

ORIGINAL ARTICLE

The Impact of High-Intensity Interval Swimming and Resveratrol Supplementation on JNK3 and FOXO3a Protein Levels in the Brain Tissue of Aged Rats

Kavous Eydivandi¹, Seyedeh Ommolbanin Ghasemian^{2*} 

1. Department of Sport Physiology, Be.C., Islamic Azad University, Behbahan, Iran.

2. Department of Veterinary, Be.C., Islamic Azad University, Behbahan, Iran.

Correspondence

Seyedeh Ommolbanin Ghasemian

Email:

Ommolbanin.Ghasemian@iau.ac.ir

How to cite

Eydivandi, K., & Ghasemian, S. O. (2026). The Impact of High-Intensity Interval Swimming and Resveratrol Supplementation on JNK3 and FOXO3a Protein Levels in the Brain Tissue of Aged Rats. *Experimental Animal Biology*, 14(55), 1-11.

ABSTRACT

Background: This study aimed to examine the effects of high-intensity interval swimming training and resveratrol supplementation on the levels of JNK3 and FOXO3a proteins in the brain tissue of aged rats.

Materials and Methods: This experimental study was conducted on 40 aged Wistar rats obtained from the Animal Care Center of Shiraz University of Medical Sciences. The rats were randomly assigned to five groups (n=8 per group): control, training, supplement, training + supplement, and solution. The training groups underwent high-intensity interval swimming for six weeks, consisting of 14 swimming bouts of 20 seconds each, with 10 seconds of rest between sessions. Rats in the supplement and training + supplement groups received a daily dose of resveratrol at 10 mg/kg body weight via gavage.

Results: The results revealed a statistically significant difference in the mean levels of JNK3 and FOXO3a proteins among the groups ($P=0.0001$). Pairwise comparisons showed significant differences in protein levels between the following group pairs: control vs. supplement, control vs. training, control vs. training+ supplement, solution vs. supplement, solution vs. training, solution vs. training+ supplement, supplement vs. training, and supplement vs. training+ supplement ($P<0.05$). However, no significant difference was observed between the training and training+ supplement groups regarding JNK3 ($P=0.99$) and FOXO3a ($P=0.97$) protein levels.

Conclusion: High-intensity interval swimming and resveratrol supplementation independently reduce the levels of JNK3 and FOXO3a proteins in the brain tissue of aged rats, suggesting potential neuroprotective effects.

KEY WORDS

JNK3 protein, FOXO3a protein, High-intensity interval training, Hippocampal tissue, Resveratrol supplementation.

نشریه علمی

زیست‌شناسی جانوری تجربی

«مقاله پژوهشی»

تأثیر تمرین تناوبی شنا با شدت بالا و مکمل دهی رسوراترول بر محتوای پروتئین‌های JNK3 و FOXO3a در بافت مغز موش‌های صحرایی سالمند

کاووس عیدی‌وندی^۱، سیده‌ام‌البین قاسمیان^{۲*} 

چکیده

مقدمه: مطالعه حاضر با هدف تأثیر تمرین تناوبی شنا با شدت بالا و مکمل‌دهی رسوراترول بر محتوای پروتئین‌های JNK3 و FOXO3a در بافت مغز موش‌های صحرایی سالمند، صورت گرفت.

روش پژوهش: پژوهش حاضر از نوع تجربی-بنیادی بود که روی ۴۰ سر موش صحرایی نژاد ویستار سالمند که از مرکز نگهداری حیوانات دانشگاه علوم پزشکی شیراز تهیه شده بودند، صورت گرفت. نمونه به‌طور تصادفی به پنج گروه کنترل (۸ سر)، تمرین (۸ سر)، مکمل (۸ سر)، تمرین + مکمل (۸ سر) و محلول (۸ سر) تقسیم شدند. تمرین HIIT شنا به مدت شش هفته (۱۴ نوبت ۲۰ ثانیه‌ای شنا با ۱۰ ثانیه استراحت بین هر نوبت) و مکمل رسوراترول روزانه ۱۰ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن در گروه‌های مداخله، صورت گرفت.

یافته‌ها: یافته‌ها حاکی از وجود تفاوت معنی‌دار بین میانگین محتوای پروتئین‌های JNK3 و FOXO3a در گروه‌ها بود ($P=0/0001$). مقایسه دو به دو گروه‌ها نشان داد که محتوای پروتئین‌های JNK3 و FOXO3a بین جفت گروه‌های کنترل و مکمل، کنترل و تمرین، کنترل و تمرین + مکمل، محلول و مکمل، محلول و تمرین، محلول و تمرین + مکمل، مکمل و تمرین و همچنین مکمل و تمرین + مکمل تفاوت معنی‌داری داشت ($P<0/05$). تفاوت معنی‌داری بین گروه تمرین و مکمل + تمرین به لحاظ محتوای پروتئین‌های JNK3 ($P>0/99$) و FOXO3a ($P=0/97$) مشاهده نشد.

بحث و نتیجه‌گیری: تمرین شنای تناوبی با شدت بالا و مکمل‌دهی رسوراترول منجر به کاهش محتوای پروتئین‌های JNK3 و FOXO3a در بافت مغز موش‌های صحرایی می‌شود.

واژه‌های کلیدی

پروتئین JNK3، پروتئین FOXO3a، تمرین تناوبی با شدت بالا، بافت هیپوکمپ، مکمل رسوراترول.

۱. گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد بهبهان، دانشگاه آزاد اسلامی، بهبهان، ایران.
۲. گروه دامپزشکی، واحد بهبهان، دانشگاه آزاد اسلامی، بهبهان، ایران.

نویسنده مسئول:

سیده‌ام‌البین قاسمیان

رایانامه:

Ommolbanin.Ghasemian@iau.ac.ir

استناد به این مقاله:

عیدی‌وندی، کاووس و قاسمیان، سیده‌ام‌البین (۱۴۰۴). تأثیر تمرین تناوبی شنا با شدت بالا و مکمل‌دهی رسوراترول بر محتوای پروتئین‌های JNK3 و FOXO3a در بافت مغز موش‌های صحرایی سالمند. فصلنامه زیست‌شناسی جانوری تجربی، ۱۴ (۵۵)، ۱۱-۱.

مقدمه

پیری یک پدیده چند عاملی طبیعی است که با فرایندهای دژنراتیو و کاهش عملکردهای فیزیولوژیکی، کاهش حفظ عملکرد هموستاز در بافت‌ها و افزایش تمایل به بیماری‌های نورودژنراتیو مشخص می‌شود. در حدود ۴۰ سالگی فرایند از دست رفتن بافت سلولی مغز شروع می‌شود، چراکه افزایش جریان خون در مغز کاهش می‌یابد. مرگ سلولی برنامه‌ریزی‌شده در پیری، در برگرفته‌ی آپوپتوز^۱، اتوفازی^۲ و نکروز^۳ است (Castelli et al., 2019; Bektas et al., 2018). میتوکندری در تولید گونه‌های فعال اکسیژن درون‌زا از طریق استرس اکسیداتیو در سلول‌ها نقش مهمی ایفا می‌کند (Kandlur et al., 2020; Sies & Jones, 2020). اختلال عملکرد میتوکندری به‌ویژه از طریق آسیب اکسیداتیو و اختلال در فرایندهای آنابولیک، بر نورون‌ها و سلول‌های گلیال در مناطق مختلف مغز مانند هیپوکامپ و مدارهای قشر مغز تأثیر می‌گذارد (Jardim et al., 2018).

پروتئین JUN-C، ترمینال-N-کیناز-۳ (JNK3) به‌عنوان پروتئین کینازهای فعال‌شده با میتوژن (MAPK)^۴ شناخته می‌شود، که در انسان توسط ژن MAPK10 کدگذاری می‌شود (Solinas & Becattini, 2017). MAPK نقطه ادغام سیگنال‌های بیوشیمیایی متعدد هستند و در طیف گسترده‌ای از فرایندهای سلولی مانند تکثیر، تمایز، تنظیم و توسعه رونویسی نقش دارند. پروتئین JNK3 از طریق فسفوریلاسیون و محلی‌سازی هسته‌ای، نقش تنظیمی در مسیر سیگنالینگ اتوفازی و آپوپتوز نورونی دارد (Weng et al., 2016) که آن را به یک بازیگر قابل‌توجه در اختلالات عصبی مانند بیماری آلزایمر، بیماری پارکینسون و دیگر اختلالات مغزی تبدیل می‌کند (Mishra & Günther, 2018).

همچنین، اعضای خانواده پروتئین‌های جعبه سرچنگالی (FOXO)^۵ نقش مهمی در سوخت و ساز بدن، تکثیر سلولی، مقاومت در برابر استرس و مرگ سلولی (آپوپتوز و اتوفازی) دارند (Wang et al., 2014). پروتئین جعبه سرچنگالی 3Oa (Forkhead Box O3) یا FOXO3 به‌عنوان FOXO3a شناخته

می‌شود. این پروتئین در عملکرد نورون‌ها، ترمیم و نگهداری سلول‌های پیش‌ساز عصبی، سرکوب گونه‌های اکسیژن فعال (ROS)، القای آپوپتوز، ارتقای بقا با تعامل اتوفازی و تنظیم بیوسنتز کاتکول‌آمین‌ها نقش دارد (Xin et al., 2017; Santo & Paik, 2018). فعال‌شدن مسیر سیگنالینگ JNK/FOXO توسط عوامل استرس اکسیداتیو یعنی گونه‌های فعال اکسیژن (ROS)^۶ صورت می‌گیرد. گونه‌های فعال اکسیژن سبب فعال‌شدن JNK می‌شود که این فعال‌شدن منجر به فسفوریلاسیون مستقیم پروتئین FOXO در هسته می‌شود. هنگامی که FOXO فعال شود، بسیاری از فرایندهای سلولی (اتوفازی، آپوپتوز و پاک‌سازی سلولی) را تنظیم می‌کند (Brown & Webb, 2018). درک بهتر این مکانیسم‌ها برای توسعه ابزارهای جدید، برای درمان بیماری‌هایی که از طریق افزایش سن ایجاد می‌شود، حائز اهمیت است.

هیپوکامپ، یک ساختار سیستم لیمبیک است که تحت تأثیر پیری و اختلال عملکرد میتوکندری قرار می‌گیرد. این ناحیه از مغز بیش‌ترین واکنش را به ورزش، به‌ویژه تمرینات تناوبی با شدت بالا (HIIT) نشان می‌دهد. به همین دلیل در مطالعات متابولیسم و پیری توجه ویژه‌ای به آن شده است. در این راستا، ورزش شنا مزایایی مانند انجام کار بیش‌تر با مدت زمان مشابه نسبت به سایر فعالیت‌های ورزشی شامل دویدن روی تردمیل دارد. از سوی دیگر، شنا با تأثیری که بر مهار آپوپتوز و کاهش استرس اکسایشی دارد، می‌تواند نقش مهمی در کاهش آسیب و افزایش حفاظت مغز ایفا کند (MacInnis & Gibala, 2017).

همچنین، به‌تازگی مصرف غذاهای غنی از پلی‌فنول جهت محافظت در برابر بیماری‌های مرتبط با سن توصیه شده است (Wahab et al., 2017). رسوراترول یک ترکیب پلی‌فنولیک فیتوآلکسین می‌باشد که به طور طبیعی در گیاهان و میوه‌های متعددی از جمله انگور، انواع توت و بادام زمینی وجود دارد. طیف وسیعی از عملکردهای بیولوژیکی به این مولکول نسبت داده می‌شود که بیش‌تر بر تنظیم اکسیداسیون و التهاب متمرکز شده است (Szkudelski & Szkudelska, 2015). همچنین، رسوراترول آثار ضد پیری مفیدی از جمله محافظت نورونی دارد و می‌تواند افزایش فعالیت پتانسیل پس‌سیناپسی تحریکی خود به خودی در هیپوکامپ را مهار کند و در کاهش روند پیری نقش بازی کند (Chen et al., 2015; Li et al., 2018).

1. Apoptosis
2. Autophagy
3. Necrosis
4. c-Jun N-terminal kinase 3
5. Mitogen-activated protein kinase
6. Forkhead Box

یک هفته مرحله آشنایی با استخر حیوانات (قطر ۱۶۰ سانتی‌متر و ارتفاع ۸۰ سانتی‌متر) را قبل از شروع تمرین اصلی گذراندند. در روز اول، موش‌های صحرایی در استخر حیوانات با عمق آب ۵۰ سانتی‌متر و میانگین دمای 30 ± 0.5 درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند و با سرعت دلخواه به مدت پنج دقیقه شنا کردند. در جلسات بعد که موش‌های صحرایی به خوبی با استخر حیوانات آشنا شدند، برای آشنایی با نوع تمرین تناوبی، چندین بار بعد از یک دقیقه شنا به وسیله صفحه استراحت از آب بیرون آورده و دوباره در آب قرار داده شدند. بعد از گذشت ۴۸ ساعت از زمان آخرین جلسه آشنایی، رت‌ها مطابق الگوی ارائه شده گروه‌بندی شدند.

در پژوهش حاضر، برای ارزیابی شدت تمرین در جلسه اول و سوم هر هفته، لاکتات خون رت‌های دو گروه تمرینی (گروه تمرین، گروه تمرین + مکمل) بلافاصله در پایان نوبت آخر از رگ انتهای دم با استفاده از دستگاه لاکتومتر پرتابل Scout مدل EKF ساخت کشور آلمان سنجیده شد (Casimiro-Lopes et al., 2012). آنتی‌بادی پروتئین JNK3 شرکت سانتاکروز (SANTA CRUZ) ساخت کشور آمریکا و آنتی‌بادی پروتئین FOXO3a شرکت سانتاکروز (SANTA CRUZ) ساخت کشور آمریکا بود.

پروتکل تمرینی در گروه تمرین شامل ۱۴ نوبت ۲۰ ثانیه‌ای شنا با ۱۰ ثانیه استراحت بین هر نوبت را انجام دادند. برنامه ورزشی به مدت شش هفته (سه روز در هفته یک روز در میان) انجام شد. در تمرین تناوبی، بار اعمال شده در هفته اول، وزنه‌ای به میزان ۹ درصد وزن بدن هر موش بود و هر هفته ۱ درصد به آن اضافه می‌شد، به طوری که در هفته آخر (ششم) موش‌های صحرایی با وزنه‌ای به میزان ۱۴ درصد وزن بدن خود که به ریشه دم آن‌ها بسته می‌شد، شنا می‌کردند (Ramos-Filho et al., 2015). پروتکل HIIT شنا در جدول (۱) نمایش داده شده است. سرعت و مسافت شنای هر رت به وسیله دستگاه ردیابی ویدئویی هوشمند (Noldus Ethovision system, version 7) که به صفحه نمایش یک کامپیوتر متصل بود، ثبت شد.

جدول ۱. پروتکل تمرین تناوبی خیلی شدید شنا

تعداد (نوبت)	مدت (ثانیه)	مدت استراحت (ثانیه)	میزان بار (درصد وزن بدن)
۱۴	۲۰	۱۰	۹
۱۴	۲۰	۱۰	۱۰
۱۴	۲۰	۱۰	۱۱
۱۴	۲۰	۱۰	۱۲
۱۴	۲۰	۱۰	۱۳
۱۴	۲۰	۱۰	۱۴

پایگاه‌های علمی حاکی از تأثیر تمرینات ورزشی همراه با مصرف مکمل رسوراترول بر افزایش ظرفیت میتوکندری عضله اسکلتی و استقامت عضلات بوده است (Polley et al., 2016; Scribbans et al., 2014).

با وجود بررسی اثر محافظت عصبی ورزش شدید و معرف‌های آنتی‌اکسیدانی بر کاهش فرایندهای مرتبط با سن در مطالعات قبلی، مکانیسم‌های مولکولی پیری به طور کامل درک نشده‌اند. با توجه به آنچه گفته شد و نقش‌های پروتئین‌های FOXO3a و JNK3 در تنظیم مسیر اتوفاژی، مرگ نورونی و سلولی در بافت مغز، مطالعه حاضر با هدف تأثیر تمرین تناوبی شنا با شدت بالا و مکمل‌دهی رسوراترول بر محتوای پروتئین‌های JNK3 و FOXO3a در بافت مغز موش‌های صحرایی پیر، صورت گرفت.

روش‌شناسی پژوهش

پژوهش حاضر از نوع تجربی-بنیادی بود که روی ۴۰ سر موش صحرایی نژاد ویستار صورت گرفت.

در این مطالعه، ۴۰ سر موش صحرایی نر ۲۰ ماهه (سالمند) با نژاد ویستار که در دامنه وزنی ۳۵۰-۴۵۰ گرم قرار داشتند، وارد این مطالعه شدند. موش‌های صحرایی در مرکز نگهداری حیوانات دانشگاه علوم پزشکی شیراز در قفس‌هایی از جنس پلی‌کربنات (هر قفس ۳ سر) در شرایط کنترل شده محیطی با میانگین دمای 23 ± 1 درجه سانتی‌گراد، رطوبت ۵۵-۵۰ درصد و چرخه روشنایی/تاریکی ۱۲/۱۲ ساعته نگهداری شدند. موش‌های صحرایی آزادانه و طبق استاندارد مخصوص حیوانات آزمایشگاهی از غذای ویژه حیوانات آزمایشگاهی که از دانشگاه علوم پزشکی شیراز تهیه شده بود، استفاده کردند. همچنین آب مورد نیاز حیوانات به صورت آزاد در بطری ۵۰۰ میلی‌لیتری ویژه حیوانات آزمایشگاهی، در اختیار آن‌ها قرار داده شد.

نمونه مورد بررسی شامل ۴۰ سر موش صحرایی نر به طور تصادفی به ۵ گروه تقسیم شدند؛ گروه کنترل (۸ سر)، گروه تمرین (۸ سر)، گروه مکمل (۸ سر)، گروه تمرین + مکمل (۸ سر) و گروه محلول (۸ سر).

در پژوهش حاضر، قبل از اجرای پروتکل تمرینی، موش‌ها توزین شدند. وزن گیری موش‌ها ۲۴ ساعت قبل از شروع پروتکل اصلی و هفته ششم (۲۴ ساعت بعد از آخرین جلسه تمرینی و استفاده از مکمل) صورت گرفت. همه موش‌های صحرایی به مدت

جهت استخراج پروتئین‌ها از بافر RIPA (سیگما) حاوی ۰/۰۵ میلی‌مولار بافر تریس (PH برابر ۸)، ۱۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم، ۰/۱ درصد SDS، EGTA، یک درصد به اضافه ۰/۱ درصد آنتی‌پروتئاز کوکتیل (ROCHE) استفاده شد. به این ترتیب که ۱۰۰ میلی‌گرم بافت در ۵۰۰ میکرو لیتر بافر حاوی آنتی‌پروتئاز توسط یک هموژنایزر دستی هموژن شد و نیم ساعت در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد گذاشته شدند و سپس در یک سانتریفوژ یخچال‌دار (bo, sw14rfrail) در دور ۱۲۰۰۰ و ۴ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شد. مایع رویی جمع‌آوری شده و غلظت پروتئین آن با کیت تعیین‌کننده پروتئین (Bio-Rad) اندازه‌گیری شد (در طول موج ۵۹۵ نانومتر اندازه‌گیری شد) و در نهایت در ۲۰ درجه زیر صفر نگهداری شد. سپس هموژن به دست‌آمده به نسبت ۱:۱ با سمپل لودینگ بافر (۵۰mM تریس-کلرید هیدروژن، pH=۸/۶ درصد سدیم‌دودسیل سولفات، ۱۰ درصد گلیسرول، ۵ درصد بتا-مرکاپتواتانول (سیگما) و ۰/۰۰۵ درصد برموفنول آبی) مخلوط گردید، سپس نمونه‌ها به مدت ۵ دقیقه جوشانده شدند تا تمام پروتئین‌ها کاملاً دناتوره شوند.

از دستگاه مینی‌الکتروفورز عمودی ساخت BioRad, USA با منبع تامین انرژی BioRad USA، در این قسمت استفاده شد. ابتدا ژل دناتوره‌کننده آکریل‌آمید ۱۰ درصد تهیه شد. از هر نمونه به اندازه ۱۰ میکرو لیتر (تقریباً ۵۰ میکروگرم) درچاهک مربوطه قرار داده شد و سپس با برقراری جریان الکتریکی (ولتاژ ثابت) ۱۰۰ ولت و ۳۵ میلی‌آمپر پروتئین‌ها در ژل بالا حرکت کرده و به محض ورود به ژل پایین ولتاژ به ۲۰۰ افزایش داده شد. با رسیدن رنگ برم فنل بلو به انتهای ژل جریان قطع و ژل از قالب خارج شد.

لایه‌های مرتب‌شده به‌ترتیب فوق در میان صفحات شبکه قرار داده شدند. با یک نورد پلاستیکی پک درست شده حباب‌گیری شده و در داخل تانک الکتروترانسفر (ساخت شرکت BioRad, USA) قرار گرفت. بعد از پُر کردن تانک الکتروترانسفر با بافر مخصوص، صفحات شبکه غشا PVDF و ژل پلی‌آکریل‌آمید به‌صورتی در داخل آن قرار داده شد که غشا PVDF به‌صورت آند و ژل به صورت کاتد قرار گرفت. سپس جریان با ولتاژ ثابت ۹۰ ولت و شدت جریان برقرار شد. به طور متوسط زمان ۲ ساعت برای ژل آکریل‌آمید با ضخامت ۱ میلی‌متر در نظر گرفته شد. بعد از سپری‌شدن زمان فوق ضخامت

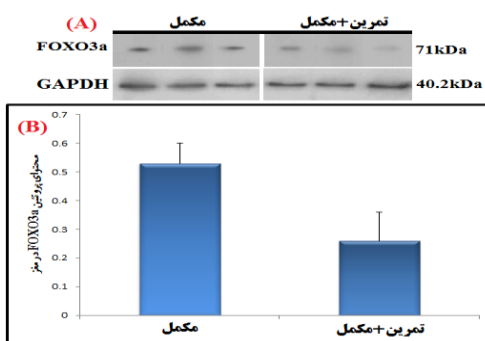
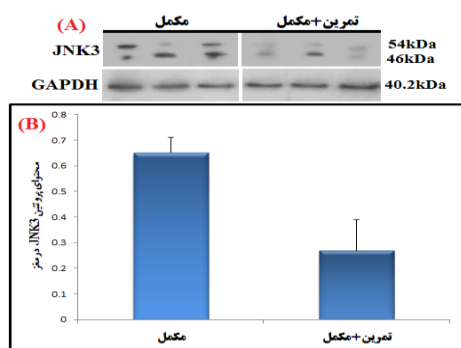
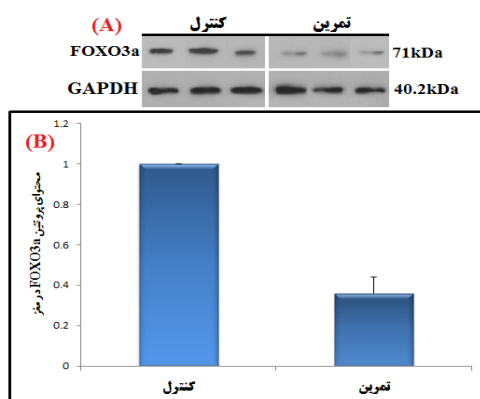
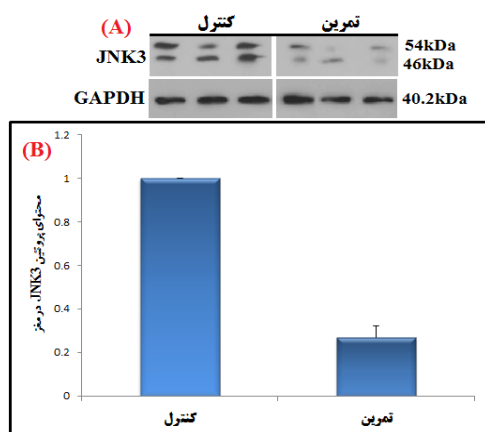
در گروه تمرین+مکمل، تمرین HIIT شنا همراه با دریافت مکمل رسوراترول، انجام شد. موش‌های صحرایی گروه مکمل و گروه تمرین+مکمل، روزانه ۱۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن خود مکمل رسوراترول (Serva-10700-Usa) محلول در کربوکسی متیل سلولز یک درصد از راه گاوژ دریافت کردند. رت‌های گروه محلول، روزانه ۱۰ سی‌سی محلول کربوکسی متیل سلولز خوراکی (G201505-13-China) یک درصد را از طریق گاوژ دریافت کردند. گاوژ موش‌های صحرایی سه گروه صبح هنگام (ساعت ۷ تا ۹) انجام می‌شد.

پس از اتمام جلسات تمرینی و مداخله دارویی، برای از بین بردن آثار حاد تمرین و متغیرهای غیرقابل کنترل استرس آزمودنی‌ها در زمان اجرای برنامه تمرینی، موش‌های صحرایی ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین، با رعایت اصول اخلاقی و با تزریق درون صفاقی ترکیبی از کتامین (۳۰ تا ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن) و زایلازین (۳ تا ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن)، بی‌هوش شدند. سپس بافت مغز (هیپوکمپ) از بدن حیوان برداشته شد و در سرم فیزیولوژیک شست‌وشو و بلافاصله با استفاده از مایع ازت منجمد و برای سنجش‌های بعدی با دمای ۸۰- فریزر شد.

متغیرهای پژوهش با استفاده از روش آزمایشگاهی وسترن-بلات اندازه‌گیری شدند. مراحل بلاتینگ در آزمایشگاه مرکز تحقیقات دانشگاه علوم پزشکی شیراز انجام شد. ابتدا پروتئین‌ها با الکتروفورز در ژل آکریل‌آمید حاوی سدیم دودسیل سولفات (SDS) تفکیک شدند. سپس، باندهای پروتئینی بر روی غشا ترانسفر شده و با روش کمی لومینسانس و با استفاده از فیلم رادیوگرافی به ظهور رسیدند. دانسیته باندها توسط نرم‌افزار Image J اندازه‌گیری شد (National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA). حساسیت این روش در حد پیکوگرم بر میلی‌لیتر می‌باشد. مواد لازم برای تهیه ژل وسترن بلاتینگ در جدول شماره ۲ نمایش داده شده است.

جدول ۲. مواد لازم برای تهیه ژل وسترن بلاتینگ

مواد لازم	ژل بالا ml	ژل پایین ml
آکریل‌آمید- بیس آکریل‌آمید (۳۰ : ۰/۸)	۰/۵	۲/۶۵
بافر ژل بالا (STACKING)	۱	-
بافر ژل پایین (RESOLVING)	-	۱
سدیم دودسیل سولفات ۱۰ درصد	۰/۰۴	۰/۰۸
آمونیم پرسولفات ۱/۵ درصد	۰/۲	۰/۴
آب دیونیزه	۲/۲۶	۳/۸۵
TEMED	۰/۰۱	۰/۰۲



شکل ۱. مقایسه محتوای پروتئین JNK3 و FOXO3a در گروه‌های مورد مطالعه (A) تصاویر وسترن بلات پروتئین‌های JNK3 و GAPDH در بافت هیپوکمپ مغز در گروه‌های مورد مطالعه؛ (B) مقادیر کمی‌شده باندهای پروتئین‌های JNK3 و FOXO3a در گروه‌های مورد مطالعه

پلی‌گلاس از تانک خارج گردید و غشا از ژل پلی‌آکریل‌آمید جدا شده سپس به‌منظور ثابت کردن پروتئین‌ها و رنگ‌آمیزی آن‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در داخل رنگ پانسو S قرار گرفتند. سپس غشا PVDF برای رنگ‌زدایی در داخل آب مقطر قرار داده شد و چندین بار آب مقطر تعویض گردید. برای اشباع کردن جایگاه‌های اشغال‌نشده غشا PVDF به مدت ۲ ساعت داخل محلول BSA- PBS-T (۸۰ میلی لیتر PBS + ۲۰ میلی لیتر ۵٪ BSA + ۰/۱ میلی لیتر توین ۲۰) قرار داده شد. سپس غشا به مدت یک شب در محلول حاوی آنتی‌بادی موردنظر پژوهش حاضر رقیق شده در محلول BSA-PBS-T قرار گرفت. پس از خارج کردن غشا از محلول فوق چهار بار به مدت ۵ دقیقه در محلول PBS-T شست‌وشو گردید. سپس به مدت یک ساعت در محلول حاوی آنتی‌بادی ضد خرگوش نشان‌دار رقیق شده در محلول BSA- PBS-T انکوبه شد. در مرحله بعد، غشا PVDF خارج شده ا محلول، سه مرتبه هر کدام به مدت ۵ دقیقه شست‌وشو داده شد. بعد از خروج غشا از PBS به مدت ۳۰ ثانیه در داخل محلول سوبسترای آماده شده ECL طبق دستورالعمل کیت (BioRad USA)، قرار گرفت و بعد از پوشاندن شدن با ورقه نازک نایلونی، فیلم رادیو گرافی در معرض نور لومینسانس ساطع‌شونده از غشا قرار داده شد. چگالی باندها با استفاده از نسخه ۱/۶۲ بسته نرم‌افزاری دانسیتومتری ImageJ، تعیین شد و پس از نرمالیزه کردن باندها با بتا-اکتین برای کمی کردن دانسیته‌ها نمودار بار پلات ترسیم شد.

کلیه روش‌های آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS (نسخه ۲۳) انجام گرفت. در بخش آمار توصیفی از شاخص‌های پراکندگی، میانگین، انحراف معیار و نمودار استفاده شد. در بخش آمار استنباطی برای تعیین نحوه‌ی توزیع داده‌ها از آزمون کولموگروف-اسمیرنوف استفاده شد. جهت پاسخ به فرضیه‌های مورد مطالعه از آزمون‌های t-مستقل و تحلیل واریانس یک‌طرفه و جهت مشخص کردن تفاوت میانگین بین گروه‌ها از آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. سطح معنی‌دار کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

یافته‌های پژوهش

تصاویر وسترن بلات پروتئین JNK3 و FOXO3a به‌عنوان لودینگ کنترل در بافت هیپوکمپ مغز در گروه‌های مختلف در شکل (۱) نمایش داده شده است.

تمرین + مکمل ($P=0/001$) تفاوت معنی‌داری مشاهده شد. همچنین، تفاوت معنی‌داری بین گروه تمرین و مکمل + تمرین به لحاظ محتوای پروتئین‌های JNK3 ($P>0/99$) و FOXO3a ($P=0/97$) مشاهده نشد.

جدول ۴. نتایج آزمون تعقیبی توکی از نظر محتوای پروتئین‌های JNK3 و FOXO3a

محتوای پروتئین FOXO3a		محتوای پروتئین JNK3		گروه‌ها	
سطح	تفاوت	سطح	تفاوت		
معنی‌داری	میانگین	معنی‌داری	میانگین		
0/90	0/04	0/98	0/02	محلول	کنترل
0/0001	0/46	0/0001	0/34	مکمل	
0/0001	0/63	0/0001	0/72	تمرین	
0/0001	0/73	0/0001	0/72	تمرین + مکمل	
0/0001	0/41	0/0001	0/32	مکمل	محلول
0/0001	0/58	0/0001	0/69	تمرین	
0/0001	0/69	0/0001	0/69	تمرین + مکمل	
0/042	0/17	0/0001	0/37	تمرین	مکمل
0/001	0/27	0/0001	0/37	تمرین + مکمل	
0/27	0/10	0/00	0/00	تمرین + مکمل	تمرین

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که همه مداخلات در مقایسه با گروه کنترل منجر به کاهش محتوای پروتئین‌های JNK3 و FOXO3a می‌گردد. شش هفته تمرین تناوبی شنا با شدت بالا و مکمل‌دهی رسوراترول محتوای پروتئین‌های JNK3 و FOXO3a در بافت مغز موش‌های صحرایی سالمند را کاهش می‌دهد. بیش‌ترین میزان تأثیر شش هفته تمرین تناوبی شنا با شدت بالا و مکمل‌دهی رسوراترول بر محتوای پروتئین‌های JNK3 و FOXO3a در گروه‌های تمرین + مکمل و تمرین به تنهایی مشاهده شد. تمرین + مکمل و تمرین به تنهایی از مکمل‌دهی رسوراترول و دریافت محلول کربوکسی متیل سلولز خوراکی به‌تنهایی تأثیر بیش‌تری بر محتوای پروتئین‌های JNK3 و FOXO3a در بافت مغز موش‌های صحرایی سالمند داشت. مکمل‌دهی رسوراترول به‌تنهایی از دریافت محلول کربوکسی‌متیل‌سلولز خوراکی تأثیر بیش‌تری داشت.

همراستا با مطالعه حاضر، اثر کاهشی شش هفته تمرین تناوبی شنا با شدت بالا و مکمل‌دهی رسوراترول بر محتوای پروتئین JNK3 در بافت مغز موش‌های صحرایی در دیگر مطالعات، تأیید شده است (Liu et al., 2020; Caldwell et al., 2020; Park et al., 2017; Um et al., 2011). Liu و همکاران (۲۰۲۰) نشان داد که تمرین مقاومتی می‌تواند

مقایسه گروه‌ها به لحاظ محتوای پروتئین‌های JNK3 و FOXO3a در جدول (۳) نمایش داده شده است. یافته‌ها حاکی از وجود تفاوت معنی‌دار بین میانگین محتوای پروتئین‌های JNK3 و FOXO3a در گروه‌ها بود ($P=0/0001$). بیش‌ترین میزان محتوای پروتئین‌های JNK3 و FOXO3a به‌ترتیب در گروه‌های کنترل، محلول، مکمل، تمرین و تمرین + مکمل مشاهده شد. میانگین محتوای پروتئین JNK3 در گروه تمرین و تمرین + مکمل یکسان بود.

جدول ۳. نتایج تحلیل واریانس یک‌طرفه محتوای پروتئین JNK3 و FOXO3a در گروه‌های تحقیق

متغیر	گروه	میانگین	انحراف استاندارد	F*	سطح معنی‌داری
محتوای پروتئین JNK3	کنترل	1/00	0/00	100/00	0/0001
	محلول	0/97	0/09		
	مکمل	0/65	0/06		
	تمرین	0/27	0/05		
محتوای پروتئین FOXO3a	تمرین + مکمل	0/27	0/12	72/29	0/0001
	کنترل	1/00	0/00		
	محلول	0/95	0/12		
	مکمل	0/53	0/07		
تمرین + مکمل	تمرین	0/36	0/08	0/10	
	تمرین + مکمل	0/26	0/10		

* آزمون آنالیز واریانس (ANOVA)

با توجه به این که نتایج آزمون آنالیز واریانس برای محتوای پروتئین‌های JNK3 و FOXO3a بین گروه‌ها معنی‌دار بود، از آزمون توکی جهت مقایسه دو به دو گروه‌ها استفاده شد. مقایسه دو به دو گروه‌ها به لحاظ محتوای پروتئین‌های JNK3 و FOXO3a در جدول (۴) نمایش داده شده است. یافته‌ها حاکی از آن بود که میانگین محتوای پروتئین‌های JNK3 ($P=0/98$) و FOXO3a ($P=0/90$) در دو گروه کنترل و محلول تفاوت معنی‌داری نداشت. با این حال، محتوای پروتئین‌های JNK3 و FOXO3a بین جفت گروه‌های کنترل و مکمل ($P<0/0001$)، کنترل و تمرین ($P<0/0001$)، محلول و مکمل ($P<0/0001$)، محلول و تمرین ($P<0/0001$)، تمرین + مکمل و تمرین ($P<0/0001$)، تمرین + مکمل و تمرین + مکمل ($P<0/0001$) تفاوت معنی‌داری داشت. بین گروه‌های مکمل و تمرین و همچنین مکمل و تمرین + مکمل از نظر محتوای پروتئین JNK3 تفاوت معنی‌داری مشاهده شد ($P<0/0001$). محتوای پروتئین FOXO3a بین گروه‌های مکمل و تمرین ($P=0/42$) و مکمل و

به‌عنوان یک استراتژی ورزش جایگزین برای تأخیر در پیشرفت بیماری آلزایمر در نظر گرفته شود و پروتئین‌های درگیر در اتوفازای سلول‌های مغزی به تمرینات ورزشی مانند مقاومتی و هوازی تغییر مثبتی نشان می‌دهند. آن‌ها نشان دادند که تمرین با شدت بالا منجر به کاهش قابل‌توجه محتوای پروتئین JNK می‌گردد. یافته‌های پژوهش حاضر نیز اثر تمرین ورزشی همراه با مکمل‌دهی رسوراترول را در جلوگیری از اتوفازای در هیپوکمپ تأیید کرد. هیپوکمپ یکی از جایگاه‌های حافظه و عملکرد شناختی است. در آلزایمر، عدم فعالیت بدنی، عامل خطر مهمی در کاهش شناخت است. در مقابل تمرین‌های فیزیکی می‌تواند یک اثر محافظتی در برابر زوال شناختی باشد. برخی شواهد نشان داده‌اند که فعالیت ورزشی منجر به کاهش تخریب شناختی در بیماران مبتلا به زوال عقل می‌گردد (Düzel et al., 2016). اثر بخشی فعالیت ورزشی بر مشکلات شناختی احتمالاً به‌دلیل افزایش فعالیت مغز در ناحیه هیپوکامپ است. تأثیر تمرین ورزشی استقامتی بر کاهش محتوای پروتئین JNK در بافت مغز موش‌های صحرایی مبتلا به بیماری هانتینگتون در مطالعه Caldwell و همکاران (۲۰۲۰) نیز تأیید شد.

در همین راستا، مطالعه Park و همکاران (۲۰۱۷) نشان دادند که تمرین ورزشی با شدت کم و متوسط، منجر به کاهش محتوای پروتئین JNK در مقایسه با گروه کنترل می‌گردد. بنابراین، تمرینات ورزشی می‌تواند منجر به کاهش مسیر آپوپتوز در هیپوکامپ مغز شود. یک مطالعه دیگر تأثیر ۱۲ هفته تمرین ورزشی با شدت کم را بر محتوای پروتئین JNK در هیپوکامپ موش‌های مبتلا به آلزایمر تأیید کرد و نشان داد که تمرین ورزشی می‌تواند درمانی بالقوه برای مرگ مسیر عصبی فراهم کند (Um et al., 2011). این امر نشان‌دهنده سودمندی انواع مختلف فعالیت‌های ورزشی در افراد مسن است که منجر به بالابردن سطح آدارک، شناخت و کاهش عوارض بیماری‌هایی مانند آلزایمر و هانتینگتون می‌گردد. تمرینات ورزشی می‌تواند با مهار مسیر اتوفازای مرتبط به پروتئین JNK از مرگ سلولی نوروئ‌های هیپوکمپ جلوگیری کند. بنابراین، ورزش هوازی ممکن است در پیشگیری یا درمان آلزایمر سودمند باشد.

سیگنالینگ JNK3 یکی از مسیرهایی است که در از دست‌رفتن نوروئ‌های عصبی مغزی شرکت دارند و می‌تواند از طریق گونه‌های واکنشی اکسیژن (ROS) فعال شود؛ فعال شدن این پروتئین منجر به فعال شدن پروتئین دیگر از خانواده FOXO

به نام پروتئین FOXO3a می‌شود و در نتیجه می‌تواند باعث اتوفازای یا مرگ سلول شود (Brown & Webb, 2018). مطالعه حاضر نشان داد که شش هفته تمرین تناوبی شنا با شدت بالا و مکمل‌دهی رسوراترول بر محتوای پروتئین FOXO3a در بافت مغز موش‌های صحرایی سالمند تأثیر دارد. در جستجوی پایگاه داده‌ها پژوهشی که بر روی محتوای پروتئین FOXO3a در بافت مغز باشد مشاهده نشد و بیش‌تر پژوهش‌های بر روی بافت قلب و عضله اسکلتی بود. در این راستا، مطالعه Zeng و همکاران (۲۰۲۰) نشان داد که مداخلات ورزشی فسفوریلاسیون Akt و FoxO3a را کاهش می‌دهد. بنابراین، اتوفازای ناشی از ورزش با تعدیل مسیرهای سیگنال Akt/FoxO3a برای درمان سارکوپنی مفید است. در بین ورزش‌های مورد‌ارزیابی، ورزش مقاومتی بهترین کارایی مداخله‌ای را نشان داد. یافته‌های یک مطالعه دیگر حاکی از آن بود که تمرین مقاومتی همراه با تزریق سیس پلاتین منجر به کاهش سطح فاکتورهای مرتبط با اتوفازای BNIP3، Beclin 1 و FOXO3a در عضلات گاستروکنمیوس و سولئوس می‌گردد. هر دو ورزش نردبانی و هوازی به‌طورمستقیم با تعدیل مسیرهای سیگنالینگ AKT/PGC1- α /FOXO3a صرف‌نظر از نوع عضله اسکلتی، بر تحلیل عضلات تأثیر گذاشت (Bae et al., 2021). در پژوهش جوکار و همکاران (۲۰۲۱) نیز هشت هفته تمرین HIIT با کاهش محتوای پروتئین‌های FOXO3a منجر به مهار مسیر اتوفازای شد، بنابراین استفاده از تمرینات HIIT می‌تواند برای آزمودنی‌های دیابتی که مستعد کاردیومیوپاتی دیابتی هستند، مفید باشد.

این یافته‌ها نیز، صحت نتیجه مطالعه حاضر را تأیید می‌کند. در هر دو پژوهش تمرینات تناوبی با شدت بالا منجر به کاهش پروتئین FOXO3a شد. شایان ذکر است که با وجود تفاوت‌های در دو پژوهش از جمله نوع آزمودنی، مکان اندازه‌گیری و طریقه انجام تمرین HIIT نتایج مشابهی مشاهده شده است و به نظر می‌رسد که کاهش پروتئین FOXO3a در نتیجه تمرینات ورزشی می‌تواند از اتوفازای در مغز و قلب جلوگیری کند.

با این حال، مطالعه شیبانی و همکاران (۲۰۱۸) نشان داد که سطوح سطوح FOXO3a و MAFbx و همچنین بیان ژن MuRF1 بعد از تمرین افزایش و بعد از دوره بی‌تمرینی کاهش معناداری داشت. با این حال، مطالعه مذکور روی بافت اسکلتی عضلانی صورت گرفته بود و این تناقض را می‌توان به مکان اندازه‌گیری فاکتور موردنظر نسبت داد. همچنین، آزمودنی‌های

نورونی را از خلال مسیر پروتئین FAS و به همراه پروتئین JNK القا می‌کند که مهار آن از مرگ نورون‌ها جلوگیری می‌کند (Fereidoni & Jahanbakhshi, 2015). در همین راستا، نتایج مطالعه Zhu و همکاران (۲۰۲۴) نشان داد که تجویز روزانه سوراترول از طریق فعال کردن آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی وابسته به SIRT3/FOXO3a پس از سکته قلبی، اثرات محافظتی بر سیستم عروقی دارد و می‌تواند میزان آسیب ایسکمیک پس از سکته قلبی را به شدت کاهش دهد. همچنین، Sun و همکاران (۲۰۲۱) نشان دادند که سوراترول می‌تواند مسیر سیگنالینگ AKT/FOXO3a را در برابر استرس اکسیداتیو بهبود بخشد (Qin et al., 2021). با این حال، تاکنون مطالعه‌ای که مشابه مطالعه حاضر به بررسی مکمل رسوراترول بر محتوای پروتئین‌های JNK3 و FOXO3a در بافت مغز پرداخته باشد، یافت نشد. به همین دلیل، انجام مطالعات بیش‌تر در این راستا مورد توصیه است تا با در نظر گرفتن نتایج به دست آمده، بتوان در خصوص رد یا تأیید فرضیه‌های این مطالعه نظری قطعی داد. به طور کلی، به نظر می‌رسد که فعالیت ورزشی شنا با افزایش پروتئین‌های مهم موجب افزایش نورون‌زایی در سلول‌های گانگلیون شده و جمعیت آنان را افزایش می‌دهد و با افزایش نورون‌زایی می‌تواند در شرایط پاتولوژیکی تأثیر مثبتی بر حیات و جمعیت سلول‌های عصبی داشته باشد.

تمرین‌های شنا با شدت بالا و مکمل‌دهی رسوراترول منجر به کاهش محتوای پروتئین‌های JNK3 و FOXO3a در بافت مغز موش‌های صحرایی می‌شود. به نظر می‌رسد که کاهش این پروتئین‌ها از اتوفاجی یا مرگ سلول در هیپوکمپ جلوگیری می‌کند. مهار مسیر اتوفاجی می‌تواند منجر به افزایش درک شناختی، کاهش آلزایمر، افزایش حافظه در افراد سالمند گردد.

تشکر و قدردانی

از کلیه افراد حیوان‌خانه دانشگاه علوم پزشکی شیراز که در کار تکنیکی همکاری نموده‌اند، تشکر و قدردانی می‌گردد.

تعارض منافع

نویسندگان هیچ‌گونه تعارض احتمالی منافع مثل دریافت وجه در قبال مقاله، یا به دست آوردن موجودی یا سهم را که ممکن است از طریق انتشار مقاله به دست بیاید و یا از دست بروند، ندارند.

پژوهش شیبانی و همکاران (۲۰۱۸) روی موش‌های جوان صورت گرفت، درحالی‌که مطالعه حاضر متمرکز بر موش‌های سالمند بود. دیگر یافته مطالعه حاضر حاکی از اثربخشی هر دو عامل تمرین ورزشی و مصرف مکمل رسوراترول بر محتوای پروتئین JNK3 و FOXO3a بود. پلی‌فنول‌ها آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی می‌باشند که دارای اثرات مفیدی در آلزایمر می‌باشند. این ترکیبات اثرات بیولوژیکی وسیعی دارند که عبارتند از جلوگیری از انتقال فلزات، غیرفعال‌سازی رادیکال‌های آزاد، جلوگیری از واکنش‌های التهابی، تنظیم آنزیم‌های مختلف، پیام‌رسانی داخل سلولی و بیان ژن (Reddy et al., 2020). برخی شواهد نیز نشان داده‌اند که پلی‌فنل‌ها نیز می‌توانند از تشکیل آمیلوئید بتا و از پیشرفت زوال عقل جلوگیری نمایند (Jurcau, 2021). مکانیسم اثر رسوراترول بر روند پیری و جلوگیری از آلزایمر مشابه برنامه محدودیت کالری است که در آن پروتئین‌های کلیدی به‌عنوان یکی از تنظیم‌کننده‌های اصلی مکانیسم پیری در نظر گرفته می‌شوند (Yessenkyzy et al., 2020; turner et al., 2015). مرگ سلول‌های هیپوکمپ منجر به آلزایمر و پایین آمدن سطح شناختی و هوشیاری در افراد سالمند می‌شود. یافته‌های ما نشان داد که رسوراترول منجر به کاهش این پروتئین‌ها و به دنبال آن کاهش مرگ نورون‌ها و سلول‌های هیپوکمپ مغز می‌شود.

همچنین، رسوراترول باعث کاهش سطوح آمیلوئید-بتا و نشانگرهای التهابی در بیماران مبتلا به بیماری آلزایمر می‌شود. رسوراترول پلاکت‌های آسیب‌دیده مغزی و رادیکال‌های آزاد مرتبط با ابتلا به بیماری آلزایمر را خنثی می‌کند. جریان خون به مغز را نیز افزایش داده و به بهبود پاسخ‌های ذهنی کمک می‌کند (Ahmed et al., 2017). رسوراترول با اثر بر نورون‌ها قادر است میزان بیان SIRT1 را افزایش داده و در نتیجه نورون‌ها را از آسیب‌های اکسیداتیو حفاظت کند (Rogina & Tissenbaum, 2024). یکی دیگر از مسیرهای احتمالی درگیر در پیشبرد حیات نورون‌ها در بیماری‌های عصبی مهار یا فعال‌شدن پروتئین FOXO است. افزایش بیان SIRT1 توسط رسوراترول در هسته نورون‌های بیماران آلزایمری دو نقش مهم می‌تواند داشته باشد، اول این که فعال‌شدن SIRT1 منجر به داستیل‌شدن پروتئین p53 و مهار آن می‌گردد در نتیجه از مرگ آپوپتوتیک در نورون‌ها ممانعت کرده و همچنین باعث مهار فعالیت آپوپتوتیک پروتئین‌های FOXO شده و حیات نورونی را افزایش می‌دهد. در نورون‌های حرکتی پروتئین FOXO3a، مرگ

IR.IAU.BEHBAHAN.REC.1404.050 در کمیته اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی، واحد بهبهان تأیید شده است. تیم دامپزشکی، مراقبت‌های لازم از حیوانات تحت تیمار را انجام داد و از ورود حیوانات ناتوان به مطالعه جلوگیری شد. همچنین در طول مطالعه تمامی حیوانات از دسترسی آزاد به آب و غذا برخوردار بودند.

ملاحظات اخلاقی

تمامی پروتکل‌های محتوای مداخلات درمانی بر روی حیوانات آزمایشگاهی مطابق با دستورالعمل‌های انستیتوی بین‌المللی سلامت و ضوابط اخلاق مطالعه، با رعایت اصول اعلامیه هلسینکی منطبق بر اصول اخلاق زیستی صورت گرفت. پروپوزال این طرح با کد

منابع

- Castelli, V., Benedetti, E., Antonosante, A., Catanesi, M., Pitari, G., Ippoliti, R., Cimini, A., & d'Angelo, M. (2019). Neuronal cells rearrangement during aging and neurodegenerative disease: Metabolism, oxidative stress and organelles dynamic. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, 12, 132. DOI: 10.3389/fnmol.2019.00132
- Bektas, A., Schurman, S. H., Sen, R., & Ferrucci, L. (2018). Aging, inflammation and the environment. *Experimental Gerontology*, 105, 10–18. DOI: 10.1016/j.exger.2017.12.015
- Kandlur, A., Satyamoorthy, K., & Gangadharan, G. (2020). Oxidative stress in cognitive and epigenetic aging: A retrospective glance. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, 13, 41. DOI: 10.3389/fnmol.2020.00041
- Sies, H., & Jones, D. P. (2020). Reactive oxygen species (ROS) as pleiotropic physiological signalling agents. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 21(7), 363–383. DOI: 10.1038/s41580-020-0230-3
- Jardim, F. R., de Rossi, F. T., Nascimento, M. X., da Silva Barros, R. G., Borges, P. A., Prescilio, I. C., & de Oliveira, M. R. (2018). Resveratrol and brain mitochondria: A review. *Molecular Neurobiology*, 55(3), 2085–2101. DOI: 10.1007/s12035-017-0448-z
- Solinas, G., & Baccattini, B. (2017). JNK at the crossroad of obesity, insulin resistance, and cell stress response. *Molecular Metabolism*, 6(2), 174–184. DOI: 10.1016/j.molmet.2016.12.001
- Weng, Q., Liu, Z., Li, B., Liu, K., Wu, W., & Liu, H. (2016). Oxidative stress induces mouse follicular granulosa cells apoptosis via JNK/FoxO1 pathway. *PLoS ONE*, 11(12), e0167869. DOI: 10.1371/journal.pone.0167869
- Mishra, P., & Günther, S. (2018). New insights into the structural dynamics of the kinase JNK3. *Scientific Reports*, 8, 9435. DOI: 10.1038/s41598-018-27867-3
- Wang, Y., Zhou, Y., & Graves, D. T. (2014). FOXO transcription factors: Their clinical significance and regulation. *BioMed Research International*, 2014, 925350. DOI: 10.1155/2014/925350
- Xin, Z., Ma, Z., Jiang, S., Wang, D., Fan, C., Di, S., Hu, W., & Sun, J. (2017). FOXOs in the impaired heart: New therapeutic targets for cardiac diseases. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)—Molecular Basis of Disease*, 1863(2), 486–498. DOI: 10.1016/j.bbdis.2016.11.023
- Santo, E. E., & Paik, J. (2018). FOXO in neural cells and diseases of the nervous system. *Current Topics in Developmental Biology*, 127, 105–118. DOI: 10.1016/bs.ctdb.2017.10.002
- Brown, A. K., & Webb, A. E. (2018). Regulation of FOXO factors in mammalian cells. *Current Topics in Developmental Biology*, 127, 165–192. DOI: 10.1016/bs.ctdb.2017.10.006
- MacInnis, M. J., & Gibala, M. J. (2017). Physiological adaptations to interval training and the role of exercise intensity. *The Journal of Physiology*, 595(9), 2915–2930. DOI: 10.1113/JP273196
- Wahab, A., Gao, K., Jia, C., Zhang, F., Tian, G., Murtaza, G., & Chen, J. (2017). Significance of resveratrol in clinical management of chronic diseases. *Molecules*, 22(8), 1329. DOI: 10.3390/molecules22081329
- Szkudelski, T., & Szkudelska, K. (2015). Resveratrol and diabetes: From animal to human studies. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)—Molecular Basis of Disease*, 1852(6), 1145–1154. DOI: 10.1016/j.bbdis.2014.10.013
- Chen, T., Li, J., Liu, J., Li, N., Wang, S., Liu, H., Mao, H., Yu, H., & Chen, Y. (2015). Activation of SIRT3 by resveratrol ameliorates cardiac fibrosis and improves cardiac function via the TGF- β /Smad3 pathway. *American Journal of Physiology—Heart and Circulatory Physiology*, 308(5), H424–H434. DOI: 10.1152/ajpheart.00454.2014
- Li, Y. R., Li, S., & Lin, C. C. (2018). Effect of resveratrol and pterostilbene on aging and longevity. *BioFactors*, 44(1), 69–82. DOI: 10.1002/biof.1400
- Polley, K. R., Jenkins, N., O'Connor, P., & McCully, K. (2016). Influence of exercise training with resveratrol supplementation on skeletal muscle mitochondrial capacity. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism*, 41(1), 26–32. DOI: 10.1139/apnm-2015-0370
- Scribbans, T. D., Ma, J. K., Edgett, B. A., Vorobej, K. A., Mitchell, A. S., Zelt, J. G., & Quadrilatero, J. (2014). Resveratrol supplementation does not augment performance adaptations or fibre-type-specific responses to high-intensity interval training in humans. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism*, 39(11), 1305–1313. DOI: 10.1139/apnm-2014-0070

- Casimiro-Lopes, G., Ramos, D., Sorenson, M. M., & Salerno, V. P. (2012). Redox balance and mitochondrial glycerol phosphate dehydrogenase activity in trained rats. *European Journal of Applied Physiology*, 112(11), 3839–3846. DOI: 10.1007/s00421-012-2368-y
- Ramos-Filho, D., Chicaybam, G., de-Souza-Ferreira, E., Guerra Martinez, C., Kurtenbach, E., Casimiro-Lopes, G., & others. (2015). High intensity interval training (HIIT) induces specific changes in respiration and electron leakage in the mitochondria of different rat skeletal muscles. *PLoS ONE*, 10(6), e0131766. DOI: 10.1371/journal.pone.0131766
- Liu, Y., Chu, J. M. T., Yan, T., Zhang, Y., Chen, Y., Chang, R. C. C., & others. (2020). Short-term resistance exercise inhibits neuroinflammation and attenuates neuropathological changes in 3xTg Alzheimer's disease mice. *Journal of Neuroinflammation*, 17(1), 4. DOI: 10.1186/s12974-019-1653-7
- Caldwell, C. C., Petzinger, G. M., Jakowec, M. W., & Cadenas, E. (2020). Treadmill exercise rescues mitochondrial function and motor behavior in the CAG140 knock-in mouse model of Huntington's disease. *Chemico-Biological Interactions*, 315, 108907. DOI: 10.1016/j.cbi.2019.108907
- Park, J. K., Hong, Y. P., & Lee, S. J. (2017). Effects of exercise on mature or precursor brain-derived neurotrophic factor pathways in ovariectomized rats. *Molecular Medicine Reports*, 16(1), 435–440. DOI: 10.3892/mmr.2017.6614
- Um, H.-S., Kang, E.-B., Koo, J.-H., Kim, H.-T., Kim, E.-J., Yang, C.-H., & others. (2011). Treadmill exercise represses neuronal cell death in an aged transgenic mouse model of Alzheimer's disease. *Neuroscience Research*, 69(2), 161–173. DOI: 10.1016/j.neures.2010.10.004
- Düzel, E., van Praag, H., & Sendtner, M. (2016). Can physical exercise in old age improve memory and hippocampal function? *Brain*, 139(3), 662–673. DOI: 10.1093/brain/awv407
- Zeng, Z., Liang, J., Wu, L., Zhang, H., Lv, J., & Chen, N. (2020). Exercise-induced autophagy suppresses sarcopenia through Akt/mTOR and Akt/FoxO3a signal pathways and AMPK-mediated mitochondrial quality control. *Frontiers in Physiology*, 11, 583478. DOI: 10.3389/fphys.2020.583478
- Bae, J. H., Seo, D. Y., Lee, S. H., Shin, C., Jamrasi, P., Han, J. J., & others. (2021). Effects of exercise on AKT/PGC1- α /FOXO3a pathway and muscle atrophy in cisplatin-administered rat skeletal muscle. *The Korean Journal of Physiology & Pharmacology*, 25(6), 585–592. DOI: 10.4196/kjpp.2021.25.6.585
- Jokar, M., & Sherafati Moghadam, M. (2019). High intensity interval training inhibits autophagy in the heart tissue of type 2 diabetic rats by decreasing the content of FOXO3a and Beclin-1 proteins. *Iranian Journal of Diabetes and Metabolism*, 18(6), 292–299. [Article in Persian]
- Sheibani, S., Daryanoosh, F., Salesi, M., Koushkie Jahromi, M., & Tanideh, N. (2018). The effect of high-intensity training and detraining on FOXO3a/MuRF1 and MAFbx levels in soleus muscle of male rats. *Ebnesima*, 20(1), 31–39. [Article in Persian]
- Reddy, V. P., Aryal, P., Robinson, S., Rafiu, R., Obrenovich, M., & Perry, G. (2020). Polyphenols in Alzheimer's disease and in the gut–brain axis. *Microorganisms*, 8(2), 199. DOI: 10.3390/microorganisms8020199
- Jurcau, A. (2021). The role of natural antioxidants in the prevention of dementia—Where do we stand and future perspectives. *Nutrients*, 13(2), 282. DOI: 10.3390/nu13020282
- Yessenkyzy, A., Saliev, T., Zhanaliyeva, M., Masoud, A.-R., Umbayev, B., Sergazy, S., & others. (2020). Polyphenols as caloric-restriction mimetics and autophagy inducers in aging research. *Nutrients*, 12(5), 1344. DOI: 10.3390/nu12051344
- Turner, R., Thomas, R., Craft, S., van Dyck, C., Mintzer, J., Reynolds, B., & others. (2015). Resveratrol is safe and well-tolerated in individuals with mild-moderate dementia due to Alzheimer's disease (S33.009). *Neurology*, 84(14_Supplement), S33.009. DOI: 10.1212/WNL.0000000000002035
- Ahmed, T., Javed, S., Javed, S., Tariq, A., Šamec, D., Tejada, S., Nabavi, S.F., Braid, N., & Nabavi, S.M. (2017). Resveratrol and Alzheimer's disease: Mechanistic insights. *Molecular Neurobiology*, 54(4), 2622–2635. DOI: 10.1007/s12035-016-9839-9
- Rogina, B., & Tissenbaum, H. A. (2024). SIRT1, resveratrol and aging. *Frontiers in Genetics*, 15, 1393181. DOI: 10.3389/fgene.2024.1393181
- Fereidoni, M., & Jahanbakhshi, S. (2015). A review of resveratrol effects on longevity.
- Zhu, X., Ma, E., Ge, Y., Yuan, M., Guo, X., Peng, J., Zhu, W., Ren, D.N., & Wo, D. (2024). Resveratrol protects against myocardial ischemic injury in obese mice via activating SIRT3/FOXO3a signaling pathway and restoring redox homeostasis. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 174, 116476.
- Qin, H., Zhang, H., Zhang, X., Zhang, S., Zhu, S., & Wang, H. (2021). Resveratrol attenuates radiation enteritis through the SIRT1/FOXO3a and PI3K/AKT signaling pathways. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 554, 199–205.
- Zhu, X., Ma, E., Ge, Y., Yuan, M., Guo, X., Peng, J., Zhu, W., Ren, D.-N., & Wo, D. (2024). Resveratrol protects against myocardial ischemic injury in obese mice via activating SIRT3/FOXO3a signaling pathway and restoring redox homeostasis. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 174, 116476. DOI: 10.1016/j.biopha.2024.116476
- Qin, H., Zhang, H., Zhang, X., Zhang, S., Zhu, S., & Wang, H. (2021). Resveratrol attenuates radiation enteritis through the SIRT1/FOXO3a and PI3K/AKT signaling pathways. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 554, 199–205. DOI: 10.1016/j.bbrc.2021.03.122