



## تأثیر ۴ هفته تمرین هوازی بر عملکرد شناختی و پویایی میتوکندریایی در بافت هیپوکمپ رت‌های نورویستار مبتلا به بیماری آلزایمر

احمد فاضلی ثانی<sup>۱</sup>، حسن متین همائی<sup>۱\*</sup>، عبدالعلی بنائی فر<sup>۲</sup>

تاریخ چاپ: ۱۴۰۱/۴/۱

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۲/۳

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۷/۵

### چکیده

**هدف:** هدف از مطالعه حاضر، بررسی اثر ۴ هفته تمرین هوازی بر عملکرد شناختی و پویایی میتوکندریایی در بافت هیپوکمپ رت‌های نورویستار مبتلا به بیماری آلزایمر بود.

**روش کار:** بدین منظور، تعداد ۲۱ سر رت نور بالغان نژاد ویستار ۲۰ ماهه به روش تصادفی ساده به ۳ گروه بیماری آلزایمر (تعداد = ۷ سر)، گروه بیماری آلزایمر + ورزش هوازی (تعداد = ۷ سر) و گروه کنترل (تعداد = ۷ سر) تقسیم شدند. القای بیماری آلزایمر از طریق تزریق داخل هیپوکمپی Aβ<sub>42</sub> (هر طرف ۱ میکرولیتر) صورت پذیرفت. هفت روز بعد از جراحی، گروه ورزش ۴ هفته تمرین دویدن روی نوارگردان (۵ روز در هفته با سرعت ۱۰ الی ۱۵ متر بر دقیقه) را اجرا نمودند. چهل و هشت ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی حیوانات تحت آزمون رفتاری قرار گرفتند. بیست و چهار ساعت بعد از آزمون رفتاری تمامی رت‌ها کشته شدند و بافت هیپوکمپ استخراج شد. بیان mRNA ژن‌های OPA1، Mfn2 و Drp1 با استفاده از روش RealTime-PCR مورد سنجش قرار گرفت. برای تجزیه و تحلیل آماری از آزمون تحلیل واریانس یک طرفه استفاده شد.

**یافته‌ها:** نتایج نشان داد که عملکرد یادگیری و حافظه فضایی و همچنین میزان بیان ژن‌های OPA1 و Mfn2 در حیوانات گروه بیماری آلزایمر در مقایسه با گروه کنترل کاهش یافت ( $p < 0.05$ )، در حالی که میزان بیان ژن Drp1 افزایش نشان داد ( $p < 0.05$ ). تمرین هوازی در حیوانات بیمار عملکرد یادگیری و حافظه فضایی را بهبود بخشید ( $p < 0.05$ ) و میزان بیان ژن‌های OPA1 و Mfn2 هیپوکمپ را افزایش ( $p < 0.05$ ) و میزان بیان ژن Drp1 را در مقایسه با گروه بیماری آلزایمر کاهش داد ( $p < 0.05$ ).

**نتیجه‌گیری:** به طور کلی، به نظر می‌رسد که تمرین هوازی می‌تواند از طریق تعدیل پویایی میتوکندریایی غیرطبیعی، عملکرد یادگیری و حافظه فضایی را در شرایط بیماری آلزایمر بهبود بخشد.

**واژگان کلیدی:** بیماری آلزایمر، هیپوکمپ، تمرین هوازی

۱. گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد تهران مرکزی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران، ۲. گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد

تهران جنوب، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

\*نشانی الکترونیک نویسنده مسئول: hasanmatinhomae@gmail.com

## مقدمه

میتوکندریایی را تنظیم می‌کنند و در نهایت به مورفولوژی میتوکندریایی در پاسخ به نیازهای انرژی سلول شکل می‌دهند که این امر به طور مستقیم تکامل و حفظ سیناپس-ها را تحت تأثیر قرار می‌دهد (۴). تقسیم میتوکندریایی بیش از حد در مدل‌های سلولی و حیوانی بیماری آلزایمر و همچنین، در افراد مبتلا به این بیماری گزارش شده است (۱۶).

با توجه به نقش اساسی استرس اکسیداتیو در پیشرفت بیماری آلزایمر و اختلال عملکرد میتوکندری، فرایند پویایی میتوکندریایی در مغز و به طور ویژه در هیپوکمپ که بیشترین تأثیر را از بیماری آلزایمر می‌پذیرد، توجه مطالعات زیادی را به خود جلب کرده است. وانگ و همکاران<sup>۵</sup> (۲۰۰۹) نشان دادند که بیان پروتئین‌های مرتبط با همجوشی میتوکندری در مغز بیماران مبتلا به آلزایمر نسبت به افراد عادی همسن کاهش می‌یابد و این حالت به ویژه در ناحیه هیپوکمپ بیشتر است (۲۶). علاوه، نشان داده شده است که در رت‌های آلزایمری از ۴ تا ۲۴ ماهگی، تغییری محسوس از همجوشی میتوکندریایی به سمت شکافت صورت می‌گیرد و این امر با افزایش محتوای Drp1 و کاهش نسبت Mfn2 / Drp1 تأیید می‌شود. در واقع، عدم تعادل نسبت Mfn2 / Drp1 یکی از ویژگی‌های مشترک مدل‌های مختلف

بیماری آلزایمر با رسوب پلاک‌های آمیلوئیدی خارج سلولی، کلاف‌های عصبی داخل سلولی متشکل از پروتئین تائو هایپرفسفریله، از دست دادن سیناپس‌ها و مرگ سلول‌های عصبی مشخص می‌شود (۱۹). تغییرات قابل توجه متابولیکی که در مراحل اولیه بیماری آلزایمر رخ می‌دهد، نشان‌دهنده آن است که متابولیسم غیرطبیعی انرژی زمینه‌ساز بروز این بیماری است (۲۰). تولید انرژی مداوم در نورون‌ها برای فعالیت‌های سیناپسی و بقای آنها ضروری می‌باشد. مطالعات اخیر نشان داده‌اند که تولید انرژی به توانایی میتوکندری‌ها برای قرار گرفتن تحت چرخه‌های شکافت و همجوشی بستگی دارد که در کل با عنوان پویایی میتوکندریایی نامیده می‌شود (۲۸). شکافت و همجوشی میتوکندریایی عمدتاً به عملکرد صحیح پروتئین مرتبط با داینامین GTP از سیتوپلاسمی ۱<sup>۱</sup> (Drp1)، پروتئین‌های تخصص‌یافته میتوفیوزین‌های GTP از مرتبط با داینامین ۲<sup>۲</sup> (MFN) و پروتئین آتروفی بصری ۳<sup>۳</sup> (OPA-1) بستگی دارد (۲۸). همچنین، این پروتئین‌ها سوار کردن<sup>۴</sup> و ثبات مجموعه‌های زنجیره تنفسی از جمله بازسازی کریستای

1. Cytoplasmic GTPase dynamin related protein 1
2. Dynamin-related GTPases mitofusins specialized proteins
3. Optic atrophy protein 1
4. Assemble

بیشتر در نواحی هیپوکمپ و شکنج دندانده-ای<sup>۳</sup> مشاهده می‌شود و این اثرات مفید شامل افزایش جریان خون و اندازه هیپوکمپ در انسان‌ها، تغییرات مورفولوژیکی در دندریت و برآمدگی‌های دندریتی<sup>۴</sup>، افزایش پلاستیسیته سیناپسی و نورونز در حیوانات با شیوه‌های مختلف فعالیت ورزشی می‌باشد (۱۱).

تمرینات ورزشی باعث افزایش بیونز میتوکندری در عضلات اسکلتی شده و از طریق فعال کردن مسیرهای سیگنالینگ بالادست مانند گیرنده فعال‌کننده تکثیر پروکسی‌زوم گاما هم‌فعال‌ساز ۱-آلفا<sup>۵</sup> (PGC- $\alpha$ ) و عامل رونویسی میتوکندری  $A^6$  (TFAM)، اکسیداسیون لیپیدها را بهبود می‌بخشد (۱۲). با این حال، بتا‌اکسیداسیون در مغز زیاد مورد توجه قرار نمی‌گیرد، زیرا سلول‌های عصبی وابستگی بیشتری به متابولیسم هوازی گلوکز نسبت به سلول‌های محیطی نشان می‌دهند (۲۱). بنابراین، اثرات ورزش بر عملکرد میتوکندری‌های مغز ممکن است با اثرات آن در عضلات و سایر بافت‌های محیطی متفاوت باشد.

بر اساس جستجوهای ما تاکنون مطالعات اندکی نقش ورزش بر پویایی میتوکندریایی را در مغز مورد بررسی قرار داده‌اند. گاسدون

انحطاط عصبی بشمار می‌رود (۲۴). بارتولوم و همکاران<sup>۱</sup> (۲۰۱۸) نشان دادند سلول‌های SH-SY5Y که در معرض آمیلوئید بتا ۴۲ ( $A\beta_{42}$ ) قرار گرفته بودند، کاهش سطوح پروتئین‌های همجوشی میتوکندریایی (Opa1 و Mfn2, Mfn1) و افزایش سطوح پروتئین شکافت میتوکندریایی (Drp1) را نشان می‌دهند. همچنین، در این مطالعه کاهش سطوح OPA1 و افزایش سطوح Drp1 نیز در هیپوکمپ موش‌های مدل APP/PS1 ۶ ماهه گزارش شد (۳). تغییرات در پویایی میتوکندریایی در بیماری آلزایمر ممکن است ناشی از افزایش استرس نیتروزا<sup>۲</sup> باشد که به وسیله  $A\beta$  ایجاد می‌شود. این حالت می‌تواند تعادل بین شکافت و همجوشی میتوکندریایی به نفع شکافت میتوکندری را تغییر داده و به دنبال آن کاهش میتوکندری‌ها از آکسون‌ها و دندریت‌ها و متعاقباً از دست دادن سیناپس-ها را موجب شود (۷).

از سوی دیگر، نشان داده شده است که فعالیت ورزشی به ویژه فعالیت ورزشی هوازی اثرات مفیدی بر سلامت مغز و عملکرد شناختی دارد و اثرات مخرب بیماری‌های نورولوژیک مانند آلزایمر، پارکینسون و افسردگی را کاهش می‌دهد (۱۱). اثرات مفید فعالیت ورزشی بر مغز

3. Dentate Gyrus (DG)

4. Dendritic spines

5. Peroxisome proliferation-activated receptor gamma co-activator 1 $\alpha$

6. Mitochondrial transcription factor A

1. Bartolome et al.

۲. اکسید نیتریک (NO) نیتروسیلاسیون تیول‌های

حساس به ردوکس ایجاد شده به وسیله نیتریک

اکساید

و همکاران<sup>۱</sup> (۲۰۱۷) گزارش کردند که ۳ هفته تمرین هوازی موجب افزایش سطوح Drp1 بدون تغییر در سطوح Mfn2 در کرتکس مغز موش‌های پیر می‌شود (۹). در مطالعه‌ای دیگر، کو و همکاران<sup>۲</sup> (۲۰۱۷) نشان دادند که ۶ هفته تمرین شنا در رت-های پیر ناشی از تزریق D-گالاکتوز، سطوح افزایش یافته Drp1 و Mfn2 در هیپوکمپ را کاهش داده و موجب بهبود عملکرد شناخت فضایی حیوانات می‌شود (۱۵). با توجه به نقش مهم میتوکندری‌ها در عملکرد مغز، و همچنین نبود اطلاعات در مورد اثر تمرین هوازی بر پویایی میتوکندریایی در شرایط بیماری آلزایمر، این مطالعه به بررسی تأثیر ۴ هفته تمرین هوازی بر عملکرد شناختی و پویایی میتوکندریایی در بافت هیپوکمپ رت‌های نر ویستار مبتلا به بیماری آلزایمر می‌پردازد.

### روش پژوهش

تعداد ۲۱ سر رت نر بالغ نژاد ویستار ۲۰ ماهه آزمودنی‌های مطالعه حاضر بودند که از انستیتو پاستور ایران تهیه شدند. رت‌ها در دمای محیطی  $3 \pm 22$  درجه سانتی‌گراد، رطوبت ۴۵ درصد و چرخه روشنایی/تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت نگهداری شدند، به گونه‌ای که دسترسی آزاد به آب و غذای استاندارد داشته باشند. همه مراحل مربوط به حیوانات با توجه به دستورالعمل اخلاقی و مجوز

معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکزی با شماره IR.IAU.TMU.REC.1399.124 انجام پذیرفت. بدن‌بال یک هفته آشناسازی با محیط نگهداری در انستیتو پاستور ایران، همه رت‌ها به مدت یک هفته (۱۰ دقیقه با سرعت ۱۰ متر بر دقیقه و پنج روز در هفته) در معرض نوارگردان قرار گرفتند. سپس، رت‌ها به روش تصادفی در ۳ گروه تقسیم-بندی شدند: گروه بیماری آلزایمر (تعداد = ۷ سر)، گروه بیماری آلزایمر + ورزش هوازی (تعداد ۷ سر) و گروه کنترل (تعداد ۷ سر).

آماده‌سازی آمیلوئیدبتا برای القای بیماری آلزایمر به این صورت بود که ابتدا پپتید  $A\beta_{42}$  (Abcam, USA) در محلول بافر دی‌متیل سولفوکسید<sup>۳</sup> (DMSO) ۳ درصد (Sigma Aldrich, USA) با غلظت ۵ میکروگرم/میکرولیتر حل شد و در مقادیر ۳۰ میکرولیتر به ازای هر ویال تقسیم و در دمای ۸۰- سانتی‌گراد نگهداری شد. محلول  $A\beta$  به مدت ۷ روز در دمای  $37^\circ\text{C}$  انکوبه شد تا به شکل فیبریل درآید (۱۴). حیوانات به دنبال استراحت شبانه توسط تزریق درون صفاقی کتامین و زایلازین بی‌هوش شدند. سپس، سر حیوانات در دستگاه استریوتاکس ثابت شد و با ایجاد شکافی طولی در بخش خلفی جمجمه، بر اساس اطلس پاکسینوس و واتسون (۱۷)، حفره‌هایی در موقعیت ۳/۸ عقب برگما (AP)، ۲/۲ میلی‌متر در طرفین

1. Gusdon et al.
2. Kou et al.

شکاف طولی و ۲/۷ میلی‌متر پایین‌تر از سطح مجسمه ایجاد شد. تزریق آرام درون هیپوکمپی  $A\beta_{42}$  برای هر سمت ۱ میکرولیتر، توسط سرنگ همیلتون در مدت زمان ۵ دقیقه برای هر بار تزریق، صورت پذیرفت.

هفت روز بعد از این که رت‌ها تحت جراحی قرار گرفتند، تمرین هوازی برای گروه ورزش اعمال شد. پروتکل تمرین هوازی به این صورت بود که رت‌ها روی نوارگردان با شیب صفر درجه، ۵ روز در هفته به مدت ۴ هفته به تمرین پرداختند. سرعت نوارگردان برای هفته‌های اول و دوم تمرین، ۱۰ متر بر دقیقه تنظیم شد که در دو نوبت ۱۵ دقیقه‌ای با وقفه ۵ دقیقه‌ای بین آن اجرا شد. در هفته سوم، سرعت به ۱۵ متر بر دقیقه افزایش یافت که در سه نوبت ۱۵ دقیقه‌ای با ۲ وقفه ۵ دقیقه‌ای بین آنها انجام شد. در هفته چهارم، سرعت نوارگردان ۱۵ متر بر دقیقه بود که در چهار نوبت ۱۵ دقیقه‌ای با ۳ وقفه ۵ دقیقه‌ای بین آنها اجرا شد (۲۹). رت‌های گروه تمرین در تمام جلسات تمرینی پایش شدند و در صورت لزوم به وسیله شوک الکتریکی ضعیف با شدت ۰/۵ میلی‌آمپر که در حیوان استرس زیادی را ایجاد نمی‌کند و یا دستکاری با یک اسفنجه به ادامه دوییدن تشویق شدند.

آزمون ماز آبی موریس برای بررسی یادگیری و حافظه فضایی حیوانات استفاده شد که ۴۸ ساعت بدنال آخرین جلسه تمرینی اجرا شد. دستگاه رفتاری شامل یک مخزن فلزی حلقوی با دیواره مشکی بود که تا ارتفاع ۳۰ سانتی‌متری آن از آب  $21 \pm 2$  درجه سانتی-گراد پر شده بود. حرکت و رفتار حیوان به وسیله نرم افزار Etho Vision 7 و دوربینی که در بالای مخزن قرار می‌گرفت، ردیابی و ثبت می‌شد. روش آموزش ماز آبی موریس برای بررسی یادگیری و حافظه فضایی بدین صورت بود: الف) سازش یافتن: به منظور عادت کردن به ماز، ۲۴ ساعت قبل از آموزش، رت‌ها به مدت ۲ دقیقه در مخزن فاقد صفحه پلکسی گلاس شنا کردند. ب) مرحله یادگیری: در این مرحله رت‌های هر ۳ گروه به مدت ۴ روز متوالی و هر روز در ۴ کارآزمایی جداگانه جهت یافتن سکوی پنهان که در وسط ربع سوم (جنوب شرقی) قرار داشت، تحت آموزش قرار گرفتند. در شروع هر کارآزمایی ابتدا به هر رت مدت ۱۵ - ۲۰ ثانیه اجازه استقرار روی سکو داده می‌شد. سپس، حیوان به طور تصادفی از یکی از چهار جهت اصلی داخل آب رها می‌شد. در این حالت، حیوان شنا می‌کرد تا سکوی پنهان زیر آب را پیدا کند و روی آن قرار گیرد. پس از پیدا کردن سکو، به حیوان اجازه داده می‌شد که به مدت ۲۰ ثانیه روی آن باقی بماند. مدت زمان پیدا کردن سکو (تأخیر در رسیدن به سکو) در هر بار آموزش اندازه‌گیری و ثبت می‌شد. آزمون پروب (انتقال): یک روز بعد از آخرین روز اکتساب، حافظه فضایی رت‌ها مورد بررسی قرار گرفت. بدین منظور، حیوانات در آزمون

شکاف طولی و ۲/۷ میلی‌متر پایین‌تر از سطح مجسمه ایجاد شد. تزریق آرام درون هیپوکمپی  $A\beta_{42}$  برای هر سمت ۱ میکرولیتر، توسط سرنگ همیلتون در مدت زمان ۵ دقیقه برای هر بار تزریق، صورت پذیرفت.

هفت روز بعد از این که رت‌ها تحت جراحی قرار گرفتند، تمرین هوازی برای گروه ورزش اعمال شد. پروتکل تمرین هوازی به این صورت بود که رت‌ها روی نوارگردان با شیب صفر درجه، ۵ روز در هفته به مدت ۴ هفته به تمرین پرداختند. سرعت نوارگردان برای هفته‌های اول و دوم تمرین، ۱۰ متر بر دقیقه تنظیم شد که در دو نوبت ۱۵ دقیقه‌ای با وقفه ۵ دقیقه‌ای بین آن اجرا شد. در هفته سوم، سرعت به ۱۵ متر بر دقیقه افزایش یافت که در سه نوبت ۱۵ دقیقه‌ای با ۲ وقفه ۵ دقیقه‌ای بین آنها انجام شد. در هفته چهارم، سرعت نوارگردان ۱۵ متر بر دقیقه بود که در چهار نوبت ۱۵ دقیقه‌ای با ۳ وقفه ۵ دقیقه‌ای بین آنها اجرا شد (۲۹). رت‌های گروه تمرین در تمام جلسات تمرینی پایش شدند و در صورت لزوم به وسیله شوک الکتریکی ضعیف با شدت ۰/۵ میلی‌آمپر که در حیوان استرس زیادی را ایجاد نمی‌کند و یا دستکاری با یک اسفنجه به ادامه دوییدن تشویق شدند.

آزمون ماز آبی موریس برای بررسی یادگیری و حافظه فضایی حیوانات استفاده شد که ۴۸ ساعت بدنال آخرین جلسه تمرینی اجرا شد. دستگاه رفتاری شامل یک مخزن فلزی

یک دقیقه‌ای که در طی آن سکو از داخل آب برداشته می‌شد، مورد ارزیابی قرار گرفتند و مدت زمان صرف شده در ربع دایره هدف که قبلاً سکو در آن قرار داشت، اندازه‌گیری شد. آزمون سکوی آشکار: به منظور بررسی هماهنگی حسی- حرکتی و انگیزه حیوان، پس از انجام آزمون پروب، سکو توسط یک صفحه سفید رنگ، مرئی شد و هم سطح با آب قرار گرفت تا به صورت واضح دیده شود. سپس، حیوان شنا کرده تا سکوی سفید رنگ هم سطح آب را پیدا کند و روی آن قرار گیرد. مدت زمان پیدا کردن سکو در هر بار آزمون اندازه‌گیری می‌شد. در صورتی که حیوان در این چهار کارآزمایی قادر به پیدا کردن سکو در مدت ۶۰ ثانیه نبود، از گروه خود حذف می‌شد (۱۴).

حیوانات ۲۴ ساعت بعد از آزمون رفتاری از طریق قرار گرفتن در ظرف حاوی اتر بی‌هوش شدند. سر حیوان توسط دستگاه گیوتین جدا شد و مغز کامل استخراج گردید. سپس، هیپوکمپ روی یخ از بقیه بافت مغز جدا و در نیتروژن مایع قرار داده شد و تا انجام آزمایشات بعدی در دمای منفی ۸۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

به منظور استخراج RNA تام از بافت هیپوکمپ هموزن شده، ۱ میلی‌لیتر تریزول (Invitrogen, CN 15596018, USA) به ۱۰۰ میلی‌گرم بافت اضافه و پس از مخلوط کردن کامل به مدت ۱۵ دقیقه در دمای اتاق انکوبه شد. سپس، ۴۰۰ میکرولیتر کلروفرم سرد (Merek, CAS 67-66-3)

(102445, Germany) به نمونه اضافه و به مدت ۱۵ ثانیه مخلوط شدند. محلول در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و با سرعت ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. مایع حاوی RNA به میکروتیوب دیگری انتقال داده شد، سپس ۵۰۰ میکرولیتر اتانول (-Merek, CAS 64-17-5 107017, Germany) به محلول RNA اضافه شد و به مدت ۲۴ ساعت در دمای منفی ۲۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. پس از ۲۴ ساعت، این محلول نیز به مدت ۱۵ دقیقه (دمای ۴ درجه سانتی‌گراد، ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه) سانتریفیوژ شد. مایع رویی خارج شد و ۱ میلی‌لیتر اتانول خالص سرد به رسوب RNA اضافه گردید و به مدت ۵ دقیقه (در دمای ۴ درجه با ۷۵۰۰ دور در دقیقه) سانتریفیوژ شد. در ادامه مایع رویی خارج شد و رسوب RNA با ۱۰۰ میکرولیتر ایلوشن بافر (Sigma Aldrich, H5413, Germany) رقیق شد. سپس، غلظت و نسبت جذبی نمونه‌ها با استفاده از دستگاه اسپکتوفتومتر (Eppendorf, Germany) مورد ارزیابی قرار گرفت و نسبت جذبی ۲۶۰ به ۲۸۰ بین ۱/۸- ۱/۶ به عنوان تخلیص مطلوب تعریف شد. جهت اطمینان بیشتر از صحت تخلیص RNA، تعدادی از RNAs تخلیص شده به طور تصادفی روی ژل آگارز ۱/۵ درصد الکتروفورز شدند. پس از استخراج RNA با خلوص و غلظت بالا، مراحل سنتز cDNA مطابق پروتکل شرکت سازنده

NCBI توسط شرکت پیشگام (ایران) طراحی شد (جدول ۱). برنامه Real time-PCR شامل: واسرشت اولیه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه، واسرشت در هر سیکل PCR در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ ثانیه و با توجه به دمای اتصال پرایمرها هر سیکل به مدت ۳۰ ثانیه (۴۰ سیکل) در نظر گرفته شد. نمودار دمای ذوب جهت بررسی صحت واکنش‌های انجام شده و به صورت اختصاصی برای هر ژن و در هر بار از واکنش به همراه نمودار کنترل منفی جهت بررسی وجود آلودگی در هر واکنش مورد ارزیابی قرار گرفت. از ژن گلیسرآلدئید-۳-فسفات دهیدروژناز<sup>۱</sup> (GAPDH) به عنوان ژن کنترل استفاده گردید و میزان بیان ژن مورد نظر با فرمول  $2^{-\Delta\Delta CT}$  محاسبه شد (۱۸). بررسی طبیعی بودن توزیع داده‌ها با استفاده از آزمون شاپیرو-ویلک انجام شد. از آزمون لوین برای بررسی همسان بودن واریانس‌ها استفاده شد. مقایسه‌های بین‌گروهی با استفاده از تحلیل واریانس یک راهه صورت پذیرفت و در صورت نیاز از آزمون تعقیبی بونفرونی استفاده شد. معنی‌داری بین متغیرها در سطح  $p < 0.05$  صورت پذیرفت. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها، از نرم‌افزار SPSS 16 و برای ترسیم نمودارها از نرم‌افزار Excel 2016 استفاده شد.

high-capacity cDNA reverse) transcription kit انجام گردید. ابتدا RNA، پرایمر و آب با هم ترکیب شدند و محلول به مدت ۵ دقیقه در دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد، سپس محلول به مدت ۲ دقیقه روی یخ قرار داده شد. پس از آن enzyme mix و reaction buffer به محلول اضافه گردید. محلول در ۳ مرحله متوالی انکوبه شد: در مرحله اول به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد، در مرحله دوم به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۴۲ درجه سانتی‌گراد و در مرحله سوم به مدت ۵ ثانیه در دمای ۸ درجه سانتی‌گراد انجام شد و در نهایت cDNA سنتز شده در دمای منفی ۸۰ درجه سانتی‌گراد ذخیره شد. لازم به توضیح است که تمام مراحل انجام کار روی یخ، زیر هود و با استفاده از وسایل RNase free انجام شد. برای اندازه‌گیری سطوح بیان mRNA از روش کمی Real time-PCR استفاده شد. در ابتدای کار میزان غلظت بهینه cDNA و همچنین پرایمرهای مربوط به هر ژن با استفاده از آزمایش سریال غلظت برای هر کدام به طور جداگانه مشخص شد، به طوری که کمترین میزان دایمر و بهترین  $C_t$  مشاهده گردد. Real time-PCR با استفاده از RealQ Plus 2x Master Mix Green شرکت AMPLIQON و با استفاده از غلظت ۲۵۰ نانوگرم از cDNA انجام گرفت. توالی پرایمرهای مربوط به متغیرهای مورد مطالعه بر اساس اطلاعات این ژن‌ها در بانک ژنی

1. Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase

### جدول ۱. توالی پرایمرهای مورد مطالعه

Gene	Forward/R everse	Primer (5' to 3')	Tm	Product Length	Accession Number
<i>Mfn2</i>	F	CTTTCACCCATCCCCAGTTGTC	61.14	95	XM_008764288.2
	R	AGCAGCGGTCAGACATGTTTC	61.21		
<i>OPA1</i>	F	TGTGGTTGGAGATCAGAGTGC	60.00	129	XM_017597866.1
	R	GGGCCTTCACTGAGAGTCAC	60.04		
<i>Drp1</i>	F	AGCAACTACAGCACACAGGAAC	61.07	179	XM_017597844.1
	R	CCACAGGCATCAGCAAAGTC	59.48		
<i>GAPD</i>	F	AAGTTCAACGGCACAGTCAAGG	61.58	121	XM_017593963.1
	H	CATACTCAGCACCAGCATCACC	61.32		

#### یافته‌ها

میانگین تأخیر زمانی کمتری برای یافتن سکو نشان دادند ( $p < 0.05$ ) (جدول ۱). نتایج آزمون پروب برای بررسی حافظه فضایی رت‌ها نشان داد که زمان صرف شده در ربع دایره هدف برای گروه‌های مختلف به طور معنی‌داری متفاوت است ( $p < 0.05$ ،  $F=20/415$ ). مدت زمان سپری شده در ربع دایره هدف در گروه بیماری آلزایمر به طور معنی‌داری کمتر از گروه کنترل بود ( $p < 0.05$ ). همچنین، گروه بیماری آلزایمر + ورزش در مقایسه با حیوانات بیمار به طور معنی‌دار عملکرد بهتری در آزمون حافظه داشتند ( $p < 0.05$ ) (جدول ۱).

بین گروه‌های مورد مطالعه در اجرای آزمون سکوی آشکار تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ( $p > 0.05$ ) (جدول ۱). نتایج آزمون تحلیل واریانس یک راهه نشان‌دهنده وجود تفاوت معنی‌دار در میانگین تأخیر زمانی برای یافتن سکو در طی ۴ روز مرحله یادگیری بین گروه‌ها بود ( $p < 0.05$ ،  $F=85/372$ ). نتایج آزمون تعقیبی بونفرونی نشان داد که میانگین تأخیر زمانی برای یافتن سکو در گروه‌های بیماری آلزایمر و بیماری آلزایمر + ورزش به طور معنی‌داری بیشتر از گروه کنترل بود ( $p < 0.05$ ). همچنین، گروه بیماری آلزایمر + ورزش در مقایسه با گروه بیمار به طور معنی‌داری

### جدول ۲. میانگین و انحراف معیار متغیرهای پژوهش

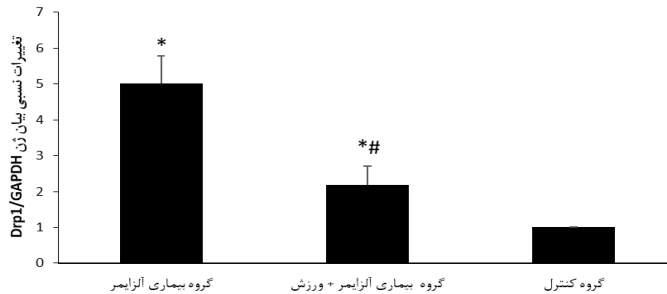
گروه	تأخیر زمانی برای یافتن سکو (ثانیه)	آزمون پروب (ثانیه)	آزمون سکوی آشکار (ثانیه)
بیماری آلزایمر	۴۷/۹۴±۲/۶۷*	۱۶/۳۴±۲/۶*	۹/۳۷±۰/۶۴
آلزایمر+ورزش	۳۷/۶۹±۲/۲۸*#	۲۲/۳±۲/۳۶#	۹/۸۹±۰/۴۴
کنترل	۳۲/۱۸±۱/۸	۲۴/۲۸±۲/۲	۹/۳۲±۰/۶۲

\*: تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل ( $p < 0.05$ )؛ #: تفاوت معنی‌دار با گروه بیماری آلزایمر ( $p < 0.05$ )



نتایج آزمون تحلیل واریانس یک طرفه نشان داد که بین میزان بیان Drp1 mRNA هیپوکمپ در گروه‌های مختلف تفاوت آماری معنی‌داری وجود دارد ( $p < 0.05$ )،  $F = 89/113$ . میزان بیان Drp1 mRNA هیپوکمپ در گروه‌های بیماری آلزایمر ( $p < 0.05$ ) و بیماری آلزایمر + ورزش

در مقایسه با گروه کنترل به طور معنی‌داری بیشتر بود. همچنین، ورزش هوازی میزان بیان Drp1 mRNA هیپوکمپ را نسبت به گروه تزریق  $A\beta_{42}$  به صورت معنی‌داری کاهش داد (شکل ۱).

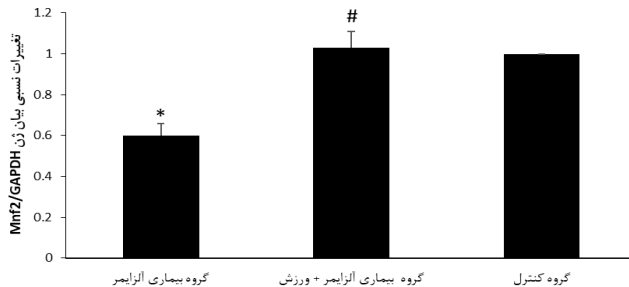


شکل ۱. میزان بیان mRNA ژن Drp1 در بافت هیپوکمپ

\*: تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل ( $p < 0.05$ )؛ #: تفاوت معنی‌دار با گروه بیماری آلزایمر ( $p < 0.05$ ).

مقایسه با گروه کنترل به طور معنی‌داری کمتر بود ( $p < 0.05$ ). همچنین، ورزش هوازی میزان بیان Mnf2 mRNA هیپوکمپ را نسبت به گروه تزریق  $A\beta_{42}$  به صورت معنی‌داری افزایش داد (شکل ۲).

بین میزان بیان Mnf2 mRNA هیپوکمپ در گروه‌های مختلف نیز تفاوت آماری معنی‌داری مشاهده شد ( $p < 0.05$ )،  $F = 98/391$ . میزان بیان Mnf2 mRNA هیپوکمپ در گروه بیماری آلزایمر در

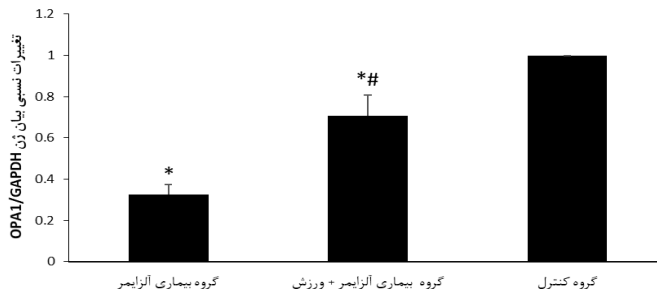


شکل ۲. میزان بیان mRNA ژن Mnf2 در بافت هیپوکمپ

\*: تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل ( $p < 0.05$ )؛ #: تفاوت معنی‌دار با گروه بیماری آلزایمر ( $p < 0.05$ ).

کنترل به طور معنی داری کمتر بود ( $p < 0.001$ ). همچنین، حیوانات گروه بیماری آلزایمر + ورزش افزایش معنی دار میزان بیان OPA1 mRNA هیپوکمپ را در مقایسه با گروه بیماری آلزایمر نشان دادند ( $p < 0.05$ ) (شکل ۳).

نتایج آزمون تحلیل واریانس یک طرفه نشان داد که بین میزان بیان OPA1 mRNA هیپوکمپ در گروه‌های مختلف تفاوت آماری معنی داری وجود دارد ( $p < 0.05$ )،  $F = 153/456$ . میزان بیان OPA1 mRNA هیپوکمپ در گروه‌های بیماری آلزایمر و بیماری آلزایمر + ورزش در مقایسه با گروه



شکل ۳. میزان بیان mRNA ژن OPA1 در بافت هیپوکمپ

\*: تفاوت معنی دار با گروه کنترل ( $p < 0.05$ )؛ #: تفاوت معنی دار با گروه بیماری آلزایمر ( $p < 0.05$ ).

در موش‌های پیر (۱۰) و مبتلا به بیماری آلزایمر (۱۳) گزارش شده است. از سوی دیگر، نتایج مطالعه حاضر نشان داد که تمرین هوازی اختلال در حافظه فضایی ناشی از تزریق  $A\beta_{42}$  را در رت‌های مبتلا به بیماری آلزایمر بهبود می‌بخشد. اثرات سودمند تمرین ورزشی بر حافظه فضایی نیز پیشتر گزارش شده است (۱، ۱۰). سازوکارهایی که ورزش هوازی بواسطه آنها اثرات سودمند خود در شرایط بیماری آلزایمر را القا می‌کند، هنوز به طور کامل شناخته نشده است، با این حال، مطالعات قبلی نشان داده‌اند که فعالیت هوازی از مسیرهای مختلفی از جمله افزایش اکسیژن

## بحث

هدف از مطالعه حاضر، بررسی تأثیر ۴ هفته تمرین هوازی بر عملکرد شناختی و پویایی میتوکندریایی در بافت هیپوکمپ رت‌های پیر مبتلا به بیماری آلزایمر القاء شده با تزریق آمیلوئیدبتا بود. نتایج پژوهش حاضر نشان داد که میزان یادگیری حیواناتی که تزریق  $A\beta_{42}$  را تجربه کرده بودند، با افزایش میانگین زمان صرف شده برای رسیدن به سکو طی روزهای آموزش ماز آبی، کاهش یافت. با این حال، مداخله ورزش هوازی ما توانست روند یادگیری فضایی در مرحله اکتساب را بهبود بخشد. همسو با این یافته، بهبود یادگیری فضایی در اثر تمرین هوازی

کاهش میزان بیان *Mnf2* و *OPA1* و همچنین افزایش میزان بیان *Drp1* در بافت هیپوکمپ شد که تایید دیگری برای القای موفق این مدل از بیماری آلزایمر در رت‌ها می‌باشد. این یافته‌ها تاییدکننده و تکمیل‌کننده گزارشات اخیر بوده و نشان می‌دهد که فراوانی آمیلوئیدبتا در مغز با افزایش شکافت میتوکندریایی و افزایش همجوشی میتوکندریایی همراه است. میزان بالای شکافت میتوکندریایی پایه ممکن است منجر به افزایش جداسازی<sup>۲</sup> میتوکندری‌ها شده و راندمان کلی شبکه میتوکندریایی را کاهش دهد (۸). از طرف دیگر، این حقیقت که افزایش بیان *Mfn2* منجر به مهار رسوب البگومرهای آمیلوئیدبتا می‌شود (۲۳)، نقش محافظت‌کننده عصبی بالقوه این پروتئین همجوشی میتوکندریایی در بیماری آلزایمر را نشان می‌دهد.

همانطوری که انتظار می‌رفت، مداخله تمرین هوازی ما توانست میزان بیان *Drp1* در بافت هیپوکمپ حیوانات آلزایمری را کاهش دهد. همچنین، میزان بیان *Mnf2* و *OPA1* در اثر اجرای تمرینات هوازی در هیپوکمپ موش‌های آلزایمری به طور چشمگیری افزایش یافت. بر اساس جستجوهای ما، مطالعه حاضر برای اولین بار توانست اثرات سودمند ورزش بر پویایی میتوکندریایی در شرایط بیماری آلزایمر را نشان دهد. نشان داده شده است که *PGC-*

مصرفی مغز، افزایش انتقال‌دهنده‌های عصبی و همچنین تنظیم افزایشی نروتروفین‌ها در مغز، اثرات مفید خود را القاء می‌کند (۲۲). گزارش شده است فعالیت هوازی از طریق افزایش عامل رشد عصبی مشتق شده از مغز<sup>۱</sup> (*BDNF*) سبب بهبود عملکرد و ساختار هیپوکمپ می‌شود که نقش مهمی در شکل‌گیری حافظه و یادگیری دارد (۲۵). فعالیت ورزشی از طریق مسیر پیام‌رسانی وابسته به *PGC-1 $\alpha$*  منجر به افزایش بیان *FNDC5* و در نتیجه افزایش بیان *BDNF* در نورون‌های هیپوکمپ می‌شود (۲، ۲۷). علاوه بر این، ممکن است بهبود پویایی میتوکندریایی مغز نیز در القای اثرات سودمند تمرین ورزشی بر شناخت فضایی در شرایط بیماری آلزایمر نقش داشته باشد.

اختلال در عملکرد میتوکندری‌ها نقش اساسی در پاتوژنز بیماری آلزایمر دارد؛ در واقع، شواهد فزاینده‌ای این احتمال را نشان می‌دهند که میتوکندری‌ها می‌توانند واسطه یا حتی آغازگر پاتوژنز شکل پراکنده بیماری آلزایمر باشند (۴). مطالعات پیشین نشان داده‌اند که آمیلوئیدبتا همجوشی میتوکندریایی را کاهش داده و همزمان شکافت میتوکندریایی را افزایش می‌دهد که در نهایت باعث قطعه‌قطعه شدن میتوکندری‌ها و مرگ عصبی می‌شود (۳، ۵، ۷). همراستا با این گزارشات، تزریق *A $\beta$ <sub>42</sub>* به مغز حیوانات در مطالعه حاضر نیز موجب

پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکزی انجام شد. شماره کد اخلاق:

IR.IAU.TMU.REC.1399.124

### حامی مالی

این پژوهش با هزینه شخصی انجام شده است. همچنین، مقاله حاضر برگرفته از رساله دکتری آقای احمد فاضلی ثانی، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکزی می‌باشد.

### تعارض منافع

نویسندگان مقاله هیچ‌گونه تعارضی در منافع اعلام نکردند.

### تقدیر و تشکر

از پرسنل محترم بخش فیزیولوژی و فارماکولوژی انستیتو پاستور ایران بخاطر همکاری در اجرای این مطالعه کمال تشکر و قدردانی را داریم.

$1\alpha$  بیوژنز میتوکندری در سلول‌های عصبی را تنظیم می‌کند؛ از آنجایی که BDNF می‌تواند بیان  $PGC-1\alpha$  در نورون‌های هیپوکمپ را تحریک نماید (۶)، به نظر می‌رسد که افزایش ناشی از ورزش در سطوح BDNF مغزی می‌تواند به عنوان یکی از عوامل تنظیم‌کننده پویایی میتوکندریایی در هیپوکمپ در نظر گرفته شود. با این حال، عدم اندازه‌گیری سطوح BDNF و  $PGC-1\alpha$  در مطالعه حاضر این استنباط را دشوار می‌سازد و یکی از محدودیت‌های این مطالعه بشمار می‌رود. به طور کلی، به نظر می‌رسد که تمرین هوازی می‌تواند از طریق تعدیل پویایی میتوکندریایی غیرطبیعی، عملکرد یادگیری و حافظه فضایی را در شرایط بیماری آلزایمر بهبود بخشد.

### ملاحظات اخلاقی

همه مراحل مربوط به حیوانات با توجه به دستورالعمل اخلاقی و مجوز معاونت

### منابع

1. Azimi M, Gharakhanlou R, Naghdi N, Khodadadi D, Heysieattalab S. Moderate Treadmill Exercise Ameliorates Amyloid- $\beta$ -Induced Learning and Memory Impairment, Possibly via Increasing AMPK Activity and Up-regulation of the  $PGC-1\alpha$ /FNDC5/BDNF Pathway. *Peptides*. 2018.
2. Azimi SMA GR, Naghdi N, Khodadadi D, Zarezade Mehrizi AA. The effect of the forced treadmill running on genes expression of the  $PGC-1\alpha$ , FNDC5 and BDNF in hippocampus of male rats. *Journal of Practical Studies of Biosciences in Sport*. 2019;7(14):91-101.
3. Bartolome F, de la Cueva M, Pascual C, Antequera D, Fernandez T, Gil C, et al. Amyloid  $\beta$ -induced impairments on mitochondrial dynamics, hippocampal neurogenesis, and memory are restored by phosphodiesterase 7 inhibition. *Alzheimer's research & therapy*. 2018;10(1):1-15.
4. Burté F, Carelli V, Chinnery PF, Yu-Wai-Man P. Disturbed mitochondrial dynamics and neurodegenerative disorders. *Nature reviews neurology*. 2015;11(1):11-24.

5. Cha M-Y, Han S-H, Son SM, Hong H-S, Choi Y-J, Byun J, et al. Mitochondria-specific accumulation of amyloid  $\beta$  induces mitochondrial dysfunction leading to apoptotic cell death. *PloS one*. 2012;7(4):e34929.
6. Cheng A, Wan R, Yang J-L, Kamimura N, Son TG, Ouyang X, et al. Involvement of PGC-1 $\alpha$  in the formation and maintenance of neuronal dendritic spines. *Nature communications*. 2012;3(1):1-12.
7. Cho D-H, Nakamura T, Fang J, Cieplak P, Godzik A, Gu Z, et al. S-nitrosylation of Drp1 mediates  $\beta$ -amyloid-related mitochondrial fission and neuronal injury. *Science*. 2009;324(5923):102-5.
8. Fealy CE, Mulya A, Lai N, Kirwan JP. Exercise training decreases activation of the mitochondrial fission protein dynamin-related protein-1 in insulin-resistant human skeletal muscle. *Journal of Applied Physiology*. 2014;117(3):239-45.
9. Gusdon AM, Callio J, Distefano G, O'Doherty RM, Goodpaster BH, Coen PM, et al. Exercise increases mitochondrial complex I activity and DRP1 expression in the brains of aged mice. *Experimental gerontology*. 2017;90:1-13.
10. He X-f, Liu D-x, Zhang Q, Liang F-y, Dai G-y, Zeng J-s, et al. Voluntary exercise promotes glymphatic clearance of amyloid beta and reduces the activation of astrocytes and microglia in aged mice. *Frontiers in molecular neuroscience*. 2017;10.
11. Intlekofer KA, Cotman CW. Exercise counteracts declining hippocampal function in aging and Alzheimer's disease. *Neurobiology of disease*. 2013;57:47-55.
12. Joseph AM, Adhietty PJ, Leeuwenburgh C. Beneficial effects of exercise on age-related mitochondrial dysfunction and oxidative stress in skeletal muscle. *The Journal of physiology*. 2016;594(18):5105-23.
13. Khodadadi D, Gharakhanlou R, Naghdi N, Salimi M, Azimi M, Shahed A, et al. Treadmill Exercise Ameliorates Spatial Learning and Memory Deficits Through Improving the Clearance of Peripheral and Central Amyloid-Beta Levels. *Neurochemical Research*. 2018:1-14.
14. Khodadadi D, Gharakhanlou R, Naghdi N, Salimi M, Azimi SM, Shahed A. The effect of 4 weeks of exercise preconditioning on soluble amyloid beta level and memory impairment in rats with Alzheimer's disease induced by A $\beta$ 1-42 injection. *Razi Journal of Medical Sciences*. 2018;24(165):74-84.
15. Kou X, Li J, Liu X, Chang J, Zhao Q, Jia S, et al. Swimming attenuates d-galactose-induced brain aging via suppressing miR-34a-mediated autophagy impairment and abnormal mitochondrial dynamics. *Journal of Applied Physiology*. 2017;122(6):1462-9.
16. Manczak M, Calkins MJ, Reddy PH. Impaired mitochondrial dynamics and abnormal interaction of amyloid beta with mitochondrial protein Drp1 in neurons from patients with Alzheimer's disease: implications for neuronal damage. *Human molecular genetics*. 2011;20(13):2495-509.

17. Paxinos G, Watson C. The rat brain in stereotaxic coordinates: San Diego: Academic. 1998.
18. Pfaffl MW. A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR. *Nucleic acids research*. 2001;29(9):e45-e.
19. Querfurth H, LaFerla F. Alzheimer's disease *N Engl J Med*. 2010. 2010;329:10.
20. Rabinovici GD, Furst AJ, Alkalay A, Racine CA, O'Neil JP, Janabi M, et al. Increased metabolic vulnerability in early-onset Alzheimer's disease is not related to amyloid burden. *Brain*. 2010;133(2):512-28.
21. Schönfeld P, Reiser G. Why does brain metabolism not favor burning of fatty acids to provide energy?-Reflections on disadvantages of the use of free fatty acids as fuel for brain. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*. 2013;33(10):1493-9.
22. Sheikhzadeh F, Etemad A, Khoshghadam S, Asl NA, Zare P. Hippocampal BDNF content in response to short-and long-term exercise. *Neurological Sciences*. 2015;36(7):1163-6.
23. Sita G, Hrelia P, Graziosi A, Morroni F. Back to the fusion: Mitofusin-2 in Alzheimer's disease. *Journal of Clinical Medicine*. 2020;9(1):126.
24. Tyumentsev MA, Stefanova NA, Muraleva NA, Rummyantseva YV, Kiseleva E, Vavilin VA, et al. Mitochondrial dysfunction as a predictor and driver of Alzheimer's disease-like pathology in OXYS rats. *Journal of Alzheimer's Disease*. 2018;63(3):1075-88.
25. Vaynman S, Ying Z, Gomez-Pinilla F. Hippocampal BDNF mediates the efficacy of exercise on synaptic plasticity and cognition. *European Journal of Neuroscience*. 2004;20(10):2580-90.
26. Wang X, Su B, Lee H-g, Li X, Perry G, Smith MA, et al. Impaired balance of mitochondrial fission and fusion in Alzheimer's disease. *Journal of Neuroscience*. 2009;29(28):9090-103.
27. Wrann CD, White JP, Salogiannis J, Laznik-Bogoslavski D, Wu J, Ma D, et al. Exercise induces hippocampal BDNF through a PGC-1 $\alpha$ /FNDC5 pathway. *Cell metabolism*. 2013;18(5):649-59.
28. Youle RJ, Van Der Bliek AM. Mitochondrial fission, fusion, and stress. *Science*. 2012;337(6098):1062-5.
29. Zagaar M, Alhaider I, Dao A, Levine A, Alkarawi A, Alzubaidy M, et al. The beneficial effects of regular exercise on cognition in REM sleep deprivation: behavioral, electrophysiological and molecular evidence. *Neurobiology of disease*. 2012;45(3):1153-62.





**Metabolism and Exercise**  
**A bioannual journal**

**Vol 10, Number 1, 2020**



**The effect of 4 weeks of aerobic exercise on cognitive function and mitochondrial dynamics in hippocampal tissue of male Wistar rats with Alzheimer's disease**

Fazeli Sani A<sup>1</sup>, Matin homaee H<sup>1\*</sup>, Banaeifar A<sup>2</sup>

Received: 27/9/2021

Accepted: 22/2/2022

Published: 22/6/2022

---

**Abstract**

**Aim:** The aim of the present study was to investigate the effect of 4 weeks of aerobic exercise on cognitive function and mitochondrial dynamics in the hippocampal tissue of male Wistar rats with Alzheimer's disease.

**Method:** For this purpose, 21 male Wistar rats at 20 months of age were randomly divided into 3 groups: Alzheimer's disease (n=7), Alzheimer's disease+aerobic exercise (n=7) and control group (n=7). Alzheimer's disease was induced by intra hippocampal injection of A $\beta$ <sub>42</sub> (1 microliter per side). Seven days after surgery, the exercise group performed 4 weeks of treadmill training (5 days per week at a speed of 10 to 15 m/min). Forty-eight hours after the last training session, the animals underwent behavioral tests. Twenty-four hours after the behavioral test, all rats were killed and hippocampal tissue was extracted. The mRNA expression of OPA1, Mfn2 and Drp1 genes was assayed using Real Time-PCR. One-way analysis of variance was used for statistical analysis.

**Results:** The results showed that spatial learning and memory performance as well as the gene expression of OPA1 and Mfn2 in animals with Alzheimer's disease decreased compared to the control group (P<0.05), while the gene expression of Drp1 increased (P<0.05). Aerobic exercise in patient animals improved spatial learning and memory performance (P<0.05), increased hippocampal OPA1 and Mfn2 genes expression (P<0.05), and decreased Drp1 gene expression compared with Alzheimer's disease group (P<0.05).

**Conclusion:** In general, it seems that aerobic exercise can improve spatial learning and memory performance in Alzheimer's disease by modulating abnormal mitochondrial dynamics.

**Keywords:** Alzheimer's disease, Hippocampus, Aerobic exercise

---

1. Department of Sports Physiology, Central Tehran Branch Islamic Azad University, Tehran, Iran, 2. Department of Sports Physiology, South Tehran Branch Islamic Azad University, Tehran, Iran

\*Email: hasanmatinhomaee@gmail.com