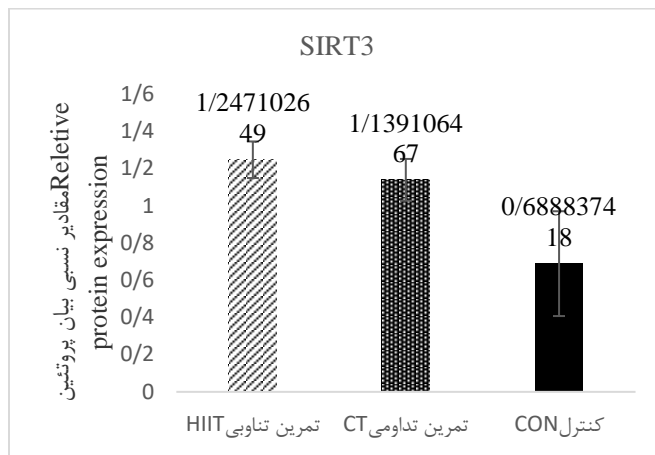
Table 5- VO₂max trend in study group during 12 weeks of intervention (mean±SD)

کنترل Control	تداومی Continues	تناوبی خیلی شدید HIIT	گروه Group
49.44±2.93	53.74±4.49	50.2±4.8	اکسیژن مصرفی بیشینه اولیه (میلی‌لیتر بر کیلوگرم بر دقیقه) Baseline VO ₂ max (ml.kg ⁻¹ .min ⁻¹)
52.66±5.36	63.84±4.49	62.39±4.49	هفته چهارم (میلی‌لیتر بر کیلوگرم بر دقیقه) 4 th week VO ₂ max (ml.kg ⁻¹ .min ⁻¹)
84.81±4.80	73±5.87	74.13±5.36	هفته هشتم (میلی‌لیتر بر کیلوگرم بر دقیقه) 8 th week VO ₂ max (ml.kg ⁻¹ .min ⁻¹)
53.74±4.49	83.79±8.87	80.57±6.99	هفته دوازدهم (میلی‌لیتر بر کیلوگرم بر دقیقه) 12 th week VO ₂ max (ml.kg ⁻¹ .min ⁻¹)

نتایج آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه مقادیر SIRT3، تفاوت معناداری را بین گروه‌های پژوهش نشان داد (P=0.001). نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد، این تفاوت بین گروه‌های HIIT و کنترل (P=0.001) و CT و کنترل (P=0.006) معنادار بود؛ با وجود این، تفاوت معناداری بین گروه‌های HIIT و CT مشاهده نشد (P=0.641). شکل شماره یک نمونه‌ای از باندهای وسترن بلات و شکل شماره دو نمودار مقادیر SIRT3 در گروه‌های پژوهش را نشان می‌دهند.



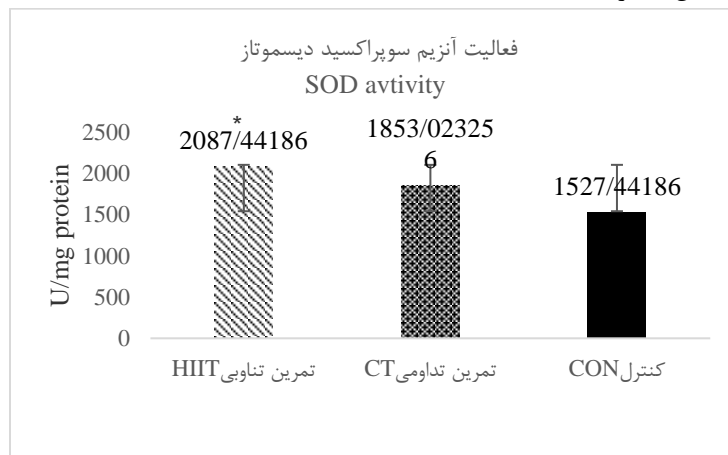
شکل ۲- نمونه باندهای وسترن بلات گروه‌های پژوهش
Figure 2- Representative Western blot of study



شکل ۳- مقادیر پروتئین SIRT3 عضله دوقلو در گروه‌های پژوهش

Figure 3- SIRT3 protein concentration of Gastrocnemius muscle in study groups

همچنین نتایج آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه فعالیت آنزیم SOD، تفاوت معناداری را بین گروه‌های پژوهش نشان داد ($P=0.038$)، نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد، این تفاوت تنها بین گروه HIIT و کنترل معنادار بود ($P=0.031$) و بین گروه‌های HIIT و CT ($P=0.461$) و CT و کنترل ($P=0.244$) معنادار نبود (شکل شماره سه).



شکل ۴- فعالیت آنزیم SOD عضله دوقلو در گروه‌های پژوهش

Figure 4- SOD activity of gastrocnemius muscle of study groups

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج مطالعه حاضر نشان می‌دهد، ۱۲ هفته هم تمرین ورزشی تداومی و هم تمرین تناوبی خیلی شدید باعث افزایش معنادار مقدار پروتئین SIRT3 در عضله دوقلو می‌شود. تغییرات منفی در بیان پروتئین‌های میتوکندریایی، متابولسیم پروتئین عضله اسکلتی و ظرفیت ضداکسایشی آن، یکی از دلایل اصلی پیری سلولی و فرایند سالمندی در نظر گرفته می‌شود. تغییر ترکیب بدن یکی از پیامدهای افزایش سن است که با افزایش بافت چربی و کاهش توده عضلانی همراه است. پژوهش‌های زیادی نشان می‌دهند که فعالیت‌های ورزشی، از آتروفی عضله اسکلتی ناشی از سن که آن را سارکوپنی می‌نامند، جلوگیری می‌کند یا دست‌کم آن را کند می‌کند. در پژوهش حاضر، تفاوت معناداری در وزن رت‌ها بین گروه‌های HIIT و CT مشاهده نشد، اما این تفاوت هنگام مقایسه با گروه کنترل معنادار بود (۲۶، ۲۷). با نگاهی دقیق‌تر به نمودار تغییر وزن گروه‌ها می‌توان دریافت که تمرین ورزشی نه تنها از کاهش وزن رت‌ها جلوگیری کرده، بلکه باعث افزایش وزن در مقایسه با ابتدای مداخله نیز شده است. دلایل احتمالی که فعالیت ورزشی می‌تواند در این مسیر سودمند باشد، عبارت‌اند از: افزایش متابولسیم پروتئین، افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی (نشان داده شده است که افزایش رادیکال‌های آزاد به سارکوپنی منجر می‌شود (۲۷))، افزایش کیفیت و کمیت میتوکندری‌ها، بهتر کردن فرایند اتوفاژی، افزایش خون‌رسانی، ترشح عوامل تروفیکی عصبی و عضلانی و

نشان داده شده است، محتوای پروتئین و بیان SIRT3 که قوی‌ترین دی‌استیلاز میتوکندریایی شناخته می‌شود، با افزایش سن کاهش می‌یابد که پیامد آن افزایش ROS میتوکندریایی است (۲۸). تمرین فعالیت ورزشی هوازی به افزایش بیان SIRT3 منجر می‌شود که نشان داده شده است این افزایش در تارهای کند در مقایسه با تارهای تند زیادتر است (۲۹). نتایج پژوهش حاضر با پژوهش‌های اجت و همکاران (۱۸)، وارگاس اورتیز^۱ و همکاران (۱۹، ۳۰) همسوست. نشان داده شده است، تنظیم SIRT3 از سوی محور AMPK انجام می‌شود (۲۹). مطالعات گوناگونی نقش فعالیت‌های ورزشی تناوبی شدید و تداومی را بر مسیر پیام‌رسانی AMPK بررسی کرده و گزارش کرده‌اند که AMPK در جرح و تعدیل متابولسیم میتوکندریایی نقش مهمی دارد (۳۱، ۳۲). سازوکارهای اصلی افزایش SIRT3 در اثر تمرین فعالیت ورزشی کاملاً معلوم نیست. پالاکیوس^۲ و همکاران گزارش کردند، تنظیم افزایشی SIRT3 که پس از فعالیت ورزشی مشاهده می‌شود، با فسفوریلاسیون پاسخ عامل پیوندی به cAMP (CERB) و

1. Vargas-Ortiz
2. Palacios



PGC-1 α همبستگی دارد (۲۹). از سوی دیگر، به خوبی معلوم شده است که SIRT3 در بافت‌هایی که از نظر متابولیسمی فعال‌اند، نقش تنظیم‌کنندگی خیلی مهمی دارد (۳۳). واسیلوپولوس^۱ و همکاران گزارش کردند، در پاسخ به استرس فعالیت ورزشی و تغذیه، SIRT3 باعث دی‌استیله شدن کمپلکس پروتئینی F1 در ATP سنتتاز می‌شود (۳۴)؛ بنابراین شاید بتوان گفت افزایش نیاز انرژی و استرس متابولیسمی در میتوکندری‌ها، دلیلی بر افزایش پروتئین SIRT3 در میتوکندری‌هاست؛ از این رو می‌توان گفت، افزایش ظرفیت فعالیت ورزشی که در حداکثر اکسیژن مصرفی و حداکثر سرعت دویدن رت‌ها نمود می‌یابد و در این پژوهش مشاهده شد، در افزایش فعالیت کمپلکس ATP سنتتاز، افزایش بیان ژن PGC-1 α و افزایش تعداد و محتوای آنزیمی میتوکندری‌ها ریشه داشته است؛ با وجود این، دلایل دیگری نیز برای افزایش VO₂max و حداکثر سرعت دویدن رت‌ها ناشی از فعالیت ورزشی گزارش شده است که عبارت‌اند از: افزایش خون‌رسانی به عضلات فعال ناشی از بهتر شدن برون‌ده قلبی و افزایش بستر مویرگی عضلات فعال، افزایش فعالیت آنزیم‌های درگیر در متابولیسم چربی و کربوهیدرات، افزایش آستانه لاکتات.

از سوی دیگر، از آنجاکه فعالیت‌های ورزشی هوازی محرک قوی مسیر AMPK است، افزایش SIRT3 ناشی از آن دور از ذهن نیست؛ با وجود این، برای تعیین چگونگی افزایش SIRT3 در اثر فعالیت‌های ورزشی به انجام مطالعات زیادتری نیاز است. همان‌طور که گفته شد، محتوای پروتئین و بیان ژن SIRT3 در بافت‌هایی که از نظر متابولیسمی فعال‌ترند، زیادتر است (۲۸). در عضله اسکلتی به‌عنوان یک بافت با نیازهای متابولیسمی زیاد، ROS زیادتری نیز از سوی میتوکندری تولید می‌شود. در این شرایط، SIRT3 می‌تواند با دی‌استیله کردن SOD میتوکندریایی، آن را فعال کرده و به دستگاه ضداکسایشی کمک کند. همچنین نشان داده شده است SIRT3 از مسیر FOXO3 نیز باعث افزایش رونویسی ژن SOD می‌شود؛ بنابراین افزایش مقادیر پروتئین SIRT3 می‌تواند با افزایش فعالیت SOD میتوکندریایی همراه باشد که به کاهش استرس اکسایشی منجر می‌شود؛ با وجود این، نتایج مطالعه حاضر نشان داد، فقط تمرین تناوبی خیلی شدید باعث افزایش معنادار فعالیت SOD شده است. هرچند فعالیت SOD در گروه تمرین تداومی در مقایسه با گروه کنترل تقریباً ۲۱ درصد زیادتر است، این تفاوت از نظر آماری معنادار نبود. این نتایج با یافته‌های گوناگونی در مدل‌های حیوانی پیر همسو است (۳۵-۳۸). سازوکار روشنی برای توجیه اثربخشی زیادتر HIIT بر SOD ارائه نشده است، اما شاید بتوان دلیل آن را افزایش زیادتر پروتئین‌های حساس به وضعیت ردوکس در مسیرهای پیام‌رسانی

1. Vassilopoulos



ناشی از تولید زیاده‌تر ROS دانست (۳۹). در واقع، از آنجاکه میزان تولید ROS در عضله به شدت فعالیت ورزشی بستگی دارد، ممکن است هر وهله خیلی شدید HIIT به تولید زیاده‌تر H_2O_2 و در نتیجه به برتری زیاده‌تر دفاع ضد اکسایشی عضله منجر شود (۴۰)؛ برعکس، در طول تمرین تداومی، محتوای H_2O_2 می‌تواند خیلی ساده‌تر کنترل شود. این فرضیه با یافته‌هایی حمایت می‌شود که نشان می‌دهند فعالیت ورزشی تناوبی - که به سوخت‌وسازی بیشتری نیاز دارد - در مقایسه با تمرین تداومی باعث افزایش زیاده‌تری در مسیرهای پیام‌رسانی ردوکس می‌شود (۴۱).

از طرفی، در بخش دیگری از این پژوهش، تأثیر زیاده‌تر HIIT در مقایسه با CT بر محتوای پروتئین Tfam و PGC-1 α گزارش شد (۴۲). نشان داده شده است، ظرفیت تولید انرژی و استفاده از اکسیژن در میتوکندری‌ها با افزایش سن کاهش می‌یابد (۴۳، ۴۴)؛ با وجود این، تمرین ورزشی باعث افزایش ظرفیت اکسایشی عضله اسکلتی می‌شود (۴۵، ۴۶). این سازگاری تاحدودی در افزایش طیف گسترده - ای از پروتئین‌های میتوکندریایی ریشه دارد. مطالعات گوناگونی تأثیر شدت تمرین بر مقدار پروتئین - های میتوکندریایی را گزارش کرده‌اند؛ برای مثال، مک‌اینیس و همکاران تأثیر شدت زیاده‌تر تمرین بر محتوای پروتئین‌های میتوکندریایی را گزارش کردند (۴۷)؛ بنابراین می‌توان افزایش زیاده‌تر SIRT3 و SOD ناشی از تمرین تناوبی خیلی شدید را تاحدودی ناشی از همین امر دانست. از آنجاکه SIRT3 اصلی‌ترین دی‌استیلاز میتوکندریایی است، اندازه‌گیری مقادیر استیله آنزیم‌های هدف SIRT3 می‌تواند در تفسیر بهتر نتایج سودمند باشد؛ البته این امر یکی از اصلی‌ترین محدودیت‌های این پژوهش به شمار می‌رود. همچنین سنجش شاخص‌های پراکسیداسیون لیپید مانند MDA و شاخص‌هایی چون پروتئین کربونیل نیز در تعیین تغییرات دستگاه دفاع ضد اکسایشی سودمند است که در پژوهش حاضر سنجش آن‌ها میسر نبود.

نتایج این مطالعه نشان داد، هم تمرین تداومی و هم تمرین تناوبی خیلی شدید به افزایش مقادیر SIRT3 می‌انجامند؛ با وجود این، فقط تمرین تناوبی خیلی شدید به افزایش معنادار فعالیت آنزیم SOD منجر شد. انجام پژوهش‌های زیاده‌تری برای مؤثرتر دانستن یک روش تمرینی بر سایر روش‌ها نیاز است، ولی با توجه به یافته‌های این پژوهش می‌توان تمرین تناوبی خیلی شدید را برای افزایش SIRT3 و فعالیت SOD در رت‌های سالمند، روشی مؤثرتر و مقرون به صرفه‌تر از نظر زمان در مقایسه با تمرین تداومی دانست.



پیام مقاله**تشکر و قدردانی**

این مقاله، برگرفته از رساله دکتری علی عسگریان، دانشجوی دکتری رشته فیزیولوژی ورزشی در دانشگاه تهران، است.

از همه کسانی که در مراحل گوناگون این کار پژوهشی ما را یاری کردند، صمیمانه قدردانی می‌کنیم.

منابع

1. Flatt T. A new definition of aging? *Front Gene*. 2012;3:148.
2. Vina J, Borrás C, Miquel J. Theories of ageing. *IUBMB Life*. 2007;59(4):249.
3. Romano AD, Serviddio G, de Mattheis A, Bellanti F, Vendemiale G. Oxidative stress and aging. *Journal of Nephrology*. 2009;23:S29-36.
4. Kincaid B, Bossy-Wetzel E. Forever young: SIRT3 a shield against mitochondrial meltdown, aging, and neurodegeneration. *Front Aging Neurosci*. 2013;5:48.
5. Michan S, Sinclair D. Sirtuins in mammals: insights into their biological function. *Biochem J*. 2007;404(1):1-13.
6. Shi T, Wang F, Stieren E, Tong Q. SIRT3, a mitochondrial sirtuin deacetylase, regulates mitochondrial function and thermogenesis in brown adipocytes. *J Biol Chem*. 2005;280(14):13560-7.
7. Ansari A, Rahman M, Saha SK, Saikot FK, Deep A, Kim KH. Function of the SIRT3 mitochondrial deacetylase in cellular physiology, cancer, and neurodegenerative disease. *Aging cell*. 2017;16(1):4-16.
8. Rardin MJ, Newman JC, Held JM, Cusack MP, Sorensen DJ, Li B, et al. Label-free quantitative proteomics of the lysine acetylome in mitochondria identifies substrates of SIRT3 in metabolic pathways. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2013;110(16):6601-6.
9. Vargas-Ortiz K, Perez-Vazquez V, Diaz-Cisneros FJ, Figueroa A, Jiménez-Flores LM, Rodríguez-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. *Pediatr Exerc Sci*. 2015;27(2): .
10. McDonnell E, Peterson BS, Bomze HM, Hirschey MD. SIRT3 regulates progression and development of diseases of aging. *Trends Endocrinol Metab*. 2015;26(9):486-92.
11. Lanza IR, Nair KS. Muscle mitochondrial changes with aging and exercise. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 2009;89(1):467S-71S.
12. Johnson ML, Irving BA, Lanza IR, Vendelbo MH, Konopka AR, Robinson MM, et al. Differential effect of endurance training on mitochondrial protein damage, degradation, and acetylation in the context of aging. *The Journals of Gerontology Series A: Biological Sciences and Medical Sciences*. 2015;70(11):1386-93.



13. Menshikova EV, Ritov VB, Fairfull L, Ferrell RE, Kelley DE, Goodpaster BH. Effects of exercise on mitochondrial content and function in aging human skeletal muscle. *The Journals of Gerontology Series A: Biological Sciences and Medical Sciences*. 2006;61(6):534-40.
14. Seldeen KL, Lasky G, Leiker MM, Pang M, Personius KE, Troen BR. High intensity interval training (HIIT) improves physical performance and frailty in aged mice. *The Journals of Gerontology: Series A*. 2017.
15. MacInnis MJ, Zacharewicz E, Martin BJ, Haikalis ME, Skelly LE, Tarnopolsky MA, et al. Superior mitochondrial adaptations in human skeletal muscle after interval compared to continuous single-leg cycling matched for total work. *The Journal of Physiology*. 2017;595(9):2955-68.
16. Konopka AR, Suer MK, Wolff CA, Harber MP. Markers of human skeletal muscle mitochondrial biogenesis and quality control: effects of age and aerobic exercise training. *Journals of Gerontology Series A: Biomedical Sciences and Medical Sciences*. 2013;69(4):371-8.
17. Fathi I, Nourshahi M, Haghparast A, Fallah HH. Effect Of eight-week aerobic continuous and high intensity interval training on levels of SIRT3 in skeletal muscle tissue of wistar rats. 2015. (In Persian).
18. Edgett BA, Bonafiglia JT, Baechler BL, Quadriatero J, Gurd BJ. The effect of acute and chronic sprint-interval training on LRP 130, SIRT 3, and PGC-1 α expression in human skeletal muscle. *Physiological Reports*. 2016;4(17):e12879.
19. 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.
20. Andreollo NA, Santos EFd, Araújo MR, Lopes LR. Rat's age versus human's age: what is the relationship? *ABCD Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva (São Paulo)*. 2012;25(1):49-51.
21. Sengupta P. The laboratory rat: relating its age with human's. *International Journal of Preventive Medicine*. 2013;4(6):624-30.
22. Høydal MA, Wisløff U, Kemi OJ, Ellingsen Ø. Running speed and maximal oxygen uptake in rats and mice: practical implications for exercise training. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil*. 2007;14(6):753-60.
23. Seldeen KL, Lasky G, Leiker MM, Pang M, Personius KE, Troen BR. High intensity interval training improves physical performance and frailty in aged mice. *The Journals of Gerontology: Series A*. 2018;73(4):429-37.
24. Tayebi SM, Siahkoughian M, Keshavarz M, Yousefi M. The Effects of High-Intensity Interval Training on Skeletal Muscle Morphological Changes and Denervation Gene Expression of Aged Rats. *Montenegrin Journal of Sports Science and Medicine*. 2019;8(2):39-45.
25. Husain K. Physical conditioning modulates rat cardiac vascular endothelial growth factor gene expression in nitric oxide-deficient hypertension. *Biochem Biophys Res Commun*. 2004;320(4):1169-74.



26. Lenk K, Schuler G, Adams V. Skeletal muscle wasting in cachexia and sarcopenia: molecular pathophysiology and impact of exercise training. *Journal of Cachexia, Sarcopenia and Muscle*. 2010;1(1):9-21.
27. Picca A, Calvani R, Leeuwenburgh C, Coelho-Junior HJ, Bernabei R, Landi F, et al. Targeting mitochondrial quality control for treating sarcopenia: lessons from physical exercise. *Expert opinion on Therapeutic Targets*. 2019;23(2):153-60.
28. Brown K, Xie S, Qiu X, Mohrin M, Shin J, Liu Y, et al. SIRT3 reverses aging-associated degeneration. *Cell Reports*. 2013;3(2):319-27.
29. Palacios OM, Carmona JJ, Michan S, Chen KY, Manabe Y, Ward III JL, et al. Diet and exercise signals regulate SIRT3 and activate AMPK and PGC-1 α in skeletal muscle. *Aging (Albany NY)*. 2009;1(9):771-83.
30. 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. *European Journal of Sport Science*. 2018;18(2):226-34.
31. Herzig S, Shaw RJ. AMPK: guardian of metabolism and mitochondrial homeostasis. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. 2018;19(2):121-35.
32. O'Neill HM, Holloway GP, Steinberg GR. AMPK regulation of fatty acid metabolism and mitochondrial biogenesis: implications for obesity. *Molecular and Cellular Endocrinology*. 2013;366(2):135-51.
33. Finley LW, Haigis MC. Metabolic regulation by SIRT3: implications for tumorigenesis. *Trends Mol Med*. 2012;18(9):516-23.
34. Vassilopoulos A, Pennington JD, Andresson T, Rees DM, Bosley AD, Fearnley IM, et al. SIRT3 deacetylates ATP synthase F1 complex proteins in response to nutrient- and exercise-induced stress. *Antioxidants & Redox Signaling*. 2014;21(4):551-64.
35. Baba T, Shimizu T, Suzuki Y-i, Ogawara M, Isono K-i, Koseki H, et al. Estrogen, insulin, and dietary signals cooperatively regulate longevity signals to enhance resistance to oxidative stress in mice. *Journal of Biological Chemistry*. 2005;280(16):16417-26.
36. Taguchi A, Wartschow LM, White MF. Brain IRS2 signaling coordinates life span and nutrient homeostasis. *Science*. 2007;317(5836):369-72.
37. Qiu X, Brown K, Hirschey MD, Verdin E, Chen D. Calorie restriction reduces oxidative stress by SIRT3-mediated SOD2 activation. *Cell Metabolism*. 2010;12(6):662-7.
38. Groussard C, Maillard F, Vazeille E, Barnich N, Sirvent P, Otero YF, et al. Tissue-specific oxidative stress modulation by exercise: a comparison between MICT and HIIT in an obese rat model. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2019;2019:1-11.
39. Gomez-Cabrera MC, Viña J, Ji LL. Role of redox signaling and inflammation in skeletal muscle adaptations to training. *Antioxidants*. 2016;5(4):48.
40. Powers SK, Radak Z, Ji LL. Exercise-induced oxidative stress: past, present and future. *The Journal of Physiology*. 2016;594(18):5081-92.



41. Combes A, Dekerle J, Webborn N, Watt P, Bougault V, Daussin FN. Exercise-induced metabolic fluctuations influence AMPK, p38-MAPK and Ca MKII phosphorylation in human skeletal muscle. *Physiological Reports*. 2015;3(9):e12462.
42. Bakhtiyari A, Gaeini A, Choubine S, Kordi M, Hedayati M. The comparison of the influence of 12-week high- intensity interval training and continuous moderate intensity training on PGC-1 α and Tfam mitochondrial proteins expressions in gastrocnemius muscle of elderly rats. *Journal of Animal Biology*. 2020;11(4):11-20. (In Persian).
43. Chistiakov DA, Sobenin IA, Revin VV, Orekhov AN, Bobryshev YV. Mitochondrial aging and age-related dysfunction of mitochondria. *BioMed Research International*. 2014;2014:1-7.
44. Cui H, Kong Y, Zhang H. Oxidative stress, mitochondrial dysfunction, and aging. *Journal of Signal Transduction*. 2012;2012:646354.
45. Toledo FG, Goodpaster BH. The role of weight loss and exercise in correcting skeletal muscle mitochondrial abnormalities in obesity, diabetes and aging. *Molecular and Cellular Endocrinology*. 2013;379(1-2):30-4.
46. Joseph AM, Adhietty PJ, Leeuwenburgh C. Beneficial effects of exercise on age-related mitochondrial dysfunction and oxidative stress in skeletal muscle. *The Journal of Physiology*. 2016;594(18):5105-23.
47. MacInnis MJ, Gibala MJ. Physiological adaptations to interval training and the role of exercise intensity. *The Journal of Physiology*. 2017;595(9):2915-30

استناد به مقاله

افشون پور محمدطاهر، ملانوری شمسی مهدیه، سعودی سارا، سلیمان جاهی حوریه، قرخانلو رضا. تأثیر یک دوره کوتاه مدت فعالیت ورزشی برون گرای استقامتی بر سلول های کمک کننده T به دنبال تزریق DNA واکسن بیان کننده گلیکوپروتئین D ویروس هرپس سیمپلکس تیپ یک. فیزیولوژی ورزشی. پاییز ۱۴۰۱؛ ۱۴(۵۵): ۷۰-۴۹. شناسه دیجیتال: 10.22089/SPJ.2020.9044.2040

M. T. Afshounpour, M. Molanouri Shamsi, S. Soudi, H. Soleimanjahi, R. Gharakhanlou. The Effect of Short-term Eccentric Endurance Exercise on T-Helper Cells Following Injection of Herpes Simplex Virus Type 1 Glycoprotein D DNA Vaccine. *Fall 2022; 14(55): 49-70. (In Persian).* Doi: 10.22089/SPJ.2020.9044.2040

