



Kharazmi University

Research in Sport Medicine and Technology

Print ISSN: 2252 - 0708 Online ISSN: 2588 - 3925

Homepage: <https://jsmt.khu.ac.ir>

CrossMark

The Effect of Enriched Environment and Two Types of Forced Exercise on Irisin and BDNF Protein Levels in the Hippocampus of Female Mice with Experimental MS

Reza Asadi ¹ | Mohammad Reza Kordi ² | Fatemeh Shabkhiz ³

1. Ph.D, University of Tehran, Tehran, Iran.

2. Ph.D, University of Tehran, Tehran, Iran.

3. Ph.D, University of Tehran, Tehran, Iran.

corresponding author: Mohammad Reza Kordi, mrkordi@ut.ac.ir

ARTICLE INFO

Article type:

Research Article

Article history:

Received: May 8, 2023

Revised: June 2, 2023

Accepted: July 11, 2023

Keywords:

Multiple sclerosis, Voluntary Exercises, Forced Exercises, EE, Hippocampus

How to Cite:

Asadi, Kordi, Shabkhiz The Effect of Enriched Environment and Two Types of Forced Exercise on Irisin and BDNF Protein Levels in the Hippocampus of Female Mice with Experimental MS. *Research In Sport Medicine and Technology*, 2023; 13(25): 130-146

ABSTRACT

Neurodegenerative processes play an important role in the progression of MS. Appropriate exercise training and living in an enriched environment (EE) can improve or prevent the progression of the disease through the secretion of some neurodevelopmental factors in the hippocampus, including irisin and the neurotrophic factor derived from the mouse. The aim of the present study was to investigate the effect of 4 weeks of aerobic and resistance training and EE on irisin protein and hippocampus BDNF levels in female C57BL6 mice with experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE). 50 female mice (age 8 weeks, average weight 18 ± 2 grams) were randomly divided into five equal groups (10 mice in each group): 1- healthy control, 2- control + EAE, 3- resistance activity + EAE, 4- Aerobic activity + EAE and 5- EE + EAE. The first and second weeks of adaptation to the environment and then induction of EAE were performed. The training groups trained 5 days a week for half an hour a day for 4 weeks, and the EE group was transferred to its equipped cage. 48 hours after the last training session, the mice were anesthetized and then dissected and tissue removed. The ELISA method was used to measure the amounts of proteins, and the analysis of variance and Tukey's t-test were used to determine the differences between the research variables. All analyzes were performed at a significance level of 0.05 and with SPSS22 software. Hippocampal BDNF expression was increased in all three training groups compared to the EAE control group. This increase in the EE and resistance training group was significant compared to both the EAE control group and the swimming training group. Also, hippocampal irisin expression increased in all three training groups compared to the EAE control group, and this increase was significant in the EE and resistance training groups. Also, the expression of irisin in the EE group increased more than the two aerobic swimming and resistance training groups, and this increase was proportional to it was meaningful to the swimming aerobic training group. It seems that EE and resistance training can increase the secretion of nerve growth factors such as irisin and BDNF and thus help to improve MS disease.



Published by Kharazmi University, Tehran, Iran. Copyright(c) The author(s) This is an open access article under e: CC BY-NC license (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>)



پژوهش در طب ورزشی و فناوری

شاپا چاپی: ۲۲۵۲-۰۷۰۸ شاپا الکترونیکی: ۲۵۸۸-۳۹۲۵

Homepage: <https://jsmt.khu.ac.ir>

اثر محیط غنی‌سازی شده حرکتی و دو نوع تمرین اجباری بر سطوح پروتئین آیریزین و BDNF

هیپوکامپ موش‌های ماده مبتلا به ام‌اس تجربی

رضا اسدی^۱ | محمدرضا کردی^{۲*} | فاطمه شب‌خیز^۳

۱. دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی و تندرستی، دانشگاه تهران، تهران، ایران.

۲. استاد گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی و تندرستی، دانشگاه تهران، تهران، ایران.

۳. دانشیار گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی و تندرستی، دانشگاه تهران، تهران، ایران.

نویسنده مسئول: محمدرضا کردی: mrkordi@ut.ac.ir

چکیده

فرآیندهای تخریب عصبی نقش مهمی در پیشرفت بیماری ام‌اس دارند. تمرین ورزشی مناسب و زندگی در محیط غنی‌سازی شده حرکتی (EE) می‌تواند از طریق ترشح برخی فاکتورهای رشد عصبی در هیپوکامپ ازجمله آیریزین و فاکتور نوروتروفیک مشتق از مغز (BDNF) باعث بهبود و یا جلوگیری از پیشرفت بیماری شود. هدف مطالعه حاضر بررسی اثر ۴ هفته تمرین مقاومتی و هوازی و EE بر سطوح پروتئین آیریزین و BDNF هیپوکامپ در موش‌های ماده C57BL/6 مبتلا به آنسفالومیلیت خودایمنی تجربی (EAE) بود. تعداد ۵۰ سر موش ماده (سن ۸ هفته، میانگین وزن ± 2 ۱۸ گرم) به صورت تصادفی به پنج گروه مساوی (۱۰ سر موش در هر گروه) تقسیم شدند: ۱- کنترل سالم، ۲- کنترل + EAE، ۳- فعالیت مقاومتی + EAE، ۴- فعالیت هوازی + EAE و ۵- EE + EAE. هفته اول و دوم سازگاری با محیط و سپس القای EAE انجام شد. گروه‌های تمرین ۵ روز در هفته روزی نیم ساعت به مدت ۴ هفته تمرین کردند و گروه EE به قفس تجهیز شده خود منتقل شد. ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی موش‌ها بی‌هوش و سپس تشریح و بافت‌برداری انجام شد. برای سنجش میزان پروتئین‌ها از روش الایزا و برای تعیین تفاوت میان متغیرهای پژوهش از آزمون تحلیل واریانس و آزمون تعینی توکی استفاده شد. تمامی تحلیل‌ها در سطح معنی‌داری ۰/۰۵ و با نرم‌افزار SPSS22 انجام شد. بیان پروتئین BDNF هیپوکامپ در هر سه گروه تمرینی نسبت به گروه کنترل EAE افزایش یافت. این افزایش در گروه EE و تمرین مقاومتی هم نسبت به گروه کنترل EAE و هم نسبت به گروه تمرین شنا معنادار بود. همچنین بیان پروتئین آیریزین هیپوکامپ در هر سه گروه تمرین نسبت به گروه کنترل EAE افزایش داشت که این افزایش در گروه‌های EE و تمرین مقاومتی معنادار بود همچنین بیان آیریزین در گروه EE نسبت به دو گروه تمرین هوازی شنا و تمرین مقاومتی افزایش بیشتری داشت که این افزایش نسبت به گروه تمرین هوازی شنا معنادار بود. به نظر می‌رسد فعالیت ورزشی از هر دو نوع اختیاری و اجباری می‌تواند با مکانیسم اثر متفاوت، موجب افزایش ترشح فاکتورهای رشد عصبی ازجمله آیریزین و BDNF و در نتیجه کمک به بهبود و پیشگیری از پیشرفت بیماری ام‌اس شود.

اطلاعات مقاله:

نوع مقاله: مقاله پژوهشی

تاریخ دریافت: اردیبهشت ۱۴۰۲

تاریخ ویرایش: خرداد ۱۴۰۲

تاریخ پذیرش: تیر ۱۴۰۲

واژه‌های کلیدی:

مالتیپل اسکلروزیس،

تمرینات اختیاری، تمرینات اجباری،

زندگی در محیط غنی‌سازی شده حرکتی،

هیپوکامپ

ارجاع: اسدی، کردی و شب‌خیز. اثر

محیط غنی‌سازی شده حرکتی و دو نوع

تمرین اجباری بر سطوح پروتئین آیریزین

و BDNF هیپوکامپ موش‌های ماده مبتلا

به ام‌اس تجربی. پژوهش در طب ورزشی و

فناوری. ۱۳، ۱۴۰۲: (۲۵) ۱۴۶-۱۳۰

مولتیپل اسکلروزیس^۱ (MS) یک بیماری عصبی است که با وجود التهاب عصبی، میلین زدایی و تحلیل رفتن آکسونا همراه با از دست دادن عملکرد در سیستم عصبی مرکزی مشخص می‌شود. این یک بیماری بسیار ناهمگن است که دوره‌های بالینی مختلفی را نشان می‌دهد (۱). تحقیقات گذشته به‌وضوح نشان می‌دهد که فرآیندهای تخریب عصبی نقش مهمی در پاتوژنز و پیشرفت بیماری مولتیپل اسکلروزیس دارند. هرچند اختلالات حرکتی، شناخته‌شده‌ترین مشکلات در این بیماری هستند؛ اما اختلال عملکرد شناختی در بیش از ۵۰ درصد از افراد مبتلا به ام‌اس رخ می‌دهد (۲). در تائید این موضوع، دمی‌لیناسیون هیپوکامپ یکی از ویژگی‌های برجسته مغز بیماران مبتلا به ام‌اس است و آتروفی هیپوکامپ با کاهش عملکرد شناختی در بیماران ام‌اس ارتباط دارد (۳). به‌هرحال مکانیسم‌های سلولی و مولکولی مسئول اختلال عملکرد عصبی در هیپوکامپ دمی‌لینه شده به‌طور کامل شناخته‌نشده است. درمان‌های ضدالتهابی یا تعدیل سیستم ایمنی اثرات محدودی بر تخریب عصبی و ناتوانی بالینی در مرحله پیش‌رونده بیماری دارند (۱)؛ بنابراین، رویکردهای جدید درمانی برای محافظت از نورون موردنیاز است. به همین ترتیب، هیچ درمان مؤثری برای اختلال عملکرد شناختی در دسترس نیست که با تخریب عصب و آتروفی مغز ارتباط داشته باشد و این یک علامت متداول در بیماران ام‌اس است (۲). پتانسیل ورزش در محافظت از نورون و بازآفرینی آن، در مطالعات حیوانی متعددی به اثبات رسیده است. در حقیقت فعالیت ورزشی با القا نورون‌ها در هیپوکامپ، موجب ایجاد یک ساختار مغزی مهم برای یادگیری و حافظه می‌شود (۳). این یافته‌ها با یافته‌های بالینی در بیماری‌های نورودژنراتیو مانند بیماری پارکینسون یا بیماری آلزایمر، که در آن ورزش هوازی می‌تواند علائم را بهبود بخشد و پیشرفت بیماری را به تأخیر بیندازد، همخوانی دارد (۴). علاوه بر این، ورزش به‌عنوان یک عامل اثرگذار بر بهبود عملکرد عصبی شناختی افراد مسن شناخته‌شده است. در ام‌اس، متا آنالیزها شواهدی را در مورد تأثیرات مفید ورزش بر روی بهزیستی، توانایی راه رفتن، خستگی و افسردگی ارائه داده‌اند (۵). علاوه بر این، داده‌های مقطعی نشان می‌دهد که آمادگی قلبی تنفسی با حجم ماده خاکستری و یکپارچگی سیستم ماده سفید همراه است (۶).

فاکتور نوروتروفیک مشتق از مغز^۲ (BDNF) عضوی از خانواده نوروتروفین‌ها^۳ است که نقش مهمی در انعطاف‌پذیری سیناپسی، بقا و تمایز سلول‌های عصبی ایفا می‌کند و واسطه اثرات مفید ورزش در سیستم عصبی مرکزی^۴ (CNS) در مدل‌های حیوانی است (۷). درحالی‌که رابطه بین BDNF محیطی با فرآیندهای CNS ناشناخته باقی‌مانده است، مطالعات متعددی ارتباط بین ورزش، سطح BDNF در گردش، حجم هیپوکامپ و عملکرد شناختی را در جمعیت

¹ Multiple sclerosis

² Brain-Derived Neurotrophic Factor

³ Neurotrophins

⁴ Central Nervous System

عادی گزارش کرده‌اند (۸).

آیریزین^۵ یک مایوکاین نسبتاً جدید است که توسط تمرینات ورزشی و برخی عوامل دیگر ایجاد می‌شود (۹). افزایش سطح پلاسمایی آیریزین که در حین ورزش در موش و انسان مشاهده شده با افزایش بیان PGC1- α که یک تنظیم‌کننده بیوژنز میتوکندری می‌باشد، ارتباط دارد. PGC1- α یک القاکننده بیان پروتئین FNDC5^۶ است؛ که یک پروتئین پوششی غشای تک گذراست. با فعالیت بدنی، اکتودومین FNDC5 که اصطلاحاً آیریزین نامیده شد تولید و در جریان خون آزاد می‌شود. جالب توجه است که تحقیقات جدید نشان داد که بیان Irisin- FNDC5 با تنظیم بیان BDNF در هیپوکامپ در یک مدل حیوانی، تأثیرات سودمند ورزش استقامتی در CNS را میانجیگری می‌کند (۱۰).

بنابراین به نظر می‌رسد ترشح این دو ماده هم‌راستا می‌باشد.

هرچند عوامل متعددی در ترشح این دو ماده نقش دارند اما به نظر می‌رسد فعالیت‌های جسمانی از عوامل مؤثر در ترشح این مواد هستند. در تأیید این موضوع مطالعات متعدد نشان داده‌اند که هر دو نوع فعالیت استقامتی (یعنی فعالیت هوازی طولانی مدت، مانند دویدن و شنا) و فعالیت مقاومتی (یعنی تمرین‌هایی که در آن فعالیت غالب شامل غلبه بر یک نیرو است) باعث افزایش فاکتورهای رشد در گردش مانند فاکتور رشد شبه انسولین^۸ (IGF-1) و نوروتروفین‌ها از جمله BDNF که هم در طول دوران رشد و هم در بزرگسالی بر مغز تأثیر می‌گذارند می‌شود. همین عوامل ممکن است در طول تکامل مغز تأثیر داشته باشند (۱۱). و می‌توانند بر انعطاف‌پذیری مغزی در جوانان و همچنین در بزرگسالان، تحت بسیاری از شرایط مختلف، مانند پیری فیزیولوژیک، آسیب‌های عصبی، و بهبودی پس از آسیب حاد مغزی در طی بیماری‌هایی مانند ام‌اس تأثیر بگذارند (۱۲). به‌رحال اندازه تغییرات عوامل رشدی مغز می‌تواند تحت تأثیر متغیرهای تمرینی مثل شدت فعالیت قرار بگیرد.

برای مثال در هیپوکامپ یک مدل حیوانی ام‌اس، هر دو برنامه تمرینی با شدت بالا و کم باعث افزایش mRNA های کد کننده سه نوع نوروتروفین مهم یعنی BDNF، فاکتور نوروتروفیک مشتق از گلیال^۹ (GDNF) و فاکتور رشد عصبی (NGF) شد (۱۲). علاوه بر افزایش وابسته به PA، BDNF و VEGF^۷ و IGF-1، در زمینه ام‌اس، افزایش خاص در بیان پروتئین‌های اتصال محکم، که برای برقراری مجدد عملکرد سد خونی مغزی^۲ (BBB) حیاتی است، نیز مشاهده شد (۱۳).

⁵ Irisin

⁶ PPAR γ -coactivator-1- α

⁷ Fibronectin type III domain-containing protein 5

⁸ Insulin-like Growth Factor 1

⁹ Glial cell line-derived neurotrophic factor

¹ Nerve growth factor

¹ Vascular endothelial growth factor

¹ Blood-Brain Barrier

همچنین مشخص شده است که پروتکل‌های تمرینی مختلف به‌طور متفاوتی بر بیان ژن عمل می‌کنند. به‌عنوان مثال، درحالی‌که سطح بیان IGF1-R در مغز موش‌های مبتلا به ام‌اس تحت پروتکل شنای اجباری کاهش می‌یابد، سطح mRNA IGF1-R در مخچه موش‌های مبتلا به ام‌اس یک گروه دهنده افزایش یافت. به‌موازات آن، الگوی متفاوتی از تحریک ژن میلین نیز مشاهده شد. در موش‌هایی که ورزش دویدن انجام داده بودند، کاهش کمتری از میلین در مغز مشاهده شد، درحالی‌که شنا مزایای بیشتری را در مخچه ایجاد کرد (۱۴).

به‌طور خلاصه، این چند نمونه از فواید فعالیت بدنی در بیماری‌های تخریب‌کننده عصبی مختلف، ایده تأثیر محافظت عصبی ورزش را تقویت می‌کند. ورزش بیان ژن‌های دخیل در رشد، ترمیم و محافظت عصبی را افزایش می‌دهد، عملکردهای شناختی و حافظه را بهبود می‌بخشد و می‌تواند با پیشرفت بیماری‌ها مقابله کند یا حداقل به بیماران برای انجام بهتر فعالیت‌های روزمره کمک کند.

درمجموع مسیرهای سلولی و مولکولی متعددی درگیر هستند و به‌صورت هم‌افزایی عمل می‌کنند. علاوه بر این، بسته به تنوع ژنتیکی و اپی ژنتیکی و همچنین تفاوت‌های جزئی در درجه پاتولوژی، می‌توان تفاوت‌های خاصی را در پاسخ‌های تک‌تک بیماران انتظار داشت. درنهایت، پروتکل‌های مورداستفاده در مطالعات مختلف بسیار ناهمگن هستند و تنظیم تمرینات ایده‌آل برای آسیب‌شناسی‌های عصبی مختلف در حال حاضر غیرممکن است. تحقیقات بیشتر هنوز ضروری است (۱۲).

علی‌رغم اهمیت استفاده از درمان‌های هم‌افزایی، مقالات بسیار اندکی وجود دارد که نتیجه یک درمان ترکیبی از فعالیت بدنی و توان‌بخشی شناختی را نشان می‌دهد (۱۵). به‌عنوان یک رویکرد تجربی، آزمایش‌های غنی‌سازی محیط‌زیست^{۱۳} (EE) که برای مدل‌های حیوانی مناسب‌ترند، شامل تحریک جسمی و شناختی همراه با تعامل اجتماعی است. EE به شرایط محیطی اشاره دارد که تحریک اجتماعی، حسی، شناختی و حرکتی را افزایش می‌دهد، به‌عنوان مثال قفس‌های بزرگی که بیش از هشت رت را در خود جای‌داده و مجهز به چرخ‌های دویدن و چندین اسباب‌بازی و مخفیگاه است که حیوانات به‌صورت آزادانه به آن‌ها دسترسی دارند (۱۶). مزایای EE با اعمال تأثیرات مثبت بر رفتارشناختی، بهبود یادگیری، حافظه و علائم اضطرابی شکل در حیوانات سالم و مدل‌های بیماری‌های مولد و روان‌پزشکی و پیری نشان داده شده است (۸).

اثرات مفید اجزای جداگانه EE در چندین مدل حیوانی MS مورد مطالعه قرار گرفته است. از بین تمام این مؤلفه‌ها، ورزش یکی از مواردی است که بیشتر مورد مطالعه قرار گرفته است. پارادایم‌های مختلف مداخلات ورزشی را می‌توان برای جوندگان اعمال کرد. ازجمله این تقسیم‌بندی‌ها می‌توان به ورزش‌های داوطلبانه^۴ (VE) و اجباری^۵ (FE) اشاره

1 Environmental enrichment 3
1 Voluntary exercise 4
1 Forced exercise 5

VE شامل اسکان حیوانات در قفس‌هایی است که دارای ابزارها و امکانات مختلفی جهت حرکت در آن است که رتبه دسترسی آزاد به آن‌ها دارند. درحالی‌که در FE، حیوانات تحت تمرینات اجباری روزانه قرار می‌گیرند که توسط دستگاه‌های مختلف مانند استخر شنا، تردمیل موتوری یا نردبان عمودی ارائه می‌شود (۱۷). اثرات مفید فعالیت بدنی با تعدیل پاسخ‌های ایمنی ذاتی و تطبیقی در خون محیطی و مغز اعمال می‌شود. موش‌های مبتلا به ام‌اس تجربی که یکی از انواع آن آنسفالومیلیت خودایمنی تجربی (EAE)^۱ هست هنگامی که تحت VE قرار گرفتند، در مقایسه با حیوانات کم‌تحرک EAE، نمره بیماری عصبی کمتری و تأخیر در شروع بیماری را نشان دادند. علاوه بر این، گروه EE کاهش قابل توجهی در نفوذ سلول‌های ایمنی در نخاع، سیتوکین‌های پیش‌التهابی، دمیالین‌زدایی و از دست دادن آکسون در مقایسه با حیوانات کم‌تحرک EAE به نمایش گذاشتند (۱۸).

با توجه به مطالب ذکر شده به نظر می‌رسد ورزش و فعالیت بدنی در کنار درمان‌های دارویی می‌تواند بهترین انتخاب برای درمان و کاهش اختلالات شناختی و فیزیولوژیکی در بیماران مبتلا به ام‌اس باشد. انتخاب نوع و شدت تمرین ورزشی همچنان بحث‌برانگیز است. در این مطالعه ما به بررسی و مقایسه اثر تمرینات اجباری و زندگی در محیط غنی‌سازی شده به عنوان دو نوع فعالیت ورزشی متفاوت بر ترشح فاکتورهای اثرگذار بر انعطاف‌پذیری، بقا و تمایز سلولی، سلول‌های عصبی یعنی آیریزین و BDNF در هیپوکامپ رتبه‌های مبتلا به ام‌اس تجربی پرداختیم.

علاوه بر این، با توجه به رویکردهای جدید ورزشی و توجه به زندگی در محیط غنی‌سازی شده و اثرات مثبت آن در پیشگیری و درمان بیماری‌های عصبی، مطالعات بسیار کمی در رابطه با ام‌اس تحت شرایط EE انجام شده است. لذا ما در این پژوهش به بررسی اثرات زندگی در محیط غنی‌سازی شده و مقایسه آن با دو نوع فعالیت ورزشی اجباری بر سطوح آیریزین و BDNF در هیپوکامپ موش‌های ماده مبتلا به آنسفالومیلیت خودایمنی تجربی پرداختیم.

روش‌شناسی

۵۰ سر موش ماده نژاد C57BL/6، ۸ هفته‌ای با میانگین وزنی 18 ± 2 گرم از انستیتو پاستور ایران خریداری شدند و به آزمایشگاه علوم رفتاری و شناختی سالاری در کرج منتقل شدند و به صورت تصادفی به پنج گروه که در هر گروه ۱۰ سر موش قرار داشتند تقسیم شدند. گروه‌ها عبارت بودند از: ۱- کنترل سالم شامل ۲- کنترل + EAE شامل ۳- فعالیت مقاوم + EAE موش ۴- فعالیت هوازی + EAE ۵- زندگی در محیط غنی‌سازی شده + EAE. هفته اول به آشنایی موش‌ها با محیط زندگی‌شان سپری شد. حیوانات در قفس‌هایی از جنس پلی‌کربنات (در گروه‌های ۱۰ تایی) و در شرایط کنترل‌شده نور (۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی، شروع روشنایی ۶ صبح و شروع خاموشی ۶ عصر) دما (22 ± 1 سانتی‌گراد) و رطوبت (حدود ۴۵ درصد) نگهداری شدند. آن‌ها دسترسی آزاد به آب و غذا داشتند و تمام پروتکل‌های آزمایشگاهی طبق قوانین و دستورالعمل‌های کمیته اخلاق دانشگاه تهران و با کد اخلاق IR.SPORT.REC.1400.049 انجام شد.

¹ Experimental Autoimmune Encephalomyelitis

هفته دوم گروه‌های تمرین ورزشی با پروتکل و ابزار آشنا شدند. سپس القای EAE انجام شد. بعد از آن گروه‌های تمرین ورزشی ۵ روز در هفته روزی نیم ساعت به مدت ۴ هفته تمرین کردند و گروه زندگی در محیط غنی‌سازی شده به قفس تجهیز شده خود منتقل شدند. ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی (۳۰ روز پس از القای EAE) موش‌ها با تزریق کتامین^۱ (۱۰۰ میلی گرم به کیلوگرم وزن بدن) و زایلازین^۸ (۱۰ میلی گرم به کیلوگرم وزن بدن) بی‌هوش و سپس، تشریح و بافت‌برداری انجام شد (جدول ۱).

پروتکل تمرین مقاومتی

تمام موش‌های گروه فعالیت مقاومتی به مدت یک هفته با بالا رفتن از نردبان (۱/۱ × ۸/۸ متر، ۸۰ درجه شیب) آشنا شدند. بار محاسبه‌شده برحسب وزن بدن به وسیله چسب کاغذی به دم موش‌ها متصل شد و بالا رفتن حیوان از پایین نردبان به بالای آن به عنوان یک تکرار موفق ثبت شد. موش‌ها در این گروه ۵ روز در هفته به مدت ۴ هفته و روزانه ۳۰ دقیقه تمرین کردند (۱۹). انتخاب تمرین مقاومتی نیز به دلیل پیشینه تحقیق در این زمینه و تأیید اثرگذاری این نوع تمرین بر ترشح فاکتورهای رشد عصبی از جمله BDNF است (۱۰، ۱۱، ۱۲). اطلاعات مربوط به تمرین مقاومتی در جدول شماره ۲ آورده شده است.

پروتکل فعالیت هوازی

گروه تمرین هوازی برنامه شنا را به مدت ۳۰ دقیقه ۵ روز در هفته در استخر شنای حیوانات با دمای 31 ± 1 درجه سانتی گراد و در طول ۴ هفته هم‌زمان با گروه تمرین مقاومتی انجام داد. در هنگام امتناع موش‌ها از ادامه تمرین موش‌ها با استفاده از یک اسفنج به ادامه شنا کردن تشویق شدند (۲۰). دلیل انتخاب فعالیت ورزشی هوازی شنا، این است که مطالعات متعددی بر اثر گذاری این نوع تمرین ورزشی بر بهبود عوارض بیماری‌های عصبی صحنه گذاشته‌اند و همچنین فعالیت ورزشی در آب، به علت خواص الکترواستاتیکی آب محیط امنی را برای فعالیت آسان‌تر در بیماران مبتلا به ام‌اس که با مشکلات حاد فیزیکی درگیر هستند فراهم می‌کند (۶).

پروتکل زندگی در محیط غنی‌سازی شده

موش‌های (n= ۱۰) این گروه، پس از القای EAE برای زندگی به قفس [۱×۱×۱ متر (طول، عرض، ارتفاع)] با ۳ ویل رانینگ، اسباب‌بازی، نردبان، لوله‌های پلاستیکی، بطری‌های آب و ظروف غذا تجهیز شده بود، منتقل شدند و در کل دوره در این قفس زندگی کردند (۲۱). تعداد دورهای ویل رانینگ با بورد کامپیوتری ثبت شد.

¹ Ketamine 7
¹ Xylazine 8

نحوه القای EAE و ارزیابی بالینی

موش‌های C57BL/6 با ۵۰ میکروگرم میلین الیگودندروسیت گلیکوپروتئین^{۱۹} (MOG35 - 55) که در محلول بافر شده با فسفات^{۲۰} (PBS) حل شده بود و ۱ میلی گرم بر میلی لیتر دوی کامل فروند^{۲۱} (CFA) ایمن سازی شدند. تمامی حیوانات در روزهای ۰ و ۲ (در روز تزریق و دو روز بعد از آن) به صورت داخل صفاقی ۱۰۰ نانوگرم تزریق پرتوسیس تاکسین^{۲۲} داشتند. لازم به ذکر است گروه کنترل هم زمان با باقی گروه‌ها تزریق سالین^{۲۳} داشت (۲۲). برای ارزیابی وزن بدن (پارامتر سلامت)، حیوانات روزانه وزن کشی شدند و علائم بالینی EAE، توسط دو ناظر مستقل بر اساس مقیاس زیر مورد ارزیابی قرار گرفت:

نمره ۰ = بدون بیماری؛ نمره ۱ = کم شدن وزن و ضعف در دم؛ نمره ۲ = ضعف در اندام عقبی؛ نمره ۳ = فلج کامل اندام عقبی؛ نمره ۴ = فلج اندام عقبی با ضعف یا فلج در اندام جلویی؛ و نمره ۵ = مرگ

روش استخراج بافت و سنجش BDNF و آیریزین هیپوکامپ

۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی (۳۰ روز پس از القای EAE) موش‌ها با تزریق کتامین (۱۰۰ میلی گرم به کیلوگرم وزن بدن) و زایلازین (۱۰ میلی گرم به کیلوگرم وزن بدن) بی هوش و بلافاصله سر حیوان با دستگاه گیوتین مخصوص جوندگان جدا گردید و مغز به طور کامل از جمجمه خارج شد و به سرعت روی یخ قرار داده شد. هیپوکامپ موش‌ها با دقت در زیر استریوسکوپ اولمپیوس^{۲۴} ساخت ژاپن از بقیه قسمت‌های مغز جدا شد. پس از شستشو با محلول سالین به همراه بافر تریس سیگما^{۲۵} ساخت آلمان، بافت مغز با استفاده از دستگاه هموژنایزر آی کای^{۲۶} ساخت آلمان به مدت ۵ دقیقه با دور ۵۰۰۰، هموژنیزه شد. محلول هموژنیزه شده توسط دستگاه سانتریفوژ یخچال دار هرمل^{۲۷} ساخت آلمان سانتریفوژ شد. جهت جلوگیری از تخریب پروتئین‌ها، تمامی مراحل در دمای ۴ درجه سانتی گراد انجام شد و از محلول ۰/۵ میلی مولار فنیل متیل سولفونیل فلوراید^{۲۸} آلدریخ - سیگما^{۲۹} آلمانی به عنوان مهارکننده پروتئازها استفاده شد. پس از سانتریفوژ کردن، بخش رویی به کمک سمپلر برداشته شد و سپس میزان بافتی BDNF توسط روش الایزا و به کمک دستگاه الایزایدر مدل فکس استیت^{۳۰} ۲۱۰۴۰ ساخت آمریکا و کیت الایزا شرکت مای بایو سورس^{۳۱}

- | | | |
|---|--------------------------------------|---|
| 1 | Myelin oligodendrocytes glycoprotein | 0 |
| 2 | Phosphate-buffered saline | 1 |
| 2 | Complete Freund's adjuvant | 2 |
| 2 | Pertussis toxin | 3 |
| 2 | Saline | 4 |
| 2 | Olympus | 5 |
| 2 | Sigma | 6 |
| 2 | IKA | 7 |
| 2 | Hermle | 8 |
| 2 | Phenyl methane sulfonyl fluoride | 9 |
| 2 | Aldrich-Sigma | 0 |
| 3 | Fax stat | 1 |
| 3 | My BioSource ELISA Test Kits | |

آمریکا به شماره MBS9424908 و آیریزین نیز توسط کیت الایزا شرکت مای بایو سورس آمریکا به شماره MBS2600628 مورد سنجش قرار گرفت.

روش‌های آماری

در این پژوهش از آمار توصیفی برای گزارش میانگین‌ها و درصد تغییرات استفاده شد. همچنین برای بررسی طبیعی بودن توزیع داده‌ها از آزمون شاپیرو ویلک و برای بررسی همگن بودن واریانس‌ها از آزمون لوین و برای بررسی اختلاف داده‌ها در بین گروه‌ها از آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. همچنین برای تحلیل داده‌های مربوط به ارزیابی بالینی از آزمون نا پارامتریک یومن ویتنی استفاده شد. تمامی تحلیل‌ها در سطح معنی‌داری ۰/۰۵ و با نرم‌افزار SPSS22 انجام شد.

جدول شماره ۱. برنامه کلی پژوهش

مرحله اول	مرحله دوم	مرحله سوم	مرحله چهارم	مرحله پنجم	مرحله ششم
گروه‌بندی حیوانات	۲ هفته آشنایی با محیط و پروتکل تمرینی	القای EAE روز قبل از شروع تمرینات	۴ هفته پروتکل تمرینی	تشریح حیوانات و بافت‌برداری	انجام تست‌های آزمایشگاهی

جدول شماره ۲. پروتکل تمرین مقاومتی

هفته اول	هفته دوم	هفته سوم	هفته چهارم	
۲۵ درصد وزن بدن	۵۰ درصد وزن بدن	۷۵ درصد وزن بدن	۷۵ درصد وزن بدن	شدت
۸-۱۲ تکرار	۸-۱۲ تکرار	۸-۱۲ تکرار	۸-۱۲ تکرار	تعداد تکرار
۲ دقیقه	۲ دقیقه	۲ دقیقه	۲ دقیقه	استراحت
۳۰ دقیقه	۳۰ دقیقه	۳۰ دقیقه	۳۰ دقیقه	حجم تمرین

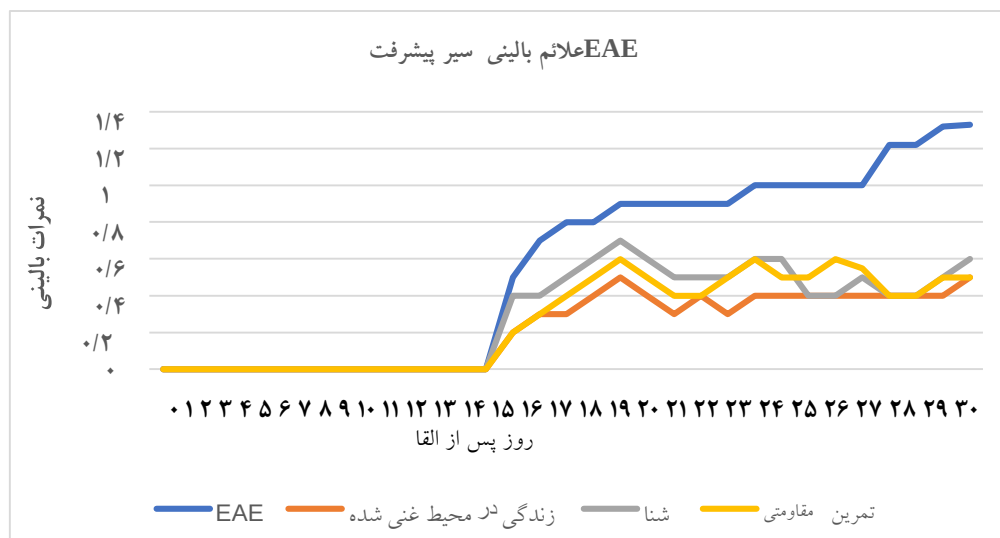
3 Shapiro wilks	2
3 Leven	3
3 One-way ANOVA	4
3 Tukey Post-Hoc	5
3 Mann-Whitney U test	6

یافته‌ها

تغییرات علائم بالینی موش‌ها بعد از القای EAE در جدول شماره ۳ نشان داده شده است. موش‌ها پس از القای EAE از روز ۱۳ بعد از القا، علائم بالینی را نشان دادند و ارزیابی علائم بالینی تا روز ۳۰ پس از القا (دوره مزمن بیماری) ادامه یافت. نمودار ۱ سیر پیشرفت علائم بالینی را از روز بعد از القا تا دوره مزمن بیماری نشان می‌دهد.

جدول شماره ۳. -تغییرات علائم بالینی موش‌ها از روز شروع علائم تا دوره مزمن بیماری

دوره مزمن بیماری	شروع علائم	
$1/33 \pm 0/5$	$0/5 \pm 0/52$	EAE
$0/52 \pm 0/5$	$0/2 \pm 0/42$	زندگی در محیط غنی شده
$0/70 \pm 0/48$	$0/4 \pm 0/51$	تمرین شنا
$0/51 \pm 0/6$	$0/2 \pm 0/42$	تمرین مقاومتی



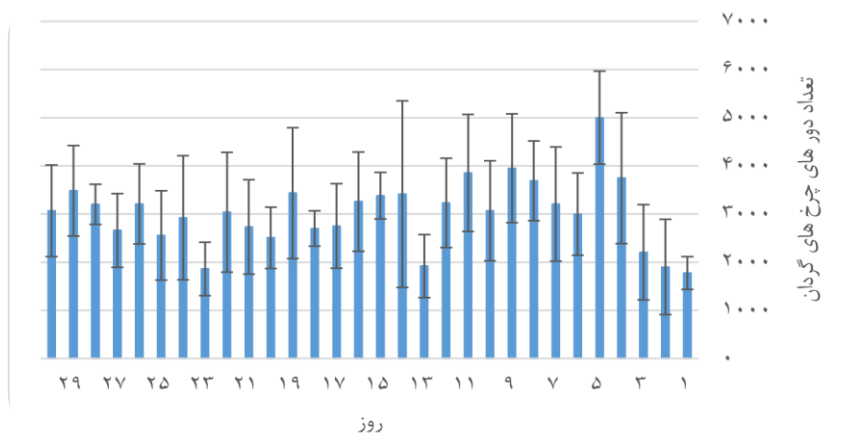
نمودار ۱. سیر پیشرفت علائم بالینی EAE

جدول ۴ تغییرات وزن گروه‌های پژوهش را در قبل القا و سه دوره مهم روز القا، روز شروع علائم (۱۳ روز پس از القا) و دوره مزمن بیماری (۳۰ روز پس از القا) نشان می‌دهد.

جدول شماره ۴: تغییرات وزن موش‌ها در گروه‌های پژوهش برحسب گرم (میانگین $\pm$ انحراف استاندارد)

گروه‌ها/ وزن (گرم)	۱ هفته قبل از القا	روز القا	روز شروع علائم	دوره مزمن بیماری
کنترل	$17/94 \pm 0/46$	$17/74 \pm 0/6$	$19/70 \pm 0/91$	$20/33 \pm 0/95$
EAE	$17/58 \pm 0/39$	$17/71 \pm 0/47$	$18/20 \pm 0/59$	$17/81 \pm 0/65$
EE	$17/61 \pm 0/43$	$17/74 \pm 0/49$	$19/82 \pm 0/93$	$22/19 \pm 0/91$
شنا	$17/80 \pm 0/69$	$17/71 \pm 0/48$	$17/68 \pm 1/10$	$18/96 \pm 1/78$
تمرین مقاومتی	$17/82 \pm 0/47$	$17/59 \pm 0/63$	$17/14 \pm 1/25$	$18/96 \pm 1/41$

الگوی فعالیت موش‌ها در چرخ‌های گردان محیط غنی شده

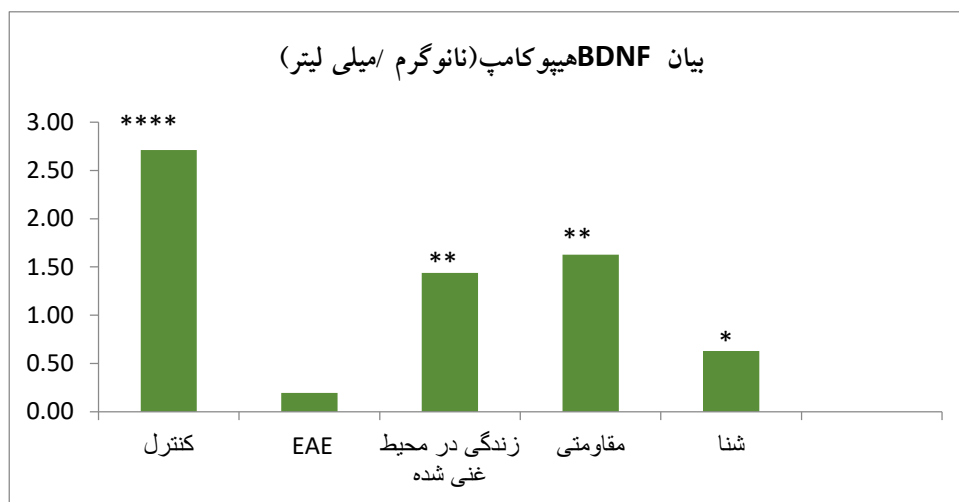


نمودار ۲. میانگین روزانه فعالیت موش‌ها در چرخ دوار محیط غنی شده

نمودار ۲ میانگین تعداد دورهای چرخ دوار را در محیط غنی شده نشان می‌دهد. تعداد دورهای چرخ گردان روزانه

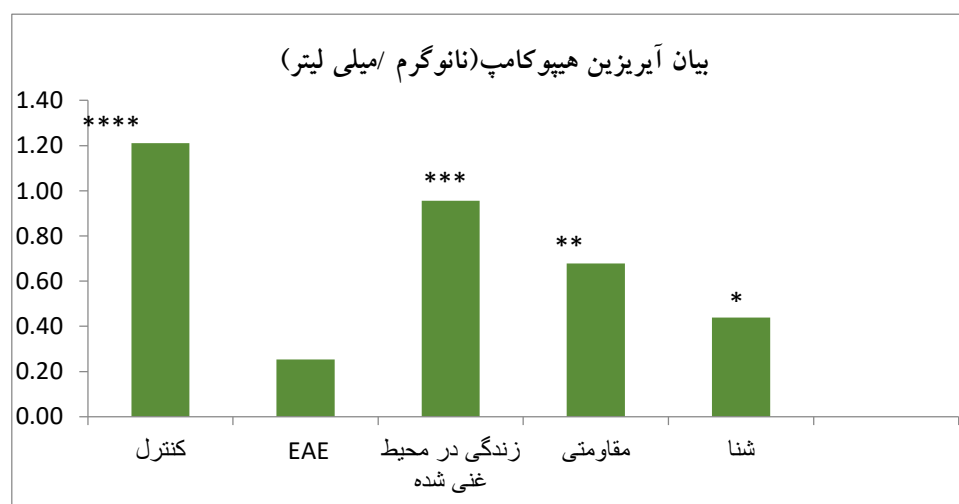
توسط بورد کامپیوتری ثبت شد.

یافته‌های به‌دست‌آمده از آزمون‌های آماری تحلیل واریانس و توکی نشان داد که بیان BDNF هیپوکامپ در هر سه گروه تمرینی نسبت به گروه کنترل EAE افزایش یافت که این افزایش در گروه EE و تمرین مقاومتی هم نسبت به گروه کنترل EAE و هم نسبت به گروه تمرین شنا معنادار بود. همچنین بیان آیریزین هیپوکامپ در هر سه گروه تمرین نسبت به گروه کنترل EAE افزایش داشت که این افزایش در گروه‌های EE و تمرین مقاومتی معنادار بود همچنین بیان آیریزین در گروه EE نسبت به دو گروه تمرین هوازی شنا و تمرین مقاومتی افزایش بیشتری داشت که این افزایش نسبت به گروه تمرین هوازی شنا معنادار بود. این یافته‌ها در نمودار ۳ و ۴ نشان داده شده است.



نمودار ۳. تغییرات بیان BDNF هیپوکامپ موش‌های مبتلا به EAE

* نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین گروه‌ها



نمودار ۴. تغییرات بیان آیریزین هیپوکامپ موش‌های مبتلا به EAE

بحث

پژوهش حاضر به بررسی اثر چهار هفته زندگی در محیط غنی‌سازی شده حرکتی و دو نوع تمرین اجباری بر بیان پروتئین‌های آیریزین و BDNF در هیپوکامپ موش‌های ماده مبتلا به ام‌اس تجربی پرداخت. نتایج این بررسی نشان داد که زندگی در محیط غنی‌سازی شده و تمرین مقاومتی و هوازی موجب افزایش ترشح آیریزین و فاکتور رشد عصبی مغزی در هیپوکامپ می‌شود. قابل توجه است که زندگی در محیط غنی‌سازی شده حرکتی موجب ترشح بیشتر این دو فاکتور مهم در رشد و ترمیم سیستم عصبی مرکزی گردید که نشان‌دهنده تأثیرات مثبت زندگی در محیط غنی‌سازی شده به‌عنوان رویکردی نوین در بهبود و درمان بیماری‌های عصبی از جمله MS می‌باشد. استراتژی‌های درمانی قابل توجهی برای بیماران مبتلا به مولتیپل اسکلروزیس پیش‌رونده با بیشترین درجه معلولیت و تخریب عصبی بالا و اختلال عملکرد آکسون، وجود ندارد و آنها بیشترین نیاز بالینی را دارند (۱). داده‌های بالینی نشان می‌دهد که ورزش ممکن است تأثیرات مثبتی بر عملکردهای عصبی شناختی در بیماران مبتلا به مولتیپل اسکلروزیس پیش‌رونده و درجه بالاتر از معلولیت داشته باشد، اما مسیرهای مولکولی اساسی و نشانگرهای قابل اندازه‌گیری در حال حاضر وجود ندارد (۲). یکی از واسطه‌های مهم مولکولی این پاسخ‌های مفید در مغز برای ورزش، القای نوروتروفین‌ها / فاکتورهای رشد، به‌ویژه فاکتور نوروتروفیک مشتق از مغز (BDNF) و آیریزین است. در مدل‌های حیوانی، BDNF در مناطق مختلف مغز با ورزش، بیشترین اثرات مفید را در هیپوکامپ ایجاد می‌کند (۲۳، ۲۴). BDNF جنبه‌های بسیاری از رشد مغز، از جمله بقای سلول‌های عصبی، تمایز، مهاجرت، شاخه زایی دندریتیک، سیناپتوژنز و انعطاف‌پذیری را تقویت می‌کند (۲۵). علاوه بر این، BDNF برای انعطاف‌پذیری سیناپسی، عملکرد هیپوکامپ و یادگیری ضروری است (۲۴). نتایج پژوهش ما نشان داد که تمرین مقاومتی و زندگی در محیط غنی‌سازی شده باعث افزایش معنادار ترشح BDNF در هیپوکامپ موش‌های مبتلا به EAE می‌شود که با نتایج تحقیق پترینگر و همکاران (۲۰۱۳) که بیان کردند تمرینات هوازی موجب افزایش ترشح BDNF در مغز می‌شود، همخوانی دارد. اما با نتایج تحقیق بریکن و همکاران (۲۰۱۶) که نشان دادند ۹ هفته تمرین دوچرخه‌سواری ۳۰ دقیقه‌ای تغییر قابل توجهی بر سطوح پایه BDNF ندارد، مطابقت نداشت. البته این اختلاف، بیشتر به خاطر تفاوت در نوع تمرین و مدت زمان تمرین انتخابی و همچنین اختلاف در محل اندازه‌گیری BDNF بود. در تحقیق بریکن و همکاران سطح BDNF سرمی اندازه‌گیری شد اما در تحقیق ما سطح BDNF هیپوکامپ اندازه‌گیری شد.

آیریزین نقش حیاتی در تمایز عصبی سلول‌های بنیادی جنینی ایفا می‌کند. مطالعات ادعا کرده‌اند که آیریزین می‌تواند نوروتژن هیپوکامپ را تنظیم کند. در حضور آیریزین، تعداد نورون‌های هیپوکامپ در مغز موش افزایش یافت. مسیر FND5 / آیریزین همچنین می‌تواند سطح بیان BDNF که نقش حیاتی در تنظیم رشد عصبی دارد را افزایش دهد (۲۶).

بیان FND5 توسط ورزش در هیپوکامپ در موش ایجاد می‌شود. که می‌تواند به‌نوبه خود BDNF و سایر ژن‌های محافظت در برابر نورون را فعال کند (۱۰). نکته مهم، تحویل محیطی FND5 به کبد از طریق ناقلین آدنو ویروسی، و در نتیجه افزایش آیریزین در خون، باعث بیان BDNF و سایر ژن‌های محافظت از نورون در هیپوکامپ می‌شود. این داده‌ها نشان می‌دهد که آیریزین می‌تواند از سد مغزی-خونی عبور کند تا تغییرات بیان ژن را القا کند. چند پژوهش، مسیر FND5 / آیریزین / BDNF و همچنین پتانسیل درمانی آن برای درمان بیماری تخریب عصبی را بررسی کردند (۵، ۱۹، ۲۳). در مورد آیریزین نتایج پژوهش حاضر نشان داد که هر دو نوع فعالیت ورزشی، یعنی فعالیت ورزشی اجباری (شنا و مقاومتی) و فعالیت ورزشی اختیاری (زندگی در محیط غنی شده) موجب افزایش ترشح آیریزین هیپوکامپ در رتهای مبتلا به ام‌اس تجربی شد که این افزایش در گروه تمرین مقاومتی و گروه EE معنادار بود. قابل توجه است که زندگی در محیط غنی سازی شده موجب افزایش بیشتری در ترشح آیریزین هیپوکامپ نسبت به سایر گروه‌ها شد که با نتایج پژوهش یو و همکاران (۲۰۲۰) مطابقت داشت.

کیم و همکاران نشان دادند که ۲۶ روز متوالی ورزش شنا به مدت ۳۰ دقیقه در روز در رتهای مبتلا به EAE، دمی‌لیناسیون و بیان سیتوکین های پیش التهابی و واسطه‌های التهابی را سرکوب کرد (۲۷). این تغییرات باعث بهبود علائم EAE مانند کاهش وزن بدن، اختلال عملکرد حرکتی و ضعف شد. سوزا و همکاران (۲۰۱۷) اثرات ایمنی دویدن روی تردمیل (تمرین استقامتی) در مقایسه با بالا رفتن از نردبان (تمرین قدرتی) را مورد بررسی قرار دادند (۱۹). هر دو پروتکل، ۲ هفته قبل از القای EAE و در مجموع به مدت ۴ هفته، سیر بیماری را تضعیف کردند و سطوح سیتوکین های پیش التهابی را کاهش دادند. در طی مراحل حاد و مزمن، تمرینات قدرتی و تمرینات استقامتی به ترتیب پاسخ ایمنی ذاتی سلول‌های دندریتیک در طحال و در اندام‌های لنفاوی ثانویه را کاهش دادند. جالب توجه است، تمرینات قدرتی باعث افزایش نشانگرهای سلول‌های T تنظیمی (Tregs) در جمعیت طحال می‌شود، که نشان می‌دهد این زیرجمعیت سلول T می‌تواند در اثرات مفید ورزش بر آسیب‌شناسی EAE نقش داشته باشد و انواع مختلف ورزش می‌تواند فعالیت‌های تعدیل‌کننده ایمنی متمایز را القا کند (۳۷). این نتایج با نتایج پژوهش ما مطابقت داشتند و نشان دادند که ورزش شنا و تمرین مقاومتی به‌عنوان دو نمونه از تمرینات اجباری می‌تواند موجب کاهش علائم بیماری، جلوگیری از کاهش وزن و افزایش ترشح BDNF و آیریزین هیپوکامپ در رتهای مبتلا به ام‌اس تجربی شوند.

نقیب‌زاده و همکاران (۲۰۱۸) و هودبین و همکاران (۲۰۱۷) اثرات تمرینات اجباری (FE) را در رتهای مبتلا به ام‌اس تجربی بررسی کردند (۲۸، ۱۴). دو پروتکل، تمرین تناوبی با شدت بالا و تمرین مداوم با شدت کم که بروی تردمیل ۴ هفته قبل از القاء بیماری انجام شدند، نقص حرکتی حیوانات آسیب‌دیده با CPZ را کاهش دادند و mRNA عوامل نوروتروفیک هیپوکامپ را افزایش دادند. علاوه بر این، تمرین با شدت بالا به‌طور قابل توجهی تراکم میکروگلیا هیپوکامپ را افزایش داد و التهاب عصبی را بهبود بخشید، احتمالاً این نتایج را می‌توان به‌عنوان یک نتیجه از اثرات مفید ناشی از FE در نظر گرفت. علاوه بر این، تمرینات تردمیل و شنا ۱۲ هفته‌ای انجام‌شده پس از ابتلا به ام‌اس تجربی

به‌طور قابل توجهی فعالیت حرکتی را بهبود بخشید (۱۹).

علی‌رغم اهمیت استفاده از درمان‌های هم‌افزایی، مقالات بسیار اندکی وجود دارد که نتیجه یک درمان ترکیبی از فعالیت بدنی و توان‌بخشی شناختی را نشان دهد. به‌عنوان یک رویکرد تجربی، زندگی در محیط غنی‌سازی شده (EE) که برای مدل‌های حیوانی مناسب‌ترند، شامل تحریک جسمی و شناختی همراه با تعامل اجتماعی است. مزایای EE با اعمال تأثیرات مثبت بر رفتار شناختی، بهبود یادگیری، حافظه و علائم اضطرابی شکل در حیوانات سالم و مدل‌های بیماری‌های مولد و پیری نشان داده‌شده است (۲۹). کمپرم و همکاران (۲۰۰۲) در مطالعه‌ای نشان دادند که EE، نوروزن را در هیپوکامپ بالغ تسریع می‌کند، قرار گرفتن موش‌های بالغ ۱۰ تا ۲۰ ماهه در معرض EE افزایش پنج برابری در نوروزن هیپوکامپ را نشان داد (۳۰). یو و همکاران (۲۰۲۰) نشان دادند که زندگی در یک محیط غنی‌سازی شده بیان پروتئین FND5C را در قشر مغزی پس از ایسکمی مغزی تنظیم می‌کند، که سپس بیان پروتئین BDNF را فعال می‌کند و عملکرد عصبی را بهبود می‌بخشد. بیان پروتئین BDNF با بهبود عملکرد عصبی همبستگی مثبت داشت (۲۴). نتایج این تحقیقات با داده‌های به‌دست‌آمده از تحقیق ما مطابقت دارد و نشان می‌دهد که زندگی در یک محیط غنی‌سازی شده می‌تواند موجب کاهش علائم بیماری، پیشگیری از کاهش وزن و بهبود ترشح فاکتورهای رشد عصبی مسیر FND5C/آیریزین/BDNF شود.

در مورد اثرات زندگی در محیط غنی‌سازی شده و نوع محیط و ابزار مناسب برای بیماران مبتلا به ام‌اس تحقیقات بیشتری نیاز است و پیشنهاد می‌شود که مطالعات بعدی بر درمان در محیط غنی‌سازی شده حرکتی برای نمونه‌های انسانی تمرکز نماید. یکی از محدودیت‌های این پژوهش عدم بررسی و اندازه‌گیری گیرنده‌های مغزی BDNF و آیریزین بود. لذا پیشنهاد می‌شود در تحقیقات آینده به این موضوع توجه شود.

نتیجه‌گیری

به‌طور کلی نتایج تحقیق حاضر بر اثرات مفید EE همچنین تمرینات اجباری به‌ویژه تمرین مقاومتی در پیشگیری و درمان بیماری ام‌اس، صحنه گذاشت. یافته‌های پژوهش نشان داد که حیوانات گروه زندگی در محیط غنی‌سازی شده و تمرین مقاومتی نسبت به گروه تمرین شنا پاسخ بهتری نشان دادند. با توجه به این یافته‌ها پیشنهاد می‌شود که از این دو روش تمرینی برای بهبود علائم بیماری ام‌اس استفاده شود. هرچند که برای شناخت مکانیسم‌های فیزیولوژیک و پاتولوژیک دقیق‌تر و شدت و نوع تمرینات به بررسی و آزمایش‌های بیشتری نیاز است.

References

1. Baltan S, Jawaid SS, Chomyk AM, Kidd GJ, Chen J, Battapady HD, et al. Neuronal hibernation following hippocampal demyelination. *Acta neuropathologica communications*. 2021;9(1):1-15.
2. Rieckmann P, Centonze D, Elovaara I, Giovannoni G, Havrdová E, Kesselring J, et al. Unmet needs, burden of treatment, and patient engagement in multiple sclerosis: a combined perspective from the MS in the 21st century steering group. *Multiple sclerosis and related disorders*. 2018;19:153-60.
3. Petzinger GM, Fisher BE, McEwen S, Beeler JA, Walsh JP, Jakowec MW. Exercise-enhanced neuroplasticity targeting motor and cognitive circuitry in Parkinson's disease. *The Lancet Neurology*. 2013;12(7):716-26.
4. Andrade LP, Gobbi LT, Coelho FG, Christofolletti G, Costa JLR, Stella F. Benefits of multimodal exercise intervention for postural control and frontal cognitive functions in individuals with Alzheimer's disease: a controlled trial. *Journal of the American Geriatrics Society*. 2013;11(61):1919-26.
5. Motl RW, Pilutti LA, Hubbard EA, Wetter NC, Sosnoff JJ, Sutton BP. Cardiorespiratory fitness and its association with thalamic, hippocampal, and basal ganglia volumes in multiple sclerosis. *NeuroImage: Clinical*. 2015;7:661-6.
6. Smith PJ, Blumenthal JA, Hoffman BM, Cooper H, Strauman TA, Welsh-Bohmer K, et al. Aerobic exercise and neurocognitive performance: a meta-analytic review of randomized controlled trials. *Psychosomatic medicine*. 2010;72(3):239.
7. Leal G, Afonso PM, Salazar IL, Duarte CB. Regulation of hippocampal synaptic plasticity by BDNF. *Brain research*. 2015;1621:82-101.
8. Barbarulo AM, Lus G, Signoriello E, Trojano L, Grossi D, Esposito M, et al. Integrated cognitive and neuromotor rehabilitation in multiple sclerosis: a pragmatic study. *Frontiers in behavioral neuroscience*. 2018;12:196.
9. Boström P, Wu J, Jedrychowski MP, Korde A, Ye L, Lo JC, et al. A PGC1- α -dependent myokine that drives brown-fat-like development of white fat and thermogenesis. *Nature*. 2012;481(7382):463-8.
10. Wrann CD, White JP, Salogiannis J, Laznik-Bogoslavski D, Wu J, Ma D, et al. Exercise induces hippocampal BDNF through a PGC-1 α /FNDC5 pathway. *Cell metabolism*. 2013;18(5):649-59.
11. Hill T, Polk JD. BDNF, endurance activity, and mechanisms underlying the evolution of hominin brains. *American journal of physical anthropology*. 2019;168:47-62.
12. Di Liegro CM, Schiera G, Proia P, Di Liegro I. Physical activity and brain health. *Genes*. 2019;10(9):720.
13. Mähler A, Balogh A, Csizmadia I, Klug L, Kleinewietfeld M, Steiniger J, et al. Metabolic, mental and immunological effects of normoxic and hypoxic training in multiple sclerosis patients: a pilot study. *Frontiers in immunology*. 2018;9:2819.
14. Houdebine L, Gallelli CA, Rastelli M, Sampathkumar NK, Grenier J. Effect of physical exercise on brain and lipid metabolism in mouse models of multiple sclerosis. *Chemistry and physics of lipids*. 2017;207:127-34.
15. Sampedro-Piquero P, Begega A. Environmental enrichment as a positive behavioral intervention across the lifespan. *Current neuropharmacology*. 2017;15(4):459-70.
16. Fischer A. Environmental enrichment as a method to improve cognitive function. What can we learn from animal models? *Neuroimage*. 2016;131:42-7.
17. Silva BA, Miglietta EA, Ferrari CC. Training the brain: could it improve multiple sclerosis treatment? *Reviews in the Neurosciences*. 2020;31(7):779-92.
18. Gentile A, Musella A, De Vito F, Rizzo FR, Freseigna D, Bullitta S, et al. Immunomodulatory effects of exercise in experimental multiple sclerosis. *Frontiers in immunology*. 2019. ۱۰:۲۱۹۷.
19. Souza PS, Gonçalves ED, Pedrosa GS, Farias HR, Junqueira SC, Marcon R, et al. Physical exercise attenuates experimental autoimmune encephalomyelitis by inhibiting peripheral immune response and blood-brain barrier disruption. *Molecular neurobiology*. 2017;54(6):4723-37.

- 20 .Shahidi SH, Kordi MR, Rajabi H, Malm C, Shah F, Quchan ASK. Exercise modulates the levels of growth inhibitor genes before and after multiple sclerosis. *Journal of Neuroimmunology*. 2020;341:577172.
- 21 .Fournier AP, Baudron E, Wagnon I, Aubert P, Vivien D, Neunlist M, et al. Environmental enrichment alleviates the deleterious effects of stress in experimental autoimmune encephalomyelitis. *Multiple Sclerosis Journal–Experimental, Translational and Clinical*. 2020;6(4):20552173. ۲۰۹۵۹۸۰۶
- 22 .Segal JP, Bannerman CA, Silva JR, Haird CM, Baharnoori M, Gilron I, et al. Chronic mechanical hypersensitivity in experimental autoimmune encephalomyelitis is regulated by disease severity and neuroinflammation. *Brain, behavior, and immunity*. ۸۹:۳۱۴-۲۵;۲۰۲۰ .
- 23 .Peng J, Wu J. Effects of the FNDC5/Irisin on Elderly Dementia and Cognitive Impairment. *Frontiers in Aging Neuroscience*. 2022;14.
- 24 .Yu K-W, Wang C-J, Wu Y, Wang Y-Y, Wang N-H, Kuang S-Y, et al. An enriched environment increases the expression of fibronectin type III domain-containing protein 5 and brain-derived neurotrophic factor in the cerebral cortex of the ischemic mouse brain. *Neural regeneration research*. 2020;15(9):1671.
- 25 .Cruz Y, García EE, Gálvez JV, Arias-Santiago SV, Carvajal HG, Silva-García R, et al. Release of interleukin-10 and neurotrophic factors in the choroid plexus: possible inducers of neurogenesis following copolymer-1 immunization after cerebral ischemia. *Neural regeneration research*. 2018;13(10):1743.
- 26 .Zsuga J, Tajti G, Papp C, Juhasz B, Gesztelyi R. FNDC5/irisin, a molecular target for boosting reward-related learning and motivation. *Medical Hypotheses*. 2016;90:23-8.
- 27 .Kim J-Y, Yi E-S, Lee H, Kim J-S, Jee Y-S, Kim S-E, et al. Swimming exercise ameliorates symptoms of MOG-induced experimental autoimmune encephalomyelitis by inhibiting inflammation and demyelination in rats. *International Neurolology Journal*. 2020;24(Suppl 1):S39.
- 28 .Naghibzadeh M, Ranjbar R, Tabandeh MR, Habibi A. Effects of two training programs on transcriptional levels of neurotrophins and glial cells population in hippocampus of experimental multiple sclerosis. *International journal of sports medicine*. 2018;39(08):604-12.
- 29 .Gelfo F, Petrosini L. Environmental Enrichment Enhances Cerebellar Compensation and Develops Cerebellar Reserve. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 2022;19(9):5697.
- 30 .Kempermann G, Gast D, Gage FH. Neuroplasticity in old age: sustained fivefold induction of hippocampal neurogenesis by long-term environmental enrichment. *Annals of neurology*. 2002;52(2):135-43.