

The effect of 8 weeks of vitamin D supplementation and aerobic exercise on sirtuin-1 protein levels and oxidative stress markers of myocardial tissue in middle-aged male rats

Sanaz Habib Vand¹, Reza Nouri^{1,2*}, Abbas Ali Gaeini²

¹ Department of sport Sciences, Kish International Campus, University of Tehran Kish, Iran

² Department of sport physiology, Faculty of Sport Sciences, University of Tehran, Tehran, Iran

Original Article

Abstract

Background and Purpose: Exercise training and vitamin D supplementation play an important role in cardiovascular health. However, the effects of combining these two strategies and their molecular role in cardiac adaptations are less known. Therefore, the present study was conducted with the aim of determining the effect of vitamin D supplementation and aerobic exercise on oxidative stress markers and Sirtuin-1 (SIRT-1) levels in the myocardial tissue of middle-aged male rats.

Materials and Methods: Forty male rats (12-14 months, 350-400 g) after two weeks of familiarization and maximal aerobic speed test, were randomly divided into four groups: control (Con), aerobic training (AT), vitamin D (Vit-D) and aerobic exercise + vitamin D (AT+Vit_D) were divided. The training consisted of eight weeks of incremental training (5 days per week). Vit_D and AT+Vit-D groups received 500 units of vitamin D along with 0.3 ml of olive oil (kg/body weight). Olive oil was also used as a placebo. 48 hours after the last intervention session, the heart tissue of the animals was removed. The activities of Superoxide dismutase (SOD) and Glutathione peroxidase (GPx) as well as the concentration of Malondialdehyde (MDA), Hydrogen peroxide (H₂O₂) and SIRT-1 protein were measured. Data analysis was done by one-way ANOVA test at $P < 0.05$ level.

Results: The findings showed that the SIRT-1 was significantly higher in the AT than in the Con group ($P < 0.05$). Also, the MDA levels in the AT were lower than in the Con group ($P < 0.05$). No significant difference was observed in MDA and SIRT-1 among other groups ($P > 0.05$). In addition, there was no significant difference in the GPx, SOD and H₂O₂ between the groups ($P > 0.05$).

Conclusion: In general, the findings of the present study showed that regular aerobic exercise is beneficial for reducing oxidative damage to the heart tissue in middle age. Also, aerobic training in middle age leads to an increase in SIRT-1 protein. Considering the important role of SIRT-1 in preventing heart diseases and strengthening the antioxidant defense system, aerobic exercise seems to be an effective strategy to reduce cardiovascular diseases associated with aging. In addition, the findings of the present study showed that vitamin D supplementation along with aerobic exercise does not produce synergistic effects in improving oxidative stress markers or SIRT-1. However, due to the small amount of studies in this regard and also some limitations of the current research, it is suggested to conduct more studies in this regard.

Keywords: Aerobic training, Oxidative stress, Sirtuin-1, Myocardium, Vitamin D

How to cite this article: Habib Vand S, Nouri R, Gaeini A. The effect of 8 weeks of vitamin D supplementation and aerobic exercise on sirtuin-1 protein levels and oxidative stress markers of myocardial tissue in middle-aged male rats. *Journal of Sport and Exercise Physiology* 2023;16(1):12-22.

*Corresponding Author; E-mail: nuri_r7@ut.ac.ir
DOI: 10.52547/joeppa.16.1.12

تأثیر هشت هفته مکمل یاری ویتامین D و فعالیت ورزشی هوازی بر مقادیر پروتئین سیرتوئین-۱ و نشانگرهای فشار اکسایشی بافت میوکارد موش‌های صحرائی نر میانسال

ساناز حبیب‌وند^۱، رضا نوری^{۱*}، عباسعلی گایینی^۲

۱ گروه علوم ورزشی، پردیس بین‌المللی کیش، دانشگاه تهران، کیش، ایران
۲ گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

مقاله پژوهشی

چکیده

زمینه و هدف: فعالیت ورزشی و مکمل یاری ویتامین D نقش مهمی در سلامت قلبی-عروقی دارند. با این حال، آثار ترکیب این دو راهبرد و نقش مولکولی آن‌ها در سازگاری‌های قلبی کمتر شناخته شده است. از این رو تحقیق حاضر با هدف تعیین تأثیر مکمل یاری ویتامین D و تمرین هوازی بر نشانگرهای فشار اکسایشی و پروتئین سیرتوئین ۱ (SIRT-1) در بافت میوکارد موش‌های صحرائی نر میانسال انجام گرفت.

مواد و روش‌ها: ۳۲ سر موش صحرائی نر با دامنه سنی ۱۲-۱۴ ماه و با دامنه وزنی ۳۵۰-۴۰۰ گرم پس از طی دو هفته آشناسازی و انجام آزمون حداکثر سرعت هوازی و اندازه‌گیری وزن آن‌ها، به‌طور تصادفی به چهار گروه کنترل (Con)، تمرین هوازی (AT)، ویتامین D (Vit-D) و تمرین هوازی + ویتامین D (AT+Vit-D) تقسیم شدند. برنامه اصلی تمرین شامل هشت هفته تمرین فزاینده و پنج جلسه در هفته بود. گروه AT+Vit-D و Vit-D و ۵۰۰ واحد ویتامین D همراه با ۰/۳ میلی لیتر روغن زیتون به ازای هر کیلوگرم از وزن بدن به صورت یک روز در میان دریافت کردند. همچنین از روغن زیتون به عنوان دارونما استفاده شد. ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه مداخله بافت قلب حیوانات خارج شد. میزان فعالیت سوپراکسید دسموتاز (SOD)، گلوتاتیون پراکسیداز (GPx) و نیز غلظت مالون دی‌آلدهید (MDA)، هیدروژن پراکسید (H₂O₂) و پروتئین SIRT-1 اندازه‌گیری شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها از طریق آزمون آنوا یک‌راهه در سطح $P > 0/05$ انجام گرفت.

نتایج: یافته‌ها نشان داد مقادیر SIRT-1 به‌طور معناداری در گروه AT بیشتر از گروه Con بود ($P < 0/05$). همچنین مقادیر MDA در گروه AT نسبت به گروه Con کمتر بود ($P < 0/05$). بین دیگر گروه‌های مورد بررسی تفاوت معناداری در مقادیر MDA و SIRT-1 مشاهده نشد ($P > 0/05$). افزون بر این تفاوت معناداری در مقادیر GPx، SOD و H₂O₂ بین گروه‌های مورد بررسی مشاهده نشد ($P > 0/05$).

نتیجه‌گیری: در کل، یافته‌های تحقیق حاضر نشان داد تمرین منظم هوازی برای کاهش آسیب‌های اکسایشی بافت قلب در دوره میانسالی ممکن است سودمند باشد. همچنین تمرین هوازی در میانسالی به افزایش پروتئین SIRT-1 منجر می‌شود. با توجه به نقش مهم SIRT-1 در پیشگیری از بیماری‌های قلبی و تقویت دستگاه دفاع ضد اکسایشی، به نظر می‌رسد تمرین هوازی راهبردی مؤثر برای کاهش بیماری‌های قلبی-عروقی مرتبط با افزایش سن باشد. همچنین یافته‌های پژوهش حاضر نشان داد مکمل یاری ویتامین D در کنار تمرین هوازی آثار هم‌افزایی در بهبود نشانگرهای فشار اکسایشی یا SIRT-1 ایجاد نمی‌کند. با این حال با توجه به حجم کم مطالعات در این مورد و نیز برخی محدودیت‌های پژوهش حاضر پیشنهاد می‌شود تحقیقات بیشتری در این باره انجام گیرد.

واژه‌های کلیدی: تمرین هوازی، سیرتوئین-۱، فشار اکسایشی، میوکارد، ویتامین D.

* نویسنده مسئول: رایانامه: nuri_r7@ut.ac.ir

مقدمه

عضله قلب در بدن وظیفه انتقال خون، اکسیژن و مواد مغذی لازم را بر عهده دارد و به دفع یا حذف مواد زائد ناشی از سوخت و ساز نیز کمک می‌کند (۱)؛ بنابراین اختلال جزئی در عملکرد قلب می‌تواند حیات و کیفیت زندگی را به خطر بیندازد. محرک‌هایی مانند ترکیبات شیمیایی، آلودگی‌های محیطی، بیماری، فشارهای روانی و عوامل مرتبط با سبک زندگی مانند بی‌تحرکی، فعالیت ورزشی و تغذیه به صورت مثبت یا منفی بر عملکرد و ساختار قلب تأثیر می‌گذارند (۲-۶). این عوامل در کنار تغییرات فیزیولوژیک همراه با افزایش سن، زمینه‌ساز شروع بسیاری از بیماری‌های قلبی-عروقی در دوره میانسالی است. طبق آمارهای موجود، بیماری‌های قلبی-عروقی به‌طور تصاعدی در ۴۰ (شروع میانسالی) تا ۸۰ سالگی افزایش می‌یابند (۷). اگرچه سازوکارها به خوبی شناخته نشده است، افزایش فشار اکسایشی و التهاب خفیف همراه با افزایش سن در ابتلا به بیماری‌های مزمن قلبی-عروقی نقش دارد. با این حال، با توجه به گستردگی نشانگرهای زیستی مرتبط با فشار اکسایشی و پیچیدگی مسیرهای پیام‌رسانی وابسته به آن‌ها به تحقیقات بیشتری در این حوزه نیاز است.

در کل فشار اکسایشی توسط عوامل اکساینده (اکسیدان) و ضد اکساینده تنظیم می‌شود. از معروف‌ترین انواع اکساینده‌ها، گونه‌های فعال اکسیژنی یا نیتروژنی (RONS) هستند که در قلب توسط منابع مختلفی از جمله میتوکندری‌ها، NADPH اکسیدازها (خانواده Nox) و نیتریک اکسید سنتازها (NOSs) تشکیل می‌شوند. سطوح کم ROSها در فرایندهای نهفته سازی-مانند سازگاری با هیپوکسی و تعدیل جفت شدن تحریک-انقباض (ECC) نقش دارند (۸). اما سطوح زیاد ROS موجب آسیب به درشت مولکول‌های سلولی و مسیرهای پیام‌رسانی‌های می‌شود (۸). از این رو کنترل دقیق تشکیل ROSها برای عملکرد بهینه سلولی اهمیت زیادی دارد. از این رو RONSها به شدت توسط دامنه وسیعی از ضد اکساینده‌های آنزیمی (مانند سوپراکسید دسموتاز، گلوکوتاتیون پراکسیداز، کاتالاز) و غیر آنزیمی (ویتامین E، ویتامین C، سلنیوم) کنترل می‌شود تا غلظت ROSها در دامنه مناسب حفظ شود و تعادل ردوکس سلولی (وضعیت اکسایش-احیا) نیز برقرار باشد (۹). از مهم‌ترین آنزیم‌های ضد اکساینده، سوپراکسید دسموتاز (SOD)

است که بنیان بسیار سمی سوپراکسید را به پیش اکساینده هیدروژن پراکسید (H₂O₂) تبدیل کرده و از این راه به کاهش سمیت سلولی کمک می‌کند (۹). H₂O₂ در غلظت‌های زیاد توان تولید بنیان‌های بسیار سمی مانند هیدروکسیل را دارد. با وجود این، آنزیم‌های ضد اکسایشی دیگری مانند گلوکوتاتیون پراکسیداز (GPx) و کاتالاز با تبدیل H₂O₂ به آب و اکسیژن آن را پاک‌سازی کرده و غلظت‌های هیدروژن پراکسید را در مقادیر فیزیولوژیکی حفظ می‌کنند (۹). از این رو افزایش فعالیت و میزان آنزیم‌های ضد اکساینده مانند SOD و GPx می‌تواند از راه کاهش ROSها به گونه‌های کمتر واکنشی، برای بقا و هومئوستاز سلولی سودمند باشد (۹).

یک عامل مولکولی مهم و حساس به ROSها در سلول‌های قلبی، سیرتوئین ۱ (SIRT-1) است. SIRT-1، به وضعیت ردوکس بسیار حساس است و از قلب و عملکرد عروقی در مقابل با آثار زیان بار ROS محافظت می‌کند. SIRT-1 در قلب پروتئین‌های پیش آپوپتوزی را تنظیم منفی می‌کند و بیان پروتئین‌های ضد آپوپتوزی افزایش می‌دهد (۱۰). همچنین SIRT-1 از قلب در برابر آسیب‌های ناشی از فشار اکسایشی توسط فعال کردن CAT و MnSOD محافظت می‌کند (۱۰). افزون بر این ثابت شده است، سیرتوئین‌ها در هایپرتروفی قلب نقش دارند، اگرچه تأثیر آن‌ها بسته به شرایط تجربی متفاوت است (۱۰، ۱۱). در مجموع اطلاعات ذکر شده نشان می‌دهد، SIRT-1 به عنوان آنزیم اصلی و مهم در بسیاری از سازگاری‌های قلبی نقش دارد و می‌تواند به منزله گزینه عالی برای مداخلات بالینی و عملکردی در دستگاه قلبی-عروقی در نظر گرفته شود.

در کنار SIRT-1، مالون دی‌آلدئید (MDA) یکی از نشانگرهای آسیب اکسایشی به درشت مولکول‌های سلولی (اغلب لیپیدهای غشایی) است (۱۲). نشان داده شده است MDA مستقیم موجب کاهش عملکرد قلبی به ویژه در شرایط آسیب شناختی می‌شود (۱۲). همچنین H₂O₂ از دیگر نشانگرهای اکسایشی است که در بسیار از فرایندهای سلولی درگیر است. برای مثال H₂O₂ (۰/۱ تا ۰/۵ میلی مولار)، موجب آپوپتوز میوسیت قلبی از راه مسیرهای مرگ وابسته به میتوکندری می‌شود (۹، ۱۳). افزون بر این H₂O₂ در غلظت‌های بالا (۳۰۰ میکرومول برلیتر) موجب کاهش عملکرد مکانیکی قلب و انقباض پذیری آن می‌شود (۱۴). H₂O₂ می‌تواند

می‌کند که سازوکار آن فعال‌سازی مسیر پیام‌رسانی Mek/Erk-Sirt1 است (۲۲). این اطلاعات نشان می‌دهد ویتامین D در افزایش بیان ژن Sirt-1 نقش دارد و با فعال کردن مسیرهای پیام‌رسانی ضد اکسایشی، می‌تواند خاصیت ضد اکسایشی نهفته‌ای در دستگاه قلبی-عروقی داشته باشد. در یک مطالعه انسانی روی نمونه‌های دیابتی چاق، نشان داده شد مکمل‌یاری ویتامین D موجب افزایش سطوح سرمی Sirt-1 و بهبود نیمرخ متابولیکی آن‌ها می‌شود (۲۳). به‌طور جالب توجهی تحقیقات بی‌شماری نشان داده‌اند فعالیت ورزشی نیز موجب افزایش فعالیت یا مقادیر پروتئین Sirt-1 در سلول‌های قلبی می‌شود. با وجود این، در هیچ تحقیقی تاکنون آثار مصرف همزمان ویتامین D با فعالیت ورزشی هوازی بر سطوح پروتئین Sirt-1 بافت بطن چپ قلب بررسی نشده است. حال آنکه بین فعالیت ورزشی، ویتامین D، Sirt-1 و پیام‌رسانی گیرنده ویتامین D (VDR)، به لحاظ نظری ارتباط منطقی وجود دارد. بنابراین تحقیق حاضر با هدف بررسی تأثیر هشت هفته مکمل‌یاری ویتامین D و تمرین هوازی بر مقادیر پروتئین Sirt-1 و نشانگرهای فشار اکسایشی بافت میوکارد موش‌های صحرایی نر میانسال انجام گرفت.

روش پژوهش

نمونه‌های پژوهش: نمونه مورد مطالعه شامل ۳۲ سر موش صحرایی نر (نژاد ویستار) با دامنه سنی ۱۲-۱۴ ماه و با دامنه وزنی ۳۵۰-۴۰۰ گرم تهیه شده از مرکز پرورش حیوانات پاستور بودند. پس از طی دو هفته آشناسازی و انجام آزمون حداکثر سرعت هوازی و اندازه‌گیری وزن آن‌ها، به‌طور تصادفی به چهار گروه کنترل ($\lambda=n$, Con)، تمرین هوازی ($\lambda=n$, AT)، ویتامین D ($\lambda=n$, Vit-D) و تمرین هوازی + ویتامین D ($\lambda=n$, AT+Vit-D) تقسیم شدند.

روش اجرای پژوهش: حیوانات پس از علامت‌گذاری در قفس‌های پلی‌کربنات ویژه موش‌های صحرایی به‌طور جداگانه (۳ رت در یک قفس) در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و رطوبت محیط ۳۰-۶۰ درصد با حفظ چرخه ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی با دسترسی آزاد به آب و غذا نگهداری شدند. وزن‌کشی حیوانات در اول هر هفته با ترازوی دیجیتال ویژه حیوانات انجام گرفت. رژیم غذایی رت‌ها شامل الگوی تغذیه استاندارد رت‌ها تهیه شده از صنایع غذایی به‌پرور بود.

غیرمستقیم در تولید MDA نیز نقش داشته باشد. با این حال، غلظت‌های پایین H_2O_2 غیرسمی است و آثار محافظتی و یا رشدی دارد (۹، ۱۳، ۱۵). همچنین H_2O_2 واسطه پاسخ‌های فیزیولوژیکی متنوعی از جمله تمایز سلولی، تکثیر و مهاجرت است و بیان شده است که در گشاد شدن عروق نیز نقش دارد (۹). بنابراین بررسی سطوح H_2O_2 در کنار دیگر نشانگرهای فشار اکسایشی و Sirt-1 می‌تواند اطلاعات جامع‌تری را درباره وضعیت فشار اکسایشی سلول ارائه کند. با این حال، پژوهش‌های محدودی آثار تعاملی فعالیت ورزشی منظم و مکمل‌یاری ویتامین D را بر نشانگرهای فشار اکسایشی در بافت قلب بررسی کرده‌اند. حال آنکه فعالیت ورزشی (۱۶، ۱۷) و ویتامین D (۱۸)، هر دو-در تنظیم مسیرهای پیام‌رسانی مرتبط با ROS نقش دارند. برای نمونه پیروز و همکاران (۲۰۱۸) تأثیر همزمان تمرین ورزشی و ویتامین D بر سطح آپوپتوز و آنزیم‌های ضد اکسایشی بافت قلب در موش‌های صحرایی نر قرارگرفته در معرض آب اکسیژنه را بررسی کردند (۱۹). یافته‌ها نشان داد تمرین موجب افزایش SOD و GPX می‌شود (۱۹). همچنین ترکیب تمرین استقامتی و ویتامین D موجب افزایش معنادار و خیلی بیشتری در فعالیت آنزیم‌های SOD و GPX می‌شود (۱۹). با وجود این، در تحقیق پیروز و همکاران (۲۰۱۸) توجهی به Sirt-1 به‌عنوان یک میانجی اصلی فعال‌سازی مسیرهای ضد اکسایشی نشده است. شمس و همکاران (۲۰۲۰) نیز نشان دادند ترکیب تمرین هوازی و ویتامین D موجب افزایش غلظت GPx و کاهش PAB (Pro-oxidant-antioxidant Balance) بافت ریه رت‌های قرارگرفته در معرض H_2O_2 می‌شود (۲۰). همچنین مهدی‌پور و همکاران (۲۰۲۱) در موش‌های صحرایی مبتلا به انفارکتوس نشان دادند استفاده همزمان ویتامین D با فعالیت ورزشی هوازی-مقاومتی، در مقایسه با مداخله‌های مستقل آن‌ها، عملکرد قلبی را بهبود می‌بخشد و فیروز میوکارد را کاهش می‌دهد (۲۱). با وجود این، در تحقیق مهدی‌پور و همکاران (۲۰۲۱) نیز توجهی به نشانگرهای اکسایشی و تعامل آن‌ها به Sirt-1 نشده است. اگرچه تحقیقات قلبی آثار مستقل تمرین یا مکمل‌یاری ویتامین D را بر کاهش فشار اکسایشی و تنظیم بیان پروتئین Sirt-1 نشان داده‌اند. برای نمونه پولیدورو و همکاران (۲۰۱۳) نشان دادند ویتامین D از سلول‌های اندوتلیال انسانی در برابر آسیب اکسایشی H_2O_2 محافظت

نگهداری شد. هموژن کردن بافت‌ها به کمک بافری محتوی کوکتیل آنتی پروتئاز (cocktail protease-anti) برای جلوگیری از تخریب پروتئین‌ها صورت گرفت (۱۰۰ میلی‌گرم بافت در یک میلی‌مول بافر). میزان فعالیت SOD و GPx و نیز غلظت MDA و H₂O₂ با روش رنگ‌سنجی و مطابق با دستورالعمل‌های کیت آزمایشگاهی ZellBio (ساخت آلمان) تعیین شد. همچنین مقادیر پروتئین SIRT-1 با روش الایزا توسط کیت آزمایشگاهی ZellBio (ساخت آلمان) اندازه‌گیری شد.

تحلیل آماری: همه محاسبات آماری در تحقیق حاضر با استفاده از بسته نرم‌افزاری SPSS نسخه ۲۶ انجام گرفت. به منظور تجزیه و تحلیل استنباطی داده‌ها از آزمون تحلیل واریانس (آنوای) یک‌راهه در سطح $P < 0.05$ استفاده شد. از آزمون تعقیبی توکی نیز به منظور مقایسه جفتی گروه‌ها استفاده شد.

نتایج

یافته‌های تحقیق حاضر نشان داد مقادیر پروتئین SIRT-1 ($F_{(3,28)} = -3/26, P = 0/036$) و MDA ($F_{(3,28)} = 0/033, P = 0/033$) بین گروه‌های مورد بررسی تفاوت معناداری دارد (جدول ۱). آزمون تعقیبی نشان داد تفاوت مشاهده شده به ترتیب ناشی از مقادیر زیادتر پروتئین SIRT-1 ($MD = 2/14, P = 0/038$) و مقادیر کمتر MDA SIRT-1 ($MD = 11/92, P = 0/039$) در مقایسه با گروه Con بود (شکل ۱). همچنین در گروه AT+Vit.D مقادیر MDA در حد نزدیک به معناداری کمتر از گروه کنترل بود ($MD = 11/24, P = 0/054$) (شکل ۱). بین دیگر گروه‌ها تفاوت آماری معناداری در مقادیر SIRT-1 و MDA مشاهده نشد ($P > 0/05$) (جدول ۱). به علاوه بین گروه‌های مورد بررسی در غلظت H₂O₂ و فعالیت آنزیم‌های ضد اکسایشی GPx و SOD تفاوت معناداری مشاهده نشد ($P > 0/05$) (جدول ۱). با وجود این، در مقایسه با دیگر گروه‌ها، گروه AT بیشترین میانگین H₂O₂ را داشت (جدول ۱).

برای سازگاری حیوانات با شرایط محیطی از جمله تغییر چرخه تاریکی به روشنایی، دو هفته آشنایی با محیط آزمایشگاه و دو هفته آشنایی با تمرین بر روی نوارگردان در نظر گرفته شد. دو هفته آشنایی با تمرین، شامل برنامه تمرینی ۱۰ جلسه به مدت ۱۰ دقیقه در هر جلسه با شیب صفر درجه و سرعت ۵-۷ متر در دقیقه در هفته اول و سرعت ۸-۱۰ متر در دقیقه در هفته دوم بود. برنامه اصلی تمرین شامل هشت هفته و پنج روز (جلسه) در هفته بود. مدت تمرین با ۲۰ دقیقه در جلسه اول شروع شد و هر جلسه یک دقیقه به آن اضافه شد، به طوری که در ابتدای هفته هفتم به حداکثر زمان ۵۰ دقیقه رسید که تا هفته هشتم نیز حفظ شد. بیشترین شدت تمرین در شروع هفته هفتم بود که تا آخر هفته هشتم حفظ شد. حداکثر سرعت با توجه به آزمون سنجش VO₂max ویسلوف مشخص شد (۲۴). پنج دقیقه زمان گرم کردن و پنج دقیقه زمان سرد کردن با سرعت ۴۰-۵۰ درصد VO₂max (۱۰ متر در دقیقه) برای هر جلسه تمرینی در نظر گرفته شد.

روش مکمل یاری ویتامین D: مکمل یاری ویتامین D در گروه Vit.D و گروه AT+Vit-D پس از دومین هفته آشنایی انجام گرفت. در ابتدای هر هفته پس از وزن‌کشی حیوانات مقدار ویتامین D به میزان ۵۰۰ واحد (۱۲/۵ میکروگرم) به ازای هر کیلوگرم روزانه محاسبه و همراه با ۰/۳ میلی‌لیتر روغن زیتون و در سه وعده تقسیم شد. مکمل به صورت یک روز در میان به حیوانات از راه گاوآژ خورانده شد. شایان ذکر است به حیوانات گروه تمرینی و کنترل، روغن زیتون به همان اندازه گروه AT+Vit-D از راه گاوآژ خورانده شد.

روش‌های آزمایشگاهی: ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه مداخله، حیوانات در شرایط ناشتایی (۱۲ ساعت) توسط داروی زایلازین (۱۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) و کتامین (۷۵ میلی‌گرم/کیلوگرم) بی‌هوش شدند. سپس با ایجاد برش در قسمت قفسه سینه با تیغ جراحی و خون‌گیری از قلب، بافت قلب خارج و در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد

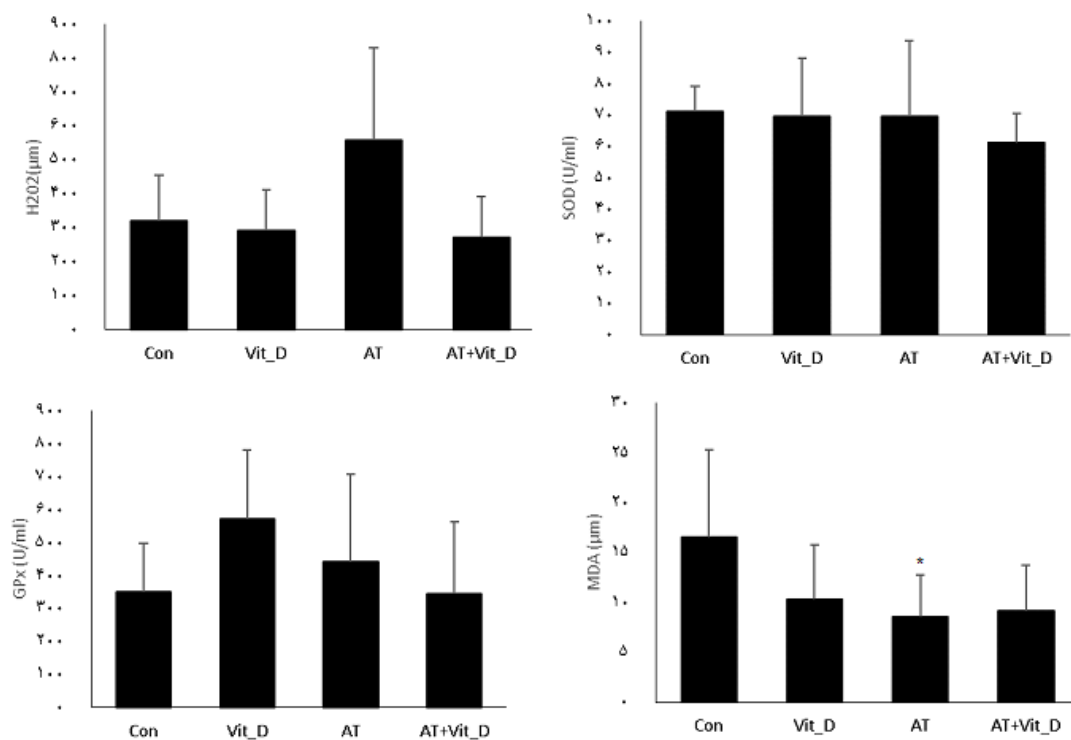
جدول ۱. نتایج آزمون تحلیل واریانس یک راهه

| متغیر (واحد) | گروه | انحراف استاندارد ± میانگین | درجه آزادی | F | sig |
|--------------|----------|----------------------------|------------|-------|------|
| | Vit.D | ۲۹۲/۲۹ ± ۱۱۹/۹۴ | | | |
| | AT | ۵۵۸/۸۱ ± ۲۶۹/۵۱ | | | |
| | AT+Vit.D | ۲۷۱/۵۲ ± ۱۲۱/۴۴ | | | |
| SOD (U/ml) | CON | ۷۱/۲۲ ± ۸/۱۶ | (۲۸، ۳) | ۰/۵۹۷ | ۰/۶۲ |

جدول ۱. نتایج آزمون تحلیل واریانس یک راهه

| متغیر (واحد) | گروه | انحراف استاندارد \pm میانگین | درجه آزادی | F | sig |
|----------------|----------|--------------------------------|------------|------|-------|
| (m μ) MDA | Vit_D | ۶۹/۷۳ \pm ۱۸/۵۲ | (۲۸.۳) | ۳/۵۸ | ۰/۰۳۳ |
| | AT | ۶۹/۵۷ \pm ۲۴/۳۴ | | | |
| | AT+Vit_D | ۶۱/۲۷ \pm ۹/۴۳ | | | |
| | CON | ۱۶/۸۵ \pm ۸/۵۴ | | | |
| (U/ml) GPX | Vit_D | ۱۰/۴۱ \pm ۵/۴۶ | (۲۸.۳) | ۳/۲۵ | ۰/۱۳ |
| | AT | ۸/۵۰ \pm ۴/۱۰ | | | |
| | AT+Vit_D | ۹/۱۷ \pm ۴/۶۶ | | | |
| | CON | ۳۵۱/۱۴ \pm ۱۴۵/۹۹ | | | |
| (ng/ml) SIRT-1 | Vit_D | ۵۷۳/۴۱ \pm ۲۰۶/۸۸ | (۲۸.۳) | ۳/۲۵ | ۰/۰۳۶ |
| | AT | ۴۴۳/۳۶ \pm ۲۶۳/۳۵ | | | |
| | AT+Vit_D | ۳۴۶/۳۱ \pm ۲۱۶/۱۵ | | | |
| | CON | ۱۲/۴۰ \pm ۱/۱۷ | | | |
| | Vit_D | ۱۲/۷۹ \pm ۱/۱۷ | | | |
| | AT | ۱۴/۵۴ \pm ۱/۹۱ | | | |
| | AT+Vit_D | ۱۳/۶۸ \pm ۱/۶۰ | | | |

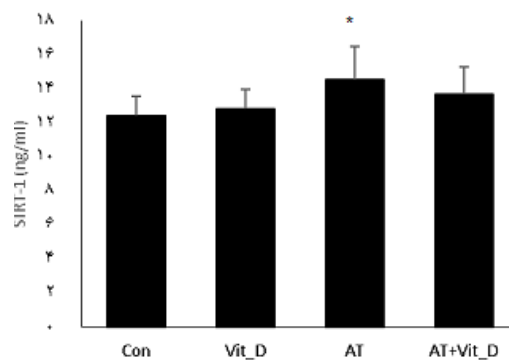
*به دلیل عدم برقراری پیش فرض همگنی واریانس ها از آزمون ولج استفاده شد.



شکل ۱. تغییرات متغیرهای شیمیایی در گروه های مورد مطالعه پس از اجرای پژوهش. H2O2: هیدروژن پراکسید، MDA: مالون دی آلدئید، SIRT-1: سیرتوئین-1، SOD: سوپراکسید دسموتاز، GPx: گلوکوتائون پراکسیداز، *: نشانگر تفاوت معنادار نسبت به گروه کنترل ($P < 0.05$)

متوسط می‌شود. بنابراین شدت تمرین نیز می‌تواند یکی دیگر از متغیرهای مورد توجه در بروز ناهمسویی‌ها باشد. تحقیقی دیگر در نمونه‌های حیوانی پیر نشان داد، چهار هفته تمرین هوازی، موجب افزایش فعالیت SOD و کاهش MDA بطن چپ قلب می‌شود (۲۶). همچنین نتایج این تحقیق نشان داد، اگرچه کاهش مشاهده شده در MDA مستقل از شدت و مدت فعالیت ورزشی رخ می‌دهد (۲۶)، SOD تنها در فعالیت ورزشی با شدت کم تا متوسط یک الگوی افزایشی را نشان داد و پس از تمرین شدید و طولانی به‌طور معناداری کاهش می‌یابد (۲۶). بنابراین این یافته‌ها نشان می‌دهد تنظیم سطوح MDA پس از تمرین هوازی، لزوماً با مقادیر یا فعالیت آنزیم‌های ضد اکسایشی SOD و GPx همخوانی ندارد (۲۶) و احتمالاً سازوکارهای دیگر بر این موضوع تأثیر می‌گذارند. برخلاف این یافته‌ها، در تحقیق رینالدی و همکاران (۲۰۰۶) گزارش شده است، MDA بافت قلب بین موش‌های صحرایی‌های تمرین‌کرده و بی‌تحرک پیر (۲۴ ماهه) تفاوت معناداری ندارد، اگرچه سطوح بیان SOD در گروه تمرین‌کرده بیشتر از گروه بی‌تحرک و حتی حیوانات جوان (۶ ماهه) بود. با وجود این، تفاوت‌های سنی بین نمونه‌های حیوانی تحقیق حاضر نسبت به تحقیق رینالدی و همکاران (۲۰۰۶) تا حدی در بروز ناهمسویی یافته‌ها می‌تواند نقش داشته باشد. همچنین همسو با تحقیق حاضر چندین پژوهش دیگر نیز کاهش MDA را متعاقب رعایت تمرین ورزشی در بافت قلبی نشان داده‌اند (۲۷-۳۰). روی هم رفته هرچند از مهم‌ترین سازوکارها برای کاهش MDA پس از تمرین ورزشی، بهبود عملکرد دستگاه دفاع ضد اکسایشی است، ولی در تحقیق حاضر تغییرات معناداری در فعالیت آنزیم‌های ضد اکسایشی GPx و SOD مشاهده نشد. بنابراین حذف ROSها توسط سایر ضد اکسایشی‌ها آنزیمی و غیر آنزیمی مانند کاتالاز، نسبت گلوکوتایون احیا به اکسید می‌تواند در کاهش MDA نقش داشته باشد. از این رو پیشنهاد می‌شود در تحقیقات بعدی به ضد اکسایشی‌های دیگر نیز توجه شود.

یکی از سازوکارهای پیشنهادی دیگر می‌تواند بهبود عملکرد میتوکندریایی در جفت کردن اکسیژن مصرفی با تولید ATP و نیز کاهش نشت ROS از زنجیره انتقال الکترون باشد (۳۱). این سازوکار با کاهش مقادیر تام تولیدی ROS، خطر آسیب اکسایشی را کاهش می‌دهد و



شکل ۱. تغییرات متغیرهای شیمیایی در گروه‌های مورد مطالعه پس از اجرای پژوهش، H₂O₂: هیدروژن پراکسید، MDA: مالون دی آلدئید، SIRT-1: سیرتوئین-۱، SOD: سوپراکسید دسموتاز، GPx: گلوکوتایون پراکسیداز، * نشانگر تفاوت معنادار نسبت به گروه کنترل (P < ۰٫۰۵)

بحث و نتیجه‌گیری

یافته‌های پژوهش حاضر نشان داد مقادیر پروتئین SIRT-1 به‌طور معناداری در گروه AT بیشتر از گروه Con است. این یافته با مقادیر کمتر MDA در گروه AT نسبت به گروه Con همراه شد. همچنین بین دیگر گروه‌های مورد بررسی تفاوت معناداری در مقادیر MDA و SIRT-1 مشاهده نشد. افزون بر این تفاوت معناداری در مقادیر SOD، GPx و H₂O₂ بین گروه‌های مورد بررسی مشاهده نشد. این یافته‌ها بیان می‌کند تمرین ورزشی منظم با افزایش پروتئین SIRT-1 و کاهش مقادیر MDA می‌تواند آثار سودمندی در کاهش آسیب اکسایشی و سلامت بافت قلبی داشته باشد. همسو با یافته‌های تحقیق حاضر، لو و همکاران (۲۰۱۵) نشان دادند تمرین هوازی در موش‌های صحرایی مبتلا به انفارکتوس قلبی به کاهش MDA میوکارد منجر می‌شود که با افزایش غلظت SOD و GPx نیز همراه بود (۲۵). با توجه به اینکه در تحقیق حاضر مقادیر SOD و GPx بین گروه‌های مورد بررسی تفاوت معناداری نداشتند، به نظر می‌رسد کاهش MDA به‌واسطه سایر سازوکارها یا ضد اکسایشی‌ها رخ داده باشد. افزون بر این، تفاوت‌های روش‌شناختی از جمله روش سنجش SOD و GPx (غلظت در مقابل فعالیت آنزیم) و نوع نمونه‌های مورد بررسی (انفارکتوس قلبی در مقایسه با قلب سالم) نیز می‌تواند در بروز نتایج ناهمسو تأثیرگذار باشد. از طرفی نتایج تحقیق لو و همکاران (۲۰۱۵) نشان داد تمرینات هوازی شدیدتر موجب افزایش بیشتر GPx در مقایسه با تمرینات هوازی با شدت

در نتیجه به کاهش تشکیل MDA می انجامد (۳۱). این سازوکار با توجه به نظریه میتوهورمیزیس (Mito-hormesis) می تواند از دلایل پیشنهادی برای مقادیر کمتر MDA در گروه تمرین هوازی باشد (۳۱). در واقع میتوهورمیزیس اشاره به فرار گرفتن میتوکندری ها سلولی در معرض مقادیر غیرکشنده ای (قابل تحمل) از فشار اکسایشی دارد که در نهایت موجب بهبود عملکرد میتوکندریایی می شود (۳۱، ۳۲). فشارهای اکسایشی و سوخت و سازی ناشی از فعالیت ورزشی هوازی می تواند موجب القای انواع پاسخ های میتوهورمیتیک مانند افزایش بیان ژن های ضد اکسایشی، بیوژنز میتوکندریایی و سنتز پروتئین شود (۳۱، ۳۲). در تحقیق حاضر، با وجود مقادیر بیشتر و غیرمعنادار H₂O₂ (به عنوان یک پیش اکساینده) در گروه تمرین هوازی نسبت به سایر گروه ها و به ویژه گروه کنترل، مقادیر MDA کمتر بوده است که با نظریه میتوهورمیزیس همخوانی دارد. همچنین اگرچه کیفیت و کمیت بیوژنز میتوکندریایی بررسی نشده است، افزایش معنادار SIRT-1 به عنوان یکی از نشانگرهای مطرح در بیوژنز میتوکندریایی از این فرضیه حمایت می کند. در واقع بیان شده است فعالیت ورزشی منظم با افزایش SIRT-1 و در پی آن تنظیم PGC-1 α آسیب های ناشی از فشار اکسایشی در بافت قلب را مهار می کند (۳۳). همسو با یافته های حاضر، ونگ و همکاران (۲۰۲۱) نیز نشان دادند سه هفته تمرین هوازی موجب افزایش معنادار پروتئین SIRT-1 بافت قلبی (موش های سالم و دچار انفارکتوس قلبی، هر دو می شود (۳۳). تحقیق دیگری نیز در موش های سالم پیر و جوان، هر دو، نشان داد ۱۰ هفته تمرین هوازی به افزایش معناداری در مقادیر بیان SIRT-1 منجر می شود (۳۴). همچنین نشان شده است پس از تمرین ورزشی، پروتئین SIRT-1 از آپوپتوز سلول های قلبی در برابر آسیب ناشی از کم خونی- خون رسانی مجدد توسط تنظیم ژن های ضد اکسایشی و NRF-2 محافظت می کند (۳۳، ۳۵، ۳۶). بنابراین پیشنهاد می شود در پژوهش های بعدی افزون بر بررسی تغییرات SIRT-1 همزمان به آثار تمرین ورزشی بر پویایی شبکه میتوکندریایی سلول های قلبی و ارتباط آن با نشانگرهای فشار اکسایشی نیز پرداخته شود. روی هم رفته افزایش SIRT-1 پس از تمرین در تحقیق حاضر نشان می دهد، تمرین هوازی از محرک های بالقوه برای تنظیم بیوژنز میتوکندریایی بافت قلب در

دوره میانسالی است. یافته های پژوهش حاضر نشان داد مصرف ویتامین D به تنهایی یا در کنار فعالیت ورزشی هوازی آثار معناداری بر شاخص های فشار اکسایشی یا SIRT-1 ندارد. با این حال، بر اساس یافته های توصیفی فعالیت GPx پس از مصرف ویتامین D در مقایسه با شرایط کنترل بیشتر بود. همچنین مقادیر MDA پس از مصرف ویتامین D در مقایسه با گروه کنترل به طور غیر معناداری کمتر بود. همسو با این یافته ها فرهنگی و همکاران (۲۰۱۷) اظهار کردند، پنج هفته مکمل یاری ویتامین D (۵۰۰ IU/KG) در رت های چاق وضعیت فشار اکسایشی و نشانگرهای التهابی بافت قلب را بهتر می کند. با وجود این، تفاوت معناداری در مقادیر MDA بین دریافت کنندگان ویتامین D و گروه های کنترل مشاهده نشد (۳۷). در تحقیق دیگری نیز، هفت روز مکمل یاری ویتامین D (۵/۰ میکروگرم/کیلوگرم وزن بدن) در رت های ویستار در مقایسه با گروه کنترل آثار فراوانی بر MDA، GPx و SOD ایجاد نکرد، در حالی که در رت های مبتلا به انفارکتوس قلبی، سطوح MDA و اندازه ناحیه انفارکتوس شده را کاهش و مقادیر SOD و GPx را افزایش داد (۳۸). همچنین در تحقیق دیگری تأثیر تمرین ورزشی و ویتامین D بر آنزیم های ضد اکسایشی بافت قلب پس از قرار گرفتن در معرض آب اکسیژنه بررسی شد (۱۹). یافته ها نشان داد تمرین موجب افزایش SOD و GPx شد، اما افزایش کاتالاز معنادار نبود (۱۹). افزون بر این، تلفیق تمرین و ویتامین D تأثیر هم افزایی در افزایش SOD، GPx و همچنین پیشگیری از عوارض ناشی از آپوپتوز و التهاب میوکارد داشت (۱۹). تحقیق دیگری نیز نشان داد ویتامین D فشار اکسایشی میوکارد و نشانگرهای التهابی را در موش های چاق شده با استفاده از رژیم غذایی پرچرب بهتر می کند (۳۷). این یافته ها بیان می کند احتمالاً مصرف ویتامین D در شرایط بیماری تأثیر بیشتری بر تنظیم نشانگرهای فشار اکسایشی دارد. از طرفی، در تحقیق حاضر، نمونه مورد بررسی رت های سالم میانسال بودند. بنابراین تفاوت در نوع نمونه های مورد بررسی و شرایط بافت از نظر بیماری می تواند در بروز این ناهمسوایی ها تأثیرگذار باشد. صرف نظر از شرایط بیماری، به نظر می رسد تأثیر مکمل یاری ویتامین D بر فشار اکسایشی در بافت های قلبی-عروقی، می تواند در اثر نقص و کمبود این ویتامین در بدن نیز تعدیل شود (۳۹). پولیدورو و

ناشی از ویتامین D در ارتباط با تنظیم فشار اکسایشی و SIRT-1 تحت تأثیر پیام‌رسانی VDR است، پیشنهاد می‌شود در مطالعات بعدی با بررسی عملکرد گیرنده ویتامین D، نقش آن در تنظیم فشار اکسایشی بافت قلب بیشتر مطالعه شود. افزون بر این در تحقیق حاضر تنها بیان ژن SIRT-1 سنجیده شده است، در حالی که فعالیت و نیز غلظت پروتئینی آن ارزیابی نشده است، بنابراین پیشنهاد می‌شود تحقیقات بعدی با رفع این محدودیت‌ها مسیر تأثیرگذاری مکمل یاری ویتامین D و فعالیت ورزشی بر فشار اکسایشی بافت قلب را با دقت بیشتری بررسی کنند.

روی هم‌رفته یافته‌های تحقیق حاضر نشان داد تمرین منظم فعالیت ورزشی هوازی برای کاهش آسیب‌های اکسایشی بافت قلب در دوره میان‌سالی سودمند است. همچنین تمرین هوازی در میان‌سالی به افزایش پروتئین SIRT-1 منجر می‌شود. با توجه به نقش مهم SIRT-1 در پیشگیری از بیماری‌های قلبی و تقویت دستگاه دفاع ضد اکسایشی، به نظر می‌رسد تمرین هوازی راهبرد مؤثری برای کاهش بیماری‌های قلبی عروقی مرتبط با افزایش سن باشد. افزون بر این، یافته‌های تحقیق حاضر نشان داد مکمل‌یاری ویتامین D در کنار تمرین هوازی آثار هم‌افزایی در بهبود نشانگرهای فشار اکسایشی یا SIRT-1 ایجاد نمی‌کند. با این حال، با توجه به حجم کم تحقیقات در این باره و نیز برخی محدودیت‌های پژوهش حاضر پیشنهاد می‌شود پژوهش‌های بیشتری در این باره انجام گیرد.

حامی / حامیان مالی

این تحقیق از حمایت مالی سازمان یا نهادی بهره نبرده است.

مشارکت نویسندگان

ساناز حبیب‌وند: اجرای طرح، جمع‌آوری و تفسیر داده‌ها، نوشتن نسخه اولیه مقاله.

رضا نوری: طراحی پژوهش، تجزیه و تحلیل آزمایشگاهی، ویرایش و تأیید نسخه نهایی مقاله.

عباسعلی گائینی: طراحی پژوهش، ویرایش و تأیید نسخه نهایی مقاله.

تعارض منافع

نویسندگان اذعان می‌دارند هیچ تضاد منافی ندارند.

همکاران (۲۰۱۳) نیز در تحقیقی روی سلول‌های اندوتلیال انسانی نشان دادند، ویتامین D از سلول‌ها در برابر آسیب اکسایشی محافظت می‌کند که سازوکار آن فعال‌سازی مسیر پیام‌رسانی SIRT-1/Mek/Erk است (۲۲). این اطلاعات نشان می‌دهد ویتامین D در افزایش بیان ژن SIRT-1 نقش دارد و با فعال کردن مسیرهای پیام‌رسانی ضد اکسایشی، می‌تواند خاصیت ضد اکسایشی نهفته‌ای در دستگاه قلبی-عروقی داشته باشد. با این حال، ممکن است پاسخ‌های سلولی در شرایط آزمایشگاهی (in vivo) نسبت به شرایط داخل بدن (in vitro) متفاوت باشد. از این رو ناهم‌سویی یافته‌های پژوهش حاضر با نتایج تحقیق پولیدورو و همکاران (۲۰۱۳) می‌تواند به دلیل تفاوت‌های روش‌شناختی و نوع سلول‌های مورد بررسی باشد. افزون بر این، SIRT-1 تنها سازوکار محافظتی ناشی از ویتامین D در بافت قلبی نیست. در واقع در رت‌های تغذیه‌شده با غذای پرچرب نشان داده شده است، ویتامین D می‌تواند با تنظیم مثبت سیرتوئین ۳ (یکی از هم‌خانواده‌های سیرتوئین ۱) نیز به بهبود عملکرد و سوخت‌وساز چربی قلب کمک کند (۴۰). این در حالی است که آثار معناداری از مصرف ویتامین D بر سطوح SIRT-1 مشاهده نشد. در این تحقیق افزایش فعالیت SOD و نیز کاهش غلظت MDA در گروه‌های تغذیه‌شده با ویتامین D در مقایسه با گروه تغذیه‌شده با غذای پرچرب مشاهده شد (۴۰). با وجود این، بین گروه‌های کنترل سالم و کنترل تغذیه‌شده با ویتامین D تفاوت معناداری در هیچ‌یک از این شاخص‌ها مشاهده نشد (۴۰). از این رو با توجه به اینکه نمونه‌های تحقیق حاضر نیز رت‌های سالم نر بودند، یکی از دلایل پیشنهادی می‌تواند عدم نیاز به تنظیم مثبت مسیرهای ضد اکسایشی به دلیل سطوح طبیعی شاخص‌های فشار اکسایشی باشد. همچنین برخی محدودیت‌ها نیز ممکن است بر نتایج تحقیق حاضر تأثیرگذار بوده باشد. برای نمونه در پژوهش حاضر سطوح ویتامین D در نمونه‌ها ارزیابی نشده است. بنابراین پیشنهاد می‌شود مطالعات بعدی به تغییرات سطوح ویتامین D پس از مداخلات ورزشی و مکمل‌یاری آن به عنوان یک متغیر مزاحم توجه بیشتری کنند. همچنین یکی دیگر از محدودیت‌های تحقیق حاضر عدم اندازه‌گیری فعالیت و غلظت گیرنده ویتامین D (VDR) است. از آنجا که بسیاری از فعل و انفعالات

- iology-Heart and Circulatory Physiology. 2015;309(9):H1375-H89.
12. Folden DV, Gupta A, Sharma AC, Li SY, Saari JT, Ren J. Malondialdehyde inhibits cardiac contractile function in ventricular myocytes via a p38 mitogen-activated protein kinase-dependent mechanism. *British journal of pharmacology*. 2003;139(7):1310-6.
 13. Valks DM, Kemp TJ, Clerk A. Regulation of Bcl-xL expression by H2O2 in cardiac myocytes. *Journal of Biological Chemistry*. 2003;278(28):25542-7.
 14. Leon H, Bautista-Lopez N, Sawicka J, Schulz R. Hydrogen peroxide causes cardiac dysfunction independent from its effects on matrix metalloproteinase-2 activation. *Canadian journal of physiology and pharmacology*. 2007;85(3-4):341-8.
 15. Kwon SH, Pimentel DR, Remondino A, Sawyer DB, Colucci WS. H2O2 regulates cardiac myocyte phenotype via concentration-dependent activation of distinct kinase pathways. *Journal of molecular and cellular cardiology*. 2003;35(6):615-21.
 16. Sefal Manesh S, Khaledi N, Rajabi H, Askari H. The Comparison of the effect of High Intensity Interval and Progressive Resistance Training on Activated Transcription Factor 3 myocardial gene expression in male Diabetic Rats. *Journal of Sport and Exercise Physiology*. 2021;14(2):67-76. (In Persian).
 17. Ahmadi M, Abbassi Dalooi A, Shadmehri S, Agghaei Bahmanbeglu N. Compare the effect of eight weeks aerobic and resistance training on Oxidant, antioxidant status and lipid profile in obese girls. *Journal of Sport and Exercise Physiology*. 2019;11(1):139-52. (In Persian).
 18. Wimalawansa SJ. Vitamin D deficiency: effects on oxidative stress, epigenetics, gene regulation, and aging. *Biology*. 2019;8(2):30.
 19. Pirooz M, Azarbayjani M, Hosseini S, Peeri M. The simultaneous effect of regular exercise and vitamin D on apoptosis level and antioxidant enzymes of heart tissue of male rats exposed to oxygenated water. *J Knowledge Health*. 2018;13(2):29-42.
 20. Shams Z, Azarbayjani MA, peeri M, Matin Homae H. The effect of aerobic training and Vitamin Don GPx concentration and PABin lung tissue of rats exposed to Hydrogen Peroxide. *Razi Journal of Medical Sciences*. 2020;26(12):156-66.
 21. Mehdipoor M, Damirchi A, Tousi SMTR, Babaei P. Concurrent vitamin D supplementation and exercise training improve cardiac fibrosis via TGF-β/Smad signaling in myocardial infarction model of rats. *Journal of physiology and biochemistry*. 2021;77(1):75-84.
 22. Polidoro L, Properzi G, Marampon F, Gravinna GL, Festuccia C, Di Cesare E, et al. Vitamin

تشکر و قدردانی

مقاله حاضر مستخرج از رساله دکتری مصوب گروه فیزیولوژی ورزشی پردیس بین‌الملل کیش دانشگاه تهران است. بدین وسیله از استادان محترم گروه علوم ورزشی پردیس بین‌الملل کیش دانشگاه تهران و همچنین همکاری کارکنان آزمایشگاه ژن ایران تهران که زمینه پژوهش حاضر را فراهم کردند، تشکر و قدردانی می‌شود.

منابع

1. Smith DL, Fernhall B. *Advanced cardiovascular exercise physiology: Human Kinetics*; 2011.
2. Zarrasquin I, Torres-Unda J, Ruiz F, Irazusta J, Kortajarena M, Cillero IH, et al. Longitudinal study: lifestyle and cardiovascular health in health science students. *Nutricion hospitalaria*. 2014;30(5):1144-51.
3. Mozaffarian D, Kamineni A, Carnethon M, Djoussé L, Mukamal KJ, Siscovick D. Lifestyle Risk Factors and New-Onset Diabetes Mellitus in Older Adults: The Cardiovascular Health Study. *Archives of Internal Medicine*. 2009;169(8):798-807.
4. Vanga SR, Good M, Howard PA, Vacek JL. Role of vitamin D in cardiovascular health. *The American journal of cardiology*. 2010;106(6):798-805.
5. Eddy P, Wertheim EH, Kingsley M, Wright BJ. Associations between the effort-reward imbalance model of workplace stress and indices of cardiovascular health: A systematic review and meta-analysis. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*. 2017;83:252-66.
6. An Z, Jin Y, Li J, Li W, Wu W. Impact of particulate air pollution on cardiovascular health. *Current Allergy and Asthma Reports*. 2018;18(3):1-7.
7. Driver JA, Djoussé L, Logroscino G, Gaziano JM, Kurth T. Incidence of cardiovascular disease and cancer in advanced age: prospective cohort study. *BMJ*. 2008;337:a2467.
8. Santos CX, Anilkumar N, Zhang M, Brewer AC, Shah AM. Redox signaling in cardiac myocytes. *Free Radical Biology and Medicine*. 2011;50(7):777-93.
9. Taverne YJ, Bogers AJ, Duncker DJ, Merkus D. Reactive oxygen species and the cardiovascular system. *Oxidative medicine and cellular longevity*. 2013;2013.
10. D'Onofrio N, Servillo L, Balestrieri ML. SIRT1 and SIRT6 signaling pathways in cardiovascular disease protection. *Antioxidants & redox signaling*. 2018;28(8):711-32.
11. Matsushima S, Sadoshima J. The role of in cardiac disease. *American Journal of Phys-*

- rales-González Á, Madrigal-Santillán EO, Morales-Martínez M, Madrigal-Bujaidar E, et al. Oxidative Stress, Mitochondrial Function and Adaptation to Exercise: New Perspectives in Nutrition. *Life*. 2021;11(11):1269.
32. Musci RV, Hamilton KL, Linden MA. Exercise-induced mitohormesis for the maintenance of skeletal muscle and healthspan extension. *Sports*. 2019;7(7):170.
33. Wang D, Cao H, Wang X, Wang J, Wang M, Zhang J, et al. SIRT1 is required for exercise-induced beneficial effects on myocardial ischemia/reperfusion injury. *Journal of Inflammation Research*. 2021;14:1283.
34. Cross WL, Roby MA, Deschenes MR, Harris MB. Myocardial SIRT1 expression following endurance and resistance exercise training in young and old rats. Wiley Online Library; 2008.
35. Li X, Han X, Zhang H, Tan H, Han S. SIRT1 signaling pathway mediated the protective effects on myocardium of rats after endurance training and acute exhaustive exercise. *Zhonghua xin xue guan bing za zhi*. 2017;45(6):501-6.
36. 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;222:140-7.
37. Farhangi MA, Nameni G, Hajiluiian G, Mesgari-Abbasi M. Cardiac tissue oxidative stress and inflammation after vitamin D administrations in high fat-diet induced obese rats. *BMC cardiovascular disorders*. 2017;17(1):1-7.
38. El-Gohary OA, Allam MM. Effect of vitamin D on isoprenaline-induced myocardial infarction in rats: possible role of peroxisome proliferator-activated receptor- γ . *Canadian journal of physiology and pharmacology*. 2017;95(6):641-6.
39. Anandabaskar N, Selvarajan S, Dkhar SA, Kamalanathan SK, Tamilarasu K, Bobby Z. Effect of vitamin D supplementation on vascular functions and oxidative stress in type 2 diabetic patients with vitamin D deficiency. *Indian Journal of Endocrinology and Metabolism*. 2017;21(4):555.
40. Yang J, Zhang Y, Pan Y, Sun C, Liu Z, Liu N, et al. The protective effect of 1, 25 (OH) 2D3 on myocardial function is mediated via sirtuin 3-regulated fatty acid metabolism. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*. 2021;9:627135.
- D protects human endothelial cells from H₂O₂ oxidant injury through the Mek/Erk-Sirt1 axis activation. *Journal of cardiovascular translational research*. 2013;6(2):221-31.
23. Safarpour P, Daneshi-Maskooni M, Vafa M, Nourbakhsh M, Janani L, Maddah M, et al. Vitamin D supplementation improves SIRT1, Irisin, and glucose indices in overweight or obese type 2 diabetic patients: a double-blind randomized placebo-controlled clinical trial. *BMC family practice*. 2020;21(1):1-10.
24. Wisløff U, Helgerud J, Kemi OJ, Ellingsen Ø. Intensity-controlled treadmill running in rats: V_{o2} max and cardiac hypertrophy. *American journal of physiology-heart and circulatory physiology*. 2001;280(3):H1301-H10.
25. Lu K, Wang L, Wang C, Yang Y, Hu D, Ding R. Effects of high-intensity interval versus continuous moderate-intensity aerobic exercise on apoptosis, oxidative stress and metabolism of the infarcted myocardium in a rat model. *Molecular medicine reports*. 2015;12(2):2374-82.
26. Kiran TR, Subramanyam M, Devi SA. Swim exercise training and adaptations in the antioxidant defense system of myocardium of old rats: relationship to swim intensity and duration. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*. 2004;137(2):187-96.
27. Tang Z, Wang Y, Zhu X, Ni X, Lu J. Exercise increases cystathionine- γ -lyase expression and decreases the status of oxidative stress in myocardium of ovariectomized rats. *International Heart Journal*. 2016;57(1):96-103.
28. Chicco AJ, McCarty H, Reed AH, Story RR, Westerlind KC, Turner RT, et al. Resistance exercise training attenuates alcohol-induced cardiac oxidative stress. *European journal of cardiovascular prevention and rehabilitation*. 2006;13(1):74-9.
29. Zhang Z, Wang Y, Xu P, Cui Y, Li W, Cao X. Research of the heart protective effect of exercise precondition mediated by calcitonin gene related peptide on acute exhaustion rats. *Zhonghua wei zhong bing ji jiu yi xue*. 2018;30(4):369-73.
30. Wang S-Q, Li D, Yuan Y. Long-term moderate intensity exercise alleviates myocardial fibrosis in type 2 diabetic rats via inhibitions of oxidative stress and TGF- β 1/Smad pathway. *The Journal of Physiological Sciences*. 2019;69(6):861-73.
31. Vargas-Mendoza N, Angeles-Valencia M, Mo-