

# The Effect of Six-Week HIIT Swimming Exercise and Resveratrol Supplementation on the Level of SIRT3 in Frontal Lobe of Aged rats

Amin Mehrabi<sup>1,2</sup>, Abbasali Gaeini<sup>3</sup>, Reza Nouri<sup>1\*</sup>, Farhad Daryanoosh<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Department of Sport Sciences, Kish International Campus, University of Tehran, Kish, Iran

<sup>2</sup>Neuroscience Research Center, Institute of Neuropharmacology, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran

<sup>3</sup>Department of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education, University of Tehran, Tehran, Iran

<sup>4</sup>Department of Exercise Physiology, Faculty of Educational Sciences and Psychology, Shiraz University, Shiraz, Iran

## Article Info:

Received: 15 Aug 2020

Revised: 10 Nov 2020

Accepted: 15 May 2021

## ABSTRACT

**Introduction:** Mitochondrial disorders play an essential role in reducing the health, infestation, and progression of aging. The SIRT3 in mitochondria coordinates many mitochondrial biological aspects that are important in aging. Moreover, it alters directly the activity of many metabolic enzymes. Exercise has been able to enhance SIRT3 protein's expression and improve antioxidant function and neuroprotection. Resveratrol acts as a modulator of SIRT3 and has anti-aging and neuroprotective effects. The aim of this study was to determine the effect of HIIT swimming activity and resveratrol supplementation on SIRT3 levels in the frontal lobe among older rats. **Materials and Methods:** Thirty rats were randomly divided into 5 groups; control (C), solvent (S), supplement (R), HIIT exercise (EX), HIIT exercise, and supplement (EXR)). The EX group performed HIIT swimming training for six weeks. Group C rats did not practice. Group R rats received only resveratrol supplementation. Rats in the EXR group performed HIIT swimming exercises with resveratrol. Group S received the only solvent. The SIRT3 protein levels were assessed frontal lobe of the rats. **Results:** A significant increase in SIRT3 protein was observed in group R, EX, and EXR groups compared to the control group. In addition, there was a substantial difference between the mean values of SIRT3 protein among the three groups. SIRT3 levels in the EX and EXR groups were significantly greater compared to the R group. **Conclusion:** Increasing the amount of SIRT3 in the response of HIIT swimming training in older rats indicating the involvement of this protein in metabolic pathways, antioxidant defense, and neuroprotection. In addition to metabolic tissues, this process occurs in the frontal lobe of the brain.

## Keywords:

1. Resveratrol
2. Swimming
3. Aging

\*Corresponding Author: Reza Nouri

Email: [nuri\\_r7@ut.ac.ir](mailto:nuri_r7@ut.ac.ir)

## تأثیر شش هفته فعالیت ورزشی HIIT شنا و رزوراترول بر میزان SIRT3 در لوب پیشانی مغز موش‌های صحرائی پیر

امین مهربانی<sup>۱،۲</sup>، عباسعلی گائینی<sup>۳</sup>، رضا نوری<sup>۱\*</sup>، فرهاد دریانوش<sup>۴</sup>

<sup>۱</sup> گروه علوم ورزشی، پردیس کیش، دانشگاه تهران، کیش، ایران  
<sup>۲</sup> مرکز تحقیقات علوم اعصاب، پژوهشگاه نوروفارماکولوژی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان، ایران  
<sup>۳</sup> گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی، دانشگاه تهران، تهران، ایران  
<sup>۴</sup> گروه فیزیولوژی ورزش، دانشکده علوم تربیتی و روانشناسی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران

## اطلاعات مقاله:

پذیرش: ۲۵ اردیبهشت ۱۴۰۰

اصلاحیه: ۲۰ آبان ۱۳۹۹

دریافت: ۲۵ مرداد ۱۳۹۹

## چکیده

**مقدمه:** اختلال میتوکندریایی، در کاهش تندرستی، شروع و پیشرفت روند پیری نقش دارد. SIRT3 در میتوکندری، بسیاری از وجوه زیستی میتوکندریایی که در فرآیند پیری اهمیت دارند، را هماهنگ می‌کند و مستقیم فعالیت بسیاری از آنزیم‌های متابولیکی را تغییر می‌دهد. فعالیت ورزشی می‌تواند بیان پروتئین SIRT3 را افزایش و عملکرد دستگاه آنتی‌اکسیدانی و حفاظت نوروئی را بهبود دهد. همچنین رزوراترول به‌عنوان تعدیل‌کننده SIRT3، آثار ضد پیری و محافظت نوروئی دارد. هدف از پژوهش حاضر تعیین اثر فعالیت ورزشی HIIT شنا و مکمل رزوراترول بر میزان SIRT3 در لوب پیشانی مغز موش‌های صحرائی پیر می‌باشد. **مواد و روش‌ها:** ۳۰ سر موش صحرائی تصادفی به ۵ گروه (کنترل (C)، حلال (S)، مکمل (R)، تمرین HIIT (EX) و تمرین HIIT و مکمل (EXR)) تقسیم شدند. موش‌های صحرائی گروه EX، تمرین HIIT شنا را به مدت شش هفته انجام دادند. موش‌های صحرائی گروه C، تمرین نمی‌کردند. موش‌های صحرائی گروه R، فقط مکمل رزوراترول دریافت کردند. موش‌های صحرائی گروه EXR، تمرین HIIT شنا را همراه با دریافت رزوراترول انجام دادند. گروه S فقط حلال دریافت کردند. لوب پیشانی موش‌های صحرائی جدا شد و به روش وسترن بلات میزان پروتئین SIRT3 به دست آمد. **یافته‌ها:** افزایش معنی‌دار مقدار پروتئین SIRT3 در گروه EX و EXR در مقایسه با گروه کنترل مشاهده شد. علاوه بر این تفاوت معنی‌داری بین میانگین پروتئین SIRT3 بین سه گروه وجود داشت. همچنین مقدار پروتئین SIRT3 در گروه‌های EX و EXR در مقایسه با گروه R افزایش معنی‌داری داشته است. **نتیجه‌گیری:** افزایش SIRT3 به‌عنوان پروتئینی کلیدی در پاسخ به تمرین HIIT شنا در موش‌های صحرائی پیر، نشان‌دهنده دخیل بودن این پروتئین در مسیرهای سوخت و سازی، دفاع آنتی‌اکسیدانی و حفاظت نوروئی است و نه تنها در بافت‌های متابولیکی مثل عضله، بلکه در لوب پیشانی نیز به فعالیت ورزشی پاسخ می‌دهد.

## واژه‌های کلیدی:

- ۱- رزوراترول
- ۲- شنا
- ۳- پیری

\*نویسنده مسئول: رضا نوری

پست الکترونیک: nuri\_r7@ut.ac.ir

## مقدمه

فرآیند پیری، پدیده پیچیده‌ای است که با کاهش تدریجی عملکرد فیزیولوژیایی و افزایش مرگ و میر همراه است که اغلب بر اثر بسیاری از بیماری‌های پاتولوژیایی رخ می‌دهد (۱). به‌علاوه، فرآیند پیری عامل خطر اصلی در تحلیل نورونی وابسته به سن به شمار می‌رود (۲). از سوی دیگر، اختلال میتوکندریایی به شدت در روند پیری نقش دارد (۳). بسیاری از مطالعات نشان می‌دهند هر گونه اختلال در یکپارچگی میتوکندریایی به شروع و پیشرفت بسیاری از مشکلات سلامتی از جمله عصبی عضلانی، سوخت و سازی و بیماری‌های قلبی عروقی منجر می‌شود (۹-۴). لذا احتمالاً پیری مسئله جدی و پیش روی جوامع انسانی و از این منظر بررسی مسائل مربوط به این دوره از زندگی اهمیت ویژه‌ای پیدا می‌کند. از طرف دیگر، سیرتوین‌ها، آنزیم‌های وابسته به  $NAD^+$  هستند که هنگام تکامل، بدون هیچ تغییری از باکتری‌ها به انسان‌ها انتقال یافته‌اند (۱۰). در بدن پستانداران، هفت آنزیم سیرتوینی (SIRT1-7) وجود دارد. هر چند دامنه هسته کاتالیتیکی حاوی باقی‌مانده‌های اسید آمینه‌ای در سرتاسر تکامل بدون تغییر باقی مانده‌اند، اما نواحی انتهایی آمینی و کربوکسیلی از لحاظ ساختاری فرق دارند و به تفاوت‌های موجود در محل قرارگیری درون سلولی فعالیت آنزیمی و اختصاصی سوسترا کمک می‌کنند (۱۱). از آن جایی که سه سیرتوین میتوکندریایی (SIRT3، SIRT4 و SIRT5) در ماتریکس میتوکندریایی قرار دارند، بنابراین، این آنزیم‌ها در مرکز سوخت و سازی سلول‌ها قرار گرفته‌اند. قرارگیری SIRT3-5 در ماتریکس میتوکندریایی باعث می‌شود این سیرتوین‌ها به طور مستقیم فعالیت بسیاری از آنزیم‌های متابولیکی را تغییر دهند. در این اندامک، سیرتوین‌ها بسیاری از وجوه زیستی میتوکندریایی را که در فرآیند پیری و بیماری‌ها اهمیت دارند، هماهنگ می‌کنند (۱۳، ۱۲). برای مثال، SIRT3، سوخت و ساز اکسایشی میتوکندریایی را در پاسخ به استرس مواد مغذی و دیپلاریزاسیون غشا افزایش می‌دهد (۱۴، ۱۵). به طور کلی، گفته شده است کاهش SIRT3، از لحاظ مکانیکی با کاهش عملکرد قلبی و تحلیل نورونی ارتباط دارد (۱۶، ۱۷). یکی از مسائلی که هنوز حل نشده، این است که SIRT3 چگونه بر فرآیندهای گسترده میتوکندریایی تاثیر می‌گذارد. می‌دانیم PGC-1 $\alpha$  یک پروتئین کوآکتیویتور است که نقشی اساسی در افزایش بایوژنز میتوکندریایی، سازگاری‌های گرمایی، اکسایش اسیدهای چرب، سم‌زدایی ROSها و فرآیندهای سوخت و سازی گوناگون دیگری دارد (۱۸). PGC-1 $\alpha$ ، بیان SIRT3 را از راه پیوند پروموتور SIRT3 با گیرنده وابسته به

استروژن آلفا (ERR $\alpha$ ) تحریک می‌کند (۱۹). نکته قابل توجه آنکه این ارتباط دوطرفه است و SIRT3 برای بیان طبیعی PGC-1 $\alpha$  در سلول‌های چربی قهوه‌ای و عضله اسکلتی ضروری است (۲۰، ۲۱). SIRT3، بیان PGC-1 $\alpha$  را از راه تحریک فسفوریلاسیون و فعالیت عوامل تنظیمی شناخته شده بیان PGC-1 $\alpha$  یعنی CRBE و AMPK افزایش می‌دهد (۲۲، ۲۰). SIRT3 برای PGC-1 $\alpha$  ضروری است تا بتواند بایوژنز میتوکندریایی و بیان ژن‌های هدف آن به‌ویژه ژن‌هایی که در سم‌زدایی ROSها و نیز سرکوب ROSها موثرند، محقق کند (۱۹). هر چند پژوهشی خواص و ویژگی‌های این تاثیر را در نقش ویژه SIRT3 (خارج از میتوکندری) در داستیله و فعال کردن LKB که یک کیناز بالادستی AMPK است معلوم کرده است، اما هنوز معلوم نیست SIRT3 چگونه بر PGC-1 $\alpha$  تاثیر می‌گذارد (۲۲). از آنجایی که SIRT3، تولید ATP را در بسیاری از بافت‌ها افزایش می‌دهد (۲۳) و AMPK در پاسخ به افزایش نسبت AMP به ATP فسفوریله و فعال می‌شود، ولی SIRT3 ممکن است به جای تحریک فسفوریله و فعال شدن AMPK باعث سرکوب آن شود. این آثار ممکن است عملکرد خارج میتوکندریایی SIRT3 یا آثار غیرمستقیم یک پاسخ برگشت‌دهنده را نشان دهد. در هر صورت این امکان وجود دارد که SIRT3 بر فعالیت‌های اصلی تنظیمی سوخت و سازی PGC-1 $\alpha$  و AMPK تاثیر داشته باشد. این موضوع با داده‌های به دست آمده با استفاده از سلول‌ها و موش‌های مبتلا به کمبود SIRT3 دیده شده است. زیرا ممکن است نتایج به دست آمده ریشه در فنوتیپ کمبود SIRT3 و نقش آن در داستیله کردن یک هدف میتوکندریایی خاص یا آثار ثانویه آن بر فیزیولوژی سلولی همه‌جانبه وابسته به کمبود SIRT3 داشته باشد، ولی قطعیت ندارد (۲۴). علاوه بر این گزارش شده است در نمونه‌های پس از مرگ انسانی مبتلا به آلزایمر (یکی از بیماری‌های مرتبط با افزایش سن)، میزان بیان SIRT3 در لوب پیشانی میانی و گیجگاهی افزایش داشته است. اما در مقابل میزان پروتئین و بیان این سیرتوین در نواحی قشری مغز کاهش یافته است (۲۵). از طرف دیگر، کمبود انرژی ناشی از فعالیت ورزشی باعث افزایش نسبت AMP/ATP سلولی می‌شود. افزایش میزان AMP باعث فعال شدن AMPK می‌شود و شروع آبشار پیام‌رسانی، بیان SIRT3 را افزایش می‌دهد و در نتیجه دستگاه آنتی‌اکسیدانی و حفاظت نورونی را بهبود می‌یابد. یک سازوکار بازخوردی مثبت دیگری نیز از راه داستیلایسون و فعال شدن LKB1 بر اثر SIRT3 آغاز می‌شود و باعث افزایش فعالیت AMPK می‌شود (۱۷). در مقابل، فعالیت ورزشی به مثابه یک فشار آفرین احتمالاً می‌تواند تاثیر

<sup>1</sup> Nicotinamide adenine dinucleotide

ورزشی HIIT شنا و مکمل رزوراترول بر میزان SIRT3 در لوب پیشانی مغز موش‌های صحرایی پیر انجام شد.

### مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر، از نوع توسعه‌ای است و از نظر روش کار از نوع پژوهش‌های تجربی می‌باشد که با پنج گروه (کنترل (C)، گروه حلال کربوکسی متیل سلولز (S)، مکمل (R)، تمرین HIIT (EX) و تمرین HIIT و مکمل (EXR) انجام شده است. در این پژوهش ۶۰ سر موش صحرایی نر ۲۰ ماهه پیر نژاد ویستار با وزن ۳۵۰-۴۵۰ گرم از مرکز پژوهش‌های علوم اعصاب دانشگاه علوم پزشکی کرمان خریداری شد. از آن جایی که معلوم شده است کاهش شناختی، شاخص برجسته شروع فرآیند پیری به شمار می‌رود، بنابراین برای ارزیابی شناختی موش‌های صحرایی (به‌عنوان شاخص پیری) و عدم تداخل آن با پروتکل ورزشی، موش‌های صحرایی یک ماه قبل از شروع پژوهش، مورد آزمون ناول<sup>۲</sup> قرار گرفتند (۳۹). این آزمون شامل سه مرحله است. در ابتدا هر موش صحرایی به مدت ۱۰ دقیقه با محیط آزمایش (جعبه) آزمون ناول آشنا شد. بعد از مرحله آشناسازی و تمیز کردن جعبه و قرار دادن دو شی مشابه (شی استوانه‌ای با رنگ سبز) در جعبه، هر موش صحرایی به آرامی در جعبه برای آشنایی با اشیای مشابه (مرحله آشنایی با اشیای مشابه) گذاشته شد و به مدت ۵ دقیقه اشیای مشابه را شناسایی (اعم از وسیله اعمال غریزی از جمله بو کشیدن، لمس و توجه به اشیای) کرد. برای شروع مرحله ناول (شناسایی شی جدید) بایستی هر موش صحرایی به مدت ۴۵ دقیقه بعد از مرحله آشنایی با اشیای مشابه در قفس قرار داده شود و سپس هر موش صحرایی مرحله ناول را بعد از تمیزی جعبه و جایگزین کردن یکی از اشیای مشابه با شی کاملاً گوناگون از شی مرحله قبل (شی مکعبی و دارای زوایای گوناگون با رنگ سفید و مشکی) در جعبه، به مدت ۳ دقیقه انجام داد. مرحله دوم و سوم برای ارزیابی حافظه بازشناختی هر موش صحرایی به وسیله دوربین ضبط گردید و سپس داده‌های مربوطه با مشاهده فیلم‌های ضبط شده جمع‌آوری شد (۴۰). به‌علاوه برای بررسی عدم اختلال حرکتی و تعیین سلامت جسمی موش‌های صحرایی برای انجام پروتکل تمرینی، موش‌های صحرایی پیر مورد آزمون میدان باز نیز قرار گرفتند (۴۱). این آزمون شامل دو مرحله است. در ابتدا هر موش صحرایی به مدت ۱۰ دقیقه با محیط آزمایش (جعبه) آزمون میدان باز آشنا شد. بعد از مرحله آشناسازی و تمیز کردن جعبه، هر موش صحرایی به آرامی مجدد در جعبه گذاشته شد و زمان و

بسیاری بر فعالیت این پروتئین‌ها داشته باشد و باعث افزایش عملکرد مثبت آن‌ها می‌شود. این موضوع در پژوهش‌های صورت گرفته تقریباً معلوم شده است. برای مثال در پژوهش پلاسیکوز و همکارانش (۲۰۰۹) که در ۶ سر موش نر و ماده انجام شد، معلوم شده است هفت هفته فعالیت ورزشی داوطلبانه روی چرخ دوار ویژه جوندگان، SIRT3 را در عضله اسکلتی تنظیم کرده است (۲۰). همچنین، فعالیت SIRT3 را در عضله بعد از گرسنگی (ناشتایی) و یا انقباض بلند مدت تغییر داده است (۲۷، ۲۶). همه این فرآیندها با افزایش میزان NAD<sup>+</sup> یا کاهش میزان NAD<sup>+</sup> ارتباط داشته است (۲۸-۳۰). ضمناً کاهش بیان SIRT3 هنگام محدودیت کالری گزارش شده است (۳۱). به‌علاوه، در پژوهش چنگ و همکارانش (۲۰۱۶) نشان داده شده است فعالیت ورزشی و فعالیت سیناپسی ناشی از بیان SIRT3 در هیپوکمپ، استیل‌اسیون پروتئین‌های میتوکندریایی را جرح و تعدیل می‌کند و مقاومت عصبی به فشار اکسایشی و آپوپتوز را تقویت می‌کند (۳۲). علاوه بر این، رزوراترول، آثار ضد پیری مفیدی از جمله محافظت قلبی عروقی، ضد التهابی، ضد سرطانی، ضد دیابت و محافظت عصبی دارد (۳۳). رزوراترول ضمناً با مهار فعالیت پتانسیل پس سیناپسی تحریکی از تحریک بیش از حد نورون‌ها جلوگیری می‌کند و در نتیجه آسیب نورونی را کاهش می‌دهد. رزوراترول می‌تواند عملکرد حافظه را در بیماران که دچار مشکلات حافظه‌ای هستند، بهتر کند (۳۴). به تازگی مطالعات محدودی آثار سودمند رزوراترول را در افراد چاق و محتوای میتوکندریایی را در جوندگان گزارش کرده‌اند (۳۵، ۳۶). اخیراً رزوراترول به‌عنوان تعدیل‌کننده SIRT3 توسط پژوهشگران مورد توجه قرار گرفته است که نشان از اهمیت این موضوع دارد (۳۷). یکی از مباحث تاثیرگذار در علوم اعصاب فرضیه پیری لوب پیشانی مغز است. بر اساس این فرضیه، نقایص شناختی در سالمندان اغلب به دلیل زوال ساختاری و عملکردی لوب پیشانی است. افزون بر این، عملکردهای لوب پیشانی شامل توجه مداوم، توجه انتخابی/کنترل مهارتی، حافظه فعال و وظایف بسیار دیگری است که به نظر می‌رسد با سالمندی تحت تاثیر قرار می‌گیرند (۳۸). برآیند همه مطالب مذکور این است که شاید بررسی SIRT3 این پروتئین کلیدی و مهم متابولیکی بتواند بخشی از ابهامات موجود در مورد عملکرد و آثار افزایش و یا کاهش آن را در لوب پیشانی مغز برطرف کند. از این جهت به نظر می‌رسد بررسی اثر فعالیت ورزشی و موادی مثل رزوراترول که آثار شبه فعالیت ورزشی دارند توأم با یکدیگر بر میزان SIRT3 ضروری باشد. بنابراین هدف از پژوهش حاضر تعیین اثر فعالیت

<sup>2</sup> Novel

گروه EX) عصر هنگام (که بهترین زمان تمرین در ریتیم فعالیت طبیعی موش‌های صحرایی است) در زیر نور قرمز (با هدف کمترین استرس زایی) انجام می‌شد (۴۳). برای ارزیابی شدت تمرین، در جلسه‌های اول و سوم هفته‌های اول، سوم و ششم برنامه تمرینی، لاکتات خون موش‌های صحرایی هر دو گروه تمرینی بلافاصله در پایان نوبت آخر از رگ انتهای دم (-Lactate Scout-EKF German) سنجیده می‌شد. موش‌های صحرایی هر پنج گروه، در قفس مخصوص جوندگان (هر قفس ۳ سر) و دمای  $22 \pm 4$  درجه سانتی‌گراد و چرخه روشنایی/ تاریکی ۱۲ ساعته و دسترسی آزادانه به آب و غذای استاندارد نگهداری شدند. برای از بین بردن آثار حاد تمرین و متغیرهای غیرقابل کنترل و استرس موش‌های صحرایی در زمان اجرای برنامه ورزشی، ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین موش‌های صحرایی با رعایت اصول اخلاقی، کمیته اخلاق مرکز پژوهش‌های علوم اعصاب دانشگاه علوم پزشکی کرمان (کا/۱۶-۹۸) در دسی‌کاتور متصل به کپسول دی‌اکسید کربن تحت بی‌هوشی سبک قرار گرفته و کشته شدند. بعد از جدا کردن سر، مغز موش‌های صحرایی بلافاصله استخراج و لوب پیشانی روی یخ جدا شد و در تانک ازت مایع فیکس گردید و برای آزمایش وسترن بلات جمع‌آوری و سپس تا زمان سنجش در فریزر  $-80$  نگهداری شدند. برای تعیین میزان پروتئین، ابتدا بافت‌ها روی یخ هم‌وزن شدند. سپس به‌روش برادفورد و استفاده از منحنی استاندارد غلظت مناسب پروتئین نمونه‌ها محاسبه شد. روش وسترن بلات برای تعیین میزان SIRT3 با استفاده از آنتی‌بادی اولیه (Anti-SIRT3 antibody sc-365175) و ثانویه (Rabbit anti-mouse IgG-HRP:sc-358914) و GAPDH (6c5) : (sc-32233) ساخت شرکت سانتاکروز آمریکا انجام شد و نور متسع از واکنش لومینسانس روی فیلم ثبت شد. آنگاه تصاویر ظاهر شدند. دانسیته فیلم‌ها با استفاده از نرم‌افزار ImageJ مورد بررسی قرار گرفت. آزمون شاپیرو-ویلک توزیع طبیعی متغیرهای وابسته پژوهش را در هر گروه نشان داد. برای تعیین تفاوت معنی‌داری وزن و میزان لاکتات خون موش‌های صحرایی بین هفته‌های اول، سوم و ششم در هر گروه از آزمون تحلیل واریانس اندازه‌گیری مکرر استفاده شد. برای تعیین تفاوت معنی‌داری متغیر وابسته بین گروه‌ها از آزمون تحلیل واریانس یک طرفه استفاده شد. در صورت معنی‌دار بودن این تفاوت‌ها، از آزمون تعقیبی توکی برای تعیین محل دقیق تفاوت‌ها استفاده شد. سطح معنی‌داری تجزیه و تحلیل آماری  $P < 0.05$  می‌باشد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS 22 انجام شد.

#### یافته‌ها

مسافت طی شده هر موش صحرایی در مناطق گوناگون (مربع میانی و مربع محیطی) جعبه توسط دستگاه ردیابی ویدئویی هوشمند -Ethovision, Noldus Technology, version 7 که به کامپیوتر متصل بود، ضبط شد. داده‌های مربوطه جمع‌آوری و مورد بررسی قرار گرفت (۴۰). سپس، ۳۰ سر موش صحرایی که کاهش شناختی داشتند و اختلال حرکتی نیز نداشتند وارد پژوهش شدند. همه موش‌های صحرایی یک هفته قبل از شروع تمرین اصلی مرحله‌آشنایی با استخر حیوانات (قطر  $180$  سانتی‌متر و ارتفاع  $80$  سانتی‌متر) (۵ جلسه در یک هفته) را گذراندند. در جلسه اول این مرحله، موش‌های صحرایی با نهایت دقت و آرامش در استخر حیوانات با عمق آب  $50$  سانتی‌متر و میانگین دمای  $30 \pm 0.5$  درجه سانتیگراد قرار گرفتند و با سرعت دلخواه به مدت پنج دقیقه شنا کردند. در جلسه‌های بعدی که موش‌های صحرایی به خوبی با استخر حیوانات آشنا شدند، برای آشنایی با تمرین تناوبی چند نوبت پس از یک دقیقه شنا توسط صفحه استراحت از آب بیرون آورده و دوباره در آب قرار داده می‌شدند. پس از گذشت ۴۸ ساعت از زمان آخرین جلسه آشناسازی، موش‌های صحرایی تصادفی به ۵ گروه تقسیم شدند (هر گروه ۶ سر موش صحرایی)؛ گروه C (وزن  $415 \pm 34$  گرم)، گروه EX (وزن  $404 \pm 30$  گرم)، گروه R (وزن  $400 \pm 30$  گرم) و گروه EXR (وزن  $401 \pm 31$  گرم) و گروه S (وزن  $400 \pm 31$  گرم). موش‌های صحرایی گروه EX، تمرین HIIT شنا، شامل ۱۴ نوبت ۲۰ ثانیه‌ای شنا با ۱۰ ثانیه استراحت بین هر نوبت را انجام دادند. این برنامه ورزشی به مدت شش هفته (سه روز در هفته یک روز در میان) انجام شد. در تمرین HIIT شنا میزان بار اعمال شده اولیه (در هفته اول) ۹ درصد وزن بدن هر موش صحرایی بود که هر هفته ۱ درصد به آن اضافه می‌شد و در هفته آخر موش صحرایی با ۱۴ درصد وزن بدن خود تمرین کردند (۴۲). موش‌های صحرایی گروه C، تمرین نمی‌کردند. موش‌های صحرایی گروه R، فقط از مکمل رزوراترول (serva-10700-Usa) محلول در کربوکسی متیل سلولز (CMC) یک درصد از راه گاوژ (روزانه  $10$  میلی‌گرم به ازاء هر کیلوگرم وزن بدن هر موش صحرایی) دریافت کردند. موش‌های صحرایی گروه EXR، تمرین HIIT شنا را همراه با دریافت رزوراترول انجام دادند. گروه حلال (S) محلول (G201505-13-China) CMC یک درصد را از طریق گاوژ دریافت کردند. گاوژ موش‌های صحرایی سه گروه (EXR، R، S) صبح هنگام انجام شد بنابراین، موش‌های صحرایی گروه EXR، هشت ساعت بعد از گاوژ تمرین خود را شروع می‌کردند (برای از بین رفتن استرس ناشی از گاوژ). تمرین HIIT شنا (مشابه

در مقایسه با گروه R افزایش معنی‌داری داشته است ( $P < 0/001$ ) (تصویر ۱). اما این تفاوت بین دو گروه EX و EXR معنی‌دار نبود ( $P < 0/05$ ). افزون بر این گروه S در مقایسه با گروه کنترل تفاوت معنی‌داری نداشت و این بدین معنی است که متیل سلولز استفاده شده به‌عنوان حلال در گروه EXR و R تأثیری در نتایج این دو گروه نداشته است. به‌علاوه، میزان لاکتات خون در هفته ششم در موش‌های صحرایی گروه EX در مقایسه با هفته اول کاهش یافت ( $P < 0/001$ ). در مقابل میزان لاکتات خون موش‌های صحرایی پیر در گروه EXR افزایش یافت ( $P < 0/001$ ) (جدول ۳). تفاوت معنی‌داری بین وزن موش‌های صحرایی در

در این بخش ابتدا برای دستیابی به هدف پژوهش از آزمون آماری مناسب در سطح استنباطی استفاده شد. نتایج آزمون تحلیل واریانس اندازه‌گیری مکرر نشان داد وزن موش‌های صحرایی پیر در هر پنج گروه پس از شش هفته تغییر معنی‌داری نداشت (جدول ۱). آزمون تحلیل واریانس یک طرفه ( $F < 118/54$  و  $P < 0/05$ ) نشان داد تفاوت معنی‌داری بین میانگین میزان پروتئین SIRT3 در پنج گروه وجود دارد (جدول ۲). بنابراین، آزمون تعقیبی توکی نشان داد که میزان SIRT3 در گروه EX در مقایسه با گروه C و EXR در مقایسه با گروه S و C، به‌طور معنی‌داری افزایش داشت ( $P < 0/001$ ) (تصویر ۱). به‌علاوه میزان SIRT3 در گروه EX و EXR

جدول ۱- میانگین وزن موش‌های صحرایی در هفته‌های اول، سوم و ششم

هفته	گروه	تعداد	میانگین	انحراف استاندارد
اول	کنترل	۶	۴۱۵/۶۷	۳۴/۸۹
	حلال	۶	۴۰۰/۲۲	۳۱/۹۵
	مکمل	۶	۴۰۰/۲۲	۳۰/۱۹
	تمرین و مکمل	۶	۴۰۱/۴۴	۳۱/۵۹
	تمرین	۶	۴۰۱/۴۴	۳۰/۶۸
سوم	کنترل	۶	۴۱۹/۲۲	۳۱/۰۴
	حلال	۶	۴۱۱/۰۰	۲۶/۶۹
	مکمل	۶	۳۹۲/۴۴	۳۳/۸۲
	تمرین و مکمل	۶	۳۹۴/۲۲	۲۵/۲۰
	تمرین	۶	۴۰۶/۲۲	۲۸/۴۲
ششم	کنترل	۶	۴۲۵/۵۶	۳۵/۲۱
	حلال	۶	۴۲۷/۸۹	۲۲/۳۳
	مکمل	۶	۳۹۰/۶۷	۳۴/۶۷
	تمرین و مکمل	۶	۳۸۰/۳۳	۱۷/۰۳
	تمرین	۶	۴۰۵/۲۲	۲۹/۹۵

ششم

شنا و مکمل رزوراترول بر میزان SIRT3 در لوب پیشانی مغز موش‌های صحرایی پیر بود. نتایج پژوهش حاضر نشان داد فعالیت ورزشی HIIT شنا و ترکیب فعالیت ورزشی HIIT شنا و مکمل دهی رزوراترول باعث افزایش میزان SIRT3 در لوب پیشانی مغز موش‌های صحرایی پیر می‌شود. در پژوهش فتحی و همکاران (۲۰۱۶)،

هفته‌های اول، سوم و ششم در گروه‌های کنترل، حلال، مکمل، تمرین و مکمل و تمرین وجود نداشت.

\*تفاوت معنی‌داری در مقایسه با هفته اول

### بحث و نتیجه‌گیری

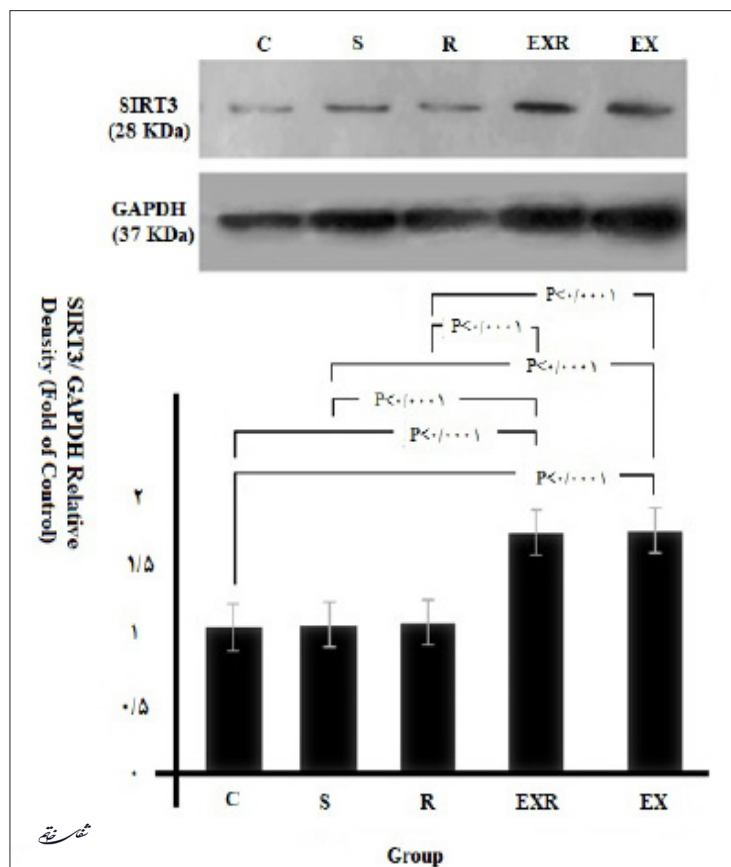
هدف از پژوهش حاضر تعیین اثر فعالیت ورزشی HIIT

جدول ۲- نتایج آزمون تحلیل واریانس یک طرفه SIRT3 ناشی از فعالیت ورزشی HIIT شنا و رزوراترول

SIRT3	مجموع مجذورات	درجه آزادی	میانگین مجذورات	F	معنی‌داری
	۴/۳۵۸	۴	۱/۰۹	۱۱۸/۵۴	۰/۰۰۱

جدول ۳- میانگین تغییرات لاکتات خون موش‌های صحرایی پیر در هفته‌های اول، سوم و ششم تمرین HIIT شنا

متغیر	گروه‌ها	هفته اول	هفته سوم	هفته ششم
لاکتات خون	C	۲/۰۳ ± ۰/۱۵	۲/۰۰ ± ۰/۱۷	۲/۰۱ ± ۰/۱۲
	EX	۸/۶۸ ± ۱/۴۸	۸/۸۰ ± ۰/۵۱	*۶/۱۱ ± ۰/۲۹
میلی‌مول / لیتر	EXR	۸/۵۰ ± ۱/۷۹	*۹/۸۰ ± ۰/۲۷	*۱۰/۰۰ ± ۰/۲۸



تصویر ۱- مقایسه میزان پروتئین SIRT3/GAPDH بین گروه‌های سطح معنی‌داری برای همه گروه‌ها ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

ناشی از سالمندی در لوب پیشانی جلوگیری کند. از سوی دیگر، در شرایط افزایش تقاضای انرژی، برای حفظ شارژ سلولی و نسبت ATP مصرفی به تولیدی، مقدار زیادی NADH به NAD<sup>+</sup> اکسید می‌شود. از آنجایی که فعالیت SIRT3 به NAD<sup>+</sup> بستگی دارد، به دلیل افزایش NAD<sup>+</sup> در فعالیت ورزشی تناوبی شدید شنا، منطقی است که SIRT3 نیز افزایش یابد (۲۰). بیشتر نشان داده شده است، HIIT می‌تواند مسیرهای پیام‌رسان سلولی وابسته به Ca<sup>2+</sup> از جمله کالمودولین و AMPK را با افزایش Ca<sup>2+</sup> و هیدرولیز ATP راه اندازی کند. فعال شدن این دو مسیر پیام‌رسان سلولی به نوبه خود سبب افزایش SIRT3 می‌شوند. بنابراین، فعالیت ورزشی تناوبی شدید شنا احتمالاً با فعال کردن مسیرهای کالمودولین و AMPK توانسته SIRT3 را افزایش دهد (۴۸). از سوی دیگر رزوراترول به‌عنوان تعدیل‌کننده SIRT3 که آثار شبه فعالیت ورزشی دارد بر میزان این پروتئین اثر می‌گذارد (۳۷). به علاوه چن و همکاران (۲۰۱۵) از رزوراترول به‌عنوان یک فعال‌کننده SIRT3 یاد کردند که مسیرهای پیام‌رسانی مختلفی را فعال می‌کند. آن‌ها بیان کردند فعال‌کننده‌های کوچکی مثل رزوراترول می‌تواند رویکردهای جدیدی در رابطه با SIRT3 به وجود بیاورند (۴۹). اما مشکلی که در استفاده از موادی مثل رزوراترول وجود دارد این است که میزان مجاز و یا میزان اثرگذار این مواد مشخص نیست. اما فعالیت ورزشی عاملی است که مسیرهای مختلف را به طور همزمان فعال می‌کند که این مسئله خود یک مزیت بسیار عالی برای فعالیت ورزشی می‌باشد (۵۰). سازوکارهای اثر رزوراترول بر SIRT3 دقیق شناخته نشده است اما یافته‌ی مطالعه‌ای نشان داد رزوراترول مستقیم می‌تواند سبب فعالسازی SIRT3 شود احتمالاً رزوراترول از طریق تحریک NADH و به‌ویژه مجموعه‌ی میتوکندریایی و افزایش نسبت NAD<sup>+</sup> به NADH باعث افزایش SIRT3 می‌شود (۳۷، ۲۷). سازوکار احتمالی دیگر این است که مکمل رزوراترول می‌تواند با راه اندازی مسیر پیام‌رسان درون سلولی PGC-1 $\alpha$  سبب افزایش SIRT3 شود. از طرفی رزوراترول با افزایش سوپراکسیدکاهش ROS میتوکندریایی، افزایش ATP و همچنین زیاد کردن MMP باعث فرایندی SIRT3 می‌شود (۵۱). علاوه بر این تحقیقات پیشین نقش کلیدی‌ای برای AMPK و SIRT3 در آثار مهارری رزوراترول بر آسیب‌های ناشی از فشار اکسایشی را نیز بیان کرده‌اند که بینش جدیدی را در مورد آثار رزوراترول بر تنظیم بالادستی SIRT3 از طریق فعالسازی AMPK به وجود آورده است (۵۲). با این حال برای شناخت سازوکارهای دقیق‌تر اثر رزوراترول بر SIRT3 به مطالعات بیشتری در آینده نیاز است. نکته‌ای که باید به آن توجه داشت، شدت و نوع

افزایش معنی‌داری در میزان SIRT3 عضله نعلی موش صحرایی چاق ۴ ماهه (بالغ) نر نژاد ویستار بعد از ۸ هفته تمرین HIIT دویدن روی تردمیل در مقایسه با هر دو گروه کنترل چاق و غیرچاق مشاهده شده است (۴۴). همچنین، در پژوهش پالاسیوس و همکاران (۲۰۰۹) که در موش (۷ هفته‌ای) نر و ماده نژاد FVB/NJ انجام گرفت، معلوم شد شش هفته دویدن داوطلبانه روی چرخ دوار، SIRT3 در عضله سه سر را افزایش داده است (۲۰). از سوی دیگر، یک سال دویدن داوطلبانه روی چرخ دوار، باعث شد SIRT3 عضله دوقلوی موش‌های صحرایی پیر دهنده با ظرفیت کم و زیاد در مقایسه با کنترل پیر در حد معنی‌داری افزایش یابد (۴۵). همچنین پژوهش چنگ و همکاران (۲۰۱۶) نشان داد فعالیت ورزشی دویدن داوطلبانه روی چرخ دوار بیان SIRT3 را در نوروهای هیپوکمپ موش SIRT3 افزایش داده است (۳۲). نتایج پژوهش‌های اخیر با نتایج پژوهش حاضر همسو می‌باشند (۴۵، ۴۴، ۳۲، ۲۰). بنابراین با توجه به نتایج مشابه پژوهش‌ها، می‌توان گفت فعالیت ورزشی HIIT چه از نوع دویدن روی تردمیل یا چرخ دوار، چه شنا و دویدن داوطلبانه تأثیر مشابهی بر SIRT3 داشته است. از آنجایی که شدت فعالیت ورزشی نقش اساسی در ایجاد تغییرات و سازگاری‌های فیزیولوژیایی دارد، وقتی نوع پروتکل تمرینی پژوهش حاضر را با مطالعات دیگر مقایسه می‌کنیم به این نتیجه می‌رسیم که پروتئین SIRT3 احتمالاً به شدت‌های کم فعالیت ورزشی پاسخ می‌دهد زیرا چنگ و همکاران از دویدن روی چرخ دوار به صورت داوطلبانه استفاده کردند و افزایش میزان SIRT3 را مشاهده کردند. نکته دیگر این که این پروتئین در بافت‌های مختلف نیز به انواع فعالیت‌های ورزشی پاسخ می‌دهد. یعنی این پروتئین چه در بافت عضلانی (پژوهش فتحی و همکاران) و چه بافت عصبی (پژوهش حاضر و پژوهش چنگ و همکاران) در پاسخ به شدت‌های مختلف فعالیت ورزشی افزایش خواهد یافت. با این حال، افزایش تقاضای انرژی، مقادیر NAD<sup>+</sup> را زیاد می‌کند که پیامد آن افزایش SIRT3 است (۳۲). با توجه به اینکه فعالیت‌های ورزشی HIIT تقاضای انرژی را خیلی افزایش می‌دهند، لذا افزایش SIRT3 در مطالعه حاضر پس از شش هفته فعالیت ورزشی تناوبی شدید شنا منطقی به نظر می‌رسد. از طرفی، نشان داده شده است افزایش سوپراکسید دسموتاز (SOD) می‌تواند از پیری و تحلیل نرونی جلوگیری کند. SIRT3 با داستیله کردن SOD می‌تواند نوروها را در مقابله با فشار اکسایشی و متابولیک محافظت کند (۴۶). از این رو، به نظر می‌رسد فعالیت ورزشی تناوبی شدید شنا با افزایش SIRT3 و در نتیجه SOD بتواند از تحلیل نرونی



در میتوکندری حضور دارند می‌توانند بر میزان لاکتات خون اثر بگذارند (۵۳). در نهایت دستاورد پژوهش حاضر این است که تمرینات HIIT برای موش‌های صحرایی پیر قابل اجرا می‌باشند و نوع فعالیت ورزشی که شنا بود، خود عاملی است که بر مزایای فعالیت ورزشی HIIT می‌افزاید. در مورد پروتئین SIRT3 باید عنوان کرد که این پروتئین کلیدی با افزایش خود در پاسخ به تمرین HIIT شنا در موش‌های صحرایی پیر نشان‌دهنده دخیل بودن این پروتئین در مسیرهای سوخت و سازی، دفاع آنتی‌اکسیدانی و حفاظت نورونی است. این پروتئین نه تنها در بافت‌های متابولیکی مثل عضله در پاسخ به فعالیت ورزشی افزایش می‌یابد بلکه در سلول‌های بافت لوب پیشانی مغز نیز به فعالیت ورزشی پاسخ خواهد داد. به‌علاوه، در مورد رزوراترول باید بیان کرد که این که میزان مصرفی رزوراترول چقدر باشد و این که آیا برای همه افراد در سنین مختلف چقدر تجویز شود، هنوز باید بررسی شود. البته پیشنهاد ما برای بررسی دقیق‌تر این پروتئین و عملکرد آن این است که این پروتئین همراه با عوامل بالادستی و پایین‌دستی خود در مسیرها و آبشارهای پروتئینی که در پاسخ به فعالیت ورزشی و رزوراترول راه‌اندازی می‌شوند، مورد مطالعه قرار گیرد.

### تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل از طرح پژوهشی شماره ۹۸-۱۶ تحت حمایت مالی و معنوی مرکز تحقیقات علوم اعصاب دانشگاه علوم پزشکی کرمان انجام شده است. در این راستا از دکتر وحید شیبانی، رییس و دکتر کورس دیوسالار، مدیر امور پژوهشی مرکز تحقیقات علوم اعصاب دانشگاه علوم پزشکی کرمان که شرایط تسهیل انجام این طرح را فراهم نمودند، بسیار سپاسگزاریم. این مقاله برگرفته از پایان‌نامه دکتری امین مهربانی در رشته فیزیولوژی ورزشی گرایش بیوشیمی و متابولیسم ورزشی پردیس کیش دانشگاه تهران می‌باشد.

فعالیت ورزشی با توجه به سن موش‌های صحرایی است. تحقیق حاضر نشان داد که برنامه‌های تمرینی با شدت زیاد نیز توسط موش‌های صحرایی پیر و مسن نیز قابل اجرا می‌باشند. البته باید همه ملاحظات را هنگام طراحی برنامه تمرینی جامعه مسن رعایت کرد. ماهیت تمرینات HIIT شنا احتمالاً به دلیل داشتن فواصل استراحتی و نسبت فعالیت به استراحت امکان اجرای برنامه‌های تمرینی سنگین را فراهم می‌کند. افزون بر این، افزایش میزان وزنه در هر هفته برای موش‌های صحرایی نشان‌دهنده ایجاد سازگاری‌های مناسب و مطلوب در موش‌های صحرایی پیر است. بنابراین چنین برنامه‌های تمرینی کمک شایانی به جامعه مسن برای داشتن یک وهله یا یک دوره تمرین مطلوب خواهد کرد. در مورد لاکتات خون می‌توان عنوان کرد از آنجایی که لاکتات یک محصول متابولیکی بی‌هوازی است زمانی که کربوهیدرات‌ها منبع انرژی مورد استفاده قرار می‌گیرد که توسط عضلات اسکلتی طی فعالیت ورزشی تولید می‌شود. این ماده به‌عنوان شاخص بیوشیمیایی مربوط به خستگی در نظر گرفته می‌شود. زیرا باعث تولید  $H^+$  شده که آنزیم‌های درگیر در انقباض عضلانی را مهار و در نتیجه منجر به بروز خستگی می‌شود. با توجه به نتایج به دست آمده از اندازه‌گیری لاکتات خون در پژوهش حاضر (جدول ۳) احتمالاً فعالیت ورزشی HIIT شنا به طور واضح با سازگاری‌هایی که ایجاد می‌کند باعث دفع لاکتات از محیط خون شده است. اما فعالیت ورزشی HIIT شنا همراه با رزوراترول باعث افزایش لاکتات خون در هفته ششم شد که از نتایج به دست آمده می‌توان چنین استنباط کرد که احتمالاً رزوراترول به دلیل آثار شبه ورزشی که دارد عاملی است که باعث افزایش میزان سوخت و ساز شده و در نتیجه میزان تولید لاکتات افزایش می‌یابد. البته که باید توجه کرد مسیرهای متابولیکی بسیار پیچیده هستند و مجموعه عواملی مثل انتقال دهنده‌های لاکتات و عواملی مثل PGC1- $\alpha$  که

### منابع

1. Cui H, Kong Y, transduction HZ-J of signal. Oxidative stress, mitochondrial dysfunction, and aging. hindawi. com, <https://www.hindawi.com/archive/2012/646354/citations/> (accessed 10 August 2020).
2. Onyango I, Lu J, Rodova M, et al. Regulation of neuron mitochondrial biogenesis and relevance to brain health. Elsevier, <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0925443909001677> (accessed 10 August 2020).
3. Trifunovic A, Larsson NG. Mitochondrial dysfunction as a cause of ageing. In: Journal of Internal Medicine. 2008, pp. 167-78.
4. Jones JM, Datta P, Srinivasula SM. Loss of Omi mitochondrial protease activity causes the neuromuscular disorder of mnd2 mutant mice, [www.nature.com/nature](http://www.nature.com/nature) (2003, accessed 10 August 2020).
5. Genetics DW-T in, 1989 undefined. Mitochondrial DNA mutations and neuromuscular disease. Elsevier, <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/016895258990005X> (accessed 10 August 2020).
6. Lowell BB, Shulman GI. Mitochondrial Dysfunction and Type 2 Diabetes. Proc Natl Acad Sci USA 2003; 30: 5050.

7. Saxena R, Bakker P de, Singer K. Comprehensive association testing of common mitochondrial DNA variation in metabolic disease. Elsevier, <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0002929707600056> (accessed 10 August 2020).
8. Mercer JR. Suboptimal nutrition programs offspring metabolic health View project Mitochondrial bioenergetics and therapeutic intervention in cardiovascular disease. Elsevier. Epub ahead of print 2013.
9. Hall AR, Burke N, Dongworth RK. Mitochondrial fusion and fission proteins: Novel therapeutic targets for combating cardiovascular disease. *British Journal of Pharmacology* 2014; 171: 1890-906.
10. Barbosa MC, Grosso RA, Fader CM. Hallmarks of aging: An autophagic perspective. *Frontiers in Endocrinology*; 10. Epub ahead of print 2019.
11. Sun N, Youle RJ, Finkel T. The Mitochondrial Basis of Aging. *Molecular Cell* 2016; 61: 654-66.
12. German NJ, Haigis MC. Sirtuins and the Metabolic Hurdles in Cancer. *Current Biology* 2015; 25: R569-R583.
13. Sebastián C, Kyle Satterstrom F, Haigis MC, et al. From Sirtuin Biology to Human Diseases: An Update \*. *J Biol Chem* 2012; 287: 42444-452.
14. Yang W, Nagasawa K, Münch C. Mitochondrial sirtuin network reveals dynamic SIRT3-dependent deacetylation in response to membrane depolarization. Elsevier, (accessed 11 August 2020).
15. Hirschey M, Shimazu T, Goetzman E. SIRT3 regulates mitochondrial fatty-acid oxidation by reversible enzyme deacetylation. *nature.com*, <https://www.nature.com/articles/nature08778> (accessed 11 August 2020).
16. Winnik S, Auwerx J, DS-E heart. Protective effects of sirtuins in cardiovascular diseases: from bench to bedside. *academic.oup.com*, <https://academic.oup.com/eurheartj/article-abstract/36/48/3404/2465994> (accessed 11 August 2020).
17. Kincaid B, Bossy-Wetzel E. Forever young: SIRT3 a shield against mitochondrial meltdown, aging, and neurodegeneration. *Frontiers in Aging Neuroscience*; 5. Epub ahead of print 2013.
18. Jenina E, Schoonjans K, Oncogene JA. Reversible acetylation of PGC-1: connecting energy sensors and effectors to guarantee metabolic flexibility. *nature.com*, <https://www.nature.com/articles/onc2010206> (accessed 11 August 2020).
19. Kong X, Wang R, Xue Y. Sirtuin 3, a new target of PGC-1 $\alpha$ , plays an important role in the suppression of ROS and mitochondrial biogenesis. *PLoS One*; 5. Epub ahead of print 2010.
20. Palacios O, Carmona J, Michan S. Diet and exercise signals regulate SIRT3 and activate AMPK and PGC-1 $\alpha$  in skeletal muscle. *ncbi.nlm.nih.gov*, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/pmc2815736/> (accessed 11 August 2020).
21. Shi T, Wang F, Stieren E. SIRT3, a Mitochondrial Sirtuin Deacetylase, Regulates Mitochondrial Function and Thermogenesis in Brown Adipocytes\*. *ASBMB*. DOI: 10.1074/jbc.M414670200.
22. Pillai VB, Sundaresan NR, Kim G. Exogenous NAD Blocks Cardiac Hypertrophic Response via Activation of the SIRT3-LKB1-AMP-activated Kinase Pathway \*. *NUMBER 5 J Biol Chem* 2010; 285: 3133.
23. Ahn B, Kim H, Song S. A role for the mitochondrial deacetylase Sirt3 in regulating energy homeostasis. *Natl Acad Sci*, <https://www.pnas.org/content/105/38/14447.short> (accessed 12 August 2020).
24. Lombard DB, Tishkoff DX, Bao J. Mitochondrial sirtuins in the regulation of mitochondrial activity and metabolic adaptation. *Handb Exp Pharmacol* 2011; 206: 163-88.
25. Sidorova-Darmos E, Sommer R, Eubanks JH. The role of SIRT3 in the brain under physiological and pathological conditions. *Front Cell Neurosci*; 12. Epub ahead of print 25 July 2018.
26. Hallows W, Lee S, National JD-P. Sirtuins deacetylate and activate mammalian acetyl-CoA synthetases. *Natl Acad Sci*, <https://www.pnas.org/content/103/27/10230.short> (accessed 12 August 2020).
27. Gurd B, Holloway G, Yoshida Y. In mammalian muscle, SIRT3 is present in mitochondria and not in the nucleus; and SIRT3 is upregulated by chronic muscle contraction in an adenosine. Elsevier, <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0026049511003180> (accessed 12 August 2020).
28. Nisoli E, Tonello C, Cardile. Calorie restriction

promotes mitochondrial biogenesis by inducing the expression of eNOS. *science.sciencemag.org*.

29. Cohen H, Miller C, Bitterman K. Survival by Inducing the SIRT1 Deacetylase Calorie Restriction Promotes Mammalian Cell. *science.sciencemag.org*. Epub ahead of print 2010. DOI: 10.1126/science.1099196.

30. Hirschey M, Shimazu T, Jing E. SIRT3 deficiency and mitochondrial protein hyperacetylation accelerate the development of the metabolic syndrome. Elsevier, (accessed 12 August 2020).

31. Haigis M, Mostoslavsky R, Haigis K. SIRT4 inhibits glutamate dehydrogenase and opposes the effects of calorie restriction in pancreatic  $\beta$  cells. Elsevier, (accessed 12 August 2020).

32. Cheng A, Yang Y, Zhou Y, et al. Mitochondrial SIRT3 mediates adaptive responses of neurons to exercise and metabolic and excitatory challenges. Elsevier, (accessed 12 August 2020).

33. Zhang H, Schools G, Lei T, et al. Resveratrol attenuates early pyramidal neuron excitability impairment and death in acute rat hippocampal slices caused by oxygen-glucose deprivation. Elsevier, (accessed 12 August 2020).

34. Karuppagounder S, Pinto J, Xu H. Dietary supplementation with resveratrol reduces plaque pathology in a transgenic model of Alzheimer's disease. Elsevier, (accessed 12 August 2020).

35. Timmers S, Konings E, Bilet L. Calorie restriction-like effects of 30 days of resveratrol supplementation on energy metabolism and metabolic profile in obese humans. Elsevier, (accessed 12 August 2020).

36. Menzies KJ, Singh K, Saleem A. Sirtuin 1-mediated Effects of Exercise and Resveratrol on Mitochondrial Biogenesis \*. *ASBMB*. Epub ahead of print 2013.

37. Bagul PK, Katare PB, Bugga P, et al. SIRT-3 Modulation by Resveratrol Improves Mitochondrial Oxidative Phosphorylation in Diabetic Heart through Deacetylation of TFAM. *mdpi.com*.

38. Zanto TP, Gazzaley A. Aging of the frontal lobe. In: *Handbook of Clinical Neurology*. Elsevier B.V., 2019, pp. 369-89.

39. Wong DW, Soga T, Parhar IS. Aging and chronic

administration of serotonin-selective reuptake inhibitor citalopram upregulate Sirt4 gene expression in the preoptic area of male mice. *Front Genet*; 6. Epub ahead of print 2015.

40. Amirazodi F, Mehrabi A, Amirazodi M. The Combination Effects of Resveratrol and Swimming HIIT Exercise on Novel Object Recognition and Open-field Tasks in Aged Rats. *Exp Aging Res* 2020; 46: 336-58.

41. Walsh RN, Cummins RA. The Open-Field Test: A Critical Review, <https://psycnet.apa.org/record/1976-27066-001> (accessed 12 August 2020).

42. Ramos-Filho D, Chicaybam G, De-Souza-Ferreira E. High intensity interval training (HIIT) induces specific changes in respiration and electron leakage in the mitochondria of different rat skeletal muscles. *PLoS One*; 10. Epub ahead of print 29 June 2015.

43. Shafiee A, Gaeini A, MS-J of A. The effect of eight week of high intensity interval training on expression of mir-210 and ephrinA3 mRNA in soleus muscle healthy male rats. *jams.arakmu.ac.ir*, <http://jams.arakmu.ac.ir/article-1-2770-en.html> (accessed 12 August 2020).

44. Iman Fathi, Maryam Noorshahi. Abbas Haghparast HF hoseini. Effect of eight-week aerobic continuous and high intensity interval training on levels of SIRT3 in skeletal muscle tissue of Wis tar rats. *Physiol Exerc Phys Act* 1394; 8: 1277-289.

45. Karvinen S, Silvennoinen M, Vainio P. Effects of intrinsic aerobic capacity, aging and voluntary running on skeletal muscle sirtuins and heat shock proteins. Elsevier. Epub ahead of print 2016.

46. Tao R, Vassilopoulos A, Parisiadou L. Regulation of MnSOD enzymatic activity by Sirt3 connects the mitochondrial acetylome signaling networks to aging and carcinogenesis. *Antioxidants and Redox Signaling* 2014; 20: 1646-654.

47. White AT, Schenk S. NAD<sup>+</sup>/NADH and skeletal muscle mitochondrial adaptations to exercise. *American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism* 2012; 303: 308-21.

48. Santos-Alves E, Marques-Aleixo I, Rizo-Roca D. Exercise modulates liver cellular and mitochondrial proteins related to quality control signaling. *Life Sci* 2015; 135: 124-30.

49. Chen T, Li J, Liu J. Activation of SIRT3 by resveratrol ameliorates cardiac fibrosis and improves cardiac function via the TGF- $\beta$ /smad3 pathway. *Am J Physiol - Hear Circ Physiol* 2015; 308: 424-34.
50. Hawley JA, Joyner MJ, Green DJ. Mimicking exercise: what matters most and where to next? In: *Journal of Physiology*. Blackwell Publishing Ltd, 2019. Epub ahead of print 2019.
51. Sun Q, Kang R, Chen K. Sirtuin 3 is required for the protective effect of Resveratrol on Manganese-induced disruption of mitochondrial biogenesis in primary cultured neurons. *J Neurochem* 2020; jnc.15095.
52. Riccioni G, Gammone MA, Tettamanti G. Resveratrol and anti-atherogenic effects. *International Journal of Food Sciences and Nutrition* 2015; 66: 603-10.
53. Muhammad MH, Allam MM. Resveratrol and/or exercise training counteract aging-associated decline of physical endurance in aged mice; targeting mitochondrial biogenesis and function. *J Physiol Sci* 2018; 68: 681-88.