



Evaluation of BDNF and Irisin changes involved in cognitive performance after 6 weeks of intermittent high-intensity swimming training in the hippocampus of adult male Wistar rats disease

Fateme Mirakhori¹, Zahra Mirakhori^{2*}, Elham Shahabpour³, Saeed Daneshyar⁴

1. Assistant Professor, Department of Physical Education, Faculty of Social Sciences, International University of Emam Khomeini, Ghazvin, Iran. mirakhori@soc.ikiu.ac.ir
2. Corresponding Author, Assistant Professor, Department of Physical Education, Amirkabir University of Technology, Tehran, Iran. zmirakhori@aut.ac.ir
3. Assistant Professor, Department of Sport Sciences, Faculty of Humanities Sciences, University of Hormozgan, Hormozgan, Iran. Elham.shahabpour@yahoo.com
4. Assistant Professor, Department of Basic Sciences, Hamedan University of Technology, Hamedan, Iran. s.daneshyar@yahoo.com

Article Information

Article type: Research Article

Vol: 16
No: 31
P: 66-76
Received: 2024-04-07
Revised: 2024-08-24
Accepted: 2024-08-28

Cite this Article:

Mirakhori Fateme, Mirakhori Zahra, Shahabpour Elham, Daneshyar Saeed. Evaluation of BDNF and Irisin changes involved in cognitive performance after 6 weeks of intermittent high-intensity swimming training in the hippocampus of adult male Wistar rats. *Journal of Sport and Biomotor Sciences*. 2024; 16(31): 66-76.
doi: 10.22034/sbs.2024.451467.1092

Publisher: Hakim Sabzevari University

© The Author(s)



10.22034/sbs.2024.451467.1092

Abstract

Introduction and Purpose: Irisin and brain neurotrophic factor are involved in cognitive function as molecular indicators. The present study investigated the effect of high-intensity swimming on the changes of these two factors and cognitive performance.

Materials and Methods: The research method was experimental. 20 male Wistar rats (age 8 weeks, weight 250 ± 30 grams) were randomly divided into training and control groups after two weeks of familiarization with the standard environment of the animals in the laboratory and the training protocol. The training group participated in six weeks of high-intensity swimming training, and 48 hours after the last training session, the mice were sacrificed and their hippocampus tissue was removed. Real-time PCR method was used to measure irisin and BDNF gene expression, and Morris water test was used to evaluate cognitive function. Independent t-test was used to analyze gene expression findings and covariance test was used for cognitive function at a significance level of $P < 0.05$.

Results: The results showed that six weeks of high-intensity swimming significantly increased the levels of irisin, BDNF ($P = 0.001$) and improved cognitive performance ($P = 0.008$) in the training group compared to the control group.

Discussion and Conclusion: Irisin and BDNF levels of the hippocampus significantly increase in response to six weeks of high-intensity swimming training, and this increase was in line with the improvement of the cognitive test of water maze. Therefore, it seems that a part of the cognitive performance improvement following the training protocol occurred with the incremental changes of irisin and BDNF in brain cells.

Key Words: Irisin, cognitive function, retardation and hippocampus

Extended Abstract

1. Introduction and Purpose

Irisin, a hormone primarily produced in adipose tissue, is recognized as a metabolic factor. It exhibits a notable increase in response to physical activity and can positively influence metabolism and overall health. BDNF (Brain-Derived Neurotrophic Factor) is a crucial protein in the central nervous system that plays a significant role in various neurological diseases. BDNF is essential for the survival and maintenance of neurons, as well as for synaptic plasticity, which is the ability of synapses to strengthen or weaken over time in response to increases or decreases in activity. Decreased levels of BDNF have been linked to neurological and cognitive disorders and can contribute to the progression of diseases such as Alzheimer's, Parkinson's, and depression. Research has demonstrated that irisin can modulate BDNF levels within the body. For instance, one study observed a concurrent rise in irisin and BDNF levels following exercise, suggesting a positive correlation between these two molecules. Collectively, the evidence supports irisin's role as a mediator in elevating BDNF levels, which can subsequently enhance cognitive function and neurological health. These findings hold potential for the development of novel therapeutic approaches to address neurological and metabolic disorders. BDNF likely plays a crucial role in synaptic development and exercise-induced cognitive improvements. While irisin has been identified as a potential link between exercise training and cognitive function, the underlying cellular and molecular mechanisms remain unclear. Given the effects of BDNF and irisin on the nervous system and their expression changes in response to exercise, this study aimed to investigate the impact of high-intensity swimming on these two factors and cognitive function.

2. Materials and Methods

This study employed an experimental research design. Twenty male Wistar rats, aged 8 weeks and weighing 250 ± 30 grams, were randomly divided into two groups: training and control. After a two-week acclimation period, the training group participated in six weeks of high-intensity interval swimming. Forty-eight hours after the final training session, the rats were euthanized, and their hippocampal tissue was collected. Real-time PCR was used to quantify irisin and BDNF gene expression, while the Morris water maze test was used to assess cognitive function. An independent t-test was used to analyze gene expression data, the Pearson correlation test was employed to examine the relationship between irisin and BDNF

changes with cognitive function, and the covariance test was conducted using SPSS software with a significance level of $P < 0.05$.

3. Results

The results showed that six weeks of high-intensity swimming significantly increased the levels of irisin, BDNF levels ($P=001$) and improved cognitive function ($P=008$) in the training group compared to the control group.

4. Conclusions

Hippocampal irisin and BDNF levels significantly increased in response to six weeks of high-intensity interval training, which was consistent with improved performance on the water maze cognitive test. BDNF, by binding to TrkB receptors, activates signaling pathways that lead to changes in gene expression and metabolic activity. This signaling can enhance synaptic plasticity and improve cognitive function. Additionally, BDNF can serve as a biomarker for assessing the severity of neurological diseases and treatment responses. Research has demonstrated that physical activity and environmental stimulation can elevate BDNF levels, contributing to improved cognitive function and reduced symptoms of neurological diseases. Specifically, BDNF plays a role in strengthening synapses and improving neuronal communication, which are essential for learning and memory. Exercise training increases the activity of the PGC1 α /ERR α pathway, leading to increased irisin expression in the brain. Irisin also activates BDNF and increases plasma irisin levels. Furthermore, elevated plasma irisin can directly interact with brain cells, increasing BDNF expression through the cAMP/PKA pathway. Therefore, irisin appears to activate BDNF both directly in the brain and indirectly by increasing its expression in brain cells. It is likely that part of the cognitive improvements observed following the training protocol resulted from incremental changes in brain irisin and BDNF levels.

5. Acknowledgment & Funding

We sincerely thank all the people who have cooperated with the researchers in the progress of this study.

6. Ethical Consideration

This study followed the ethical standards and was approved by the Ethics Committee of the Tehran University of Medical Sciences with the ethical code: IR.SSRI.1400.964

7. Contribution of authors

All authors have contributed to the article. all authors read and approved the final manuscript..

8. Conflict of interest

According to the authors, this article has no conflict of interest.

بررسی تغییرات BDNF و آیریزین در عملکرد شناختی به دنبال ۶ هفته تمرین تناوبی شنا با شدت بالا در هیپوکمپ موش های صحرایی نر بالغ و بیستار

فاطمه میرآخوری^۱، زهرا میرآخوری^{۲*}، الهام شهاب پور^۳، سعید دانشیار^۴

۱. استادیار، گروه تربیت بدنی، دانشکده علوم اجتماعی، دانشگاه بین المللی امام خمینی، قزوین، ایران. mirakhori@soc.ikiu.ac.ir
۲. نویسنده مسئول، استادیار، گروه تربیت بدنی، دانشگاه صنعتی امیرکبیر، تهران، ایران. zmirakhori@aut.ac.ir
۳. استادیار، گروه علوم ورزشی، دانشکده علوم انسانی، دانشگاه هرمزگان، هرمزگان، ایران. Elham.shahabpour@yahoo.com
۴. استادیار، گروه علوم پایه، دانشگاه صنعتی همدان، همدان، ایران. s.daneshyar@yahoo.com

اطلاعات مقاله	چکیده
نوع مقاله: پژوهشی	مقدمه و هدف: آیریزین و عامل نوروتروفیک مغزی به عنوان شاخص های مولکولی درگیر در عملکرد شناختی می باشند. پژوهش حاضر به دنبال بررسی اثر شنا با شدت بالا بر تغییرات این دو عامل و عملکرد شناختی می باشد.
دوره: ۱۶	
شماره: ۳۱	
صفحه: ۶۶-۷۶	
تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۱/۱۹	مواد و روش ها: روش پژوهش از نوع تجربی بود. ۲۰ سرموش صحرایی نر و بیستار (سن ۸ هفته، وزن 30 ± 25 گرم) پس از دو هفته آشناسازی با محیط استاندارد حیوانات در آزمایشگاه و پروتکل تمرین، به طور تصادفی به دو گروه تمرین و کنترل تقسیم شدند. گروه تمرین در شش هفته تمرین شنا با شدت بالا شرکت کرد و ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین، موش ها قربانی و بافت هیپوکمپ آن ها برداشته شد. برای سنجش بیان ژن آیریزین و BDNF از روش real-time PCR و برای ارزیابی عملکرد شناختی از آزمون آبی موریس استفاده شد. برای تحلیل یافته های بیان ژن از آزمون تی مستقل و برای عملکرد شناختی از آزمون کوواریانس در سطح معناداری $P < 0.05$ استفاده شد.
تاریخ ویرایش: ۱۴۰۳/۰۶/۰۳	یافته ها: نتایج نشان داد، شش هفته شنا با شدت بالا موجب افزایش معنادار سطوح آیریزین، BDNF و $(P = 0.001)$ و بهبود عملکرد شناختی $(P = 0.008)$ گروه تمرین نسبت به گروه کنترل شد.
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۶/۰۷	بحث و نتیجه گیری: سطوح آیریزین و BDNF هیپوکمپ در پاسخ به شش هفته تمرینات شنا با شدت بالا به طور معناداری افزایش می یابد و این افزایش با بهبود عملکرد آزمون شناختی ماز آبی همراستا بود. از این رو به نظر می رسد بخشی از بهبود عملکرد شناختی متعاقب پروتکل تمرین با تغییرات افزایشی آیریزین و BDNF سلول های مغزی رخ داده باشد.
	واژه های کلیدی: آیریزین، عملکرد شناختی، واماندگی، هیپوکمپ

نحوه ارجاع به این مقاله:

میرآخوری فاطمه، میرآخوری زهرا، شهاب پور الهام، دانشیار سعید. بررسی تغییرات BDNF و آیریزین در عملکرد شناختی به دنبال ۶ هفته تمرین تناوبی شنا با شدت بالا در هیپوکمپ موش های صحرایی نر بالغ و بیستار. نشریه ورزش و علوم زیست حرکتی. ۱۴۰۳؛ ۱۶(۳۱): ۶۶-۷۶.

doi: 10.22034/sbs.2024.451467.1092

ناشر: دانشگاه حکیم سبزواری



© نویسنده(گان).

doi 10.22034/sbs.2024.451467.1092

مقدمه

عصبی هیپوکمپ را افزایش می‌دهد (۱۴) و آسیب ناشی از محرک پرواکسیدانسی را کاهش می‌دهد (۱۷). پژوهش‌ها نشان دادند، آیریزین از طریق فعال‌سازی مسیر PGC-1 α /BDNF فعال و بیان می‌شود (۱۸). با این حال سازوکارهای سلولی مولکولی بهبود عملکرد شناختی در پاسخ به تمرینات ورزشی هنوز به روشنی مشخص نشده است و پژوهش‌های اندکی به بررسی بافت هیپوکمپ پرداخته‌اند و غالب گزارش نتایج، حاصل بررسی اثر ورزش بر تغییرات آیریزین و BDNF بر اساس نمونه‌های خونی می‌باشد. علاوه بر این، با وجود آن که پژوهش‌ها نشان دادند آیریزین خود از مسیر فعال سازی BDNF در هیپوکمپ فعال و بیان می‌شود و آیریزین نیز اثر متقابل بر بیان BDNF دارد، در پژوهش‌های پیشین این دو متغیر به صورت جداگانه مورد بررسی قرار گرفتند و پژوهش‌هایی که اثر تمرینات ورزشی به طور همزمان روی هر دو متغیر را مورد بررسی قرار دهند، کمیاب هستند. با توجه به آثار BDNF و آیریزین بر سیستم عصبی و تغییر بیان این دو ژن در پاسخ به تمرینات ورزشی، پژوهش حاضر به دنبال بررسی اثر شش هفته تمرین شنا با شدت بالا، بر عملکرد شناختی و بیان BDNF و آیریزین بافت مغزی (هیپوکمپ) موش‌های صحرایی می‌باشد.

روش شناسی

پژوهش حاضر از نوع تجربی بود. ابتدا، ۲۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با سن ۸ هفته با وزن تقریبی 30 ± 25.0 گرم از موسسه پاستور خریداری و به آزمایشگاه حیوانات دانشگاه خوارزمی منتقل شدند و در قفس‌هایی به ابعاد $42 \times 27 \times 15$ ، به مدت دو هفته با محیط استاندارد حیوانات آزمایشگاهی (چرخه روشنایی تاریکی (۱۲ ساعت روشنایی/۱۲ ساعت تاریکی)، 21 ± 2 درجه سانتی گراد، رطوبت ۶۰-۵۰ درصد و دسترسی آزاد به آب و غذا) و همچنین پروتکل تمرینات شنا آشنا شدند و به طور تصادفی به دو گروه تمرین و کنترل تقسیم شدند. در هر قفس ۲ تا ۳ موش نگهداری شد.

کلیه مراحل مختلف پژوهش با رعایت مسائل اخلاقی، مطابق دستورالعمل کمیته اخلاق کار با حیوانات آزمایشگاهی مصوب دانشگاه علوم پزشکی تهران (کد اخلاق: IR.SSRI.۱۴۰۰.۹۶۴) انجام شد. در طول پژوهش رت‌ها توسط یک نفر جابه‌جا و تمرین داده شد. آب و غذای موش‌های صحرایی به‌طور آزاد در دسترس رت‌ها قرار داشت. در ادامه وزن بدن موش‌ها به‌طور هفتگی اندازه‌گیری شد (جدول ۱).

تمرینات ورزشی موجب بهبود عملکرد در فعالیت‌های شناختی (فعالیت‌هایی از قبیل حافظه، یادگیری، تشخیص نشانه‌ها و الگوها، پذیرش چالش‌های جدید پردازش شنیداری و دیداری) می‌شود (۱). به نظر می‌رسد، آثار مثبت تمرینات ورزشی بر عملکرد شناختی با افزایش تراکم عروق خونی مغز مرتبط است، به طوری که، در نتیجه تمرینات ورزشی، اکسیژن رسانی به اعصاب افزایش می‌یابد (۲). به دنبال تمرینات ورزشی، افزایش چشمگیر حافظه و یادگیری فضایی در رت‌ها مشاهده شده است (۳). این آثار مثبت با افزایش و بهبود عصبی و سیناپس‌ها همراه است (۲). تمرینات ورزشی دارای پتانسیل درمان بسیاری از بیماری‌هایی که با اختلال عملکرد شناختی روبرو هستند، می‌باشد و همچنین احتمال بروز بسیاری از اختلالات سیستم عصبی مرکزی چون آلزایمر یا پارکینسون را کاهش می‌دهد (۴). با این حال اطلاعات کمی در مورد سازوکار این تغییرات در دسترس است. درک سازوکارهای درگیر در بهبود عوامل شناختی، اهمیت بالایی برای درک اثر ورزش بر فعالیت‌های شناختی دارد. بهبود در عملکرد شناختی و حافظه‌ی فضایی، احتمالاً به دلیل تغییرات عصبی در هیپوکمپ است (۵). هیپوکمپ مرکز یادگیری مغز است و تبدیل حافظه تاثیر عامل نوروتروفیک مغزی (BDNF)^۱ که عامل رشدی قوی مغز است، قرار می‌گیرد (۶). BDNF شاخص عملکرد شناختی است که در پاسخ به ورزش از بافت‌های مختلف چون عضله اسکلتی و هیپوتالاموس قدامی به جریان خون رها می‌شود (۷). احتمالاً BDNF نقش مهمی در رشد سیناپسی و بهبود عملکرد شناختی ناشی از ورزش دارد (۲). سطوح BDNF در حین ورزش دو تا سه برابر افزایش می‌یابد (۸). حتی یک وهله تمرینات ورزشی موجب افزایش معنادار سطوح پلاسمایی BDNF می‌شود، هرچند این افزایش موقتی بوده و یک ساعت پس از یک وهله فعالیت، به سطوح پایه خود برمی‌گردد (۸). از طرف دیگر، مایوکاین جدیدی به نام آیریزین به عنوان پل ارتباطی جدید رابط بین تمرینات ورزشی و عملکرد شناختی معرفی شده است (۹). آیریزین از FNDC5^۲ جدا می‌شود. جالب توجه است که FNDC5 به‌وفور در بسیاری از نقاط مغز چون هیپوتالاموس، سلول‌های پورکینز مخچه و هیپوکمپ، تولید می‌شود (۹-۱۲). پژوهش‌ها نشان دادند، بیش بیانی آیریزین و FNDC5 در جوندگان با افزایش تمایز (۱۳)، سنتز نوروتروفین (۱۲) و تکثیر سلول‌های عصبی (۱۴) همراه بوده است. در این میان، به دنبال تمرینات ورزشی، آیریزین سرم افزایش می‌یابد (۹). این میزان افزایش به دنبال تمرینات استقامتی بالاتر از تمرینات مقاومتی گزارش شده است (۱۵، ۱۶). این مایوکاین، تکثیر سلول‌های

جدول ۱. مقادیر وزن موش‌های صحرایی (گرم) طی دو هفته آشناسازی و شش هفته پروتکل تمرین

تمرین	کنترل	گروه هفته
۲۴۵/۶±۱۱/۰	۲۴۹/۰±۱۱/۸	هفته اول
۲۵۷/۸±۹/۷	۲۵۷/۴±۸/۸	هفته دوم
۲۸۰/۶±۶/۲	۲۶۷/۸±۸/۹	هفته سوم
۲۹۲/۶±۱۴/۳	۲۷۷/۰±۷/۷	هفته چهارم
۲۹۸/۲±۱۵/۸	۲۹۳/۶±۷/۴	هفته پنجم
۳۰۰/۲±۱۵/۴	۳۰۸/۴±۵/۸	هفته ششم
۳۰۴/۰±۱۴/۶	۳۲۱/۴±۵/۸	هفته هفتم
۳۰۵/۰±۱۶/۴	۳۳۳/۴±۴/۹	هفته هشتم

درصد وزن بدن اضافه بار شنا کردند. اگر می‌توانستند ۱۰ تکرار را با موفقیت انجام دهند در جلسه بعد یک درصد وزن بدن به آن‌ها وزنه بسته می‌شد. بدین ترتیب موش‌ها تا هفته‌ی چهارم، هر هفته یک درصد وزن بدن، به اضافه بار افزوده شد و تا پایان هفته ششم، اضافه باری حدود ۶ درصد وزن بدن موش‌ها اعمال شد (جدول ۲). همچنین پس از اتمام تمرین با حوله خشک می‌شدند. در طول پروتکل تمرین، همه‌ی رت‌ها توسط یک نفر تمرین داده شدند. بر طبق پژوهش‌های قبلی، حداکثر دو موش صحرایی مجاز به شنا باهم بودند و آن‌ها برای حفظ شنای فعال به‌طور مداوم تحریک می‌شدند (۱۹).

پروتکل تمرین: شرط ورود موش‌های صحرایی به پروتکل پژوهش، سن شش هفته‌ای بود و شرط خروج موش‌های صحرایی از پروتکل تمرین، عدم همکاری آن‌ها در شنا کردن در دو هفته آشناسازی با پروتکل تمرین بود. بر این اساس، هیچ یک از موش‌های صحرایی از پژوهش خارج نشدند. موش‌های صحرایی گروه تمرین در استخرهای شیشه‌ای به ابعاد مشخص (طول ۱۰۰، عرض و عمق ۵۰ سانتی‌متر) حاوی آب لوله کشی، سه روز در هفته به مدت شش هفته بین ساعات ۹ تا ۱۱ صبح تمرین شنا کردند. پروتکل تمرینی به‌صورت تناوبی دو تا سه دقیقه شنا با یک دقیقه استراحت بود. بدین صورت که موش‌ها تا حد واماندگی با تکرارهای دو دقیقه‌ای شنا کردند. از ابتدای هفته موش‌ها با ۳

جدول ۲. پروتکل تمرین، شدت، مدت و میزان اضافه بار در طول شش هفته تمرینات شنا به شکل تناوبی

هفته						متغیر تمرین
ششم	پنجم	چهارم	سوم	دوم	اول	
۶٪	۶٪	۶٪	۵٪	۴٪	۳٪	اضافه بار (درصد وزن بدن)
۳	۳	۲	۲	۲	۲	مدت زمان هر تکرار (دقیقه)
۱۰	۱۰	۱۰	۱۰	۱۰	۱۰	تعداد تکرار

یاد آورد. یک سکوی فلزی تیره با قطر ۱۰ یا ۱۱ سانتی‌متر در فاصله ۱ تا ۵ سانتی‌متری زیر سطح آب در مرکز یکی از چهار ربع شمال شرقی، جنوب شرقی، شمال غربی یا جنوب غربی قرار داده شده است. این سکو برای حیوان غیرقابل رویت است و این فقط وسیله‌ای برای فرار حیوان از آب می‌باشد. دیوارهای اطراف ماز دارای اجسام و علائم و نشانه‌هایی از قبیل پوستر و قفسه و پنجره می‌باشد که موش‌های صحرایی بتوانند به کمک آن‌ها محل سکو را در آب پیدا کنند (۲۱).

روش‌شناسی بیان ژن: رت‌ها ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین، از طریق تزریق درون صفاقی کتامین (۷۵ میلی‌گرم/کیلوگرم) و زایلازین (۱۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) بی‌هوش و قربانی شدند. ابتدا با استفاده از قیچی بزرگ (اسکالپل)، سر از ناحیه بالای ستون فقرات

آزمون عملکرد شناختی (آزمون ماز آبی موریس): آزمون ماز آبی موریس ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین اجرا شد. این آزمون با هدف ارزیابی حافظه و یادگیری فضایی در جوندگان، توسط موریس و همکارانش در سال ۱۹۸۲ معرفی شد و از رایج‌ترین آزمون‌ها در علوم اعصاب شناختی می‌باشد (۲۰). در این آزمون آثار بهبود حافظه مرتبط با عملکرد هیپوکمپ به خوبی نشان داده می‌شود. ابتدا، موش‌های صحرایی در یک مخزن فلزی حلقوی سیاه رنگ با دیواری به قطر ۲۰۰-۱۲۰، ارتفاع ۶۰-۵۰ و عمق ۲۵-۳۰ سانتی‌متر، حاوی آب لوله‌کشی با دمای مطلوب حدود ۲۵±۲ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. حیوان می‌بایست با استفاده از نشانه‌ها و علائم بینایی که در فضای بیرون از مخزن ماز آبی قرار دارند محل سکویی را که درست در زیر سطح آب مخفی شده به

گردنی جدا شد و یک برش طولی در پوست بالای سر ایجاد و با کنار زدن پوست، استخوان جمجمه با الکل ۷۰ درجه شستشو داده شد. سپس با یک قیچی کوچک یه برش کروئال در استخوان اوربیتال بین کاسه‌های چشم ایجاد شد و با استفاده از یک قیچی نوک تیز یک برش طولی دیگر تا برش کروئال ایجاد شده بین دو کاسه چشم ایجاد شد. سپس با کمک یک پنس نوک خمیده، لبه ی استخوان های شکافته شده را به سمت بالا و خارج کشیده شد تا بافت مغز مشاهده و جدا شد و پس از شستشوی آن، بخش هیپوکمپ آن جدا شد (۲۲). سپس بافت هیپوکمپ با استفاده از محلول ترایزول لیز و مطابق با دستورالعمل اینویترژن، RNA تام از ۱۰۰ میلی گرم بافت هیپوکمپ برداشت شد و در دمای ۷۰- درجه سانتی گراد نگهداری شدند. برای تعیین خلوص و کمیت RNA از اسپکتروفتومتری با استفاده از نانودراپ ND 1000 (VWR, Radnor, PA, USA) تعیین شد. سپس یک میلی گرم از RNA تام برای سنتز cDNA با استفاده از کیت استخراج RNA استفاده شد. بدین منظور از کیت سنتز cDNA کیژن RNA real (cat:K1622) استفاده شد. در ادامه همه‌ی وسایل مورد نیاز time-PCR از فریز خارج و پس از کمی ورتکس و اسپین، روی یخ گذاشته شدند. برای هر ژن مخلوطی از اجزای مختلف PCR تهیه و پس از میکس کردن و اسپین در مقادیر ۹ میکرولیتری داخل میکروتیوب های مخصوص دستگاه توزیع شدند و در هر ویال یک میکرولیتر از نمونه cDNA هر نمونه، اضافه گردید. حجم نهایی هر واکنش PCR، ۱۰ میکرولیتر بود. برنامه Real time-PCR بر روی دستگاه کوربت برای هر دو ژن شامل ۹۵° به مدت ۱۰ دقیقه و ۴۵ سیکل ۹۵° به مدت ۱۰ ثانیه، ۶۰° به مدت ۱۵ ثانیه و ۷۲° به مدت ۲۰ ثانیه بود. برای BDNF از پرایمرهای مستقیم GTCCCTTCTACTTTACCTCT

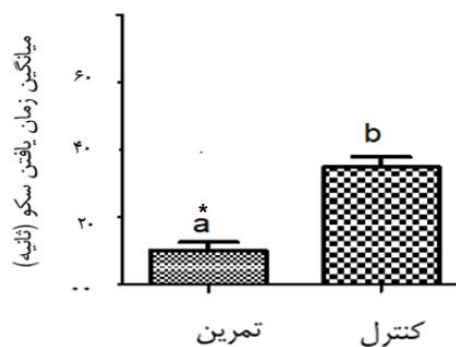
برای TCTTTCACCCTTCCACTCC استفاده شد. برای پرایمر جلویی آیریزین از توالی ATGAAGGAGATGGGGAGGAAC و پرایمر برگشت با توالی TGTTGTTATTGGGCTCGTTCT استفاده شد. همچنین از GAPDH به عنوان ژن کنترل استفاده شد. پرایمر مستقیم AGGTCGGTGTGAACGGATTG و پرایمر معکوس TGTAGACCATGTAGTTGAGGTCA برای GAPDH استفاده شد.

روش‌های آماری

از میانگین و انحراف معیار برای توصیف داده‌ها و برای توزیع طبیعی داده‌ها از آزمون شاپیروویلیک استفاده شد و برای بررسی تغییرات بیان ژن‌های آیریزین و BDNF بین دو گروه کنترل و تمرین از آزمون تی مستقل استفاده شد. برای بررسی تغییرات عملکرد شناختی بین دو گروه کنترل و تمرین نیز از آزمون کوواریانس (آتکووا) استفاده شد. همچنین برای بررسی همبستگی میان تغییرات آیریزین و BDNF با عملکرد شناختی از آزمون همبستگی پیرسون استفاده شد. ملاک پذیرش و عدم‌پذیرش فرضیه‌ها، ارزش $P < 0.05$ بود و از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۹ برای تحلیل یافته‌ها استفاده شد.

یافته‌ها

نتایج آزمون کوواریانس نشان داد در آزمون عملکرد شناختی ماز آبی موریس، گروه تمرین با افزایش معنادار عملکرد در آزمون شناختی نسبت به گروه کنترل همراه بودند ($P = 0.008$)، درجه آزادی = ۱ و اندازه اثر $= 0.563$). به طوری که مدت زمان یافتن سکو در هر بار تلاش در گروه تمرین به طور معناداری کمتر از گروه کنترل بود (شکل ۱).

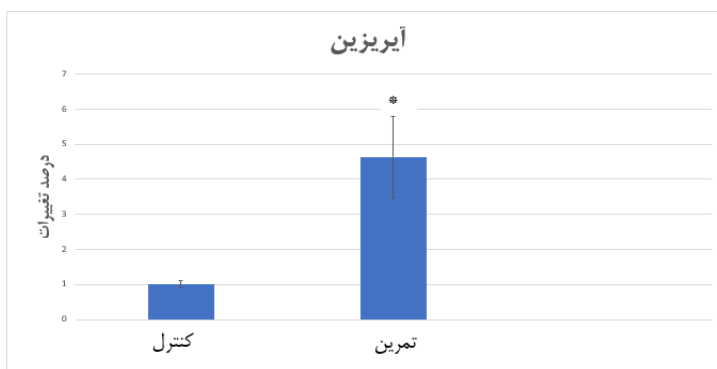


شکل ۱. بیان میانگین زمان یافتن سکوی پنهان شده در زیر سکو در دو گروه کنترل و تمرین

* اختلاف معنی‌داری در سطح $P < 0.05$

نشان داد ($P = 0.001$) (شکل ۲). داده‌های حاصل از آزمون تی مستقل برای متغیرهای آیریزین و BDNF در جدول ۳ ارائه شده است (جدول ۳). همچنین منحنی ذوب آیریزین و BDNF نیز در شکل ۳ ارائه شده است (شکل ۳).

بررسی تغییرات سطوح BDNF بافت مغز نشان داد گروه تمرین نسبت به گروه کنترل، افزایش معنادار داشته است ($P = 0.001$). علاوه بر این، نتایج پژوهش حاضر، افزایش معنادار سطوح آیریزین بافت مغزی گروه تمرین نسبت به گروه کنترل را

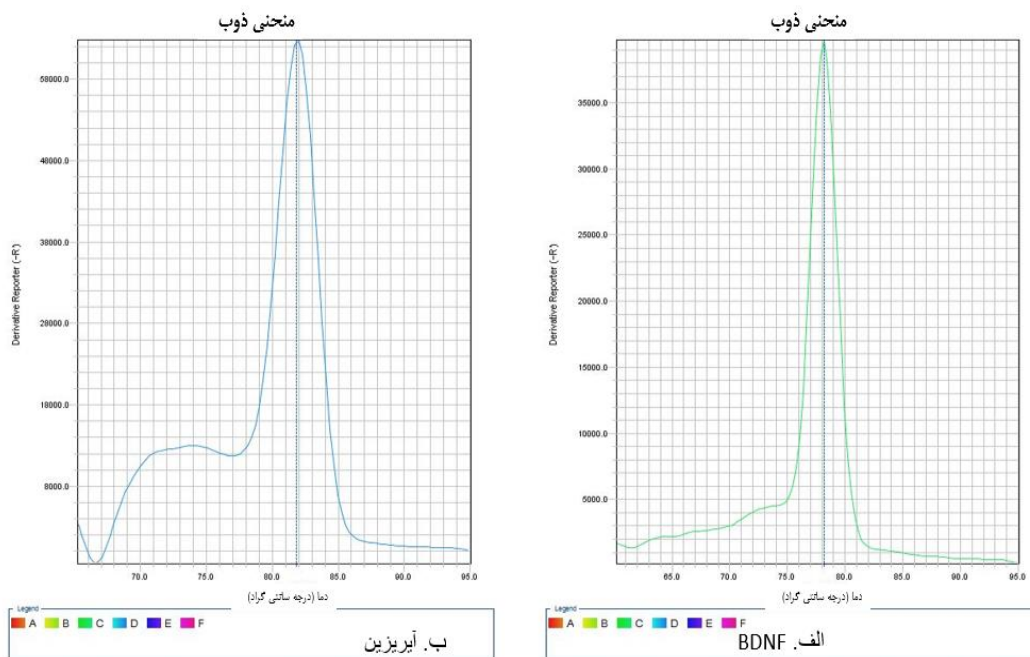


شکل ۲. تغییرات سطوح آیریزین و BDNF بافت هیپوکمپ مغز پس از شش هفته پروتکل اجرایی در دو گروه کنترل و تمرین * اختلاف معنی داری در سطح $P < 0.05$

جدول ۳. نتایج بررسی تغییرات آیریزین و BDNF بافت هیپوکمپ در دو گروه تمرین و کنترل به دنبال ۶ هفته شنا با شدت بالا

P	انحراف معیار	تفاوت میانگین‌ها	F	df	t	
0.001^*	۰/۴۷۶	-۳/۶۳۶۹	۲۳/۳۸۵	۱۰	-۷/۶۳۰	آیریزین
0.001^*	۱/۳۶۸	-۷/۹۰۹۲	۲۰/۷۶۸	۱۰	-۵/۷۸۰	BDNF

* اختلاف معنی داری در سطح $P < 0.05$



شکل ۳. منحنی ذوب BDNF (الف) و آیریزین (ب)

آیریزین و عملکرد شناختی $P < 0.0001$ ، BDNF و عملکرد شناختی $P < 0.001$ (جدول ۴).

نتایج حاصل از آزمون همبستگی پیرسون نشان داد، تغییرات بیان هردو متغیر پژوهش (آیریزین و BDNF) با تغییرات عملکرد شناختی در دو گروه تمرین به‌طور معناداری همراه بوده است (بین

جدول ۴. آزمون همبستگی پیرسون میان تغییرات بیان آیریزین و BDNF با عملکرد شناختی

آیریزین	عملکرد شناختی	BDNF	عملکرد شناختی	متغیر
۱	-۰/۸۵۸	۱	-۰/۸۰۸	همبستگی پیرسون
0.0001^*		0.001^*		P

* اختلاف معنی داری در سطح $P < 0.05$

بحث

هدف از پژوهش حاضر، بررسی اثر تمرینات شنا با شدت بالا بر تغییرات BDNF و آیریزین (اخیرا به عنوان عوامل مولکولی مهم درگیر در عملکرد شناختی شناسایی شدند) و عملکرد حافظه فضایی در آزمون ماز آبی موریس بود. پژوهش حاضر نشان داد، تمرینات تناوبی شنا موجب افزایش معنادار عملکرد شناختی در گروه تمرین، نسبت به گروه کنترل شده است. همراستا با پژوهش حاضر، پژوهش‌های مختلفی آثار مثبت تمرینات ورزشی بر هیپوکمپ، به عنوان جایگاه حافظه، را گزارش کرده‌اند (۲۳-۲۵). این آثار شامل افزایش سیناپس زایی، نورون زایی و انعطاف‌پذیری مغزی در هیپوکمپ بوده است. همچنین با افزایش اکسیژن مصرفی مغز نشان داده شده است، تمرینات ورزشی با افزایش فعالیت دوپامینرژیک در پایه مغز، موجب بهبود حافظه می‌شود (۲۶). علاوه بر این، ترکیب تمرینات ورزشی منظم و تمرینات ذهنی، آثار بهتری در بهبود عملکرد شناختی داشته است (۲۶). همراستا با این مشاهدات، پژوهش حاضر نیز نشان داد، شش هفته تمرینات تناوبی شنا با شدت بالا موجب افزایش معنادار در آزمون عملکردی ماز آبی موریس شده است. با توجه به اثربخشی شش هفته شنا بر عملکرد شناختی موش‌ها، بررسی سازوکارهای سلولی مولکولی درگیر در آن به درک بهتر این آثار کمک می‌کند.

در میان عوامل سلولی مولکولی درگیر در عملکرد شناختی، اجزای خانواده نوروتروفین‌ها، مسئول بسیاری از آثار تمرینات ورزشی بر CNS هستند (۲۴). در این میان BDNF به دلیل اثر بر تمایز، مهاجرت، زنده ماندن اعصاب، سنتز سیناپس، شاخه دار شدن دندرتی و تنظیم انعطاف‌پذیری، برای عملکرد هیپوکمپ و یادگیری حیاتی است (۲۷). پژوهش حاضر نشان داد، شش هفته تمرینات شنا به شکل تناوبی با شدت بالا موجب افزایش بیان ژن BDNF بافت مغز موش‌های صحرایی نر ویستار در مقایسه با گروه کنترل شده است. همراستا با پژوهش حاضر، نشان داده شده است، به دنبال تمرینات ورزشی، سطوح خونی BDNF به عنوان بیومارکر عملکرد شناختی، افزایش می‌یابد (۲۸). به طور گسترده توصیف شده است، سطوح بالاتر BDNF، آثار مثبت بر فعالیت‌های شناختی، کلامی و حافظه فضایی دارد (۲۹). تمرینات ورزشی نیز با اثر بر مسیرهای سیگنالینگ درگیر در تمایز/زنده ماندن و انعطاف‌پذیری سیناپسی همراه هستند. به طوری که افزایش سطوح BDNF خون ناشی از تمرینات ورزشی با بهبود در عملکرد شناختی و حجم هیپوکمپ همراه بوده است (۲). همراستا با پژوهش حاضر، به دنبال تمرینات شنا، BDNF mRNA هیپوکمپ موش‌ها، افزایش یافته است (۳۰). پژوهش دیگر نیز نشان داده است، یکسال تمرینات ورزشی منظم هوازی با شدت متوسط موجب بهبود سطوح BDNF و حافظه شده است (۲). از طرف دیگر، مهار مسیر سیگنالینگ

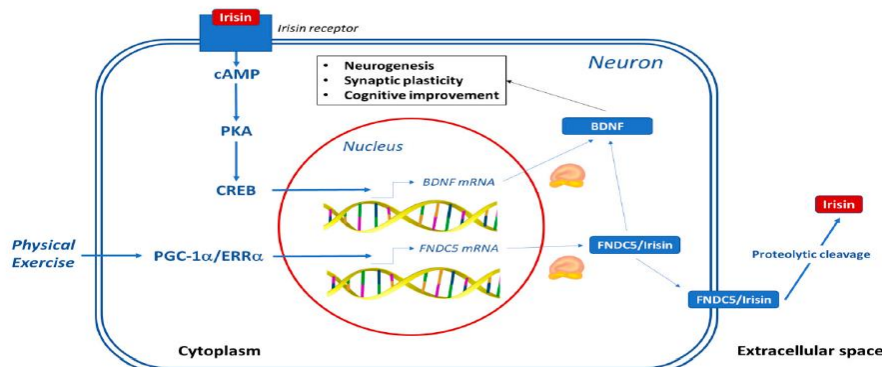
BDNF با کاهش معنادار آثار مثبت تمرینات ورزشی بر یادگیری و حافظه فضایی و کاهش بیان پروتئین‌های سیناپسی همراه بوده است (۳۱). با این حال، پژوهش‌های ترانس ژنیک برخلاف پژوهش حاضر نشان دادند، سطوح پایه BDNF با وجود افزایش اوج اکسیژن مصرفی ناشی از تمرینات هوازی، تغییرات معناداری نداشته است (۳۹). در این راستا پژوهش دیگری با استفاده از روش ترانس ژنیک، ژن‌های پیش فرض فعالیت‌های ورزشی بر آمادگی قلبی عروقی را در موش‌ها القا کرده‌اند و نشان داده‌اند، سطوح پایه BDNF در موش‌هایی که به لحاظ ترانس ژنیک تمرین کرده هستند با نمونه موش‌های کنترل غیرفعال متفاوت است. به طوری که مقایسه آمادگی قلبی عروقی با سطوح استراحتی BDNF، رابطه معکوس را نشان داده است (۱۲). به نظر می‌رسد، آثاری که تمرینات ورزشی به خودی خود بر سطوح BDNF می‌گذارد با داده‌های ترانس ژنیک که تغییرات ناشی از ورزش را به شکل مصنوعی در موش‌ها ایجاد می‌کند، نتایج متفاوتی را به همراه داشته باشد.

از طرف دیگر به تازگی روشن شده است که BDNF تحت تاثیر آیریزین در مغز قرار می‌گیرد. پژوهش حاضر نشان داد، تمرینات اینتروال شنا در موش‌های صحرایی موجب افزایش معنادار سطوح آیریزین هیپوکمپ در مقایسه با گروه کنترل شده است. همراستا با پژوهش حاضر، پژوهش‌های حیوانی نشان داده‌اند، تمرینات شنا موجب افزایش معنادار در سطوح آیریزین سرم و کاهش توده چربی بدن شده است (۳۲، ۳۳). سیستم آیریزین/FNDC5 نقش مهمی به عنوان عامل ناشی از ورزش در جلوگیری از پیری مغز دارد و این اعمال تحت تاثیر آیریزین محیطی یا آیریزینی که از خود مغز ترشح می‌شود قرار می‌گیرد که هر دو در اثر تمرینات ورزشی تولید می‌شود. در این راستا، اثر آیریزین بر عملکرد شناختی تا حد زیادی تحت تاثیر BDNF قرار دارد. فعال سازی سیستم BDNF/Irisin در مغز یکی از نقش‌های مهم BDNF است. بیش یایی FNDC5 پیش ساز آیریزین، در اعصاب قشری اولیه موجب افزایش بیان BDNF شده است (۳۴). مدل حیوانی نشان داده است، FNDC5، می‌تواند آثار مثبت تمرینات هوازی را با تنظیم افزایشی BDNF در هیپوکمپ ایجاد کند (۲۹). در مدل حیوانی AD، نورون زایی ناشی از تمرینات ورزشی با القا بیان BDNF و FNDC5 به روش مشابه همراه بوده است و بهبود در عملکردهای شناختی را تسهیل بخشیده است (۳۵). وران و همکاران (۲۰۱۳) نیز نشان دادند، تمرینات ورزشی استقامتی (دویدن اختیاری روی چرخ گردان به مدت ۳۰ روز) موجب افزایش سطوح سیستمی آیریزین شده و بیان FNDC5 در هیپوکمپ از طریق PGC1 α افزایش یافته است که موجب افزایش بیان BDNF می‌شود. این فرایند می‌تواند نروژنز در این ناحیه را به اوج خود برساند (۳۶). لورنکو و همکاران (۲۰۲۰)، نشان دادند همبستگی مثبتی بین سطوح آیریزین و BDNF مایع

اساس، تمرینات ورزشی موجب افزایش فعالیت مسیر $PGC1\alpha/ERR\alpha$ شده و می‌تواند بیان آیریزین در سطح مغز را افزایش دهد. آیریزین نیز موجب افزایش فعال سازی BDNF و افزایش سطوح آیریزین پلاسما می‌شود. از طرف دیگر، افزایش آیریزین پلاسما خود مجدد روی سلول‌های مغزی اثر گذاشته و با فعال سازی مسیر $cAMP/PKA$ موجب افزایش بیان BDNF در سلول‌های مغزی می‌شود. بدین ترتیب آیریزین از یک طرف موجب فعال سازی BDNF موجود در مغز می‌شود و از طرف دیگر، بیان آن در سلول‌های مغزی را افزایش می‌دهد (شکل ۴).

مغزی نخایی و حافظه در بیماران AD و گروه کنترل وجود دارد (۳۷). این یافته‌ها از اطلاعات ابتدایی در حیوانات که رابطه بین سطوح آیریزین/FNDC5 و BDNF و انعطاف‌پذیری عصبی در مغز را به عنوان عنصری از مسیر بین تمرینات ورزشی و عملکردهای شناختی می‌داند، حمایت می‌کند (۱۲).

پژوهش حاضر نشان داد، تغییرات بیان آیریزین و BDNF با تغییرات عملکرد شناختی در گروه تمرین به‌طور معناداری همراستا بوده است. همراستا با پژوهش حاضر، وران و همکاران (۲۰۱۳)، رابطه بسیار مهم بین آیریزین و BDNF را نشان داده‌اند (۲۹). براین



شکل ۴. مسیر سیگنالینگ آیریزین/BDNF و اثر تمرینات ورزشی بر آن در سلول‌های مغز (۳۸)

نتیجه‌گیری

منظور روشن‌تر شدن سازوکارهای مولکولی اثر تمرینات ورزشی بر عملکرد شناختی، پژوهش‌های تکمیلی در زمینه دیگر عوامل دخیل در مسیر سیگنالینگ آیریزین/BDNF مانند $PGC1\alpha$ و مسیر $cAMP/PKA$ در این زمینه مورد بررسی قرار گیرد.

تشکر و قدردانی

از کلیه افرادی که در پیشبرد مطالعه حاضر با محققین همکاری داشته‌اند، صمیمانه تشکر می‌گردد.

تعارض منافع

نویسندگان این مقاله، هیچ نفع متقابل از انتشار آن ندارند

در نتیجه، پژوهش حاضر نشان داد، سطوح آیریزین و BDNF هیپوکامپ در پاسخ به شش هفته تمرینات تناوبی شنا با شدت بالا به‌طور معناداری افزایش می‌یابد و این افزایش با بهبود عملکرد آزمون شناختی ماز آبی همراستا بود. از اینرو احتمال دارد بخشی از سازوکارهای بهبود عملکرد شناختی متعاقب تمرینات شنا با شدت بالا، ناشی از تغییرات ایجاد شده در سطوح آیریزین و BDNF ایجاد شده باشد. همچنین با توجه به تعداد بسیار اندک پژوهش‌هایی که اثر تمرینات ورزشی را در سطح بافت مغزی بر عوامل موثر در عملکرد شناختی را مورد بررسی قرار دادند، پیشنهاد می‌شود به

منابع

- Smiley-Oyen AL LK, Francois SJ, Kohut ML, Ekkekakis P. Exercise, fitness, and neurocognitive function in older adults: The "selective improvement" and "cardiovascular fitness" hypotheses. *Annals of Behavioral Medicine*. 2008;36(3):280–91. doi: 10.1007/s12160-008-9064-5.
- Erickson KI VM, Prakash RS, Basak C, Szabo A, Chaddock L, Kim JS & et al. Exercise training increases size of hippocampus and improves memory. *Proceeding of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2011;108(7):3017–22. doi: 10.1073/pnas.1015950108.
- Ahmadiasl NAH, Hänninen O. Effect of exercise on learning, memory and levels of epinephrine in rats' hippocampus. *Journal of Sports Science and Medicine*. 2003;2(3):106–9. doi: 24627662/8753-90760.
- Muller PTM, Muller NG. Physical exercise as personalized medicine for dementia prevention? *Frontiers in Physiology*. 2019;10:672. doi: 10.3389/fphys.2019.00672.
- Clark REBN, Squire LR. Hippocampus and remote spatial memory in rats. *Hippocampus*. 2005;15(2):260–72. doi: 10.1002/hipo.20056.
- Cotman CWCC, Berchtold NC. Exercise: a behavioral intervention to enhance brain health and plasticity. *Trends Neurosci*. 2005;28(6):295–301. doi: 10.1016/s0166-2236(02)02143-4
- AkaN M. Brain-derived neurotrophic factor is critically involved in thermal-experience-dependent developmental plasticity. *The Journal of Neuroscience*. 2006;26(15):3899-907. doi: 10.1523/JNEUROSCI.0371-06.2006.

8. Rasmussen P BP, Adser H, Pedersen MV, Leick L, Hart E, Secher NH & et al. Evidence for a release of brain-derived neurotrophic factor from the brain during exercise. *Experimental Physiology*. 2009;4(10):1062–9. doi: 10.1113/expphysiol.2009.048512.
9. Bostrom PWJ, Jedrychowski MP, Korde A, Ye L, Lo JC & et al. A PGC1-alpha-dependent myokine that drives brown-fat-like development of white fat and thermogenesis. *Nature* 2012;481:463–8. doi: 10.1038/nature10777.
10. Gur FMT S, Yalcin MH, Girgin A, GencerTarakci B. Immunohistochemical localization of irisin in mole rats (*Spalaxleucodon*). *Biotech Histochem*. 2017;92: 245–51. doi: 10.1080/10520295.2017.1303194.
11. Piya MKH, Sivakumar K, Tripathi G, Voyias PD, James S, Sabico S & et al. The identification of irisin in human cerebrospinal fluid: Influence of adiposity, metabolic markers, and gestational diabetes. *American Journal of Physiology Endocrinology and Metabolism*. 2014(306): 512–8. doi: 10.1152/ajpendo.00308.2013.
12. Wrann CDW JP, Salogiannis J. Exercise induces hippocampal BDNF through a PGC-1alpha/FNDC5 pathway. *Cell Metabolism*. 2013;18:649–59. doi: 10.1016/j.cmet.2013.09.008.
13. Forouzanfar MRF, Ghaedi K, Beheshti S, Tanhaei S, ShoarayeNejati A, JodeiriFarshbaf M & et al. Fndc5 overexpression facilitated neural differentiation of mouse embryonic stem cells. *Cell Biology International*. 2015;39:629–37. doi: 10.1002/cbin.10427.
14. Moon HSDF, Mantzoros, CS. Pharmacological concentrations of irisin increase cell proliferation without influencing markers of neurite outgrowth and synaptogenesis in mouse H19-7 hippocampal cell lines. *Metabolism*. 2013;62:1131–6. doi: 10.1016/j.metabol.2013.04.007.
15. Murawska-Cialowicz EW, Zuwala-Jagiello J, Feito Y, Petr M, Kokstejn J, Stastny P & et al. Effect of HIIT with tabata protocol on serum irisin, physical performance, and body composition in men. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 2020;17:3589. doi: 10.3390/ijerph17103589.
16. Tsuchiya YA, Takamatsu K, Goto K. Resistance exercise induces a greater irisin response than endurance exercise. *Metabolism*. 2015;64:1042–50. doi: 10.1016/j.metabol.2015.05.010.
17. Li DJL YH, Yuan HB, Qu LF, Wang P. The novel exercise-induced hormone irisin protects against neuronal injury via activation of the Akt and ERK1/2 signaling pathways and contributes to the neuroprotection of physical exercise in cerebral ischemia. *Metabolism*. 2017;68:31–42. doi: 10.1016/j.metabol.2016.12.003.
18. De Oliveira Bristot VJdBA AC, Cardoso LR, Da Luz Scheffer D, Aguiar AS. The role of PGC-1/UCP2 signaling in the beneficial effects of physical exercise on the brain. *Frontiers in Neuroscience*. 2019;13:292. doi: 10.3389/fnins.2019.00292.
19. Shams S, Rajabi H, Suzuki K. Swimming in cold water upregulates genes involved in thermogenesis and the browning of white adipose tissues. *Comparative Biochemistry and Physiology*. 2023;Part B 265:110834. doi: 10.1016/j.cbpb.2023.110834.
20. McNamara RK SR. The neuropharmacological and neurochemical basis of place learning in the Morris water maze. *Brain Research Reviews*. 1993;18(1):33–49. doi: 10.1016/0165-0173(93)90006-1.
21. D’Hooge R DDP. Applications of the Morris water maze in the study of learning and memory. *Brain Research Reviews*. 2001;36(1):60–90. doi: 10.1016/s0165-0173(01)00067-4.
22. N GMSMAHN. Isolation of neural stem and progenitor cells from the adult mouse brain using the neurosphere assay. *Journal of Ardanil university of medical sciences*. 2013;11(3):246–58. <http://jarums.arums.ac.ir/article-1-174-en.html>.
23. Spaniol J. Event-related fMRI studies of episodic encoding and retrieval: Meta-analyses using activation likelihood estimation. *Neuropsychologia*. 2009;47:1765–79. doi: 10.1016/j.neuropsychologia.2009.02.028.
24. Bherer LE KI, Liu-Ambrose, T. A Review of the effects of physical activity and exercise on cognitive and brain functions in older adults. *Journal of Aging Research*. 2013;2013:1–8. doi: 10.1155/2013/657508.
25. Zahra Mirakhori FM. The effect of regular exercise on cognitive function and irisin expression. *sport physiology & management investigations*. 2023;15(3):159–70. [doi:10.22034/SPMI.2023.191101] [In Persian].
26. Petzinger GMF, Holschneider DP, Wood R, Walsh JP, Lund B, Meshul C & Eet al. The role of exercise in facilitating basal ganglia function in Parkinson’s disease. *Neurodegenerative Disease Management*. 2011;1:157–70. doi: 10.2217/nmt.11.16.
27. Park HP. Neurotrophin regulation of neural circuit development and function. *Nature reviews Neuroscience*. 2013;14(7–23). doi: 10.1038/nrn3379.
28. Christopher W. Collins RJS, Matthew W. S. Heesch, and Dustin R. Slivka. The effect of environmental temperature on exercise-dependent release of brain-derived neurotrophic factor. *TEMPERATURE*. 2017;4(3):305–13. doi: 10.1080/23328940.2017.1328304.
29. Wrann CD WJ, Salogiannis J, Laznik-Bogoslavski D, Wu J, Ma D, Lin JD, Greenberg ME, Spiegelman BM. . Exercise induces hippocampal BDNF through a PGC-1alpha/ FNDC5 pathway. *Cell Metabolism*. 2013;18(5):649–59. doi: 10.1016/j.cmet.2013.09.008.
30. Cotman CWB, Christie LA. Exercise builds brain health: Key roles of growth factor cascades and inflammation. *Trends Neurosci*. 2007;30:464–72. doi: 10.1016/j.tins.2007.06.011.
31. Qin WSL, Cao J, Peng Y, Collier L, Wu Y, Creasey G & et al. The central nervous system (CNS)-independent anti-bone-resorptive activity of muscle contraction and the underlying molecular and cellular signatures. *Journal of Bioorganic Chemistry*. 2013;288:13511–21. doi: 10.1074/jbc.M113.454892.
32. Chang WTL, Tang Y, Ahmad S, Zhang H, Yap PT, Giovanello KS & et al. Brain wide functional networks associated with anatomically- and functionally-defined hippocampal subfields using ultrahigh-resolution fMRI. *Scientific Reports*. 2021;11:10835. doi: 10.1038/s41598-021-90364-7.
33. Norris D. Short-term memory and long-term memory are still different. *Psychological Bulletin*. 2017;143:992–1009. doi: 10.1037/bul0000108.
34. Hashemi MSG, Salamian A, Karbalaie K, Emadi-Baygi M, Tanhaei S, Nasr-Esfahani MH & et al. Fndc5 knockdown significantly decreased neural differentiation rate of mouse embryonic stem cells. *Neuroscience*. 2013;231:296–304. doi: 10.1016/j.neuroscience.2012.11.041.

35. Choi SHB, Chatila ZK, Lee SW, Pulli B, Clemenson GD, Kim E & et al. Combined adult neurogenesis and BDNF mimic exercise effects on cognition in an Alzheimer's mouse model. *Science*. 2018;36:eaan8821. doi: 10.1126/science.aan8821.
36. Schnyder SHC. Skeletal muscle as an endocrine organ: PGC-1, myokines and exercise. *Bone*. 2015;80:115–25. doi: 10.1016/j.bone.2015.02.008.
37. Lourenco MVR, Sudo FK, Drummond C, Assunção N, Vanderborcht B, Tovar-Moll F. Matto Cerebrospinal fluid irisin correlates with amyloid, BDNF, and cognition in Alzheimer's disease. *Dement Diagn Assess Dis Monit*. 2020;12:e12034. doi: 10.1002/dad2.12034.
38. Pesce ILM, Paolucci T, Grilli A, Patruno A, Agostini F, Bernetti A & et al. From exercise to cognitive performance: role of irisin. *Applied Sciences*. 2021;11(7120):1-15. doi: 10.3390/app11157120.