

## The Effect of Four Weeks of Aerobic Training on the Expression of Sirt1, CREB and BDNF Genes in Hippocampus of Male Wistar Rats with Alzheimer's Disease

Dalir T<sup>1</sup>, Gharakhanlou R\*<sup>2</sup>, Peeri M<sup>1</sup>, Matin Homaei H<sup>1</sup>

1. Department of Exercise Physiology, Central Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

2. Physical Education Department, Faculty of Humanities, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran.

\* *Corresponding author*. Tel: +982122481621, Fax: +982122481623, Email: ghara\_re@modares.ac.ir

Received: Apr 5, 2021

Accepted: Jun 20, 2021

### ABSTRACT

**Background & objectives:** Exercise, with beneficial effects on brain health and cognitive function reduces the destructive effects of some neurological diseases such as Alzheimer's. The aim of this study was to evaluate the effect of four weeks of aerobic exercise on cognitive function and expression of Sirt1, CREB and BDNF genes in the hippocampus of male Wistar rats with Alzheimer's disease.

**Methods:** The statistical population included 18 male Wistar rats from the Pasteur Institute. Rats were randomly divided into three groups including Alzheimer's group, Alzheimer's disease-exercise group and a healthy control group. Alzheimer's disease group was induced by injecting A $\beta$ 42 into the hippocampus. Seven days after surgery, the rats performed the aerobic exercise for four weeks (five sessions per week at a speed of 10-15 m/min). They underwent behavioral tests 48 hours after the last training session. Twenty four hours later, rat hippocampal tissue was extracted. Sirt1, CREB and BDNF mRNAs were measured using Real time-PCR.

**Results:** Learning and spatial memory performance decreased in rats of Alzheimer's disease group compared to a healthy control group ( $p < 0.001$ ). Decreased mRNA expression of Sirt1, CREB and BDNF genes was observed in the hippocampal tissue of Alzheimer's disease group compared with the healthy control group ( $p < 0.001$ ). Alzheimer's rats with intermittent aerobic exercise had improved learning function, spatial memory and increased mRNA expression levels of Sirt1, CREB and BDNF genes in comparison with Alzheimer's disease group ( $p < 0.001$ ).

**Conclusions:** Periodic aerobic exercise in rats with Alzheimer's disease can improve spatial learning and memory by positively regulating the Sirt1/ CREB/ BDNF signaling pathway in hippocampal tissue.

**Keywords:** Alzheimer; Expression of Sirt1, Expression of CREB and Expression of BDNF Gene; Upper Cerebral Cortex; The hippocampus

# تأثیر چهار هفته تمرین هوازی بر بیان ژن‌های Sirt1، CREB و BDNF در هیپوکمپ رت‌های نر ویستار مبتلا به بیماری آلزایمر

طاهره دلیر<sup>۱</sup>، رضا قراخانو<sup>۲\*</sup>، مقصود پیری<sup>۱</sup>، حسن متین همایی<sup>۱</sup>

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

۲. گروه تربیت بدنی، دانشکده علوم انسانی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

\* نویسنده مسئول. تلفن: ۰۲۱۲۲۴۸۱۶۲۱، فاکس: ۰۲۱۲۲۴۸۱۶۲۳، پست الکترونیکی: ghara\_re@modares.ac.ir

## چکیده

**زمینه و هدف:** فعالیت ورزشی با اثرات مفید بر سلامت مغز و عملکرد شناختی، اثرات مخرب برخی بیماری‌های عصبی همچون آلزایمر را کاهش می‌دهد. مطالعه حاضر با هدف بررسی اثر چهار هفته تمرین هوازی بر عملکرد شناختی و بیان ژن‌های Sirt1، CREB و BDNF در هیپوکمپ رت‌های نر ویستار مبتلا به بیماری آلزایمر انجام گرفت.

**روش کار:** جامعه آماری شامل ۱۸ سر موش نر ویستار از انستیتو پاستور بود. رت‌ها به‌طور تصادفی سه گروه (آلزایمر، گروه بیماری آلزایمر- تمرین و گروه کنترل- سالم) شدند. القای بیماری آلزایمر با تزریق  $A\beta_{42}$  به داخل هیپوکمپ صورت پذیرفت. هفت روز پس از جراحی، رت‌ها گروه تمرین هوازی را چهار هفته (پنج جلسه در هفته با سرعت ۱۵-۱۰ متر بر دقیقه) اجرا کردند. ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی تحت آزمون رفتاری قرار گرفتند. ۲۴ ساعت پس از آن بافت هیپوکمپ رت‌ها استخراج گردید. اندازه‌گیری mRNA Sirt1، CREB و BDNF با استفاده از روش Real time-PCR صورت پذیرفت.

**یافته‌ها:** عملکرد یادگیری و حافظه فضایی در رت‌های گروه بیماری آلزایمر در مقایسه با گروه کنترل- سالم کاهش یافت ( $p \leq 0.001$ ). کاهش میزان بیان mRNA ژن‌های Sirt1، CREB و BDNF در بافت هیپوکمپ گروه بیماری آلزایمر در مقایسه با گروه کنترل- سالم مشاهده شد ( $p \leq 0.001$ ). رت‌های آلزایمری با تمرین هوازی تناوبی، بهبود عملکرد یادگیری و حافظه فضایی و افزایش بیان mRNA ژن‌های Sirt1، CREB و BDNF را در مقایسه با گروه بیماری آلزایمر دادند ( $p \leq 0.001$ ).

**نتیجه‌گیری:** تمرین هوازی تناوبی در رت‌های مبتلا به بیماری آلزایمر می‌تواند یادگیری و حافظه فضایی را از طریق تنظیم مثبت مسیر پیام‌رسانی Sirt1/CREB/BDNF در بافت هیپوکمپ بهبود بخشد.

**واژه‌های کلیدی:** آلزایمر، هیپوکمپ، قشر فوقانی مغز، بیان ژن‌های Sirt1، CREB و BDNF

دریافت: ۱۴۰۰/۱/۱۶ پذیرش: ۱۴۰۰/۳/۳۰

## مقدمه

بیماری آلزایمر<sup>۱</sup> شایع‌ترین شکل زوال عقل است که توسط آتروفی نواحی مشخصی از مغز، کاهش ادراک

پیش‌رونده و از دست دادن حافظه و ناتوانی در انجام کارهای روزمره مشخص می‌شود. از نقطه نظر بافت‌شناسی، وجود پلاک‌های پیری (متشکل از پپتیدهای آمیلوئید بتا (A $\beta$ ) و رشته‌های کلاف عصبی

<sup>۱</sup> Alzheimer's Disease

بخش‌های مختلف مغز پستانداران از قبیل هیپوکمپ، قشر مغز و مخچه بیان می‌شود و نقش مهمی در نجات نورونی، شکل‌پذیری سیناپسی، تمایز نورونی، نورون‌زایی و توانمندسازی طولانی مدت<sup>۷</sup> در تمام طول زندگی ایفا کند [۷].

نشان داده شده است که فعالیت ورزشی موجب افزایش بیان mRNA ژن BDNF در قسمت‌های مختلف مغز، به‌ویژه در هیپوکمپ می‌شود [۸]. با این حال، سازوکارهای سلولی این امر به‌طور کامل شناخته نشده است. در همین زمینه، محققین گزارش کردند که تمرین ورزشی اختیاری روی نوارگردان در رت‌های شش‌هفته‌ای منجر به افزایش سطوح BDNF از طریق مسیر پیام‌رسانی گیرنده فعال‌کننده تکثیر پروکسی زوم گاما هم فعال‌ساز ۱-آلفا<sup>۸</sup> (PGC-1 $\alpha$ )- فیبرونکتین نوع ۳ - حاوی پروتئین ۵<sup>۹</sup> FNDC5 در هیپوکمپ می‌شود [۹]. همچنین در پژوهشی دیگر محققین گزارش کردند تمرین هوازی با تنظیم مثبت مسیر پیام‌رسانی PGC-1 $\alpha$ /FNDC5/BDNF، عملکرد شناخت فضایی را در رت‌های مبتلا به بیماری آلزایمر بهبود می‌بخشد [۱۰].

مسیر دیگر برای ایجاد تغییر در سطوح BDNF مغز، مسیر پیام‌رسانی سیرتوین ۱<sup>۱۰</sup> است که از طریق فعال کردن عامل رونویسی پروتئین متصل به عنصر پاسخ<sup>۱۱</sup> cAMP (CREB) این امر رخ می‌دهد [۱۱]. CREB که یک فاکتور رونویسی است و نقش مهمی در حفاظت نورونی و بهبود یادگیری و حافظه دارد با این حال، بر اساس جستجوهای ما تاکنون تاثیر تمرین ورزشی بر مسیر پیام‌رسانی Sirt1/CREB/BDNF در شرایط بیماری آلزایمر مورد بررسی قرار نگرفته است. بنابراین، پژوهش حاضر با هدف بررسی اثر چهار هفته تمرین هوازی بر عملکرد شناختی و بیان

(متشکل از پروتئین تائوی‌هایپیرفسفریله) به‌عنوان علائم آسیب شناختی بیماری آلزایمر شناسایی شده‌اند [۱]. به‌طور جالبی وقوع زوال عقل به تجمع عوامل خطرزا و محافظتی در طول عمر نسبت داده می‌شود و فعالیت بدنی می‌تواند به حفظ یک مغز پیر سالم کمک کند [۲]. اخیراً، استدلال‌های تحقیقات اپیدمیولوژیک و پایه تاکید کرده‌اند که عدم انجام فعالیت جسمانی، که یکی از عناصر شیوه زندگی قابل اصلاح می‌باشد، می‌تواند زوال ادراک مرتبط با سن و توسعه بیماری آلزایمر را تحت تأثیر قرار دهد [۳].

فعالیت ورزشی اثرات مفیدی بر سلامت مغز و عملکرد شناختی دارد و اثرات مخرب برخی بیماری‌های عصبی از جمله بیماری آلزایمر را کاهش می‌دهد [۴]. آثار مثبت فعالیت ورزشی بر مغز بیشتر در نواحی هیپوکمپ و شکنج دندان‌های<sup>۱</sup> مشاهده می‌شود و شامل افزایش جریان خون و اندازه هیپوکمپ در انسان‌ها، تغییرات مورفولوژیکی در دندریت و برآمدگی‌های دندریتی<sup>۲</sup>، افزایش انعطاف‌پذیری سیناپسی و نورونز در حیوانات با شیوه‌های مختلف فعالیت ورزشی می‌باشد [۵]. از عوامل مهمی که اثرات مفید فعالیت ورزشی را بر مغز القا می‌کنند، عوامل نوروتروفیکی و به‌طور ویژه عامل نوروتروفیک مشتق شده از مغز<sup>۳</sup> (BDNF) را می‌توان نام برد. BDNF یکی از اعضای خانواده نوروتروفین‌ها<sup>۴</sup> است که در سال ۱۹۸۲ از مغز خوک به‌عنوان عامل ارتقاء نجات سلولی برای اعصاب حسی استخراج شد. BDNF یک عامل تروفیکی بسیار قوی با عملکردهای مختلف است که می‌تواند به‌عنوان یک محافظت‌کننده<sup>۵</sup> علیه بسیاری از آسیب‌های سلولی ناشی از سمیت نورونی<sup>۶</sup> عمل کند [۶].

<sup>1</sup> Dentate Gyrus (DG)

<sup>2</sup> Dendritic Spines

<sup>3</sup> Brain-Derived Neurotrophic Factor

<sup>4</sup> Neurotrophins

<sup>5</sup> Protector

<sup>6</sup> Neurotoxicity

<sup>7</sup> Long Term Potentiation

<sup>8</sup> Peroxisome Proliferator Activated Receptor-gamma Co-activator 1-alpha

<sup>9</sup> Fibronectin Type III Domain Containing 5

<sup>10</sup> Sirtuin 1

<sup>11</sup> cAMP Response Element-Binding Protein

ژن‌های CREB، Sirt1 و BDNF در هیپوکامپ رت‌های نر ویستار مبتلا به بیماری آلزایمر شد.

### روش کار

۱۸ سر رت نر بالغ ویستار هشت هفته‌ای که از انستیتو پاستور ایران تهیه شده بودند آزمودنی‌های این مطالعه بنیادی تجربی را تشکیل می‌دادند. رت‌ها در دمای محیطی  $22 \pm 3$  درجه سانتی‌گراد، رطوبت حدود ۴۵ درصد و چرخه روشنایی/ تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت نگهداری شدند، به طوری که در دسترسی به آب و غذای استاندارد، محدودیتی نداشته باشند. همه مراحل مربوط به رت‌ها با توجه به دستورالعمل اخلاقی و مجوز معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکزی با شماره IR.IAU.TMU.REC.1399.128 انجام شد. بعد از یک هفته آشناسازی با محیط نگهداری، تمامی رت‌ها به منظور آشناسازی با نوارگردان به مدت یک هفته (ده دقیقه با سرعت ده متر بر دقیقه و پنج روز در هفته) در معرض آن قرار گرفتند. سپس رت‌ها به روش تصادفی ساده به سه گروه بیماری آلزایمر (تعداد = شش سر)، بیماری آلزایمر تمرین (تعداد = شش سر) و کنترل - سالم (تعداد = شش سر) تقسیم شدند.

### القای بیماری آلزایمر

برای القای بیماری آلزایمر از تزریق داخل هیپوکامپی  $A\beta_{42}$  استفاده شد. جهت آماده‌سازی  $A\beta$ ، ابتدا پپتید  $A\beta_{42}$  (Abcam, USA) در محلول بافر DMSO سه درصد (Sigma Aldrich, USA) با غلظت پنج میکروگرم میکرولیتر حل و سپس در مقادیر ۳۰ میکرولیتر به ازای هر ویال تقسیم و در دمای منفی ۸۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. محلول آمیلوئیدتا به مدت هفت روز در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد تا بتا آمیلوئید به شکل فیبریل درآید [۱۲]. رت‌ها به دنبال استراحت شبانه توسط تزریق درون صفاقی کتامین و زایلازین بی‌هوش شدند. سپس سر

رت‌ها در دستگاه استریوتاکس ثابت و با ایجاد شکافی طولی در بخش خلفی جمجمه، بر اساس اطلس پاک سینوس و واتسون [۱۳]، حفره‌هایی در موقعیت ۳/۸ عقب برگما (AP)، ۲/۲ میلی‌متر در طرفین شکاف طولی و ۲/۷ میلی‌متر پایین‌تر از سطح جمجمه ایجاد و تزریق درون هیپوکامپ  $A\beta_{1-42}$  (هر طرف یک میکرولیتر) توسط سرنگ همپلتون صورت پذیرفت.

### پروتکل تمرینی

هفت روز بعد از جراحی، گروه آلزایمر - ورزش، تمرین هوازی تناوبی را به مدت چهار هفته تجربه نمودند. پروتکل تمرین هوازی به این صورت بود که رت‌ها روی نوارگردان با شیب صفر درجه، پنج روز در هفته به مدت چهار هفته به تمرین می‌پرداختند. سرعت نوارگردان در هفته‌های اول و دوم تمرین، ده متر بر دقیقه بود که در دو نوبت پانزده دقیقه‌ای با وقفه پنج دقیقه‌ای بین آن (به منظور جلوگیری از خستگی عضلانی در رت‌ها) اجرا شد. در هفته سوم، سرعت به ۱۵ متر بر دقیقه افزایش یافت که در سه نوبت ۱۵ دقیقه‌ای با دو وقفه پنج دقیقه‌ای بین آنها انجام شد. در هفته چهارم، رت‌ها با سرعت ۱۵ متر بر دقیقه در چهار نوبت ۱۵ دقیقه‌ای با سه وقفه پنج دقیقه‌ای بین آنها به فعالیت پرداختند [۱۴]. رت‌های گروه‌های دیگر نیز هم‌زمان با گروه آلزایمر - تمرین، تمرین هوازی را با مدت مشابه با آنها در معرض نوارگردان خاموش قرار گرفتند تا شرایط محیطی برای همه رت‌ها یکسان باشد.

### نمونه‌گیری

۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی رت‌ها تحت آزمون رفتاری قرار گرفتند. آزمون مازآبی موریس برای بررسی یادگیری و حافظه فضایی رت‌ها استفاده شد. دستگاه آزمون رفتاری شامل یک مخزن فلزی حلقوی با دیواره مشکی (به قطر ۱/۵ سانتی‌متر و ارتفاع ۶۰ سانتی‌متر) بود که تا ارتفاع ۳۰ سانتی‌متری آن از آب  $21 \pm 2$  درجه سانتی‌گراد پر شده بود. یک سکوی مدور به قطر ده و ارتفاع ۲۸ سانتی‌متر، حدود

حوضچه خارج و با حوله خشک گشته و به قفس خود بازگردانده می‌شد.

#### آزمون پروب (انتقال)

یک روز بعد از آخرین روز تمرین، حافظه فضایی رت‌ها مورد ارزیابی قرار گرفت. در این مرحله، رت‌ها در یک آزمون ۶۰ ثانیه‌ای 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

به‌منظور بررسی هماهنگی حسی- حرکتی و انگیزه حیوان، پس از انجام آزمون پروب، سکو توسط یک صفحه سفید رنگ، مرئی شد و هم‌سطح با آب قرار گرفت تا به صورت واضح دیده شود. این سکو در وسط ربع دوم (منطقه شمال شرقی) قرار داشت و هر رت در چهار کار آزمایی به‌طور تصادفی از چهار جهت اصلی به داخل آب رها شد. سپس، رت‌ها شنا کرده تا سکو 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 رت‌ها در این چهار کار آزمایی قادر به پیدا کردن سکو در مدت ۶۰ ثانیه نبود، از گروه خود حذف می‌شد [۱۲].

۲۴ ساعت بعد از آزمون رفتاری، رت‌ها با تزریق مخلوط کتامین (۰/۰۱ میلی‌گرم/کیلوگرم) و زایلازین (ده میلی‌گرم/کیلوگرم) بی‌هوش شدند. سپس، سر رت توسط دستگاه گیوتین جدا و مغز آن به صورت سالم بیرون آورده شد. پس از آن، بافت هیپوکمپ با دقت روی یخ استخراج شد و در نیتروژن مایع منجمد و برای تجزیه و تحلیل بعدی به یخچال با دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد منتقل شد.

حدود ۵۰ میلی‌گرم از بافت هیپوکمپ جهت استخراج Total RNA در یک میلی‌لیتر TRIzol-Lysis reagent (Sigma-Aldrich) هموژن گردید. به‌منظور برداشتن اجزای پروتئینی، محصول حاصل در چهار

دو سانتی‌متر زیر سطح آب در مرکز یکی از ربع دایره‌های از پیش تعیین شده، قرار داده شد. آزمایش‌کننده، رایانه و شکل‌های راهنمای خارج از ماز را در سراسر آزمایش ثابت کرده بودند. حرکت و رفتار رت‌ها به وسیله نرم افزار Etho Vision 7 و یک دوربین که در بالای مخزن قرار می‌گرفت، ردیابی و ثبت می‌شد. بدین ترتیب مسیر شنای رت‌ها در هر بار تمرین ثبت و مدت زمانی که طول می‌کشید تا رت‌ها سکو پلکسی گلاس (سکوی پنهان) را پیدا کند و مدت زمانی که رت‌ها در ربع دایره هدف می‌گذراند، اندازه‌گیری شدند. روش آموزش ماز آبی موریس برای بررسی یادگیری و حافظه فضایی بدین صورت بود: الف) سازش یافتن: به‌منظور عادت کردن به ماز، ۲۴ ساعت قبل از تمرین، رت‌ها به مدت دو دقیقه در مخزن فاقد صفحه پلکسی گلاس شنا کردند. ب) مرحله یادگیری: در این مرحله رت‌های هر شش گروه به‌مدت چهار روز متوالی و هر روز در چهار کار آزمایی جداگانه جهت یافتن سکوی پنهان که در وسط ربع سوم (جنوب شرقی) قرار داشت تحت تمرین قرار گرفتند. در شروع هر کار آزمایی ابتدا به هر رت مدت ۲۰-۱۵ ثانیه اجازه استقرار روی سکو داده می‌شد تا رت‌ها فرصت داشته باشد با رؤیت علائمی از قبیل پنجره، میز و قفسه، توصیفی فضایی از محیط اطراف ماز بدست آورد. سپس به‌طور تصادفی از یکی از چهار جهت اصلی (شمال، جنوب، شرق، غرب) به‌نحوه داخل آب رها می‌شد که سر رت‌ها به سمت دیواره حوضچه قرار گیرد. در این حالت، رت‌ها شنا می‌کرد تا سکو پنهان زیر آب را پیدا کند و روی آن قرار گیرد. در صورتی که رت‌ها قادر به پیدا کردن سکو در مدت ۶۰ ثانیه نبود با دست به طرف آن هدایت می‌شد. پس از پیدا کردن سکو، به رت‌ها 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 تمرین اندازه‌گیری و ثبت می‌شد. پس از آخرین کار آزمایی تمرین در هر روز، رت‌ها از

درجه سانتی‌گراد، ده دقیقه، ۱۲۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. سوپرناتانت برداشته و به مدت پنج دقیقه در دمای اتاق (۱۵-۲۵ درجه سانتی‌گراد) نگهداری شد. سپس با نسبت یک به ۰/۵ با کلروفرم مخلوط و به مدت ۱۵ ثانیه به شدت تکان داده شد. محصول به مدت دو الی سه دقیقه در دمای اتاق نگهداری شد. سپس میکروتیوب در دمای چهار درجه سانتی‌گراد، به مدت ۱۵ دقیقه، ۱۲۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ و بخش معدنی و آبی از هم جدا شدند. بخش محتوی RNA برداشته و با نسبت یک به ۰/۵ با ایزوپروپانول مخلوط و به مدت ده دقیقه در دمای اتاق نگه داشته شد. سپس، در چهار درجه سانتی‌گراد، به مدت ده دقیقه، ۱۲۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. پلیت حاوی RNA در اتانول شستشو و در ۲۰ میکرولیتر آب RNase-Free حل گردید. تمام مراحل استخراج زیر هود و با مواد و وسایل کاملاً استریل انجام گرفت. غلظت RNA با استفاده از دستگاه نانودراپ سنجیده و نسبت ۲۶۰ به ۲۸۰ بین ۱/۲ تا ۱/۸ به‌عنوان تخلیص مطلوب تعریف شد. جهت اطمینان بیشتر از صحت تخلیص RNA، تعدادی از RNAs تخلیص شده به‌طور تصادفی روی ژل آگارز ۱/۵ درصد الکتروفورز شد. سنتز cDNA به‌وسیله Applied Biosystems High Capacity cDNA Reverse Transcription Kit و مطابق با دستورالعمل آن انجام شد. تمام مراحل انجام کار روی یخ، زیر هود و با استفاده از وسایل RNase Free انجام شد.

#### واکنش زنجیره پلیمرز زمان واقعی<sup>۱</sup>

برای اندازه‌گیری بیان ژن با استفاده از روش کمی Real Time-PCR در ابتدای کار میزان غلظت بهینه cDNA و همچنین پرایمرهای مربوط به هر ژن

با استفاده از آزمایش سریال غلظت برای هر کدام به‌طور جداگانه مشخص گردید، به‌طوری که کمترین میزان دایمر و بهترین  $C_t$  مشاهده شود. Real Time-PCR با استفاده از RealQ Plus 2x Master Mix Green شرکت AMPLIQON و با استفاده از غلظت ۲۵۰ نانوگرم از cDNA به‌صورت Duplicate انجام گرفت. توالی پرایمرهای مربوط به متغیرهای مورد مطالعه بر اساس اطلاعات این ژن‌ها در بانک ژنی NCBI توسط شرکت پیشگام، ایران طراحی شد. توالی پرایمرهای مورد استفاده در جدول یک گزارش شده است. برنامه Real Time-PCR شامل: واسرشت اولیه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد و به مدت ده دقیقه، واسرشت در هر سیکل PCR در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ ثانیه و با توجه به دمای انلینگ پرایمرها هر سیکل به مدت ۳۰ ثانیه (چهل سیکل) در نظر گرفته شد. از ژن گلیسرآلدهید-سه- فسفات دهیدروژناز<sup>۲</sup> (GAPDH) به‌عنوان ژن کنترل استفاده شد و میزان بیان ژن مورد نظر با فرمول  $2^{-\Delta\Delta CT}$  محاسبه شد [۱۵].

برای بررسی طبیعی بودن توزیع داده‌ها از آزمون شاپیرو- ویلک استفاده شد. همچنین، آزمون لوین برای بررسی همسان بودن واریانس‌ها بکار رفت. به‌منظور مقایسه‌های بین گروهی از تحلیل واریانس یکطرفه و در صورت نیاز از آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. معنی‌داری بین متغیرها در سطح  $p < 0.05$  مورد توجه قرار گرفت. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها، از نرم‌افزار SPSS-16 و برای ترسیم نمودارها از نرم‌افزار Excel 2016 استفاده شد.

<sup>2</sup> Glyceraldehyde-3-Phosphate Dehydrogenase

<sup>1</sup> Real Time-PCR

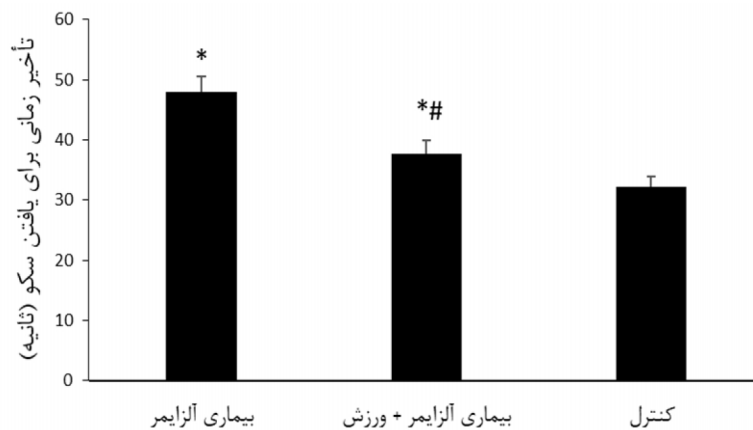
جدول ۱. توالی پرایمرهای مورد مطالعه در تحقیق حاضر

Gene	Forward/Reverse	Primer (5' → 3')
SIRT1	F	GCTGCTTGCTGTCCATACCT
	R	TGGTTTACAACGTCTGTGCCT
CREB	F	CAGTTGTTATGGCGTCCT
	R	CTTGCTGCTTCCCTGTTC
BDNF	F	TGCAGGGGATAGACAAAAGG
	R	CTTATGAATCGCCAGCCAATTCTC
GAPDH	F	AAGTTCAACGGCACAGTCAAGG
	R	CATACTCAGCACCAGCATCACC

## یافته‌ها

بین گروه‌های مورد مطالعه در اجرای آزمون سکوی آشکار تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ( $p < 0.05$ ). نتایج آزمون تحلیل واریانس یک طرفه نشان‌دهنده وجود تفاوت معنی‌دار در میانگین تأخیر زمانی برای یافتن سکو در طی چهار روز مرحله یادگیری بین گروه‌ها بود ( $F=85/372, p \leq 0.001$ ). نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد که میانگین تأخیر زمانی برای

یافتن سکو در گروه‌های رت‌های آلزایمری و رت‌های آلزایمری تمرین به‌طور معنی‌داری بیشتر از گروه کنترل- سالم بود ( $p \leq 0.001$ ). همچنین، گروه رت‌های آلزایمری+ تمرین در مقایسه با گروه رت‌های آلزایمری به‌طور معنی‌داری میانگین تأخیر زمانی کمتری برای یافتن سکو نشان دادند ( $p \leq 0.001$ ) (نمودار ۱).

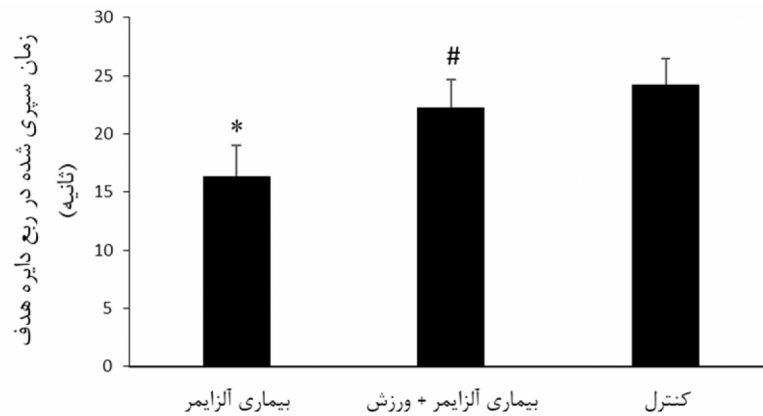


نمودار ۱. تغییرات تأخیر زمانی برای یافتن سکو در مرحله یادگیری در گروه‌های مختلف

\*:  $p \leq 0.001$  تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل- سالم؛ #:  $p \leq 0.001$  تفاوت معنی‌دار با گروه رت‌های آلزایمری

نتایج آزمون پروب برای بررسی حافظه فضایی رت‌ها نشان داد که زمان صرف‌شده در ربع دایره هدف برای گروه‌های مختلف به‌طور معنی‌داری متفاوت است ( $F=20/415, p \leq 0.001$ ). مدت زمان سپری‌شده در ربع دایره هدف در گروه رت‌های

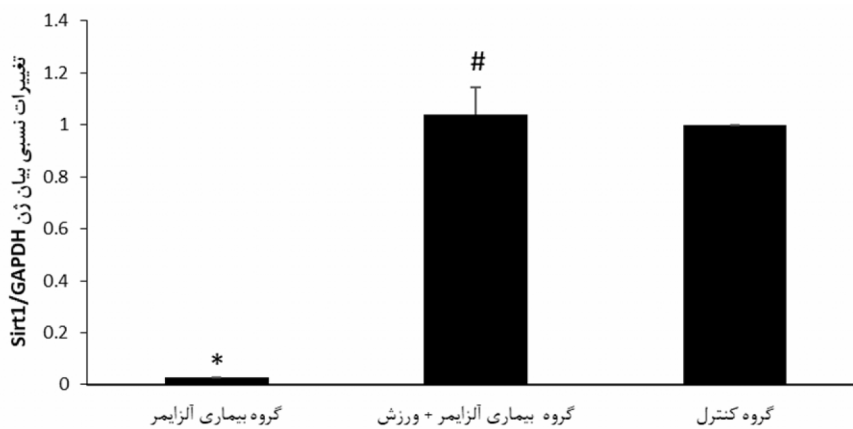
آلزایمری به‌طور معنی‌داری کمتر از گروه کنترل- سالم بود ( $p \leq 0.001$ ). همچنین، گروه رت‌های آلزایمری- تمرین در مقایسه با رت‌های آلزایمری به‌طور معنی‌داری عملکرد بهتری در آزمون حافظه داشتند ( $p \leq 0.001$ ) (نمودار ۲).



نمودار ۲. تغییرات مدت زمان سپری شده در ربع دایره هدف در آزمون پروب در گروه‌های مختلف  
\* $P \leq 0.001$  تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل- سالم؛ # $P \leq 0.001$  تفاوت معنی‌دار با گروه رت‌های آلزایمری

نتایج آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه نشان داد که بین میزان بیان mRNA Sirt1 هیپو کمپ در گروه‌های مختلف تفاوت آماری معنی‌داری وجود دارد ( $F=52/814, p \leq 0.001$ ). میزان بیان mRNA Sirt1 هیپو کمپ در گروه رت‌های آلزایمری در مقایسه با گروه کنترل- سالم به‌طور معنی‌داری کاهش یافت ( $p \leq 0.001$ ) (نمودار ۳).

نتایج آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه نشان داد که بین میزان بیان mRNA Sirt1 هیپو کمپ در گروه‌های مختلف تفاوت آماری معنی‌داری وجود دارد ( $F=52/814, p \leq 0.001$ ). میزان بیان mRNA Sirt1 هیپو کمپ در گروه رت‌های آلزایمری در مقایسه با گروه کنترل- سالم به‌طور معنی‌داری کاهش یافت

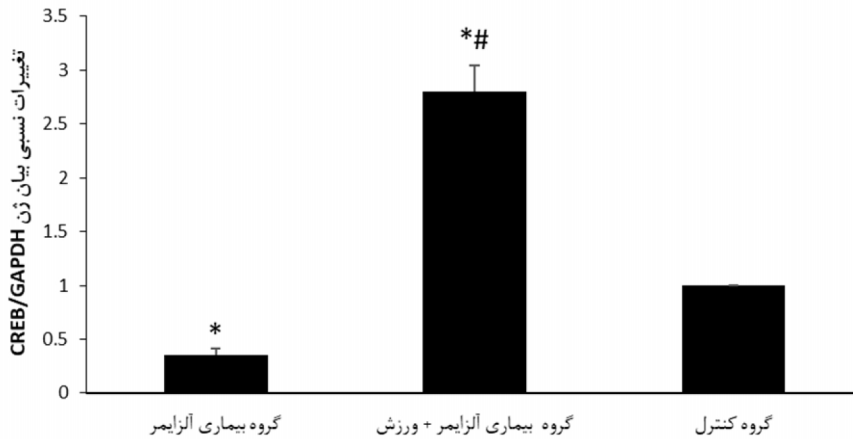


نمودار ۳. تغییرات نسبی بیان ژن Sirt1/GAPDH بافت هیپو کمپ در گروه‌های مختلف  
\* $p \leq 0.001$  تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل- سالم؛ # $p \leq 0.001$  تفاوت معنی‌دار با گروه رت‌های آلزایمری

بین میزان بیان mRNA CREB هیپو کمپ در گروه‌های مختلف نیز تفاوت آماری معنی‌داری مشاهده شد ( $F=47/228, p \leq 0.001$ ). میزان بیان mRNA CREB هیپو کمپ در گروه رت‌های آلزایمری در مقایسه با گروه کنترل- سالم به‌طور معنی‌داری افزایش داد ( $p \leq 0.001$ ) (نمودار ۴).

معنی‌داری کمتر بود ( $p \leq 0.001$ ). همچنین، تمرین هوازی میزان بیان mRNA CREB هیپو کمپ را نسبت به گروه رت‌های آلزایمری و گروه کنترل- سالم به‌صورت معنی‌داری افزایش داد ( $p \leq 0.001$ ) (نمودار ۴).



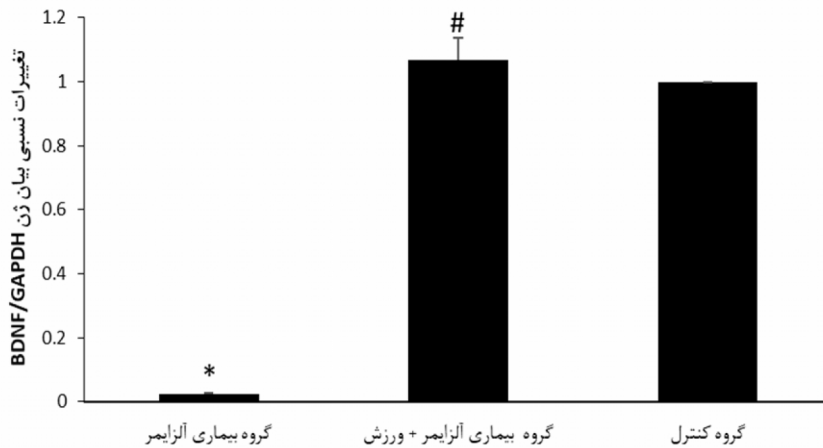


نمودار ۴. تغییرات بیان ژن CREB/GAPDH بافت هیپوکمپ گروه‌های مختلف

\*:  $p \leq 0.001$  تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل- سالم؛ #:  $p \leq 0.001$  تفاوت معنی‌دار با گروه رت‌های آلزایمری

معنی‌داری کمتر بود ( $p \leq 0.001$ ). همچنین، رت‌های گروه آلزایمر + تمرین افزایش معنی‌دار میزان بیان mRNA BDNF هیپوکمپ را در مقایسه با گروه رت‌های آلزایمری نشان دادند ( $p \leq 0.001$ ) (نمودار ۵).

نتایج آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه نشان داد که بین میزان بیان mRNA BDNF هیپوکمپ در گروه‌های مختلف تفاوت آماری معنی‌داری وجود دارد ( $F=12/953$ ,  $p \leq 0.001$ ). میزان بیان mRNA BDNF هیپوکمپ در گروه رت‌های آلزایمری در مقایسه با گروه کنترل- سالم به‌طور



نمودار ۵. تغییرات بیان ژن BDNF/GAPDH بافت هیپوکمپ گروه‌های مختلف

\*:  $p \leq 0.001$  تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل- سالم؛ #:  $p \leq 0.001$  تفاوت معنی‌دار با گروه رت‌های آلزایمری

پژوهش حاضر نشان داد که میزان یادگیری رت‌هایی که تزریق  $A\beta_{42}$  را تجربه کرده بودند، با افزایش میانگین زمان صرف شده برای رسیدن به سکوی روزهای آموزش ماز آبی، کاهش یافت. با این حال، مداخله تمرین هوازی ما توانست روند یادگیری

## بحث

هدف از مطالعه حاضر، بررسی تأثیر چهار هفته تمرین هوازی بر عملکرد شناختی و بیان ژن‌های Sirt1، BDNF و CREB در بافت هیپوکمپ رت‌های مبتلا به بیماری آلزایمر القا شده با تزریق  $A\beta_{42}$  بود. نتایج

فضایی در مرحله اکتساب را بهبود بخشد. همسو با این یافته، بهبود یادگیری فضایی در اثر تمرین هوازی در رت‌های پیر [۱۶] و مبتلا به بیماری آلزایمر [۱۷] 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 آلزایمری بهبود می‌بخشد. اثرات سودمند تمرین هوازی بر حافظه فضایی نیز پیشتر گزارش شده است [۱۰، ۱۶].

یکی از مهمترین سازوکارهای سلولی درگیر در رشد عصبی، BDNF است. BDNF در بخش‌های مختلف مغز پستانداران از قبیل هیپوکمپ، قشر مغز و مخچه بیان می‌شود و از طریق گیرنده اختصاصی تیروزین کینازی خود، یعنی *trkB* فعالیت‌های زیستی خود را اعمال می‌کند [۶]. سطوح BDNF مغز در برخی شرایط از جمله پیری و بیماری‌های عصبی نظیر بیماری آلزایمر کاهش می‌یابد که این حالت با از دست دادن سلول‌های عصبی و اختلال در عملکرد حافظه همراه است [۱۸، ۱۹]. برای مثال، اخیراً محققین نشان داده‌اند که تزریق بتا آمیلوئید (ماده‌ای که برای القای بیماری آلزایمر بکار برده می‌شود) در شرایط آزمایشگاهی سبب سرکوب مسیر سیگنالینگ  $PGC-1\alpha/FNDC5/BDNF$  در سلول‌های نوروبلاستما می‌شود [۲۰]. در مطالعه حاضر نیز تزریق  $A\beta_{42}$  به هیپوکمپ منجر به کاهش میزان بیان ژن‌های *Sirt1*، *CREB* و *BDNF* شد که تایید دیگری برای القای موفق مدل بیماری آلزایمر می‌باشد.

مطالعات قبلی نشان داده‌اند که تمرین هوازی از مسیرهای مختلفی از جمله افزایش اکسیژن مصرفی مغز، افزایش انتقال‌دهنده‌های عصبی مغز و همچنین تنظیم افزایشی نروتروفین‌ها در مغز، اثرات مفید خود را القا می‌کند [۲۱]. یکی از این نواحی مغزی هیپوکمپ است که نقش مهمی در شکل‌گیری حافظه و یادگیری دارد و نشان داده شده است که تمرین هوازی از طریق افزایش BDNF سبب بهبود عملکرد و ساختار هیپوکمپ می‌شود [۲۲]. تمرین هوازی از طریق مسیر

پیام‌رسانی وابسته به  $PGC-1\alpha$  منجر به افزایش بیان *FNDC5* و در نتیجه افزایش بیان *BDNF* در نورون‌های هیپوکمپ می‌شود [۹، ۲۳]. *Sirt1* شناخته‌شده‌ترین پروتئین در خانواده سیترون می‌باشد. مطابق با این یافته‌ها، نتایج مطالعه حاضر نشان داد که افزایش بیان *Sirt1* ناشی از تمرین هوازی موجب افزایش بیان *CREB* شده و به دنبال آن بیان *BDNF* در بافت هیپوکمپ رت‌های آلزایمری را به صورت مثبت تنظیم می‌کند.

در مغز بالغ، *Sirt1* که در اکثر نواحی مغزی بیان می‌شود، در نورون‌های هیپوکمپ و هیپوتالاموس غالب‌تر است [۲۴]. سطوح *Sirt1* مغزی در نورون‌های پیر کاهش می‌یابد [۲۵] و به وسیله رژیم غذایی با چربی بالا [۲۶] و حالات مختلف بیماری‌زایی عصبی از جمله بیماری آلزایمر به صورت منفی تنظیم می‌شود [۲۷]. در مطالعه حاضر، سطوح *Sirt1* در بافت هیپوکمپ رت‌های مبتلا به بیماری آلزایمر به دنبال چهار هفته تمرین هوازی افزایش یافت که با گزارشات دیگر محققین [۲۸] همسو است. این محققین نشان دادند که تمرین هوازی با افزایش سطوح *Sirt1*، پروتئین‌های درگیر در تولید آمیلوئیدبتا را به صورت منفی تنظیم می‌کند و بار آمیلوئیدی را کاهش می‌دهد [۲۸]. علاوه بر این، *Sirt1* نقش‌های وسیع شناخته‌شده‌ای در محافظت عصبی دارد و آنتاگونیستی بر علیه گسترش فرآیندهای انحطاط عصبی بشمار می‌رود. نقش *Sirt1* در شکل‌پذیری سیناپسی و عملکرد شناختی اغلب با شرایط پاتولوژیکی عصبی که یادگیری و حافظه را تخریب می‌کند، در حال ستیز است. رت‌هایی که *Sirt1* آنها تخریب شده بود، به طور عمده آناتومی مغزی طبیعی داشتند، اما در شکل‌پذیری سیناپسی نقص داشتند؛ آزمایشات رفتاری نشان داد که حافظه کوتاه مدت، حافظه بلندمدت و همچنین یادگیری فضایی این رت‌ها در مقایسه با گروه کنترل- سالم معیوب می‌شود. بعلاوه، توانمندسازی طولانی مدت آنها دچار

### محدودیت‌های پژوهش

۱. استفاده از داروی بی‌هوشی که می‌تواند روی BDNF تاثیر داشته باشد.
۲. عدم سرکشی به رت‌ها در سایر زمان‌های غیر تمرینی به دلیل محدودیت‌های موجود در ورود و خروج به حیوان‌خانه انیستیتو پاستور.
۳. عدم کنترل عوامل استرس‌زا مانند صداها و نورهای مزاحم در حیوان‌خانه به دلیل وجود حیوانات سایر پژوهشگران.

### تشکر و قدردانی

این پژوهش با هزینه شخصی انجام شده است. همچنین، مقاله حاضر برگرفته از رساله طاهره دلیر، گروه فیزیولوژی و ورزشی دانشکده تربیت بدنی و علوم زیستی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران مرکزی می‌باشد. کلیه مراحل مطالعه با توجه به دستورالعمل اخلاقی و مجوز معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکزی با شماره IR.IAU.TMU.REC.1399.128 انجام شده است. از پرسنل محترم بخش فیزیولوژی و فارماکولوژی انیستیتو پاستور ایران بخاطر همکاری در اجرای این مطالعه کمال تشکر و قدردانی می‌گردد.

### تعارض منافع

نویسندگان مقاله هیچ‌گونه تعارضی در منافع اعلام نکردند.

اختلال می‌شود [۲۹]. Sirt1 شکل‌پذیری سیناپسی را از طریق تنظیم BDNF انجام می‌دهد. Sirt1 از طریق مهار بیان miR-134، بیان BDNF به‌واسطه محور CREB-BDNF را به‌صورت مثبت تنظیم می‌کند [۱۱]. همچنین، داستیلایسیون MeCP2 به‌وسیله Sirt1 می‌تواند رونویسی BDNF را توسعه بخشد [۳۰]. یکی دیگر از یافته‌های مطالعه حاضر، افزایش بیان سطوح CREB در بافت هیپوکمپ به دنبال تمرینات هوازی بود. CREB یک فاکتور رونویسی است که نقش مهمی در حفاظت نورونی و بهبود یادگیری و حافظه دارد. CREB علاوه بر این که به‌طور مستقیم بیان BDNF را تحت تأثیر قرار می‌دهد، به واسطه بازخورد مثبت بیان PGC-1 $\alpha$  را در نئوکورتکس و استریاتوم کنترل می‌کند و می‌تواند به‌عنوان محرک مسیر پیام‌رسانی PGC-1 $\alpha$ /FND5/BDNF نیز در نظر گرفته شود [۳۱].

### نتیجه‌گیری

به نظر می‌رسد که تمرین هوازی در رت‌های مبتلا به بیماری آلزایمر قادر است یادگیری و حافظه فضایی را بهبود بخشد و مسیر پیام‌رسانی SIRT1/CREB/BDNF در بافت هیپوکمپ را به‌صورت مثبت تنظیم کند. این مطالعه بینش جدید و ارزشمندی در مورد سازوکارهای مولکولی ایجاد می‌کند که احتمالاً تمرین هوازی تناوبی از طریق آن عملکرد شناخت فضایی در شرایط بیماری آلزایمر را بهبود می‌بخشد.

### References

- 1- Ballaegh CG, Gauthier S, Corbett A, Brayne C, Aarsland, DJ, Jones E. Alzheimer's disease. Lancet. 2011 Mar 19; 377: 1019-1031.
- 2- Baker LD, Bayer-Carter JL, Skinner J, Montine TJ, Cholerton BA, Callaghan M, et al. High-intensity physical activity modulates diet effects on cerebrospinal amyloid- $\beta$  levels in normal aging and mild cognitive impairment. J Alzheimers Dis. 2012 Jan;28 (1):137-146.
- 3- Rolland Y, Van Kan GA, Vellas B. Healthy brain aging: role of exercise and physical activity. Clin Geriatr Med. 2010 Feb;26(1):75-87.
- 4- Cotman CW, Berchtold NC, Christie L-A. Exercise builds brain health: key roles of growth factor cascades and inflammation. Trends Neurosci. 2007 Sep;30(9):464-72.

- 5- Intlekofer KA, Cotman CW. Exercise counteracts declining hippocampal function in aging and Alzheimer's disease. *Neurobiol Dis.* 2013 Sep;57:47-55.
- 6- Rosa E, Fahnstock M. Amyloid-Beta, BDNF, and the Mechanism of neurodegeneration in Alzheimer's disease. *Handbook Neurotox: Springer.* 2014;1597-620.
- 7- Adachi N, Numakawa T, Richards M, Nakajima S, Kunugi H. New insight in expression, transport, and secretion of brain-derived neurotrophic factor: implications in brain-related diseases. *World J Boil Chem.* 2014 Nov 26;5(4):409-428.
- 8- Soya H, Nakamura T, Deocaris CC, Kimpara A, Iimura M, Fujikawa T, et al. BDNF induction with mild exercise in the rat hippocampus. *Biochem Biophys Res Commun.* 2007 Jul 13;358(4):961-7.
- 9- 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 Meta.* 2013 Nov;18(5):649-59.
- 10- 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 Apr;102:78-88.
- 11- Shen J, Xu L, Qu C, Sun H, Zhang J. Resveratrol prevents cognitive deficits induced by chronic unpredictable mild stress: Sirt1/miR-134 signalling pathway regulates CREB/BDNF expression in hippocampus in vivo and in vitro. *Behav Brain Res.* 2018 Sep;349:1-7.
- 12- 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 J Med Sci.* 2018 Feb-Mar;24(165):74-84. [Full text in Persian]
- 13- Jakubs K, Nanobashvili A, Bonde S, T.Ekdahl Ch, Kokaia Z, Kokaia M, et al. Environment matters: synaptic properties of neurons born in the epileptic adult brain develop to reduce excitability. *Neuron.* 2006 Dec;52(6):1047-59.
- 14- 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. *Neurobio Dis.* 2012 Mar;45(3):1153-62.
- 15- Pfaffl MW. A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR. *Nucleic Acids Res.* 2001 May; 29(9):2002-2007.
- 16- 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. *Front Mol Neurosci.* 2017 May;10(144):1-14.
- 17- 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. *Neurochem Res.* 2018 Jun;43(8):1561-1574.
- 18- Gezen-Ak D, Dursun E, Hanağası H, Bilgiç B, Lohman E, Araz ÖS, et al. BDNF, TNF $\alpha$ , HSP90, CFH, and IL-10 serum levels in patients with early or late onset Alzheimer's disease or mild cognitive impairment. *J Alzheimers Dis.* 2013 May 13; 37(1):185-195.
- 19- Levada OA, Cherednichenko NV, Trailin AV, Troyan AS. Plasma brain-derived neurotrophic factor as a biomarker for the main types of mild neurocognitive disorders and treatment efficacy: a preliminary study. *Dis Markers.* 2016 Jul 23;2016:1-8.
- 20- Xia D-Y, Huang X, Bi C-F, Mao L-L, Peng L-J, Qian H-R. PGC-1 $\alpha$  or FNDC5 is involved in modulating the effects of A $\beta$ 1-42 oligomers on suppressing the expression of BDNF, a beneficial factor for inhibiting neuronal apoptosis, A $\beta$  deposition and cognitive decline of APP/PS1 Tg mice. *Front Aging Neurosci.* 2017 Mar; 9:65.
- 21- Sheikhzadeh F, Etemad A, Khoshghadam S, Asl NA, Zare P. Hippocampal BDNF content in response to short-and long-term exercise. *Neurol Sci.* 2015 Apr;36(7):1163-6.
- 22- Vaynman S, Ying Z, Gomez-Pinilla F. Hippocampal BDNF mediates the efficacy of exercise on synaptic plasticity and cognition. *Eur J Neurosci.* 2004 Nov;20(10):2580-90.
- 23- 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. *J Pract Study Biosci Sport.* 2019 Autumn-Winter; 7(14):91-101. [Full text in Persian]

- 24-Zakhary SM, Ayubcha D, Dileo JN, Jose R, Leheste JR, Horowitz JM, et al. Distribution analysis of deacetylase SIRT1 in rodent and human nervous systems. *The Anatomical Record: Advanc Integ Ana Evol Bio*. 2010 May;293(6):1024-1032.
- 25-Sharma KR, Sheriff S, Maudsley A, Govind V. Diffusion tensor imaging of basal ganglia and thalamus in amyotrophic lateral sclerosis. *J Neuroimaging*. 2013 Jul;23(3):368-374.
- 26- Heyward FD, Walton RG, Carle MS, Coleman MA, Garvey WT, Sweatt JD. Adult mice maintained on a high-fat diet exhibit object location memory deficits and reduced hippocampal SIRT1 gene expression. *Neurobio Learn Mem*. 2012 Jul;98(1):25-32.
- 27-Julien C, Tremblay C, Emond V, Lebbadi M, Salem Jr N, Bennett DA, et al. Sirtuin 1 reduction parallels the accumulation of tau in Alzheimer disease. *J Neuropathol Exp Neurol*. 2009 Jan;68(1):48-58.
- 28-Koo J-H, Kang E-B, Oh Y-S, Yang D-S, Cho J-Y. Treadmill exercise decreases amyloid- $\beta$  burden possibly via activation of SIRT-1 signaling in a mouse model of Alzheimer's disease. *Exp Neurol*. 2017 Feb;288:142-52.
- 29-Michán S, Li Y, Chou MM-H, Parrella E, Ge H, Long JM, et al. SIRT1 is essential for normal cognitive function and synaptic plasticity. *J Neurosci*. 2010 Jul;30(29):9695-707.
- 30-Ng F, Wijaya L, Tang BL. SIRT1 in the brain—connections with aging-associated disorders and lifespan. *Front Cell Neurosci*. 2015 Mar; 9:64.
- 31-Farshbaf MJ, Ghaedi K, Megraw TL, Curtiss J, Faradonbeh MS, Vaziri P, et al. Does PGC1 $\alpha$ /FNDC5/BDNF elicit the beneficial effects of exercise on neurodegenerative disorders? *Neuromol Med*. 2016 Nov;18(1):1-15.