



HAL
open science

Électromyostimulation et cognition

Rémi Chaney

► **To cite this version:**

Rémi Chaney. Électromyostimulation et cognition. Physiologie [q-bio.TO]. Université Bourgogne Franche-Comté, 2023. Français. NNT : 2023UBFCK056 . tel-04552276

HAL Id: tel-04552276

<https://theses.hal.science/tel-04552276>

Submitted on 19 Apr 2024

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



THÈSE DE DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ DE BOURGOGNE FRANCHE-COMTÉ

Préparée au Laboratoire INSERM U1093 CAPS – Cognition, Action
et Plasticité Sensorimotrice –



École doctorale n°554 – Environnement Santé –

Doctorat en Sciences de la santé, spécialités Physiologie,
Neurosciences

Par : **Rémi CHANEY**

Électromyostimulation et cognition

Thèse présentée et soutenue publiquement à Dijon, le 11 décembre 2023

Composition du jury :

M^{me} Canu Marie-Hélène, Professeur de Neurosciences, Université de Lille
M^r Laurin Jérôme, Maître de conférences, Université d'Aix/Marseille
M^r Gondin Julien, Chargé de Recherche CNRS, Université de Lyon
M^r Martin Alain, Professeur des Universités, Université de Bourgogne
M^{me} Prigent-Tessier Anne, Professeur de Physiologie, Université de Bourgogne
M^r Garnier Philippe, Professeur de Biochimie, Université de Bourgogne

Président du jury
Rapporteur
Rapporteur
Examineur
Directeur de thèse
Co-directeur de thèse

REMERCIEMENTS

Avant toute chose, je tiens à exprimer ma sincère gratitude envers les membres de mon jury de thèse, notamment le Pr. Canu Marie-Hélène, le Pr. Gondin Julien, le Dr. Laurin Jérôme et le Pr. Martin Alain, pour l'immense honneur qu'ils m'ont fait en acceptant de faire partie de mon jury et d'évaluer mes travaux. J'espère que la lecture de ce manuscrit sera stimulante et enrichissante.

J'exprime mes remerciements envers le Pr. Papaxanthis Charalambos pour son soutien et son dévouement en tant que directeur de l'unité INSERM U1093 CAPS. Votre disponibilité et votre écoute ont été d'une grande valeur tout au long de cette thèse. Également, je vous suis reconnaissant pour avoir créé un environnement de travail propice à l'épanouissement et à la réalisation des recherches menées par les doctorants de ce laboratoire.

Je tiens à remercier mes encadrants de thèse, tout d'abord, le Pr. Marie Christine qui a consacré généreusement son temps à ma formation durant ma 1^{ère} année de thèse. Je remercie également le Pr. Prigent-Tessier Anne et le Pr. Garnier Philippe pour la confiance que vous avez placée en moi en me confiant des heures de cours, en me donnant une grande liberté dans mes travaux et en m'offrant la possibilité de partir en Finlande. Je suis heureux d'avoir eu l'opportunité de travailler sous votre direction et d'avoir pu bénéficier de vos différentes expertises pour m'enrichir au maximum.

Au Pr. Martin Alain et au Dr. Méloux Alexandre, merci de votre soutien durant ces trois années de thèse. Vos suggestions, vos expertises complémentaires, votre disponibilité et vos interrogations pertinentes lors de chacune de mes présentations ont été une source inestimable d'inspiration et de remise en question.

J'adresse mes profonds remerciements envers l'ingénieure d'études Aurore Quirié ainsi que les techniciennes Clélia Santini et Estelle Fontanier de l'unité INSERM U1093 CAPS, qui ont été d'une grande importance tout au long de ma thèse. Votre assistance pendant les expériences a été d'une aide considérable pour mener à bien ce projet. Merci pour votre écoute, vos conseils et votre soutien.

Je tiens à souligner que je suis profondément reconnaissant envers M^{me} Tania Baru, secrétaire de l'unité INSERM U1093 CAPS, pour son aide dans la paperasse administrative et ses conseils pertinents.

Pour mes collègues doctorants de l'INSERM U1093 CAPS, en particulier Clémence, Julien et Maël. Ce fut un plaisir d'échanger nos astuces, nos références bibliographiques et de discuter nos résultats durant ces années de thèse.

À tous les stagiaires de l'unité INSERM U1093 CAPS que j'ai encadré de près ou de loin, en particulier Aude, mais aussi Agathe, Romain, Zoé, Élise, Guillaume, Louna, Jade, merci pour tous les bons moments au laboratoire et surtout en dehors. J'espère que vous aurez appris deux / trois trucs en me côtoyant et que vous garderez un bon souvenir de votre passage.

I would like to express my sincere appreciation to Pr. Mariit Lehti and Pr. Riikka Kivelä. Your warm reception into your laboratory and the steadfast support you extended to me, even in the freezing cold of the North, have been truly invaluable. In addition to your technical guidance, you shared your vision of science and research.

I would also like to express my deepest thanks to Emilia, Tanja, Erik, and Sakari for their guidance and support throughout my stay. Your friendship and support had a profound impact on my time in Finland.

C'est avec une profonde émotion que je te remercie Marina, pour avoir continué à me soutenir pendant ces trois ans de thèse malgré la distance, et pour le Canada, tes conseils, et tout le reste...

Je tiens à exprimer ma sincère gratitude pour le financement de ma thèse par la Fondation pour la Recherche Médicale ainsi qu'à l'alliance FORTHEM pour m'avoir permis de partir en Finlande et d'apprendre de nouvelles techniques. Je tiens à souligner l'importance de votre contribution pour le développement de la science et la recherche dans notre domaine.

TABLE DES MATIÈRES

Remerciements.....	3
Liste des publications et communications.....	7
Liste des abréviations.....	8
Liste des figures.....	10
Liste des tableaux.....	11
Introduction générale.....	12
PARTIE I : État de l'art.....	14
1. Bénéfices cérébraux de l'EX.....	14
1.1 Rôle préventif et thérapeutique de l'EX.....	15
1.2 Influence de l'EX sur le comportement.....	16
1.3 Plasticité cérébrale induite par l'EX.....	20
2. Rôle du BDNF dans les bienfaits cérébraux de l'EX.....	29
2.1 Biologie cellulaire et moléculaire du BDNF.....	30
2.2 Effet de l'EX sur le BDNF.....	45
2.3 Mécanismes de surproduction du BDNF à l'EX.....	47
3. Potentiel de l'EMS en tant qu'alternative à l'EX.....	59
3.1 Impact des caractéristiques du courant sur la tension musculaire.....	60
3.2 Physiologie des contractions induites par l'EMS.....	63
3.3 Effets de l'EMS sur la fonction cérébrale.....	70
4. Résumé et objectif.....	75
PARTIE II : Matériels et méthodes.....	77
1. Protocole d'EMS chez l'Homme.....	77
2. Enregistrement physiologique chez l'Homme.....	78
3. Évaluation neuropsychologique chez l'Homme.....	78
3.1 Test des mots de couleur de Stroop.....	78
3.2 Figure complexe de Rey-Osterrieth.....	79
3.3 Liste de 15 mots.....	79
3.4 Questionnaire POMS.....	80
4. Modèles de stimulation <i>in vivo</i> chez le rat.....	80
4.1 Stimulation des racines nerveuses lombaires.....	81
4.2 Stimulation des muscles quadriceps.....	82
5. Procédures chirurgicales et mesure de la FC, la PA et le DSC.....	82

6. Culture cellulaire et traitement <i>in vitro</i>	84
6.1 Culture des cellules musculaires L6	84
6.2 Culture des cellules musculaires primaires humaines.....	85
6.3 Stimulation électrique des cellules musculaires	86
6.4 Stratégies d'étude des mécanismes de sécrétion de l'irisine	87
7. Études biochimiques.....	87
7.1 Extraction des protéines	87
7.2 Immunoprécipitation	88
7.3 Western blotting	89
7.4 Extraction des ARN et RTq-PCR	90
7.5 Dosage ELISA.....	90
7.6 Mesure du lactate sanguin.....	91
8. Études histologiques.....	91
8.1 Coloration hématoxyline & éosine (H&E).....	91
8.2 Immunofluorescence	91
PARTIE III : Contributions scientifiques	93
Revue de littérature des mécanismes sous-jacents à l'élévation des taux cérébraux de BDNF en réponse à l'EX.....	93
Étude de la voie hémodynamique en réponse à la stimulation aiguë des racines nerveuses lombaires chez le rat.....	112
Étude des effets chroniques de la stimulation des racines nerveuses lombaires sur l'hippocampe.....	124
Étude de l'effet aigu de la stimulation du quadriceps sur la fonction cognitive chez l'Homme et le BDNF chez le rat.....	129
Étude des mécanismes de sécrétion de l'irisine par les cellules musculaires.....	140
Étude de la localisation cellulaire du BDNF dans les muscles squelettiques	145
PARTIE IV : Discussion et perspectives	155
1. Effets néfastes du protocole de STIM	155
2. Effets positifs du protocole d'EMS.....	159
3. Sollicitation neuronales, hémodynamiques et endocrines	164
4. Considérations méthodologiques	172
5. Conclusion de la thèse.....	174
Références bibliographiques	175

LISTE DES PUBLICATIONS ET COMMUNICATIONS

Publications révisées par les pairs :

Chaney, R., Garnier, P., Quirié, A., Martin, A., Prigent-Tessier, A., and Marie, C. (2022). Region-Dependent Increase of Cerebral Blood Flow During Electrically Induced Contraction of the Hindlimbs in Rats. *Front Physiol* 13, 811118. 10.3389/fphys.2022.811118.

Cefis, M.*, Chaney, R.*, Quirié, A., Santini, C., Marie, C., Garnier, P., and Prigent-Tessier, A. (2022). Endothelial cells are an important source of BDNF in rat skeletal muscle. *Sci Rep* 12, 311. 10.1038/s41598-021-03740-8.

Cefis, M., Chaney, R., Wirtz, J., Méloux, A., Quirié, A., Léger, C., Prigent-Tessier, A., Garnier, P. (2023). Molecular mechanisms underlying physical exercise-induced brain BDNF overproduction. *Front. Mol. Neurosci.* 10.3389/fnmol.2023.1275924.

Publications en cours de préparation :

Chaney, R., Méloux, A., Martin, A., Marie, C., Garnier, P., and Prigent-Tessier, A. Impact of chronic electrical stimulation induced muscle injury on hippocampal BDNF dependent-neuroplasticity.

Chaney, R., Léger, C., Wirtz, J., Méloux, A., Fontanier, E., Quirié, A., Martin, A., Prigent-Tessier, A. and Garnier, P. Cerebral benefits of electrical muscle stimulation through effective muscle-brain crosstalk. Evidence from human and animal studies.

Léger, C*, Chaney, R*, Fontanier, E, Niemi, E, Quirié, A, Méloux, A, Kivelä, R, Lehti, M, Garnier, P, and Prigent-Tessier, A. Mechanism of irisin secretion from muscle cells and signaling in hippocampus.

Communications orales :

Chaney, R., et al. Congrès international de l'Association des Chercheurs en Activités Physiques et Sportives (ACAPS) du 27 au 29 octobre 2021 à Montpellier « *Effect of electrically evoked muscle contraction on cerebral blood flow. A Wistar Rat study* ».

Chaney, R. et al. Forum Jeune Chercheur (FJC) de l'école doctorale environnement santé à Dijon le 17 juin 2022. « *Effect of neuromuscular electrical stimulation on cognition and mood in healthy humans* ».

Chaney, R. et al. Congrès international de l'Association des Chercheurs en Activités Physiques et Sportives (ACAPS) du 31 octobre au 02 novembre 2023 à Reims. « *Effect of electrical muscle stimulation on cognition and cerebral BDNF expression. A study in humans and rats* ».

Communication affichée :

Chaney, R. et al. Congrès national de la Société de Physiologie et de Biologie Intégrative (SPBI) du 2 au 4 septembre 2021 à Nice « *Effect of involuntary muscle contraction on FNDC5/Irisin* ».

LISTE DES ABRÉVIATIONS

2VO – occlusion bilatérale des carotides communes	FES – stimulation électrique fonctionnelle
AAV – adénovirus associé	FNDC5 – Protéine 5 contenant le domaine de la fibronectine de type III
ACI – artère cérébrale interne	GABA – acide gamma-aminobutyrique
ACM – artère cérébrale moyenne	GAP-43 – protéine 43 associée à la croissance
ACP – artère cérébrale postérieure	GS – sérum de chèvre
AP – activité physique	HIIT – exercice intermittent à haute intensité
AV – artère vertébrale	HS – sérum de cheval
AVC – accident vasculaire cérébral	hSkM – cultures primaires de cellules musculaires squelettiques
BDNF – facteur neurotrophique dérivé du cerveau	Hsp – protéine de choc thermique
BHE – barrière hémato-encéphalique	HUVEC – cellules endothéliales de la veine ombilicale humaine
bHLH – famille hélice-bouclehélice de base	Hz – Hertz
CaMK – protéine kinase II dépendante du calcium et de la calmoduline	IEG – gènes précoces immédiats
CaRE – élément sensible au calcium	IGF-1 – facteur de croissance 1 à l'insuline
CaRF – facteur de réponse au calcium	IMC – indice de masse corporel
CK – créatine kinase	IP3 – inositol-1,4,5-triphosphate
CO2 – dioxyde de carbone	IRM – imagerie par résonance magnétique
CPE – carboxypeptidase E	JNK – kinases N-terminales c-Jun
CREB – facteur de transcription ubiquitaire liant l'AMPc	KCl – chlorure de potassium
DAPI – 4',6-diamidino-2-phénylindole	LCS – liquide céphalospinal
DMEM – dulbecco's modified Eagle medium	LDF – débitmétrie doppler laser
DMSO – diméthylsulfoxyde	LDF – débitmétrie doppler laser
DOMS – douleurs musculaires retardées	LDH – lactate déshydrogénase
DSC – débit sanguin cérébral	LPS – lipopolysaccharides
DSM-V – manuel diagnostique et statistique des troubles mentaux	LRP – récepteur des lipoprotéines de faible densité
EEG – électroencéphalogramme	LTD – dépression à long terme
ELISA – dosage immuno-enzymatique	LTP – potentialisation à long terme
EMG – électromyographie	L-VGCC – canaux calcique voltage dépendant de type L
EMS – électromyostimulation	M1 – cortex moteur primaire
eNOS – isoforme endothéliale de l'oxyde nitrique synthase	MA – maladie d'Alzheimer
EPS – stimulation électrique pulsé	MCAO – occlusion de l'artère cérébrale moyenne
ERE – élément de réponse aux estrogènes	MCT – transporteurs de monocarboxylates
EX – exercice physique	MeCP2 – protéine 2 de liaison au méthyl-CpG
FAK – kinase d'adhésion focale	MEP – potentiel moteur évoqué
FBS – sérum de fœtus bovin	MET – équivalent métabolique de repos
FC – fréquence cardiaque	MH – maladie de Huntington
	MMP – métalloprotéases matricielles

MP – maladie de Parkinson	RM – répétition maximale
MS – spectrométrie de masse	RMN - spectroscopie à résonance magnétique nucléaire
MT – seuil moteur	RPE – évaluation de l'effort perçu
MVC – force maximale volontaire	SaO₂ – saturation en oxygène
NAA – N-acétyl aspartate	SGZ – zone sous granulaire
NF-κB – facteur de transcription kappa B	SIRT1 – sirtuine 1
NGF – facteur de croissance nerveux	SLA – sclérose latérale amyotrophique
NIRS – spectroscopie dans le proche infrarouge	SNC – système nerveux central
NMDA – récepteurs au glutamate N-méthyl-D-aspartate	SYP – synaptophysine
NO – oxide nitrique	TBS – solution tampon tris salin
NORT – test de reconnaissance du nouvel objet	TBS – stimulation « thêta-burst
NSPC – cellule souche / progénitrice neuronale	TCC – traumatisme craniocérébral
p75^{NTR} – récepteur aux neurotrophines pan 75 kDa	TEP – tomographie par émission de positrons
PA – pression artérielle	TMS – stimulation magnétique transcrânienne
PANAS – échelle d'affect positif et négatif	TNF – facteur de nécrose tumorale
PAS – stimulation associative appariée	t-PA – activateur tissulaire du plasminogène
PBMC – cellules mononucléaires du sang périphérique	TPU – unités arbitraires de perfusion tissulaire
PC – protéases pro-convertases	Trk – kinase liée à la tropomyosine
PCr – phosphocréatine	USF 1 et 2 – facteurs de stimulation en amont 1 et 2
PFA – paraformaldéhyde	Vamp3 – protéine membranaire associées au vésicules 3
PGC-1α – coactivateur gamma 1-alpha du récepteur activé par les proliférateurs de peroxyosomes	VEGF – facteur de croissance de l'endothélium vasculaire
POMS – profil des états d'humeur	VO₂ – consommation d'oxygène
PSD-95 – protéine de densité post-synaptique 95	

LISTE DES FIGURES

FIGURE 1 : EFFETS DE L'EX AIGU SUR LA FONCTION EXÉCUTIVE ÉVALUÉE PAR LA TÂCHE DE STROOP	17
FIGURE 2 : INFLUENCE DE L'EX AIGU SUR LA MÉMOIRE ÉPISODIQUE ÉVALUÉE PAR UNE LISTE DE MOTS	19
FIGURE 3 : EFFETS DE L'EX RÉGULIER SUR LE VOLUME HIPPOCAMPIQUE	21
FIGURE 4 : EFFET DE L'EX AIGU SUR L'EXCITABILITÉ DU CORTEX MOTEUR PRIMAIRE ET LA MÉMOIRE PROCÉDURALE.....	22
FIGURE 5 : EFFET DE L'EX CHRONIQUE SUR LE FLUX SANGUIN CÉRÉBRAL DE REPOS	23
FIGURE 6 : NEUROGÉNÈSE HIPPOCAMPIQUE INDUITE PAR L'EX.....	25
FIGURE 7 : CROISSANCE DENDRITIQUE HIPPOCAMPIQUE INDUITE PAR L'EX.....	27
FIGURE 8 : RÉSUMÉ GRAPHIQUE DES EFFETS DE L'EX SUR LA PLASTICITÉ CÉRÉBRALE	29
FIGURE 9 : STRUCTURE ET RÉGULATION TRANSCRIPTIONNELLE DU GÈNE BDNF.....	32
FIGURE 10 : MÉTABOLISME NEURONAL DU BDNF	37
FIGURE 11 : MÉCANISMES D'ACTION DU COUPLE BDNF/TrkB-FL DANS LES NEURONES.....	39
FIGURE 12 : SIGNALISATION DES NEUROTROPHINES VIA LE RÉCEPTEUR p75 ^{NTR} ET SES CORÉCEPTEURS.....	40
FIGURE 13 : PREUVE IN VITRO DU RÔLE DU BDNF DANS LA SURVIE NEURONALE	41
FIGURE 14 : RÔLE DU BDNF DANS LA FONCTION SYNAPTIQUE	43
FIGURE 15 : RÉPONSE DU BDNF CÉRÉBRAL À L'EX AIGU	46
FIGURE 16 : MÉCANISMES IMPLIQUÉS DANS L'ÉLEVATION DE BDNF EN RÉPONSE À L'EX.....	48
FIGURE 17 : RÉPONSE DU DSC À L'EX SUR TAPIS ROULANT CHEZ LE RONGEUR.....	50
FIGURE 18 : MÉCANISMES POTENTIELS DE L'ÉLEVATION DU BDNF CÉRÉBRAL DÉPENDANT DU DSC EN RÉPONSE À L'EX	53
FIGURE 19 : MÉCANISMES IMPLIQUANTS L'IRISINE ET LE LACTATE DANS L'ÉLEVATION DES TAUX CÉRÉBRAUX DE BDNF EN RÉPONSE À L'EX.....	59
FIGURE 20 : LIEN ENTRE LA FORCE MAXIMALE VOLONTAIRE, LA FORCE ÉVOQUÉE ET L'EFFICACITÉ DE L'EMS	61
FIGURE 21 : EFFET DE L'INTENSITÉ ET DE LA FRÉQUENCE DE STIMULATION SUR LA FORCE ÉVOQUÉE DURANT L'EMS.....	62
FIGURE 22 : EXCITABILITÉ, RECRUTEMENT ET LOCALISATION DES AXONES INTRAMUSCULAIRES	64
FIGURE 23 : RECRUTEMENTS SPATIAL ET TEMPOREL DES UNITÉS MOTRICES LORS DE L'EMS	65
FIGURE 24 : RECRUTEMENTS DIRECT ET INDIRECT LORS DE L'EMS	66
FIGURE 25 : COMPARAISON DE L'EX VOLONTAIRE ET DE L'EMS SUR LA PRODUCTION DE LACTATE.....	67
FIGURE 26 : PREUVES HISTOLOGIQUES DES LÉSIONS MUSCULAIRES INDUITES PAR L'EMS	68
FIGURE 27 : EFFET DE LA STIMULATION D'UNE LARGE MASSE MUSCULAIRE SUR LE DSC CHEZ L'HOMME.....	74
FIGURE 28 : TÂCHE DE STROOP ET FIGURE DE REY.....	79
FIGURE 29 : MODÈLES DE STIMULATION UTILISÉS DURANT LA THÈSE	81
FIGURE 30 : ILLUSTRATION DES PROCÉDURES CHIRURGICALES UTILISÉES DURANT LA THÈSE	84
FIGURE 31 : PROLIFÉRATION ET DIFFÉRENCIATION DES CELLULES hSkM EN CULTURE	86
FIGURE 32 : EFFET DE LA STIMULATION DES RACINES NERVEUSES LOMBAIRES SUR L'INTÉGRITÉ PHYSIQUE ET MUSCULAIRE	125

FIGURE 33 : EFFET DE LA STIMULATION DES RACINES NERVEUSES LOMBAIRES SUR LA SIGNALISATION DU BDNF DANS L'HIPPOCAMPE.....	126
FIGURE 34 : EFFET DE LA STIMULATION DES RACINES NERVEUSES LOMBAIRES SUR LES MARQUEURS D'APOPTOSE DANS L'HIPPOCAMPE.....	127
FIGURE 35 : EFFET DE LA STIMULATION DES RACINES NERVEUSES LOMBAIRES SUR LE SYSTÈME FNDC5/IRISINE	128
FIGURE 36 : CARACTÉRISATION DU PROTOCOLE D'EMS APPLIQUÉE AU QUADRICEPS CHEZ LE RAT	130
FIGURE 37 : RÉPONSE PHYSIOLOGIQUE INDUITE PAR L'EMS CHEZ L'HOMME	131
FIGURE 38 : EFFET DE L'EMS SUR L'EXPRESSION CÉRÉBRALE DE BDNF ET DES PROTÉINES SYNAPTIQUES.....	133
FIGURE 39 : EFFET DE L'EMS SUR LA COGNITION ET L'HUMEUR CHEZ L'HOMME.....	134
FIGURE 40 : EFFET DE L'EMS SUR LA VOIE NEURONALE ET HÉMODYNAMIQUE	135
FIGURE 41 : EFFET DE L'EMS SUR LE BDNF MUSCULAIRE ET CIRCULANT CHEZ LE RAT	136
FIGURE 42 : EFFET DE L'EMS SUR LE SYSTÈME FNDC5/IRISINE.....	137
FIGURE 43 : LIEN ENTRE LACTATÉMIE ET BÉNÉFICES CÉRÉBRAUX INDUITS PAR L'EMS	139
FIGURE 44 : EFFET DES STADES DE PROLIFÉRATION ET DE DIFFÉRENCIATION SUR LA SÉCRÉTION D'IRISINE	141
FIGURE 45 : EFFET DES PROTOCOLES D'EPS À BASSE ET HAUTE FRÉQUENCE SUR LA SÉCRÉTION D'IRISINE.....	142
FIGURE 46 : EFFET DE LA CHÉLATION DE CALCIUM ET DE L'INHIBITION DES ADAM SUR LA SÉCRÉTION D'IRISINE.....	143
FIGURE 47 : EFFET DU TAUX DE GLUCOSE SUR LA SÉCRÉTION D'IRISINE.....	144

LISTE DES TABLEAUX

TABEAU I : MODALITÉS DE STIMULATION ÉLECTRIQUE PÉRIPHÉRIQUE	60
TABEAU II : EFFET DES PROTOCOLES DE NMES SUR L'EXPRESSION CÉRÉBRALE DE BDNF	72
TABEAU III : CARACTÉRISTIQUES DES SUJETS VOLONTAIRES POUR NOS ÉTUDES	78
TABEAU IV : LISTE DE 15 MOTS UTILISÉE CHEZ L'HOMME	79
TABEAU V : LISTE DES ADJECTIFS UTILISÉE DANS LE QUESTIONNAIRE POMS	80
TABEAU VI : COMPOSITION DES MILIEUX DE CULTURE.....	85
TABEAU VII : LISTE DES ANTICORPS PRIMAIRES UTILISÉS POUR LE WESTERN BLOT	89
TABEAU VIII : LISTE DES AMORCES PCR	90
TABEAU IX : LISTE DES ANTICORPS PRIMAIRES UTILISÉS POUR L'IMMUNOFLUORESCENCE.....	92

INTRODUCTION GÉNÉRALE

Les effets bénéfiques de l'exercice physique (EX) sur la santé sont unanimement reconnus et observés dans plusieurs organes, notamment le cerveau. Bien que les fondements d'un « *esprit sain dans un corps sain* » remontent au moins à la civilisation grecque, les premières enquêtes scientifiques sur la relation entre l'EX et la santé cérébrale datent du début du XXe siècle. Dès lors, il a été démontré que l'EX entraîne une réduction du risque de développer divers troubles cérébraux, une amélioration des fonctions cognitives et un bien-être psychologique accru. Les bénéfices induits par l'EX sur le cerveau impliquent une augmentation des niveaux du facteur neurotrophique dérivé du cerveau (BDNF, brain-derived neurotrophic factor), une neurotrophine jouant un rôle clé dans la neuroplasticité. Cependant, les mécanismes exacts par lesquels l'EX augmente les niveaux de BDNF dans le cerveau restent encore peu compris.

Le premier mécanisme évoqué est l'hyperactivité neuronale observée dans de nombreuses régions cérébrales pendant l'EX (voie neuronale). En effet, la synthèse neuronale de BDNF étant dépendante de l'activité neuronale. Le second mécanisme s'appuie sur la découverte, par notre laboratoire, que les cellules endothéliales cérébrales expriment fortement le BDNF et que cette expression est augmentée par l'EX. L'augmentation du flux sanguin dans les vaisseaux de la circulation cérébrale, qui est observée pendant la réalisation d'un EX et la production de monoxyde d'azote (NO, nitric oxide) qui en résulte, sont des stimuli majeurs de la synthèse endothéliale de BDNF et l'un des mécanismes qui sous-tend l'augmentation des taux cérébraux de BDNF en réponse à l'EX (voie hémodynamique). Le troisième mécanisme, récemment mis en évidence, implique la communication entre les organes périphériques et le cerveau (voie endocrine). En effet, lors de l'EX, différents tissus sécrètent des molécules dans le sang, communément appelées « exerkinés ». Bien que les mécanismes d'action de ces molécules sur le cerveau ne soient pas clairement compris, il semble que l'augmentation de leur sécrétion dans la circulation sanguine favorise la production cérébrale de BDNF. Ainsi, l'augmentation des taux cérébraux de BDNF induite par l'EX mettrait en jeu la voie neuronale, la voie hémodynamique et la voie endocrine.

En dépit des nombreux bienfaits de l'EX sur la santé, de nombreuses personnes ne peuvent pas pleinement s'engager dans un programme d'EX pour diverses raisons telles que les contre-indications médicales, le handicap moteur, la fragilité physique ou encore l'alitement. C'est pourquoi le développement de stratégies « mimétiques » de l'EX est actuellement à l'étude. Dans cette optique, nous proposons d'évaluer dans quelle mesure

l'électromyostimulation (EMS), qui consiste à induire des contractions musculaires sans commande volontaire en appliquant un courant électrique sur la peau, pourrait être un substitut envisageable à l'EX pour préserver et améliorer la santé cérébrale. L'EMS est actuellement utilisée comme une alternative à l'EX pour le renforcement musculaire chez les patients déconditionnés. En effet, des études ont démontré que l'EMS permet de récupérer et d'améliorer la masse ainsi que la force musculaire tant chez les individus en bonne santé que chez divers patients, avec une efficacité comparable à celle de l'EX en résistance. Cependant, il existe encore peu d'études portant spécifiquement sur les effets de l'EMS sur le cerveau.

Dans ce contexte, l'objectif de la thèse est de **1)** Caractériser les effets de l'EMS sur l'expression de BDNF dans des régions cérébrales impliquées dans la cognition, telles que le cortex préfrontal et l'hippocampe, tout en examinant les différentes voies impliquées dans la production de BDNF, notamment l'activité neuronale, la voie hémodynamique et la production d'exerkines, chez le rat. **2)** Explorer l'impact de l'EMS sur la fonction cognitive, évaluée à travers des tests tels que la tâche de Stroop, la figure complexe de Rey et une liste de 15 mots, ainsi que sur l'état émotionnel à l'aide du questionnaire POMS chez des individus en bonne santé.

Ce manuscrit comprend successivement, un « **état de l'art** » centré sur les bienfaits cérébraux de l'EX, le BDNF et l'EMS, une partie « **matériels et méthodes** » incluant la description des techniques utilisées durant la thèse, une partie « **contribution scientifique** » présentant les différentes publications issues de ce travail de thèse et enfin, une « **discussion générale** » dans laquelle les résultats obtenus seront analysés de façon critique et les perspectives de ce travail de thèse seront abordées.

PARTIE I : ÉTAT DE L'ART

1. BÉNÉFICES CÉRÉBRAUX DE L'EX

L'activité physique (AP) englobe toute forme de mouvement corporel qui augmente la dépense énergétique par rapport au repos, que ce soit en effectuant des tâches telles que le jardinage, le bricolage ou simplement en se rendant au travail (Caspersen *et al*, 1985). L'EX, en revanche, constitue une catégorie spécifique de l'AP, caractérisée par une planification structurée dans le but de maintenir ou d'améliorer la condition physique, en modulant des paramètres tels que la durée et l'intensité de l'effort (Norton *et al*, 2010). Cette dernière peut être mesurée en utilisant des paramètres objectifs tels que le pourcentage de la fréquence cardiaque maximale (FC_{max}), de la fréquence cardiaque de réserve (FC_R), de la consommation maximale d'oxygène ($VO2_{max}$), de l'équivalent métabolique (MET, Metabolic Equivalent of Task) et du nombre de répétitions maximales (RM), ou plus rarement en utilisant des données subjectives telles que l'évaluation de l'effort perçu (RPE, Rated Perceived Exertion). Du point de vue métabolique, l'EX peut être qualifié « d'endurance » lorsque l'apport d'énergie fait principalement appel au métabolisme aérobie (par exemple, la course, la natation, le vélo) ou de « résistance » lorsque l'apport d'énergie est principalement d'origine anaérobie (par exemple, la musculation, le sprint).

La pratique régulière de l'EX est associée à une réduction du risque de mortalité toutes causes confondues de 8 à 32 %, ainsi qu'à une augmentation de l'espérance de vie de 0,4 à 4 ans, selon les études (Leitzmann *et al*, 2007; Wen *et al*, 2011; Ekelund *et al*, 2016; Lear *et al*, 2017). De plus, l'EX s'avère bénéfique dans la prévention primaire de 35 maladies chroniques, y compris les maladies cardiovasculaires, métaboliques et certains cancers (Booth *et al*, 2012). En outre, il est désormais établi que l'EX a un impact positif sur la santé et le fonctionnement du cerveau. En effet, des recherches indiquent que l'EX exerce un effet préventif et thérapeutique sur les maladies du système nerveux central (SNC) tout en améliorant les capacités cognitives et le bien-être psychologique. Ces effets sont liés à divers changements neuroplastiques observés chez les humains et les rongeurs. Ainsi, cette section exposera brièvement les bienfaits cérébraux de l'EX et les mécanismes neuroplastiques qui les sous-tendent.

1.1 Rôle préventif et thérapeutique de l'EX

L'EX présente de multiples bénéfices dans le contexte de plusieurs affections neurologiques et neurodégénératives, pour lesquelles des traitements médicamenteux efficaces font souvent défaut. Parmi ces troubles, nous pouvons citer entre autres les accidents vasculaires cérébraux (AVC), les traumatismes craniocérébraux (TCC), la maladie d'Alzheimer (MA) et la maladie de Parkinson (MP) (McDonnell *et al*, 2011; Petzinger *et al*, 2013; Vanderbeken & Kerckhofs, 2017; Saunders *et al*, 2020; Valenzuela *et al*, 2020). En effet, l'EX contribue à la réduction du risque de développement de ces maladies et s'oppose aux conséquences physiopathologiques qui en découlent. De façon importante, l'EX a démontré des bénéfices comparables à ceux des médicaments antidépresseurs dans le soulagement des symptômes de patients dépressifs (Babyak *et al*, 2000; Hoffman *et al*, 2011; Carneiro *et al*, 2015). Une étude de suivi à long terme portant sur 33 908 participants a rapporté que la pratique régulière de l'EX réduisait de 12 % le risque de développer une dépression (Harvey *et al*, 2018). De plus, l'EX produit des effets bénéfiques notables sur divers troubles anxieux diagnostiqués selon le manuel diagnostique et statistique des troubles mentaux (DSM-V), ainsi que sur l'anxiété associée à des pathologies chroniques et l'anxiété « non pathologique » (Conn, 2010; Herring *et al*, 2010; Jayakody *et al*, 2014; Stubbs *et al*, 2017).

Cependant, dans certains cas, comme l'épilepsie et les tumeurs cérébrales, l'EX est rarement recommandé aux patients par craintes d'effets indésirables. En effet, plusieurs facteurs liés à l'EX, tels que la fatigue, le stress, l'hyperventilation et les interactions avec les médicaments antiépileptiques, peuvent déclencher des crises épileptiques, des saignements ou des chutes (Cordova, 1993; Pimentel *et al*, 2015). De plus, il convient de noter que paradoxalement, l'EX peut être efficace pour lutter contre la dépendance à des substances addictives, mais il peut également induire une addiction à l'effort, connue sous le nom de « bigorexie » en français (Lynch *et al*, 2013; Weinstein & Weinstein, 2014). La bigorexie est souvent associée à des troubles de l'alimentation et de l'image corporelle.

Enfin, il est important de remarquer que l'impact de l'EX sur certaines maladies reste actuellement controversé et nécessite des recherches approfondies, comme c'est le cas de la maladie de Huntington (MH). Par exemple, dans les modèles animaux de la MH, certaines études ont montré que l'EX pouvait retarder l'apparition des déficits moteurs, améliorer la cognition et restaurer la capacité respiratoire mitochondriale dans le striatum (Harrison *et al*, 2013; Herbst & Holloway, 2015; Kim *et al*, 2015; Caldwell *et al*, 2020). Cependant, d'autres études ont rapporté que l'EX pouvait induire une aggravation du phénotype et n'était pas suffisant pour restaurer la neurogenèse hippocampique et diminuer la densité des agrégats protéiques (Kohl *et al*, 2007; van Dellen *et al*, 2008; Potter *et al*, 2010). Ces résultats mettent

en évidence l'importance de mener des études approfondies sur les effets de l'EX dans l'ensemble des troubles du SNC.

1.2 Influence de l'EX sur le comportement

1.2.1 Effet sur la fonction cognitive

Une analyse globale réalisée dans le cadre du comité 2019 « *Health and Human Services Physical Activity Guidelines for Americans* » a scruté les résultats de 76 méta-analyses se penchant sur l'impact de l'EX sur la cognition [Encadré 1] (Erickson *et al*, 2019). Cette investigation a démontré que l'EX exerce un effet positif sur la cognition, bien que le niveau de preuve soit qualifié de « modéré » en raison du manque d'études pour certaines tranches d'âge, notamment la petite enfance (< 6 ans) et l'âge adulte (18 à 50 ans). Les preuves les plus substantielles en faveur de l'effet bénéfique de l'EX sur les performances cognitives ont été observées chez les préadolescents de 6 à 13 ans, chez les individus de plus de 50 ans, ainsi que chez les personnes de tous âges souffrant de troubles neurologiques ou psychiatriques. Le rapport indique également que les domaines cognitifs les plus sensibles à l'EX sont l'attention et les fonctions exécutives, tandis que d'autres études ont également rapporté des effets positifs dans les domaines de l'apprentissage et de la mémoire.

ENCADRÉ 1 : Qu'est-ce que la cognition ?

Globalement, la cognition est définie comme l'ensemble des processus par lesquels l'information entrante est acquise, stockée, transformée, récupérée puis utilisée pour guider la sortie comportementale. Sur le plan clinique, la cognition fait référence à de nombreux domaines de fonctionnement tels que l'apprentissage et la mémoire, les capacités d'attention, les fonctions exécutives, la cognition sociale et le langage. L'attention englobe divers processus visant à optimiser la détection, la discrimination et le traitement des stimuli, se déclinant en trois formes : l'attention sélective (choisir certaines infos), l'attention soutenue (détecter des changements sur le long terme) et l'attention divisée (traiter plusieurs infos simultanément). Les fonctions exécutives regroupent les processus nécessaires pour accomplir des actions appropriées et éviter des actions inappropriées dans le but d'atteindre un objectif spécifique. Elles comprennent au moins trois composantes : l'inhibition (maîtrise de soi et contrôle des interférences), la mémoire de travail (stockage et manipulation d'informations pour la prise de décision) et la flexibilité cognitive (adaptation aux changements environnementaux). La mémoire est un processus complexe qui implique l'encodage, le stockage et la récupération de l'information. Dans la taxonomie traditionnelle des systèmes mnésiques, on distingue généralement la mémoire à court terme et la mémoire à long terme, qui diffèrent par leur durée et leur capacité.

La tâche de Stroop est l'un des tests le plus souvent utilisé pour évaluer la fonction exécutive en réponse à l'EX. Ce test implique la lecture à haute voix de noms de couleurs écrits dans une encre congruente (par exemple, « rouge » écrit en encre rouge) ou incongruente (par exemple, « rouge » écrit en encre bleue) sans faire d'erreurs (Stroop, 1935). Le conflit induit par cette tâche active les lobes frontaux du cerveau et mesure la capacité d'inhibition des individus (Leung *et al*, 2000). Une étude a rapporté que l'EX aigu réalisé sur

ergocycle (60 min, 85 % FC_{max}) améliore temporairement les performances à la tâche de Stroop, avec des effets persistant jusqu'à 2 h après l'effort (Basso *et al*, 2015). En outre, il semble que l'EX aigu intermittent à haute intensité (HIIT, high-intensity interval training) entraîne des améliorations plus importantes que l'EX aérobie continu ou l'EX en résistance (Figure 1) (Coetsee & Terblanche, 2017; Ballester-Ferrer *et al*, 2022a). De façon intéressante, il a été observé que l'EX induisait une meilleure oxygénation cérébrale pendant la réalisation de la tâche de Stroop, mesurée par spectroscopie dans le proche infrarouge (NIRS, near-infrared spectroscopy), ainsi qu'une augmentation de l'amplitude de la P300, un indice neuro-électrique du traitement de l'information, évalué par électroencéphalographie (EEG) (Yanagisawa *et al*, 2010; Endo *et al*, 2013; Chu *et al*, 2017; Hsieh *et al*, 2018). Enfin, l'EX chronique conduit également à des améliorations dans la tâche de Stroop (Predovan *et al*, 2012).

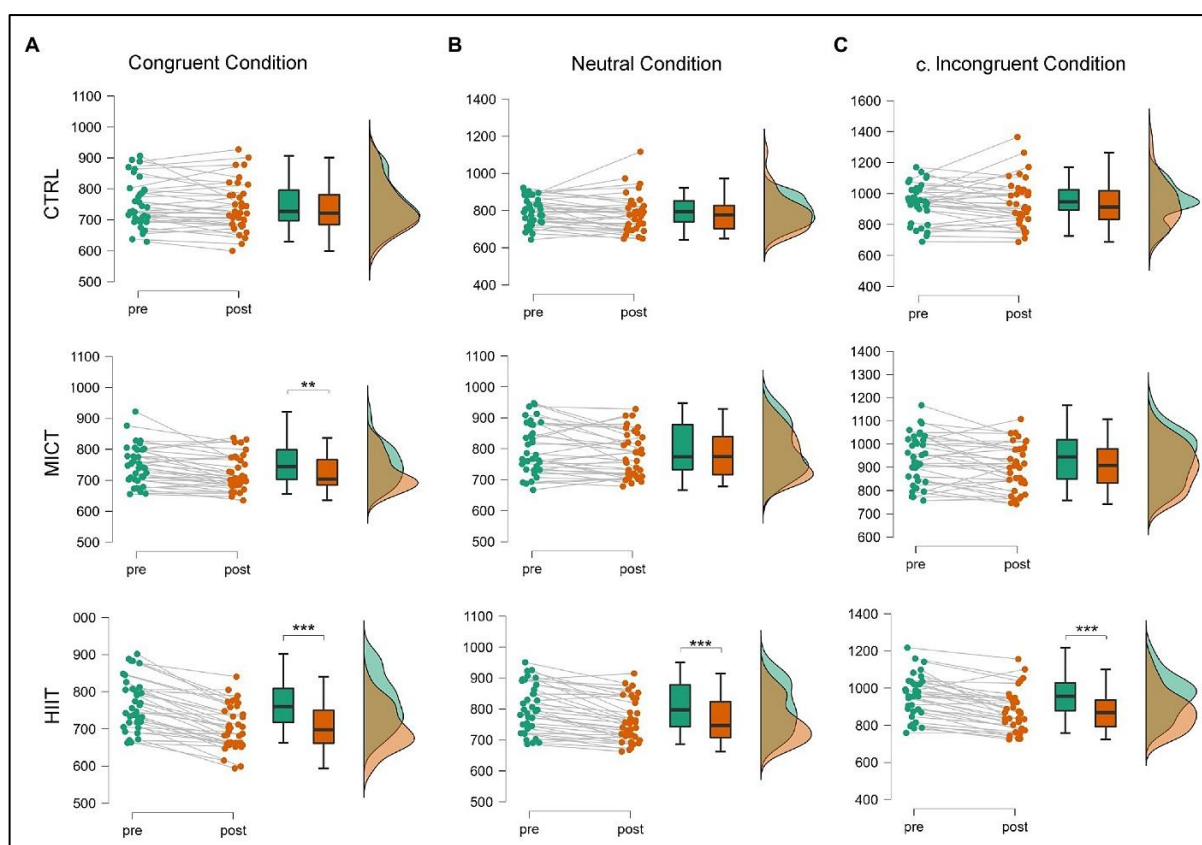


Figure 1 : Effets de l'EX aigu sur la fonction exécutive évaluée par la tâche de Stroop

La tâche de Stroop a été réalisée dans des conditions congruentes (nommer la couleur du mot inscrit dans l'encre correspondante), neutres (nommer la couleur des XXXX) et incongruente (nommer la couleur du mot inscrit dans une encre différente). Les participants ont effectué la tâche de Stroop avant (pre) et après (post) un EX continu (MICT, Moderate Intensity Continuous Training, 20 min à 60 % de la vitesse maximale aérobie), un EX de type intermittent (HIIT, High Intensity Interval Training, 4 séries de 2 min à 95 % de la VMA, séparées par 3 min de repos) ou une situation contrôlée (CTRL, visionnage d'une vidéo). **a** L'EX de type MICT et HIIT a amélioré la performance dans la condition congruente mesurée par le temps de réaction. **b,c** Seul l'EX de type HIIT a permis d'améliorer la performance dans la condition neutre et incongruente. D'après Ballester-Ferrer *et al.* (2022). **Veillez noter que la tâche de Stroop a été utilisée durant ma thèse pour évaluer les effets aigus de l'EMS sur la fonction exécutive chez l'Homme.**

En ce qui concerne la mémoire, il existe une abondante littérature chez les rongeurs traitant de l'impact de l'EX sur les fonctions mnésiques dépendantes de l'hippocampe, notamment la mémoire spatiale (Voss *et al*, 2019). En effet, plusieurs études chez les rongeurs ont montré des améliorations des performances dans diverses tâches comportementales, telles que la piscine de Morris, le labyrinthe de Barnes, le labyrinthe en Y et le labyrinthe à bras radial (Anderson *et al*, 2000; Praag *et al*, 2005; Van der Borght *et al*, 2007; Lin *et al*, 2015a). Ces tâches évaluent une forme de mémoire spatiale nommée « wayfinding », correspondant à la capacité à se repérer dans un environnement en utilisant des repères pour construire une carte mentale et naviguer efficacement (Voss *et al*, 2013b). Chez l'Homme, une étude a rapporté une association positive entre la condition physique et la performance dans une tâche virtuelle de la piscine de Morris, et, ces résultats ont été corroborés par une étude d'intervention de 12 semaines d'EX chez des adolescents mais pas chez des jeunes adultes (Herting & Nagel, 2012; Ben-Zeev *et al*, 2020a, 2020b). Une autre étude utilisant la figure complexe de Rey comme un outil d'évaluation de la mémoire spatiale ont rapporté des effets positifs de l'EX sur le rappel immédiat et le rappel retardé (30 min) chez des personnes âgées (Brown *et al*, 2012).

Au-delà de l'impact sur la mémoire spatiale, de nombreuses études menées sur des rongeurs ont montré que l'EX améliore la mémoire épisodique, évaluée par le test de reconnaissance d'objet (NOR, novel object recognition). Ce test consiste à placer l'animal dans une enceinte contenant deux objets identiques, puis, après une phase de familiarisation, l'un des objets est remplacé par un nouvel objet (Leger *et al*, 2013). Les rongeurs ont naturellement tendance à explorer davantage les objets nouveaux par rapport à ceux qu'ils ont déjà vus. Par conséquent, le temps consacré à explorer le nouvel objet est considéré comme un indicateur de la mémoire épisodique. Des études ont montré que l'EX augmente significativement le temps que les animaux passent à explorer le nouvel objet dans des situations délétères provoquées par une ischémie cérébrale, une injection de 6-hydroxydopamine (6-OHDA) pour mimer la MP, ou une amnésie induite par la scopolamine (Pan *et al*, 2017; Hsueh *et al*, 2018; Cefis *et al*, 2019). Chez l'Homme, une méta-analyse récente a fourni des preuves solides que l'EX améliore la capacité de rappel d'une histoire ou d'une liste de mots standardisée, démontrant ainsi un effet positif sur la mémoire épisodique (Aghjayan *et al*, 2022). De manière significative, il a été observé que la réalisation d'une séance d'EX aérobie avant le processus d'encodage de la mémoire permet d'améliorer le rappel des informations, tandis que l'EX pratiqué pendant ou après l'apprentissage n'a pas montré d'effets significatifs, soulignant ainsi l'importance du timing de l'EX pour induire des effets pro-cognitifs (**Figure 2**) (Labban & Etnier, 2011; Frith *et al*, 2017; Haynes *et al*, 2019).

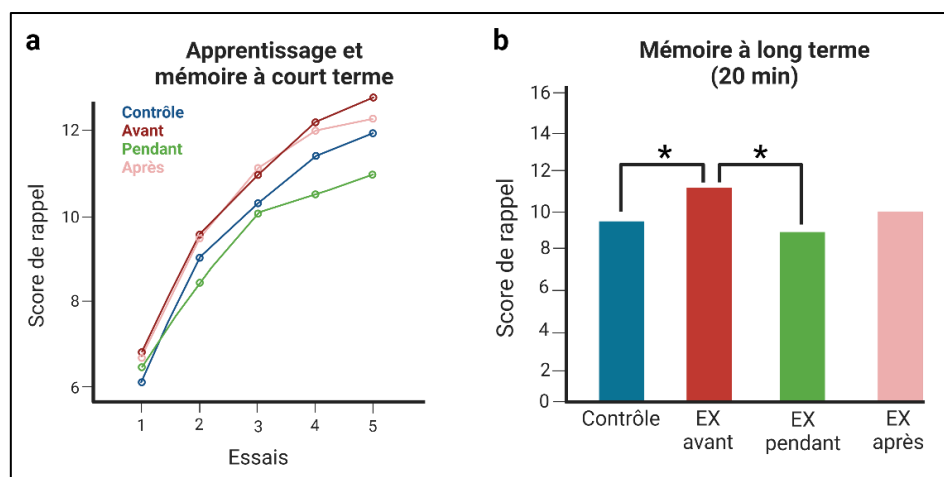


Figure 2 : Influence de l'EX aigu sur la mémoire épisodique évaluée par une liste de mots

L'apprentissage ainsi que les mémoires à court et long terme ont été évaluées à l'aide du test auditivo-verbal de Rey (RAVLT, Rey Auditory Verbal Learning Test). Ce test consiste à écouter un enregistrement d'une liste de 15 mots cinq fois de suite et à rappeler ces mots immédiatement (Essais 1 à 5). La performance à l'essai 1 est considérée comme indicative de la mémoire à court terme, tandis que le changement de performance entre les essais 1 à 5 fournit une mesure de l'apprentissage. **a** Les individus ont pratiqué un EX, avant, pendant ou après le test RAVLT. Aucune différence significative n'a été observée entre les groupes, indiquant qu'il n'y a pas eu d'effet des interventions d'EX sur l'apprentissage et la mémoire à court terme. **b** Les individus ont réalisé un 6^{ème} essai 20 minutes après la fin du protocole d'EX comme un indicateur de la mémoire à long terme. Seul le groupe « avant » a montré une amélioration significative par rapport au groupe contrôle. Reproduit avec BioRender d'après Frith et al. (2017). **Veillez noter qu'une version modifiée du test RAVLT a été utilisée pendant ma thèse pour évaluer les effets aigus de l'EMS sur la mémoire épisodique chez l'Homme.**

1.2.2 Effet sur le bien-être psychologique

Une étude réalisée sur 1,2 millions de personnes âgées de plus de 18 ans aux États-Unis a rapporté que la pratique d'un EX (cyclisme, gymnastique, sports d'équipe) était associée à une réduction de 11,8 à 22,3 % du risque de mal-être psychologique auto-déclaré (Chekroud et al, 2018). Les effets de l'EX sur le bien-être sont généralement associés à une meilleure humeur évaluée par des questionnaires tels que le « Profiles Of Mood States (POMS) » et le « Positive And Negative Affect Schedule (PANAS) ». Les recherches ont montré que l'EX apaise les humeurs négatives et favorise les humeurs positives, en particulier en réduisant la tension psychologique, la colère et la confusion (Yeung, 1996; Kennedy & Newton, 1997; Arent et al, 2000; Reed & Ones, 2006; Basso & Suzuki, 2017). Ces effets se manifestent immédiatement après l'EX et persistent jusqu'à 24 h après l'effort. D'une manière remarquable, une étude clinique a rapporté que l'EX était plus efficace que la relaxation, la thérapie cognitive et les techniques de gestion du stress pour améliorer l'humeur (Thayer et al, 1994). En plus d'affecter positivement l'humeur, les EX aigus et chroniques semblent également réduire le stress mesuré de façon autodéclarée (Sinyor et al, 1986; Norris et al, 1990; Vaessen et al, 2021). De manière importante, des données indiquent que l'EX induit une meilleure régulation des émotions, évaluée de manière autodéclarée, ce qui peut aider à mieux gérer les événements stressants de la vie (Bernstein & McNally, 2017; Edwards et al, 2017; Zhang et al, 2019c).

L'EX influence également positivement le bien-être grâce à son impact sur le sommeil. En effet, plusieurs méta-analyses ont rapporté des effets positifs de l'EX sur la qualité du sommeil, la réduction des apnées du sommeil et la diminution des insomnies (Iftikhar *et al*, 2014; Dolezal *et al*, 2017; Banno *et al*, 2018; Lowe *et al*, 2019; Wang & Boros, 2021). De plus, l'EX peut aider à atténuer les troubles du sommeil associés à diverses affections telles que la polyarthrite rhumatoïde et le cancer (Orsey *et al*, 2013; Durcan *et al*, 2014). Il est particulièrement intrigant de noter que le sommeil est désormais reconnu comme une composante cruciale de la fonction cognitive et un facteur de risque dans le développement de maladies neurodégénératives (Abel *et al*, 2013; Westwood *et al*, 2017). Par conséquent, il est plausible que l'amélioration de la qualité du sommeil grâce à l'EX contribue en partie à expliquer les effets positifs de l'EX sur la fonction cérébrale. À titre d'exemple, une étude a montré que les bénéfices de l'EX sur la fonction exécutive pouvaient être statistiquement expliqués par une meilleure qualité de sommeil induite par l'EX (Wilckens *et al*, 2018).

Enfin, l'EX semble renforcer le concept d'estime de soi et d'auto-efficacité (Liu *et al*, 2015; Tikac *et al*, 2022). Cet effet semble s'expliquer par une amélioration de la forme physique perçue par les individus et par une meilleure image corporelle (Zamani Sani *et al*, 2016). En effet, l'EX régulier est l'une des stratégies comportementales la plus efficace pour réguler la composition corporelle et l'indice de masse corporelle (IMC), tous deux directement liés à un sentiment de « satisfaction corporelle » permettant d'améliorer le bien-être psychologique (Fernández-Bustos *et al*, 2019).

1.3 Plasticité cérébrale induite par l'EX

L'ensemble des bénéfices induits par l'EX, mentionnés précédemment, sont liés à une série de changements neuroplastiques qui ont été observés à la fois dans le cerveau humain et chez les rongeurs. Étant donné l'inaccessibilité du cerveau humain, les neurosciences humaines se sont principalement concentrées sur la mise en évidence de changements macroscopiques en utilisant des techniques de neuro-imagerie. En revanche, les neurosciences animales ont grandement contribué à notre compréhension des mécanismes cellulaires et moléculaires conduisant à ces effets. Dans cette section, nous présenterons un aperçu des modifications neuroplastiques observées chez l'Homme et les animaux en réponse à l'EX.

1.3.1 Étude humaine

Structure cérébrale. De nombreuses études ont examiné l'impact de l'EX sur le volume de substance grise évalué grâce à l'imagerie par résonance magnétique (IRM). Une méta-analyse réalisée en 2017, englobant 53 études, a révélé que plus de 80 % de la substance grise du cerveau humain était sensible à l'EX et à la condition physique (Batouli & Saba, 2017). Plus précisément, les preuves les plus solides concernent l'hippocampe, montrant que l'EX chronique augmente le volume de l'hippocampe chez les jeunes et prévient l'atrophie hippocampique liée à l'âge (**Figure 3**) (Chaddock *et al*, 2010; Erickson *et al*, 2011; Frodl *et al*, 2020). Bien que la plupart des études d'intervention aient porté sur des protocoles d'EX chronique de longue durée (plus de 3 mois), une étude a montré qu'un protocole de courte durée (6 semaines) pouvait également augmenter le volume de l'hippocampe chez des adultes d'âge moyen (Thomas *et al*, 2016). De manière intéressante, 6 semaines après l'arrêt du protocole d'EX, le volume de l'hippocampe est revenu à ses niveaux initiaux, démontrant ainsi la réversibilité de l'effet de l'EX. D'autres travaux indiquent également que l'EX influence positivement la structure de la substance blanche (Voss *et al*, 2013a; Sexton *et al*, 2016).

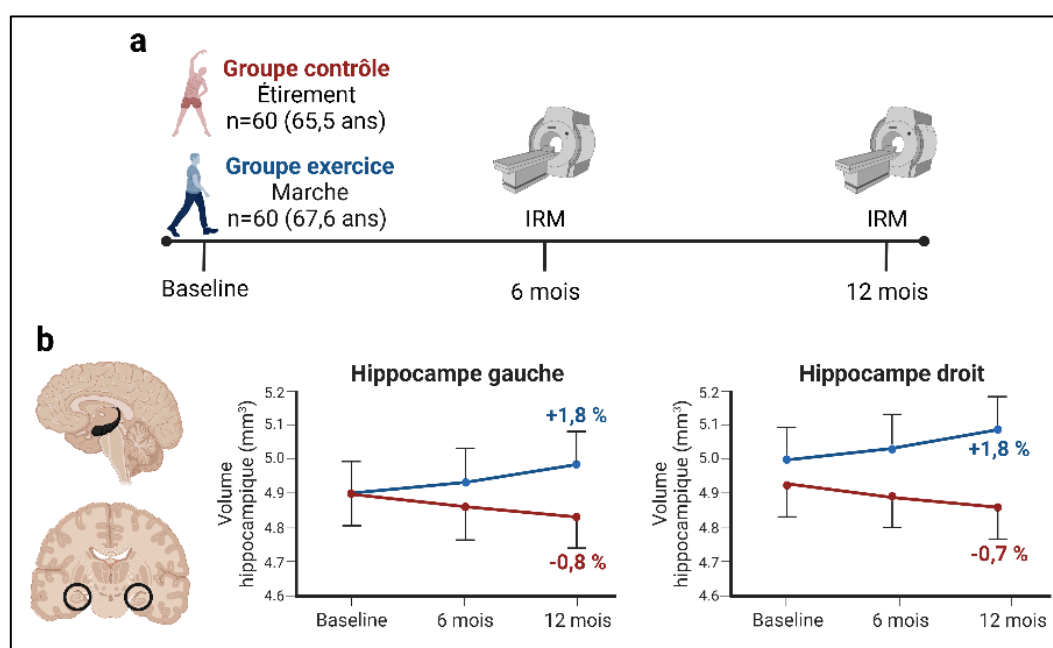


Figure 3 : Effets de l'EX régulier sur le volume hippocampique

a Dans cette étude d'un an, des personnes âgées ont été réparties en deux groupes : un groupe témoin pratiquant le stretching et un groupe EX suivant un programme de marche progressive. Deux IRM ont été effectuées à 6 et 12 mois. **b** L'objectif était d'analyser le volume de l'hippocampe, situé dans le lobe temporal médian. Les résultats montrent une augmentation significative du volume chez le groupe EX, tandis que le groupe témoin a vu son volume diminuer. Ces observations indiquent que l'EX régulier est efficace pour contrer la perte de volume hippocampique avec l'âge. Reproduit avec BioRender d'après Erickson *et al*. (2011).

Excitabilité corticale. En plus d'affecter positivement la structure du cerveau humain, l'EX a également un impact positif sur l'excitabilité du cortex moteur primaire humain (M1),

mesurée par stimulation magnétique transcrânienne (TMS). Cette augmentation de l'excitabilité peut durer jusqu'à 2 h après un EX aigu et est associée à une amélioration des performances motrices (**Figure 4**) (Singh & Staines, 2015; Ostadan *et al*, 2016; Robertson & Takacs, 2017; Kuo *et al*, 2023). De plus, l'EX modifie les circuits inhibiteurs et facilitateurs de M1, en réduisant l'inhibition intracorticale dépendante de l'acide gamma-aminobutyrique (GABA) et en améliorant la facilitation intracorticale dépendant du glutamate (Smith *et al*, 2014; Mooney *et al*, 2016; Lulic *et al*, 2017; Yamazaki *et al*, 2019). Il diminue également l'inhibition interhémisphérique de M1, reflétant l'excitabilité des voies transcaleses entre les cortex moteurs bilatéraux (Neva *et al*, 2017). De plus, certaines études ont utilisé la stimulation associative appariée (PAS) pour étudier l'impact de l'EX sur les mécanismes de potentialisation à long terme (LTP) et de dépression à long terme (LTD) dans le cortex moteur humain. En effet, la PAS consiste à synchroniser une stimulation transcrânienne de type TMS avec une stimulation électrique périphérique appliquée sur un nerf, généralement le nerf médian (Stefan *et al*, 2000, 2002). Selon la synchronisation temporelle de ces deux stimuli, une LTP ou une LTD peut être induite. Bien que les études dans ce domaine soient rares, elles rapportent une amélioration des réponses au protocole PAS lorsque celui-ci est précédé d'une séance d'EX (Mang *et al*, 2014; Singh *et al*, 2014).

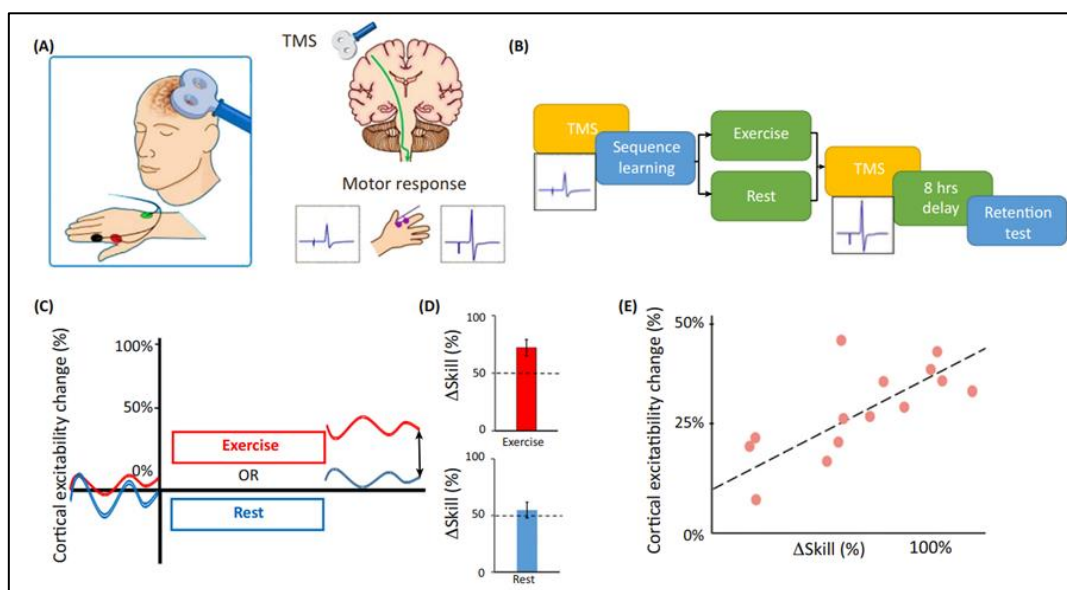


Figure 4 : Effet de l'EX aigu sur l'excitabilité du cortex moteur primaire et la mémoire procédurale

(A) L'excitabilité corticale peut être mesurée à l'aide de la TMS appliquée sur M1, induisant un courant dans le cortex moteur qui à son tour conduit à la contraction des muscles de la main controlatérale. Cette contraction est mesurée par électromyographie (EMG) en tant que potentiel moteur évoqué (MEP), fournissant une mesure de l'excitabilité corticale. (B) L'excitabilité corticale a été mesurée avant une tâche d'apprentissage de séquence motrice. Les participants ont ensuite été randomisés dans un groupe témoin (repos) ou un groupe EX. L'excitabilité corticale a été remesurée immédiatement après ces conditions. Les participants ont été retestés sur la tâche d'apprentissage de séquence motrice 8 h plus tard pour mesurer la mémoire procédurale. (C) Alors que l'amplitude des MEP a légèrement changé après la condition contrôlée, elle a considérablement augmenté après l'exercice par rapport aux valeurs basales. (D) La rétention de la séquence motrice a été améliorée après l'exercice mais pas après la situation contrôlée. (E) L'ampleur des améliorations des habiletés motrices a été positivement corrélée avec les changements de l'excitabilité corticale. D'après Robertson et Takacs. (2017).

Vascularisation cérébrale. De nombreux outils ont été utilisés pour étudier l'impact de l'EX sur la vascularisation cérébrale. Par exemple, des études utilisant l'échographie Doppler transcrânien (TCD), qui mesure le flux sanguin cérébral en détectant les variations de fréquence du son réfléchi par les globules rouges en mouvement, ont montré que l'EX régulier augmente le flux sanguin au repos dans l'artère cérébrale moyenne (ACM) et améliore la réactivité cérébrovasculaire de l'ACM (**Figure 5**) (Ainslie *et al*, 2008; Vicente-Campos *et al*, 2012; Bailey *et al*, 2013; Barnes *et al*, 2013). Une autre méthode, la perfusion par marquage de spin artériel (ASL) qui utilise l'eau du sang comme traceur pour mesurer la perfusion sanguine cérébrale, montre que l'EX augmente la perfusion sanguine dans le cortex et l'hippocampe (Espeland *et al*, 2018; Kleinloog *et al*, 2019). De plus, l'angiographie par résonance magnétique (ARM) a révélé qu'une meilleure condition physique chez les personnes âgées est associée à une moins grande tortuosité des vaisseaux cérébraux (Bullitt *et al*, 2009). Enfin, il est important de noter que l'EX contribue à réduire les facteurs de risque vasculaire tels que la dyslipidémie et l'hypertension artérielle, améliorant ainsi la santé cérébrovasculaire et la cognition (Ma *et al*, 2017; Trigiani & Hamel, 2017).

Dans l'ensemble, ces données indiquent que l'EX améliore la structure du cerveau humain, module l'excitabilité de certaines populations neuronales et favorise une meilleure vascularisation cérébrale.

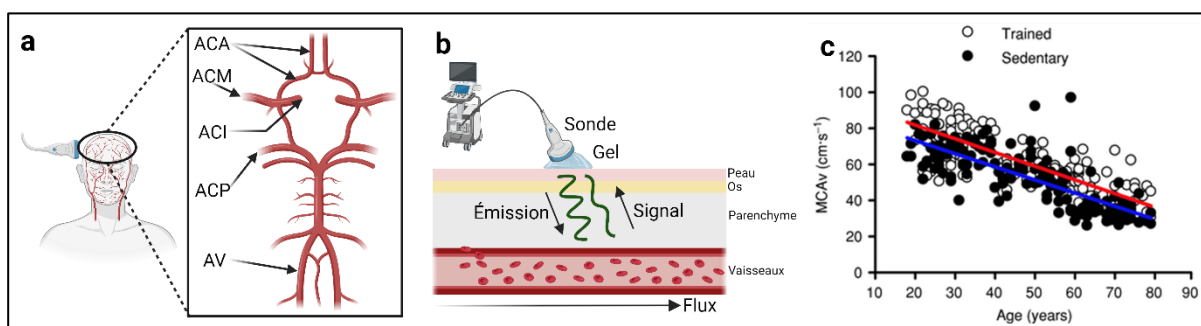


Figure 5 : Effet de l'EX chronique sur le flux sanguin cérébral de repos

a Une sonde Doppler peut être placée au niveau du lobe temporal afin de mesurer la vitesse du flux sanguin dans l'artère cérébrale moyenne (ACM). Un zoom a été réalisé sur le polygone de Willis, un réseau anastomotique situé à la base du cerveau qui relie les principales artères cérébrales. L'artère carotide interne (ACI) se divise en deux branches principales : l'ACM et l'artère cérébrale antérieure (ACA). L'artère vertébrale (AV) donne naissance au tronc basilaire et se divise ensuite en deux artères cérébrales postérieures (ACP). **b** La sonde Doppler placée au niveau de la peau va émettre des ultrasons en direction du vaisseau sanguin que l'on souhaite évaluer. Lorsque ces ondes ultrasonores rencontrent des globules rouges en mouvement, une partie de l'énergie des ondes est réfléchi et renvoyée vers la sonde. Le principe de base pour mesurer la vitesse du flux sanguin avec l'échographie Doppler repose sur le « décalage Doppler », c'est-à-dire le calcul de la fréquence des ondes réfléchies par rapport à la fréquence d'émission des ondes par la sonde. Plus la vitesse du flux sanguin est élevée, plus le décalage Doppler sera important. En utilisant des formules mathématiques spécifiques, l'appareil d'échographie Doppler convertit le décalage Doppler en une mesure de la vitesse du flux sanguin en centimètres par seconde (cm/s). **c** La vitesse du flux sanguin de l'ACM (MCAV, middle cerebral artery velocity) a été mesurée par échographie Doppler chez des individus entraînés (ronds blanc, trait rouge, VO_{2max} moyenne de 52,4 mL/min/kg) et des individus sédentaires (ronds noir, trait bleu, VO_{2max} moyenne de 34,9 mL/min/kg). Les individus entraînés présentent des valeurs de MCAV plus importantes indépendamment de l'âge. D'après Barnes *et al.* (2013). **Veillez noter que la technologie Doppler a été utilisée durant la thèse chez le rat afin d'évaluer les changements de perfusion en réponse à la stimulation d'une large masse musculaire.**

1.3.2 Étude animale

Pour mieux comprendre comment l'EX affecte le cerveau au niveau cellulaire et moléculaire, des modèles d'EX ont été développés chez les rongeurs (Poole *et al*, 2020; Seo *et al*, 2014). Ces modèles peuvent être classés en deux catégories : les modèles d'EX volontaire, où les animaux ont un accès libre à un équipement d'EX tel qu'une roue d'entraînement, et les modèles d'EX forcé, où des stimuli aversifs sont utilisés pour inciter les animaux à s'engager dans l'EX, comme la course sur tapis roulant ou la natation. Les modèles volontaires se déroulent dans un environnement non stressant mais ne permettent pas de contrôler les paramètres de l'EX. À l'inverse, les modèles forcés offrent un meilleur contrôle des paramètres d'EX, mais peuvent être stressants en raison des stimuli aversifs (comme les chocs électriques sur le tapis roulant ou la peur de la noyade) et ne respectent pas le comportement naturel des rongeurs (jour/nuit). Globalement, ces modèles animaux ont permis de montrer que l'EX stimule la neurogenèse adulte, améliore la fonction synaptique, induit une plasticité gliale et favorise l'angiogenèse cérébrale [Encadré 2] (Vivar *et al*, 2013; Voss *et al*, 2013b).

ENCADRÉ 2 : Qu'est-ce que la plasticité cérébrale ?

La plasticité cérébrale est un terme fréquemment employé en neurosciences. Elle peut être définie comme la capacité du système nerveux à modifier sa structure, ses fonctions et ses connexions en réponse à des stimuli intrinsèques et extrinsèques. Les neurones et plus précisément les synapses sont les plus étudiés dans le domaine de la plasticité cérébrale. Il y a trois aspects de la modulation de la fonction synaptique. Le premier aspect concerne une modification de la transmission synaptique basale, résultant de l'augmentation de la libération de neurotransmetteurs dans la fente synaptique sans modulation spécifique. Le deuxième aspect englobe la plasticité synaptique, où les synapses modifient leur force et leur efficacité en réponse à une augmentation de l'activité neuronale. Parmi les types de plasticité synaptique, la LTP renforce la transmission synaptique, tandis que la LTD la diminue. Le troisième aspect s'attarde sur la croissance synaptique, appelée synaptogenèse, qui implique la formation de nouveaux terminaux et/ou de nouvelles épines dendritiques. Un autre mécanisme important concerne la neurogenèse, la création de nouveaux neurones à l'âge adulte. Ce processus complexe implique la prolifération des cellules souches et progénitrices neurales (NSPCs), leur différenciation en neuroblastes, leur migration, maturation, survie, et intégration dans les circuits neuronaux existants. Les NSPCs résident dans des niches neurogéniques, situées dans le gyrus denté de l'hippocampe et dans la zone sous-ventriculaire (SVZ). Il est important de noter que les neurones ne représentent que la moitié de la population cellulaire dans le cerveau. Les cellules gliales, telles que les astrocytes, la microglie et les oligodendrocytes, subissent également des changements plastiques en réponse à des perturbations internes et environnementales. Enfin, le cerveau est capable d'angiogenèse, un processus de croissance de nouveaux vaisseaux à partir du système vasculaire préexistant. Ce processus implique la prolifération des cellules endothéliales, qui, sous l'effet de signaux pro-angiogéniques, développent des filopodes capables de s'anastomoser avec les cellules endothéliales voisines, conduisant ainsi à la formation de nouvelles boucles vasculaires. L'ensemble de ces mécanismes de plasticité permettent au cerveau adulte de s'adapter aux changements environnementaux, d'apprendre, de se réparer après des lésions ou des maladies et de ralentir le vieillissement.

Neurogenèse adulte. La preuve que l'EX stimule la neurogenèse dans l'hippocampe a été démontrée pour la première fois par Van Praag et ses collègues en 1999 chez la souris (van Praag *et al*, 1999b). Depuis lors, de nombreuses études ont confirmé cette observation, y compris chez des modèles animaux de maladies neurologiques et psychiatriques, ainsi que chez des rongeurs âgés, à l'exception des souris très âgées (> 24 mois) (Praag *et al*, 2005;

Creer *et al*, 2010; Choi *et al*, 2018; Sun *et al*, 2020). Cependant, les preuves concernant l'impact de l'EX sur la neurogenèse de la zone sous-ventriculaire (SVZ) sont limitées et contradictoires (Brown *et al*, 2003; Chae *et al*, 2014; Lee *et al*, 2016; Nicolis di Robilant *et al*, 2019; Blackmore *et al*, 2012).

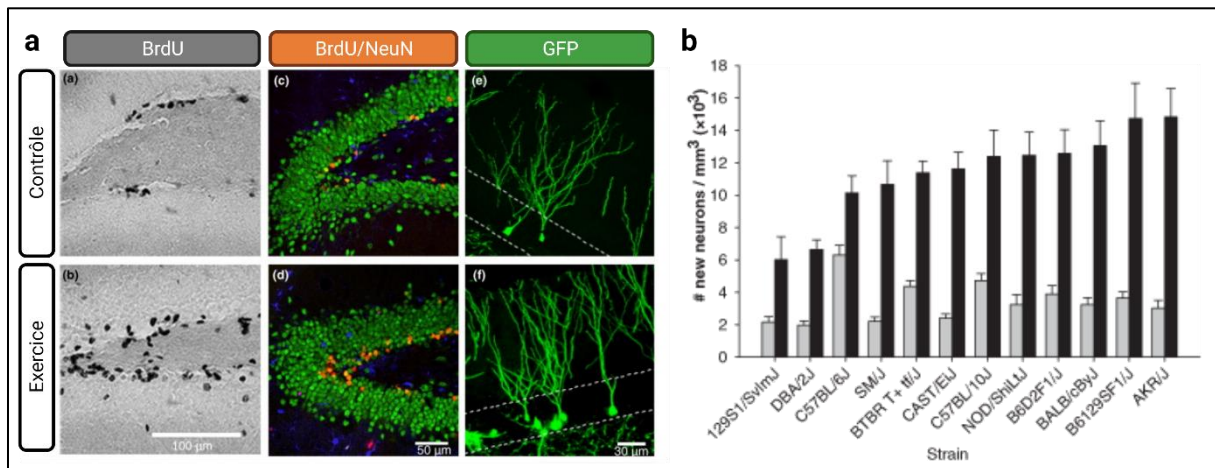


Figure 6 : Neurogenèse hippocampique induite par l'EX

a Après injection intrapéritonéale de BrdU (bromodéoxyuridine), un agent intercalant de l'ADN, la prolifération cellulaire peut être évaluée en quantifiant le nombre de cellules positives au BrdU. Le co-marquage des cellules positives au BrdU et des cellules positives à NeuN (neuronal nuclei, marqueur des neurones matures) permet de quantifier les neurones nouvellement formés. Enfin, l'injection d'un rétrovirus couplé à la protéine verte fluorescente (GFP, green fluorescence protein) qui s'intègre uniquement dans les cellules en division permet également de quantifier le nombre de nouveaux neurones. Les rongeurs ayant couru présentent un nombre plus élevé de cellules BrdU+. Également, le triple marquage du BrdU (rouge) avec le NeuN (vert, neurone) et le S100 β (bleu, glie) permet de montrer une plus grande proportion de neurones nouveaux nés (BrdU+ / NeuN+, orange) chez les coureurs. Enfin, l'EX augmente le nombre de neurones GFP+. D'après Lazarov *et al.* (2010). **b** Évaluation du nombre de nouveaux neurones formés après 43 jours d'EX volontaire chez 12 souches de souris consanguines. D'après Clark *et al.* (2011).

Il est intéressant de noter que plusieurs facteurs influencent la réponse pro-neurogénique à l'EX chez les rongeurs, notamment la souche (**Figure 6**), les conditions d'hébergement, l'intensité de l'EX et la température de l'environnement. Par exemple, différentes souches de souris montrent des augmentations variables de la neurogenèse en réponse à l'EX, soulignant l'importance du patrimoine génétique (Clark *et al*, 2011b; Merritt & Rhodes, 2015). Les conditions sociales jouent également un rôle puisque l'isolement social peut annuler les effets positifs de l'EX sur la neurogenèse hippocampique (Kozareva *et al*, 2018). De plus, il semble que seules les intensités d'EX forcées faibles à modérées stimulent la neurogenèse, tandis qu'une intensité élevée peut avoir un impact négatif (Kim *et al*, 2003; Inoue *et al*, 2015; Lou *et al*, 2008). En outre, l'EX réalisé dans un environnement froid (4,5 °C) ou chaud (37,5 °C) semble stimuler davantage la prolifération cellulaire par rapport à une température ambiante (20 °C) (Maynard *et al*, 2016). D'un point de vue cinétique, la prolifération cellulaire atteint son pic après seulement 3 jours d'EX volontaire, continue d'augmenter après 10 jours, puis revient à la normale après environ 30 jours d'EX volontaire (Kronenberg *et al*, 2006; Van der Borght *et al*, 2009; Brandt *et al*, 2010). Cependant, des

augmentations significatives de la différenciation neuronale ne sont observées qu'après 10 jours d'EX (Kronenberg *et al*, 2006). Environ 2 semaines après l'arrêt de l'EX, les niveaux de neurogenèse reviennent à des valeurs basales, puis diminuent progressivement en dessous de ces valeurs, témoignant de l'impact transitoire et réversible de l'EX sur la neurogenèse hippocampique (Nishijima *et al*, 2013, 2017).

Fonction synaptique. En plus d'influencer la formation de nouveaux neurones, l'EX peut aussi induire des changements électrophysiologiques et structurels au niveau des neurones. Par exemple, l'EX améliore les réponses de type LTP induites par une stimulation électrique à haute fréquence mesurée *ex-vivo* sur des tranches d'hippocampe ou *in vivo* sous anesthésie générale (van Praag *et al*, 1999a; Farmer *et al*, 2004; Patten *et al*, 2013; Dahlin *et al*, 2019). En revanche, il est intéressant de noter que les réponses de type LTD induites par une stimulation à basse fréquence ou par une stimulation chimique sont peu affectées par l'EX (Vasuta *et al*, 2007; Miller *et al*, 2018). De manière intéressante, il semble y avoir des différences de sensibilités à l'EX selon les subdivisions de l'hippocampe. En effet, des améliorations de la LTP dans le gyrus denté peuvent être observées à la fois dans des modèles animaux sains et déficients, tandis que de telles améliorations dans la zone CA1 ont pu être observées que dans des modèles animaux de privation de sommeil ou atteints de MA mais pas chez des animaux sains (Dao *et al*, 2013; Zagaar *et al*, 2013). En terme de cinétique, il semble qu'un protocole d'EX de 5 à 10 jours soit suffisant pour améliorer la LTP (Farmer *et al*, 2004; Vasuta *et al*, 2007). En revanche, 3 semaines après l'arrêt d'un programme d'EX, aucune facilitation de la LTP est observée, ce qui démontre l'effet transitoire de l'EX sur les propriétés électrophysiologiques des synapses (Radahmadi *et al*, 2016).

Outre les modifications électrophysiologiques observées au niveau des synapses hippocampiques, l'EX peut également stimuler la croissance dendritique dans diverses régions cérébrales. Par exemple, des analyses individuelles de neurones dans le gyrus denté ont montré que l'EX augmente la longueur totale, la densité et la complexité des épines dendritiques indépendamment de leur position dans la couche granulaire (**Figure 7**) (Eadie *et al*, 2005; Redila & Christie, 2006). Des résultats similaires ont été obtenus dans les zones hippocampiques CA1 et CA3, ainsi que dans d'autres régions que l'hippocampe, telles que l'amygdale, le cortex entorhinal et le cortex sensorimoteur (Stranahan *et al*, 2007; Lin *et al*, 2012; Chen *et al*, 2019). En accord avec l'ensemble de ces données, plusieurs études ont montré une augmentation de l'expression de plusieurs protéines impliquées dans la fonction synaptique telles que la protéine de densité post-synaptique 95 (PSD95, post synaptic density 95) impliquée dans la régulation du trafic des récepteurs AMPA lors de la LTP, la protéine associée à la croissance 43 (GAP-43, growth-associated protein 43) impliquée dans la

stabilisation des filaments d'actine lors du remodelage neuronale ou encore la synaptophysine (SYP) impliquée dans la formation des vésicules synaptiques (Tong *et al*, 2001; Brockett *et al*, 2015; Rahmati & Kazemi, 2019).

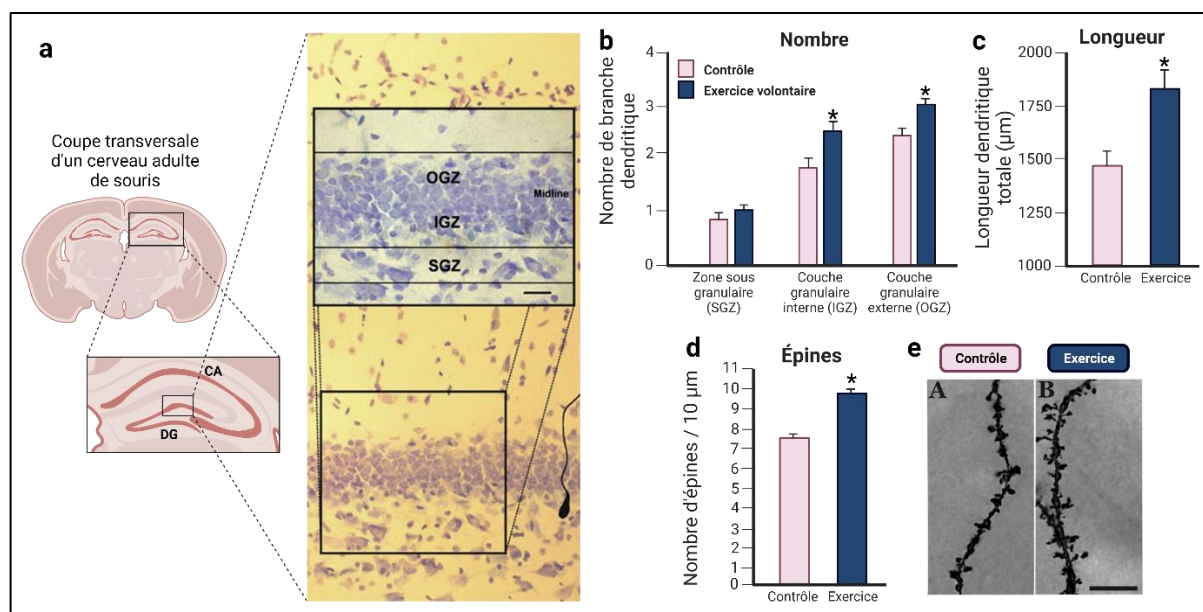


Figure 7 : Croissance dendritique hippocampique induite par l'EX
a Section transversale d'un cerveau adulte de souris avec l'hippocampe mis en évidence par un encadré noir. L'hippocampe est composé du gyrus denté (DG) et des cornes d'Ammon (CA). Le gyrus denté est encadré et un zoom est réalisé pour mettre en évidence ses caractéristiques anatomiques. Le gyrus denté se compose d'une couche granulaire comprenant des corps cellulaires de neurones granulaires et d'une couche moléculaire principalement composée d'axones provenant de la couche granulaire. La couche granulaire est elle-même encadrée sur la coupe histologique et un zoom est effectué pour mieux visualiser ses différentes subdivisions. La couche granulaire du gyrus denté peut être subdivisée en une zone sous-granulaire contenant notamment des cellules souches neurales (NSPCs) ainsi qu'une zone granulaire interne (IGZ) et externe (OGZ). **b, c, d** L'impact de deux semaines d'EX volontaire a été étudié et a révélé une augmentation significative du nombre de dendrites dans les zones IGZ et OGZ, en particulier des branches dendritiques tertiaires et quaternaires (non montré). De plus, la longueur totale des dendrites et le nombre d'épines dendritiques ont également été accrus. **e** Les photomicrographies présentent une dendrite de neurones granulaires d'animaux témoins et d'animaux exercés, obtenues après une coloration de Golgi-Cox (grossissement x100). Reproduit avec Biorender d'après Redila & Christie. (2006). Eadie *et al*. (2005).

Plasticité gliale. Bien que la recherche se soit principalement concentrée sur l'impact de l'EX sur les neurones, des preuves émergentes indiquent que les cellules gliales sont également influencées par l'EX. Au niveau des astrocytes, on observe une augmentation de la taille globale de ces cellules et des modifications de leur morphologie, incluant une arborisation plus complexe et des prolongements plus longs, en réponse à l'EX (Lundquist *et al*, 2019; Saur *et al*, 2014; Tatsumi *et al*, 2016; Belaya *et al*, 2020). De plus, après une occlusion de l'artère cérébrale moyenne (MCAO, middle cerebral artery occlusion) ou d'une occlusion des deux artères carotides communes (2VO, two vessel occlusion), l'EX favorise la polarisation des astrocytes en faveur du type A2, qui expriment des protéines anti-inflammatoires, et réduit la présence des astrocytes de type A1, qui peuvent favoriser l'inflammation et l'apoptose neuronale (Chen *et al*, 2021; Cao *et al*, 2022). En ce qui concerne la microglie, l'EX favorise une transition vers un phénotype microglial généralement considéré

comme plus favorable, souvent associé au phénotype M2, bien que la distinction classique entre les phénotypes M1/M2 soit actuellement remise en question (Kohman *et al*, 2013; Jiang *et al*, 2017; Lu *et al*, 2017; Wang *et al*, 2021; Paolicelli *et al*, 2022). Ce changement de phénotype est associé à une réduction de l'hyperactivité microgliale dans divers modèles de pathologie neurologique, entraînant ainsi une réduction des cytokines pro-inflammatoires et des marqueurs du stress oxydant (Lu *et al*, 2017; Zhang *et al*, 2019b; Xiao *et al*, 2021; Zaychik *et al*, 2021). De manière intéressante, une étude a également montré une amélioration de la capacité phagocytaire des microglies isolées du cerveau d'animaux ayant pratiqué de l'EX par rapport à ceux sédentaires (Mela *et al*, 2020). Enfin, concernant les oligodendrocytes, il semble que l'EX stimule la prolifération et la différenciation des cellules oligodendrocytaires progénitrices (OPCs) (Jiang *et al*, 2017; Zheng *et al*, 2019). De plus, l'EX augmente l'expression de protéines impliquées dans la myélinisation dépendante des oligodendrocytes, telles que la protéine basique de myéline (MBP), la protéine 2',3'-cyclic nucleotide 3'-phosphodiesterase (CNPase) et le facteur de transcription 2 des oligodendrocytes (Olig2), dans des modèles animaux d'encéphalomyélite, de dépression et de démyélinisation induite par une toxine (Kim & Sung, 2017; Jensen *et al*, 2018; Luo *et al*, 2019; Tang *et al*, 2021).

Angiogenèse cérébrale. Les cellules endothéliales cérébrales sont également affectées de manière positive par la pratique de l'EX. En effet, l'EX favorise la prolifération des cellules endothéliales cérébrales, contribuant ainsi à augmenter la densité des vaisseaux capillaires et artériolaires dans le cerveau (Ding *et al*, 2006; Lopez-Lopez *et al*, 2004; Stevenson *et al*, 2020a, 2020b). De plus, les études ont signalé une augmentation de la taille du noyau des cellules endothéliales cérébrales ainsi que du diamètre des capillaires cérébraux à la suite d'un protocole d'EX (Latimer *et al*, 2011; Zhang *et al*, 2017; Stevenson *et al*, 2020b). Bien que ces effets aient été principalement observés dans le cortex sensorimoteur, d'autres travaux ont montré une angiogenèse dans diverses régions cérébrales, notamment le striatum, le cervelet, ainsi que les zones touchées par une MCAO (Black *et al*, 1990; Isaacs *et al*, 1992; Al-Jarrah *et al*, 2010; Tang *et al*, 2018). En accord avec ces résultats, l'EX entraîne une augmentation des taux de plusieurs facteurs pro-angiogéniques et de marqueurs de la fonction endothéliale dans différentes régions cérébrales. Parmi ces facteurs, le facteur de croissance de l'endothélium vasculaire (VEGF, vascular endothelial growth factor) et l'isoforme endothéliale de l'oxyde nitrique synthase (eNOS, endothelial nitric oxide synthase) sont les plus connus (Viboolvorakul & Patumraj, 2014; Morland *et al*, 2017). La **Figure 8** page suivante résume l'ensemble des effets bénéfiques de l'EX sur la plasticité cérébrale.

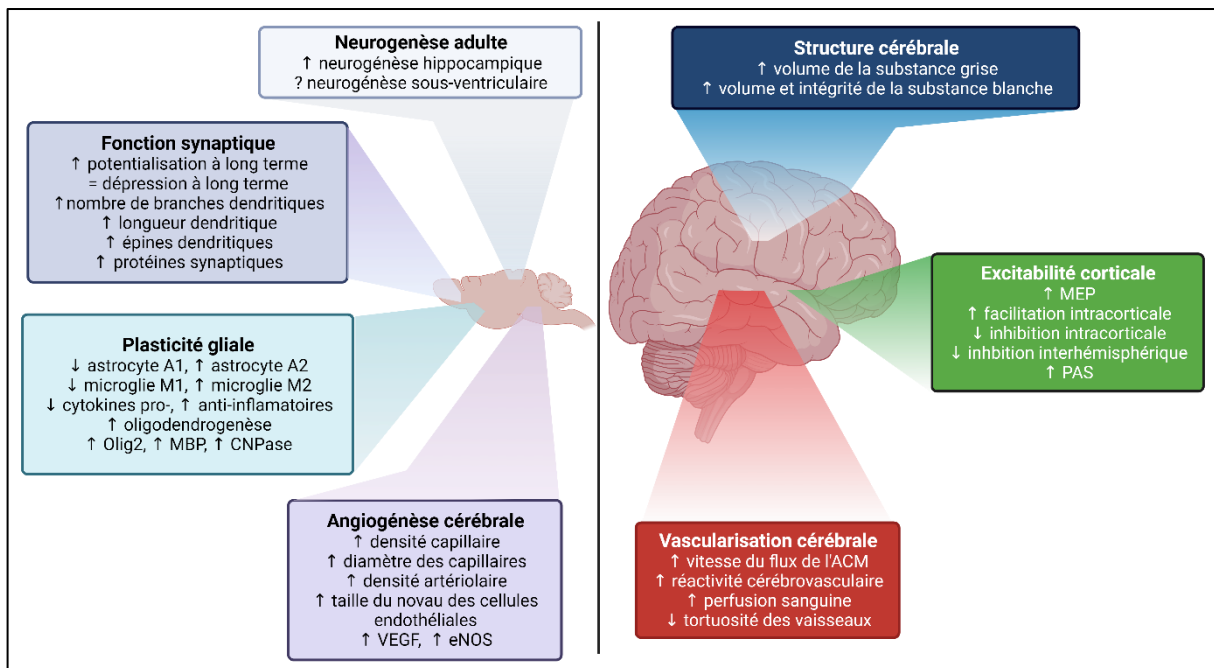


Figure 8 : Résumé graphique des effets de l'EX sur la plasticité cérébrale

Les études chez les rongeurs (panneau gauche) ont montré que l'EX stimule différents mécanismes cellulaires impliqués dans la plasticité cérébrale tels que la neurogénèse adulte, la plasticité et la croissance synaptique, la plasticité gliale et l'angiogenèse cérébrale. En parallèle, les études chez l'homme (panneau droit) ont montré que l'EX pouvait améliorer la structure cérébrale, augmenter l'excitabilité corticale et améliorer la vascularisation cérébrale. Créée avec BioRender.

2. RÔLE DU BDNF DANS LES BIENFAITS CÉRÉBRAUX DE L'EX

De solides arguments soutiennent l'importance du BDNF dans la plasticité cérébrale induite par l'EX et les avantages fonctionnels qui en découlent. Le BDNF est un polypeptide appartenant à la famille des neurotrophines [Encadré 3] qui a été isolé et purifié pour la première fois en 1982 par Yves Barde et Edgar Thoenen (Barde *et al*, 1982). Bien que son expression globale dans le cerveau adulte soit relativement faible, avec seulement 1 µg de BDNF exprimé pour 1,5 kg de tissu cérébral, il joue un rôle essentiel dans la survie neuronale et participe activement à la modulation de la fonction synaptique. En outre, le knock-out total du gène *bdnf* chez la souris entraîne une mortalité dans les trois premières semaines post-natales (Ernfors *et al*, 1994). Dans cette section, nous explorerons la biologie du BDNF, son rôle crucial dans les bienfaits cérébraux de l'EX, ainsi que les mécanismes sous-jacents de l'augmentation du BDNF en réponse à l'EX.

ENCADRÉ 3 : Qu'est-ce que les neurotrophines ?

Les neurotrophines sont une famille de protéines essentielles à la survie neuronale, comprenant le facteur de croissance nerveux (NGF), le BDNF, la neurotrophine 3 (NT-3) et la neurotrophine 4 (NT-4). Outre leur rôle crucial dans la survie cellulaire, elles sont indispensables au développement du système nerveux, modulent la fonction synaptique et sont liées à divers troubles neurologiques et psychiatriques. Fait important, les neurotrophines sont absentes chez la mouche (*Drosophila melanogaster*) et le nématode (*Caenorhabditis elegans*) suggérant l'idée qu'elles sont nécessaires aux fonctions cérébrales d'ordre supérieure. Les actions des neurotrophines dépendent de deux types de récepteurs : les récepteurs Trk et le récepteur p75^{NTR}.

2.1 Biologie cellulaire et moléculaire du BDNF

2.1.1 Structure, expression et régulation du gène *bdnf*

Structure du gène *bdnf*. Le gène *bdnf* est situé sur le chromosome 11 chez l'Homme, le chromosome 3 chez le rat et le chromosome 2 chez la souris (Ozçelik *et al*, 1991). Chez les rongeurs (**Figure 9a**), le gène *bdnf* est composé de neuf exons à l'extrémité 5' (exon I-VIII) et d'un exon à l'extrémité 3' qui contient la séquence codante pour la protéine pré-pro-BDNF (exon IX) (Aid *et al*, 2007). Il existe neuf promoteurs fonctionnels identifiés en amont des neuf exons du gène *bdnf* (I à IX). Les promoteurs I à VIII initient la transcription à partir des exons à l'extrémité 5' (I à VIII), qui sont épissés sur l'exon codant commun (exon IX) pour générer plusieurs isoformes d'ARNm de BDNF. Quant au promoteur IX, la transcription débute directement à partir de l'exon codant (exon IX). Par conséquent, l'exon IX est présent dans toutes les isoformes d'ARNm de BDNF. Concernant le gène *bdnf* humain (**Figure 9b**), il existe également neuf promoteurs fonctionnels, mais deux exons spécifiques non codants ont été identifiés (Vh et VIIIh) (Pruunsild *et al*, 2007). De plus, les exons VIII et VIIIh du gène *bdnf* humain ne sont pas liés à des promoteurs fonctionnels et peuvent être alternativement épissés avec l'exon V pour générer des transcrits de BDNF. Il est intéressant de noter que l'exon I de rongeur et les exons humains I, VII et VIII du gène *bdnf* contiennent un codon start « ATG » à partir desquels la traduction peut être démarrée, ce qui peut produire des protéines pré-proBDNF distinctes avec des séquences d'acides aminés plus longues à l'extrémité N-terminale (**Figure 9c**) (Koppel *et al*, 2015; You & Lu, 2023). Les autres exons sont non traduits, et la traduction des ARNm contenant ces exons ne commence qu'à partir du codon start située au niveau de l'exon IX donnant lieu à une protéine, le pré-pro-BDNF.

Expression du gène *bdnf*. Les différents promoteurs du gène *bdnf* sont exprimés dans la majorité des régions cérébrales chez les rongeurs et l'humain (Aid *et al*, 2007; Pruunsild *et al*, 2007). Cependant, il existe de fortes variations d'expression des ARNm et de la protéine BDNF au niveau des différentes régions cérébrales. Les structures les plus riches en BDNF (transcrits et protéines) semblent être le cortex, l'hippocampe et l'hypothalamus (Kawamoto *et al*, 1996; Kato-Semba *et al*, 1997; Hofer *et al*, 1990). Certaines structures cérébrales comme le striatum ne possèdent pas d'ARNm du BDNF et dépendent de l'apport de BDNF par transport axonal antérograde (Altar *et al*, 1997). Au niveau cellulaire, bien que les neurones soient considérés comme la principale source de BDNF dans le cerveau, on sait maintenant que les astrocytes, la microglie, les oligodendrocytes, les péricytes, et les cellules endothéliales cérébrales sont également capables de synthétiser le BDNF (Rudge *et al*, 1992; Coull *et al*, 2005; Bagayogo & Dreyfus, 2009; Béjot *et al*, 2011; Navaratna *et al*, 2011). Il est également important de noter que l'expression du BDNF varie au cours de la vie. Chez le

rongeur, les niveaux d'ARNm de BDNF sont faibles à la naissance, augmentent fortement jusqu'à P14, puis se maintiennent autour de P28 (Lein *et al*, 2007). Enfin, une fluctuation circadienne naturelle de l'expression cérébrale des ARNm de BDNF a également été rapportée. Il semble que l'expression des ARNm de BDNF soit plus élevée pendant la seconde moitié du jour et la nuit, correspondant au pic d'activité des rongeurs (Berchtold *et al*, 1999; Coria-Lucero *et al*, 2016).

Régulation dépendante de l'activité du gène *bdnf*. La structure complexe du gène *bdnf* et la présence de multiples promoteurs suggèrent une régulation fine de sa transcription en réponse à divers stimuli parmi lesquels l'activité neuronale a été le plus étudiée. En effet, la dépolarisation induite par le chlorure de potassium (KCl) sur des neurones en culture augmente l'expression des ARNm de BDNF (Zafra *et al*, 1990). Plus précisément, il a été montré que l'influx calcique médié par les canaux voltage-dépendants de type L (L-VGCC, L-type voltage-gated calcium channels) et par les récepteurs au N-méthyl-D-aspartate (NMDA) en réponse à l'activité neuronale favorise la transcription du promoteur IV du gène *bdnf* (Zheng *et al*, 2011). Trois éléments sensibles au Ca^{2+} (CaRE 1, 2 et 3, calcium response element,) ont été identifiés au niveau du promoteur IV du gène *bdnf* (Figure 9d). Ces éléments peuvent se lier à plusieurs facteurs de transcription tels que le facteur de réponse au calcium (CaRF, calcium responsive factor), le facteur de transcription ubiquitaire liant l'AMPC (CREB, cAMP calcium response element) ou encore les facteurs de stimulation en amont 1 et 2 (USF1 et 2, upstream stimulatory factor) (Tao *et al*, 1998, 2002; Chen *et al*, 2003b). De plus, le promoteur IV contient également un site de liaison pour le facteur de transcription kappa B (NF-kB, nuclear factor-kappa B) qui amplifie la transcription du gène *bdnf* en réponse à l'activation des récepteurs NMDA, ainsi qu'une région E-box liée aux membres de la famille hélice-boucle-hélice de base (bHLH, basic helix-loop-helix) agissant comme des répresseurs transcriptionnels (Lipsky *et al*, 2001; Jiang *et al*, 2008). Des preuves montrent également que le promoteur I du gène *bdnf* est positivement régulé par la dépolarisation induite par le KCl (Hara *et al*, 2009; Musazzi *et al*, 2014). Au même titre que le promoteur IV, des sites de liaison pour les facteurs de transcription CREB et NF-kB ont été identifiés au niveau de ce promoteur (Tabuchi *et al*, 2002; Kairisalo *et al*, 2009). En outre, l'application *in vitro* sur des neurones ou *in vivo* chez l'animal d'agonistes glutamatergiques non-NMDA, ainsi que des agonistes dopaminergiques, sérotoninergiques et cholinergiques augmentent l'expression des ARNm de BDNF, confirmant la synthèse dépendante des neurotransmissions du BDNF (Zafra *et al*, 1990; da Penha Berzaghi *et al*, 1993; Zhou *et al*, 2008; Williams & Undie, 2009). À l'inverse, la stimulation inhibitrice GABAergique semble réduire la synthèse de BDNF (Zafra *et al*, 1991).

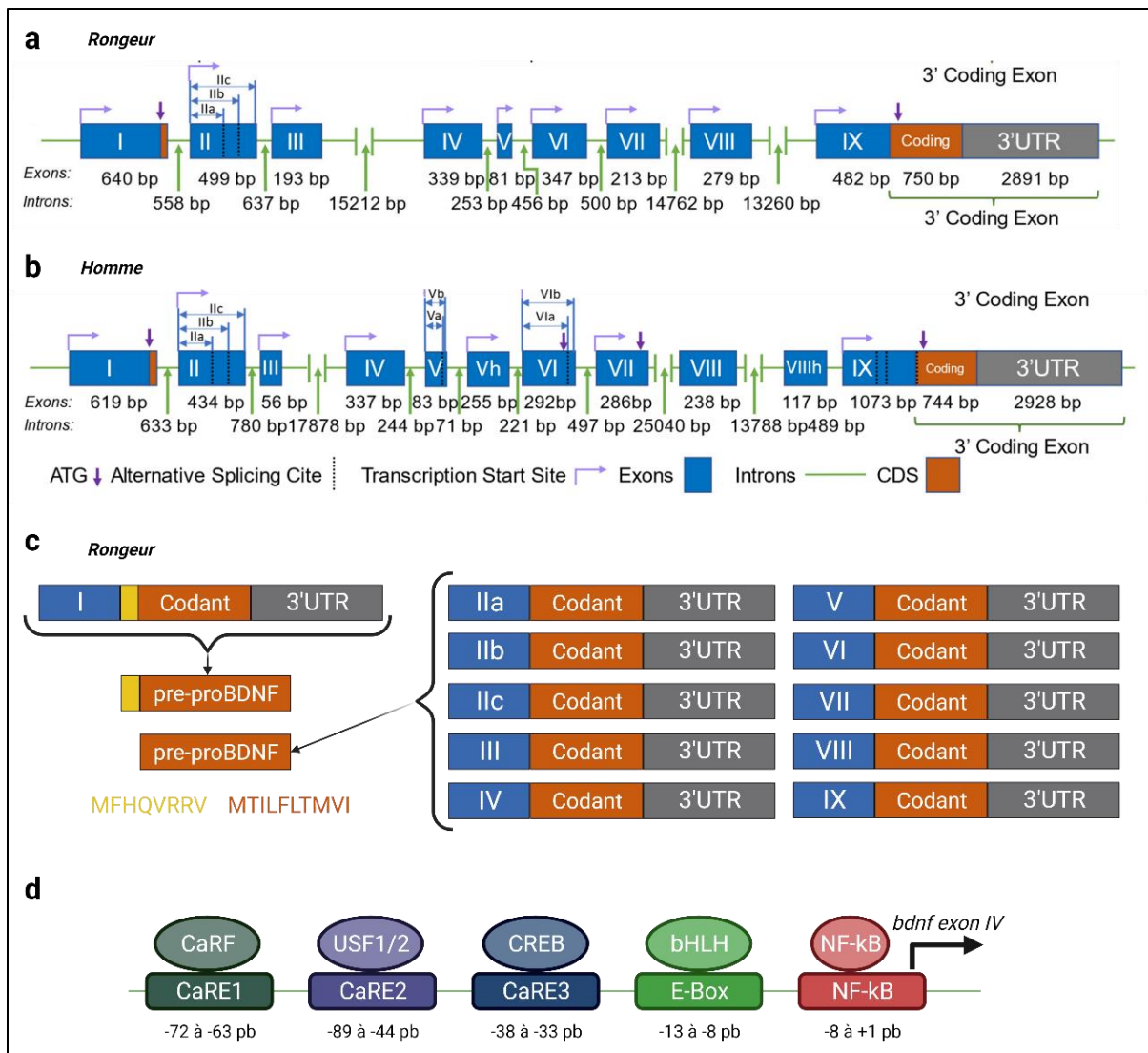


Figure 9 : Structure et régulation transcriptionnelle du gène *bdnf*

a,b Comparaison des structures génomiques du BDNF chez l'homme et le rongeur en accord avec les résultats d'Aid et al. (2007) et de Pruunsild et al. (2007) et tiré de la revue de You & Lu (2023). Les cases bleues représentent les exons, les lignes vertes représentent les introns, les flèches violettes indiquent les codons start (ATG), les lignes noires en pointillés indiquent les sites d'épissage alternatif, et les flèches violettes en angle droit représentent le site de démarrage de la transcription. Les longueurs des exons et des introns sont étiquetées en conséquence. **c** Les séquences en acides aminés de différents pré-pro-BDNF N-terminaux sont montrées, avec les acides aminés codés par les transcriptions régulées par les multiples transcrits du gène BDNF. **d** Contrôle transcriptionnel du gène *bdnf* au niveau du promoteur IV. Créée avec BioRender.

Régulation hormonale du gène *bdnf*. Les hormones stéroïdiennes, telles que les glucocorticoïdes et les œstrogènes, qu'elles soient circulantes ou produites localement, peuvent exercer une influence sur la transcription du gène *bdnf*. Par exemple, la corticostérone diminue l'expression cérébrale des ARNm de BDNF chez les rongeurs (Suri & Vaidya, 2013). L'augmentation significative du cortisol chez l'Homme et de la corticostérone chez le rat en réponse à un EX à une intensité importante pourrait expliquer l'effet partiel de celui-ci sur le *bdnf* et la neurogenèse (cf. section 1.3 Neurogenèse adulte). En effet, le cortisol et la corticostérone circulants peuvent traverser la barrière hémato-encéphalique (BHE) et

l'hippocampe est riche en récepteur aux glucocorticoïdes (Reul & de Kloet, 1985; Mason *et al*, 2010). Concernant les œstrogènes, un élément de réponse aux œstrogènes (ERE, estrogen response element) a été identifié au niveau du promoteur IV du gène *bdnf* (Sohrabji *et al*, 1995). Ainsi, après 2 mois de privation d'œstrogènes induite par l'ovariectomie, l'EX n'augmente pas les taux hippocampiques de BDNF chez les rats femelles (Berchtold *et al*, 2001). En revanche, lorsque l'EX est combiné à une supplémentation en œstrogènes chez les femelles ovariectomisées, une élévation de l'expression de BDNF est constatée dans l'hippocampe.

Régulation épigénétique du gène *bdnf*. Plusieurs mécanismes épigénétiques ont été associés à l'activation ou à la répression du gène *bdnf*. Par exemple, la protéine 2 de liaison au méthyl-CpG (MeCP2, methyl-CpG binding protein 2) est connue pour réprimer la transcription du *bdnf* (Im *et al*, 2010). En effet, elle se lie au niveau du promoteur IV du gène *bdnf* en s'associant avec des molécules co-répressives afin de former un complexe maintenant l'état réprimé du gène *bdnf* (Martinowich *et al*, 2003). Il a été montré que l'activité neuronale induit la phosphorylation de MeCP2 conduisant à sa dissociation du promoteur IV du gène *bdnf* (Martinowich *et al*, 2003; Chen *et al*, 2003a). De manière intéressante, l'EX favorise également la phosphorylation de MeCP2 entraînant la transcription du gène *bdnf* (Gomez-Pinilla *et al*, 2011). Les histones déacétylases (HDAC) sont également impliquées dans la régulation épigénétique du *bdnf*. Il s'agit d'un groupe d'enzymes qui régule l'acétylation et la déacétylation des histones, modifiant ainsi la conformation de la chromatine afin d'activer ou de réprimer l'expression de gènes (Kazantsev & Thompson, 2008). Par exemple, l'exposition de cultures primaires de neurones au β -hydroxybutyrate réduit l'activité des HDAC 2/3 sur le promoteur I du gène *bdnf* (Sleiman *et al*, 2016). Fait intéressant, l'EX stimule la production de β -hydroxybutyrate dans l'hippocampe (Sleiman *et al*, 2016). De plus, il a été montré que la sirtuine 1 (SIRT1), une HDAC de classe III, régule à la fois l'expression de *creb* et de *bdnf* dans l'hippocampe (Shen *et al*, 2018).

Polymorphisme Val66Met du gène *bdnf*. Le polymorphisme « Val66Met » est le polymorphisme le plus étudié concernant le BDNF. Il résulte d'un changement de nucléotide à la position 196 (G en A) sur la séquence codante, entraînant la substitution de la valine (Val) par la méthionine (Met) en position 66 de la séquence pro-BDNF. Ce polymorphisme est présent chez environ 30 à 50 % de la population caucasienne sous forme d'hétérozygotes Val/Met et 4 à 8 % sous forme d'homozygotes Met/Met, tandis que seulement 30 à 38 % des individus sont des homozygotes Val/Val dans la population asiatique (Bian *et al*, 2005; Nishimura *et al*, 2005; Pivac *et al*, 2009; Guerini *et al*, 2009; Vulturar *et al*, 2016). Étant donné que le Val66Met n'est pas observé chez les animaux, son impact est principalement étudié à

l'aide de techniques de transfection *in vitro* ou en utilisant des souris Knock-In. Des recherches ont montré que le *Val66Met* affecte la sécrétion régulée, mais pas la sécrétion constitutive de BDNF (Egan *et al*, 2003). Comme abordé au fil du manuscrit, les modèles animaux du *Val66Met* présentent des déficits d'apprentissage, de mémoire et d'anxiété associés à une altération de la plasticité synaptique.

2.1.2 Métabolisme neuronal du BDNF

Synthèse du BDNF. Après leur maturation, les ARNm du BDNF sortent du noyau et migrent vers le réticulum endoplasmique rugueux où ils sont traduits par les ribosomes en un précurseur protéique de haut poids moléculaire appelé « pré-proBDNF », qui comprend un peptide signal N-terminal de 18 acides aminés (Lu *et al*, 2005; Greenberg *et al*, 2009; Park & Poo, 2013). Ce peptide signal est ensuite clivé dans le réticulum endoplasmique rugueux pour produire du « proBDNF (32 kDa) ». Ce dernier subit ensuite une N-glycosylation dans l'appareil de Golgi, une étape nécessaire à sa maturation et à son transport intracellulaire. Après cette étape, il existe trois trajectoires possibles pour le proBDNF : **1.** clivage intracellulaire au niveau de l'appareil de Golgi ou bien le long du trajet des voies de sécrétion du proBDNF en « BDNF (14 kDa) », suivie de sa sécrétion. **2.** sécrétion du proBDNF suivie d'un clivage extracellulaire en BDNF. **3.** sécrétion du proBDNF sans clivage ultérieur. Il est intéressant de noter que les rôles physiologiques du proBDNF et du BDNF ont été largement étudiés, mais les fonctions spécifiques du prodomaine issu du clivage du proBDNF en BDNF demeurent encore peu élucidées.

N-Glycosylation du BDNF. Après son entrée dans l'appareil de Golgi, le proBDNF subit une N-glycosylation sur le résidu N123, qui est le seul site de N-glycosylation présent sur ce peptide (Lessmann & Brigadski, 2009). La déglycosylation réduit le poids moléculaire du proBDNF de 32 kDa à 27 kDa, sans modifier le poids moléculaire du BDNF à 14 kDa démontrant que seul le proBDNF possède un site de N-glycosylation. De manière intéressante, le site de N-glycosylation du proBDNF est conservé entre les espèces, allant du zebrafish à l'Homme, indiquant un rôle important de la N-glycosylation dans le métabolisme de cette neurotrophine (Tettamanti *et al*, 2010). En effet, le traitement de cellules HEK293 et AT-20 avec un inhibiteur de la N-glycosylation réduit à la fois les niveaux intracellulaires et sécrétés de proBDNF et de BDNF sans modifier l'expression des ARNm de BDNF (Mowla *et al*, 2001; Benicky *et al*, 2019).

Clivage du BDNF. Le clivage du proBDNF a lieu dans des organites différents, effectué par des familles distinctes de protéases. Par exemple, le clivage protéolytique intracellulaire

du proBDNF en BDNF peut se produire dans le réseau transgolgien via la furine, ou dans les vésicules de sécrétion via les protéases pro-convertases (PC 1, 3 et 7) (Seidah *et al*, 1996; Wetsel *et al*, 2013; Zhang *et al*, 2020). De manière intéressante, des études ont montré que la surexpression de la furine chez la souris favorise la LTP et la croissance synaptique, tandis que le déficit en PC7 altère la mémoire épisodique (Wetsel *et al*, 2013; Zhu *et al*, 2018). Dans ces modèles animaux, des changements de la balance proBDNF/BDNF ont été observés, confirmant le rôle de ces protéases dans le clivage intracellulaire du proBDNF. Cependant, il est important de souligner que même si certains auteurs ont observé que la majorité du proBDNF était rapidement converti en BDNF de manière intracellulaire, d'autres ont constaté que les neurones pouvaient sécréter à la fois du proBDNF et du BDNF (Matsumoto *et al*, 2008; Yang *et al*, 2009). Dans le cas d'une libération du proBDNF, des protéases extracellulaires telles que les métalloprotéases matricielles (MMP, notamment MMP3, MMP7 et MMP9) et la plasmine peuvent cliver le proBDNF en BDNF dans le milieu extracellulaire (Lee *et al*, 2001; Pang *et al*, 2004; Gray & Ellis, 2008; Niculescu *et al*, 2018). Le zinc extracellulaire active les MMP dans les neurones en culture, favorisant la conversion du proBDNF en BDNF (Hwang *et al*, 2005). De manière intéressante, une déficience en zinc cérébral réduit les niveaux de BDNF, en limitant l'activité des MMP et perturbe ainsi la mémoire (Frazzini *et al*, 2018). Concernant la plasmine, elle est généralement exprimée sous forme de proenzyme inactive, le plasminogène (Plow *et al*, 1995). Ainsi, son activation nécessite le clivage protéolytique du plasminogène en plasmine par l'activateur tissulaire du plasminogène (t-PA), ce qui permet la conversion du proBDNF en BDNF (Pang *et al*, 2004). En accord avec ces résultats, les souris KO t-PA présentent des altérations de la LTP et l'ajout de BDNF comble ces déficits (Pang *et al*, 2004). De manière intéressante, tout comme le BDNF, la synthèse cérébrale de t-PA est potentialisée par l'activité neuronale et l'EX (Qian *et al*, 1993; Ding *et al*, 2011).

Adressage du BDNF. À la sortie de l'appareil de Golgi, le BDNF peut être adressé dans deux voies de sécrétion distinctes : la voie constitutive présente dans l'ensemble des types cellulaires, qui met en jeu des vésicules transportées jusqu'à la membrane plasmique afin de libérer leur contenu, et la voie régulée spécifique aux cellules excitables et dépendant des niveaux de calcium, composée de vésicules à cœur dense transportées jusqu'aux dendrites ou le long de l'axone (Lessmann & Brigadski, 2009). Deux molécules de tri ont été identifiées pour l'adressage du BDNF dans la voie de sécrétion régulée : la sortiline, qui interagit avec le pro-domaine, et la carboxypeptidase E (CPE), capable de se lier au domaine mature. Par exemple, des études ont montré que l'utilisation d'un petit ARN interférent (ARNsi, small interfering RNA) ciblant la sortiline conduit à un passage du BDNF de la voie de sécrétion régulée vers la voie de sécrétion constitutive dans des cultures de neurones primaires (Chen *et al*, 2005). De plus, la sécrétion régulée est altérée chez les souris KO pour le gène CPE

(Lou *et al*, 2005). Dans les neurones, le BDNF est préférentiellement adressé dans la voie de sécrétion régulée (98 %), et donc empaqueté dans des vésicules à cœur dense, qui ont pu être localisées au niveau des terminaisons axonales présynaptiques et des zones dendritiques postsynaptiques (Fawcett *et al*, 1997; Haubensak *et al*, 1998; Brigadski *et al*, 2005; Dieni *et al*, 2012; Leschik *et al*, 2019). Ainsi, le BDNF pourrait être sécrété à la fois au niveau des axones et des dendrites, bien que cela reste controversé dans la littérature (Song *et al*, 2017).

Sécrétion du BDNF. L'exocytose des vésicules de sécrétion contenant le proBDNF et le BDNF est favorisée par une élévation de la concentration intracellulaire en calcium (Griesbeck *et al*, 1999). En effet, le Ca^{2+} active la protéine kinase II dépendante du calcium et de la calmoduline (CaMKII, calcium/calmodulin-dependent protein kinase II) qui favorise la fusion des vésicules de sécrétion contenant le BDNF (Kolarow *et al*, 2007). Une telle augmentation de Ca^{2+} peut être obtenue à la suite de la dépolarisation membranaire entraînant l'ouverture des canaux L-VGCC et/ou l'activation des récepteurs NMDA (Blöchl & Thoenen, 1996; Goodman *et al*, 1996). Ainsi, différents paradigmes de stimulation électrique *in vitro* sur des neurones en cultures ont été utilisés pour étudier la sécrétion du BDNF. Il a été montré que la stimulation à basse fréquence (10 Hz) favorise préférentiellement la sécrétion de proBDNF alors que la stimulation à haute fréquence (100 Hz) induit majoritairement la sécrétion de BDNF (Nagappan *et al*, 2009). Ces résultats peuvent s'expliquer par une sécrétion accrue de t-PA en réponse à la stimulation à haute fréquence, permettant de cliver le proBDNF en BDNF dans le milieu extracellulaire (Nagappan *et al*, 2009). De même, il a été montré que la sécrétion axonale de BDNF nécessite une stimulation à haute fréquence (100 Hz) alors que la sécrétion dendritique de BDNF peut avoir lieu avec une stimulation à basse fréquence (1-10 Hz) (Matsuda *et al*, 2009). La stimulation de type « thêta-burst (TBS, série de courtes rafales à haute fréquence délivrées à un rythme et à une durée spécifique) » favorise également la sécrétion de BDNF (Balkowiec & Katz, 2000). Après sa sécrétion, le BDNF agit de façon autocrine/paracrine, en raison de son poids moléculaire (27 kDa pour un dimère de BDNF) et de sa charge positive à pH physiologique, limitant sa diffusion extracellulaire (Leibrock *et al*, 1989; Horch & Katz, 2002). Ainsi, le neurone donneur doit se situer à moins de 4,5 μm de distance du neurone receveur pour induire ses effets sur la croissance dendritique (Horch & Katz, 2002). Le BDNF sécrété peut alors se lier à son récepteur, induisant des changements rapides dans l'activité synaptique et des changements retardés dans l'expression des gènes.

La **Figure 10** résume graphiquement le métabolisme neuronal du BDNF, allant de sa synthèse à sa sécrétion.

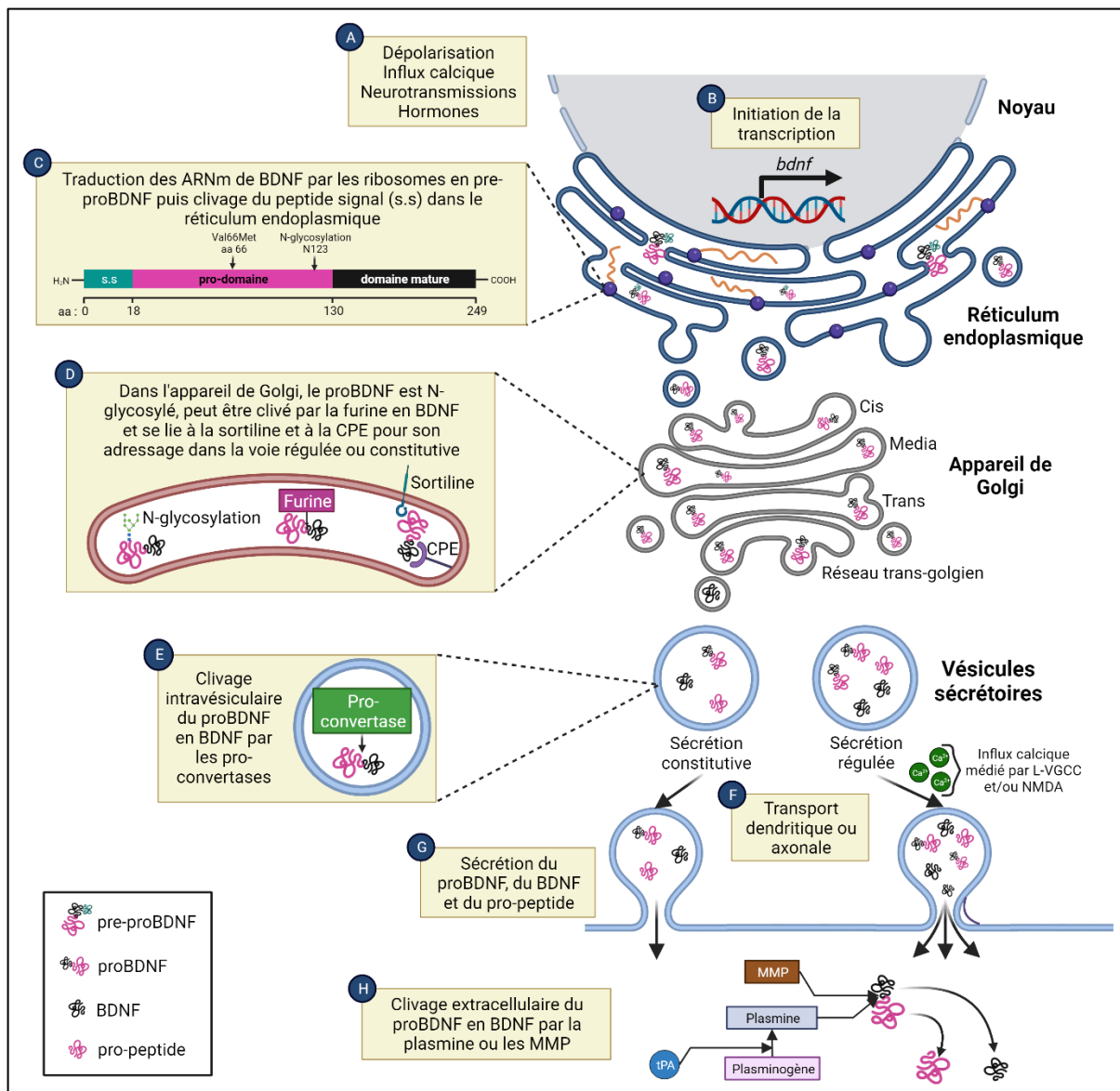


Figure 10 : Métabolisme neuronal du BDNF

Le préproBDNF est représenté par un motif vert (s.s, séquence signal), rose (pro-domaine) et noir (domaine mature). aa : acides aminés. CPE : carboxypeptidase E. L-VGCC : canaux calciques de type L voltage-dépendant. MMP : métalloprotéinase matricielle. NMDA : récepteur au glutamate N-méthyl-D-aspartate. tPA : activateur tissulaire du plasminogène. Créée avec BioRender.

2.1.3 Signalisation neuronale du BDNF

Les neurotrophines matures ont une affinité préférentielle pour les récepteurs de la famille des Trk (tropomyosin-related kinase), tandis que les pro-neurotrophines présentent une forte affinité pour le récepteur p75^{NTR} (pan 75 neurotrophin receptor). Les mécanismes d'action du BDNF via ces deux types de récepteurs sont présentés dans la section suivante.

Récepteur TrkB. Le gène *trkb*, également connu sous le nom de *NTRK2* (neurotrophic receptor tyrosine kinase 2, GeneID Homo sapiens : 4915), code pour deux classes de récepteurs : le récepteur TrkB-FL (full length), une protéine glycosylée composée de 821

acides aminés qui contient tous les motifs canoniques des récepteurs tyrosine kinase, ainsi que les récepteurs TrkB-tronqués (TrkB-T1 et TrkB-T2) générés par épissage alternatif (Klein *et al*, 1989, 1990). Ces derniers partagent des domaines extracellulaires et transmembranaires identiques à ceux de TrkB-FL, mais ils ne possèdent pas l'intégralité de la région catalytique de la kinase. Tout comme le BDNF, les récepteurs TrkB sont exprimés dans de nombreuses régions du SNC, notamment le cortex, l'hippocampe et l'hypothalamus (Yan *et al*, 1997).

La liaison du BDNF à TrkB-FL induit la dimérisation et l'autophosphorylation des résidus tyrosine, ce qui déclenche l'activation de plusieurs protéines adaptatrices (**Figure 11**) (Bothwell, 1995). La phosphorylation du résidu tyrosine en position 515 recrute la voie de la phosphoinositide 3-kinase (PI3K) et de la protéine kinase B (PKB ou Akt), favorisant la survie cellulaire. De plus, cette phosphorylation active les kinases régulées par le signal extracellulaire (ERK, extracellular signal-regulated kinases), qui sont impliquées dans des processus tels que la prolifération, la différenciation, la survie neuronale et la plasticité synaptique (Kaplan & Miller, 2000; Huang & Reichardt, 2003). La phosphorylation du résidu tyrosine en position 816 entraîne l'activation de la phospholipase C gamma 1 (PLC γ 1), qui influence la transmission et la plasticité synaptique en mobilisant les réserves de calcium dans la cellule (Kaplan & Miller, 2000; Huang & Reichardt, 2003).

Un autre mécanisme de signalisation impliquant le couple BDNF/TrkB-FL a été identifié. Cette voie de signalisation est initiée lorsque le complexe BDNF/TrkB est internalisé par une endocytose médiée par la clathrine (**Figure 11**) (Zheng *et al*, 2008). Cette internalisation génère un « endosome de signalisation » qui peut être transporté de manière rétrograde et favoriser la croissance dendritique (Zhou *et al*, 2012). Le processus de signalisation endosomale rétrograde comprend plusieurs étapes, notamment l'internalisation des complexes ligand-récepteur au niveau des terminaisons axonales, le transport de ces endosomes le long du réseau de microtubules axonaux vers les corps cellulaires, la signalisation endosomale et finalement la dissociation de l'endosome. Cependant, les mécanismes moléculaires sous-jacents à ces événements restent en grande partie méconnus.

En plus de son influence sur l'expression des gènes liés à la survie, à la plasticité et à la croissance synaptique, le couple BDNF/TrkB-FL peut provoquer des changements rapides dans l'activité synaptique (**Figure 11**), en fonction de son site d'action. Par exemple, au niveau présynaptique, l'activation des récepteurs TrkB-FL par le BDNF entraîne une entrée rapide de calcium, favorisant ainsi la libération de glutamate et augmentant la transmission synaptique en quelques minutes (Zhang *et al*, 2013). Au niveau postsynaptique, ce couple peut modifier la conductance des canaux sodiques voltage-dépendants (NaV 1.9), permettant l'entrée d'ions Na⁺ et induisant une dépolarisation membranaire en quelques ms seulement (Kafitz *et al*,

1999; Blum *et al*, 2002). De plus, dans un délai de 30 min environ, la liaison du BDNF à TrkB-FL peut déclencher l'insertion de récepteurs AMPA à la membrane postsynaptique, ainsi que leur phosphorylation, ce qui amplifie les réponses postsynaptiques (Wu *et al*, 2004; Li & Wolf, 2011). Enfin, l'activation de TrkB-FL par le BDNF peut également induire la phosphorylation des récepteurs NMDA, contribuant ainsi à potentialiser la réponse postsynaptique (Lin *et al*, 1998; Suen *et al*, 1997).

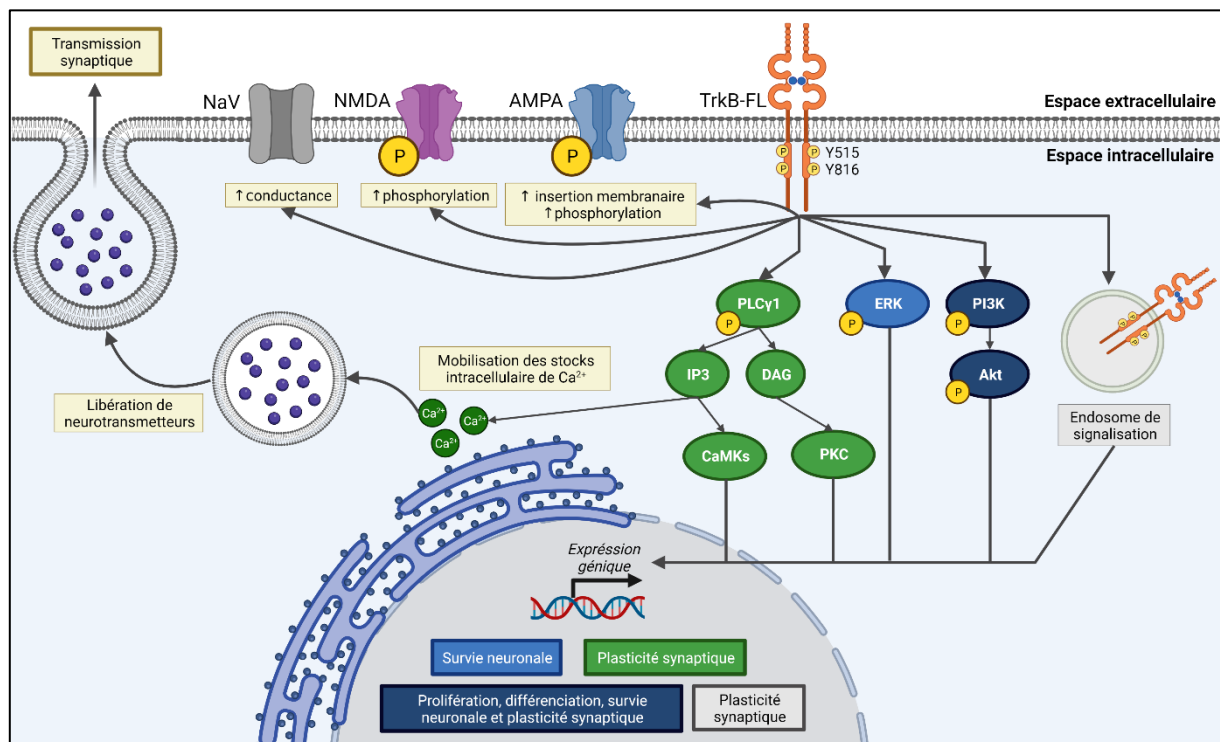


Figure 11 : Mécanismes d'action du couple BDNF/TrkB-FL dans les neurones

Les changements rapides (<30 min) induit par le couple BDNF/TrkB-FL sont représentés en beige clair. Ils concernent les modifications de conductance des canaux NaV, de la phosphorylation du récepteur NMDA, de l'insertion membranaire et de la phosphorylation des récepteurs AMPA ainsi que la mobilisation des stocks de calcium intracellulaire via l'activation de la PLCγ1. Les changements à plus long terme dans l'expression génique sont représentés en vert (voie PLCγ1), en bleu ciel (voie ERK), en bleu foncé (voie PI3K/Akt) et en gris (endosome de signalisation). AMPA : acide α-amino-3-hydroxy-5-méthyl-4-isoxazolepropionique. CaMKs : protéine kinase Ca²⁺/calmoduline-dépendante. DAG : diacylglycérol. ERK : kinases régulées par le signal extracellulaire. IP3 : inositol 1-4,5-triphosphate. NaV : canaux sodique voltage dépendant. NMDA : récepteurs au glutamate N-méthyl-D-aspartate. PKC : protéine kinase C. PI3K : phosphoinositide 3-kinase. PLC γ1 : phospholipase C gamma 1. Créée avec BioRender.

Les fonctions de la signalisation par TrkB-T1 et TrkB-T2 demeurent largement méconnues. Cependant, des études ont montré que l'exposition du BDNF à des cellules transfectées avec TrkB-T1 et TrkB-T2 entraîne une augmentation du taux de libération de métabolites acides, un phénomène biochimique courant dans de nombreuses voies de signalisation (Baxter *et al*, 1997). Ces résultats laissent entendre que TrkB-T1 et TrkB-T2 sont capables de médier la transduction du signal induite par le BDNF. De plus, il semble qu'ils puissent exercer un effet dominant négatif en capturant le BDNF extracellulaire, limitant ainsi

l'activation des récepteurs TrkB-FL (Eide *et al*, 1996). Des études complémentaires seront nécessaires pour élucider davantage le rôle de ces isoformes.

Récepteur p75^{NTR}. Le gène *ngfr* (nerve growth factor receptor, Gene ID homo sapiens : 4804) code pour le récepteur p75^{NTR}, qui appartient à la famille des récepteurs au facteur de nécrose tumorale (TNF, tumor necrosis factor) (Locksley *et al*, 2001). Ce récepteur peut se lier à différentes pro-neurotrophines, telles que le pro-facteur de croissance nerveuse (proNGF, nerve growth factor) et le proBDNF, avec une affinité similaire (Figure 12) (Bothwell, 1995). En plus de ces pro-neurotrophines, p75^{NTR} peut également interagir avec d'autres ligands non neurotrophiques (Dechant & Barde, 2002).

Contrairement au couple BDNF/TrkB, la liaison du proBDNF à p75^{NTR} favorise l'apoptose neuronale en activant les kinases N-terminales c-Jun (JNK) (Bamji *et al*, 1998; Kenchappa *et al*, 2010). De plus, l'interaction entre le proBDNF et p75^{NTR} favorise la LTD et réduit la croissance dendritique (Woo *et al*, 2005; Yang *et al*, 2014a). Des co-récepteurs de p75^{NTR}, tels que la sortiline, ont été identifiés et sont capables de potentialiser l'apoptose neuronale induite par le proBDNF, ainsi que par le proNGF (Nykjaer *et al*, 2004; Teng *et al*, 2005). De manière surprenante, p75^{NTR} peut également interagir avec TrkB, augmentant ainsi l'affinité de liaison pour le BDNF et le NGF, ce qui aurait pour conséquence de favoriser la survie cellulaire (Hempstead *et al*, 1991; Bibel *et al*, 1999). L'interaction de p75^{NTR} avec les neurotrophines matures peut conduire au recrutement de NF-κB, induisant ainsi un effet pro-survie cellulaire, bien que cela ait été démontré uniquement avec le NGF (Carter *et al*, 1996; Foehr *et al*, 2000).

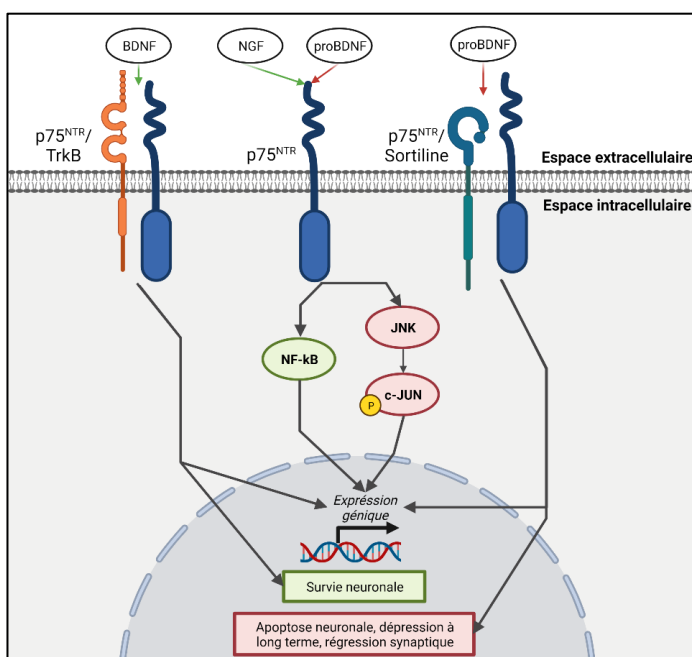


Figure 12 : Signalisation des neurotrophines via le récepteur p75^{NTR} et ses corécepteurs

La liaison du pro-BDNF sur le récepteur p75^{NTR} ou le complexe p75^{NTR}/sortiline conduit à l'apoptose. À l'inverse, le BDNF peut se lier au complexe p75^{NTR}/TrkB conduisant à la survie cellulaire. De plus, le NGF, mais pas le BDNF, peut se lier à p75^{NTR} entraînant l'activation de NF-κB afin de promouvoir la survie cellulaire. JNK : c-Jun N-terminal kinases. NF-κB : facteur nucléaire kappa B. Créée avec BioRender.

2.1.4 Effets cellulaires et comportementaux du BDNF

Comme décrit ci-dessus, les complexes BDNF/TrkB et proBDNF/p75^{NTR} ont des effets opposés sur la survie cellulaire et la fonction synaptique donnant lieu à la théorie « du yin et du yang » des neurotrophines (Lu *et al*, 2005). De plus, il convient de noter que le proBDNF et le BDNF peuvent avoir des rôles spécifiques dans le développement du SNC comme le guidage axonal et le raffinement des synapses (Park & Poo, 2013). Ici, nous développerons uniquement les rôles du BDNF dans les circuits neuronaux adultes.

Effets cellulaires. L'impact du BDNF sur la survie des neurones a été solidement démontré à maintes reprises *in vitro* sur des cultures neuronales (Figure 13) (Carter *et al*, 1996). De plus, des études *in vivo* ont prouvé que l'administration de BDNF dans des régions spécifiques du cerveau permet de prévenir la perte neuronale associée au vieillissement ou provoquée par des facteurs chimiques. En outre, il a été établi que la survie des neurones du striatum repose sur l'apport de BDNF par transport axonal rétrograde (Altar *et al*, 1997). De façon importante, des expériences menées sur des cultures de progéniteurs neuronaux isolés à partir de l'hippocampe de rats adultes ont démontré que le BDNF favorise non seulement la survie, mais également la prolifération et la différenciation de ces progéniteurs, suggérant ainsi un rôle important du BDNF dans la neurogénèse hippocampique (Li *et al*, 2009; Ortiz-López *et al*, 2017). En effet, le blocage génétique ou pharmacologique du couple BDNF/TrkB diminue la prolifération des progéniteurs neuronaux, tandis que l'injection de BDNF directement dans l'hippocampe augmente le nombre de nouveaux neurones (Lee *et al*, 2002; Scharfman *et al*, 2005; Wei *et al*, 2015). Il convient cependant de noter que les preuves concernant l'effet du BDNF sur la neurogénèse de la zone SVZ sont actuellement contradictoires (Zigova *et al*, 1998; Galvão *et al*, 2008).

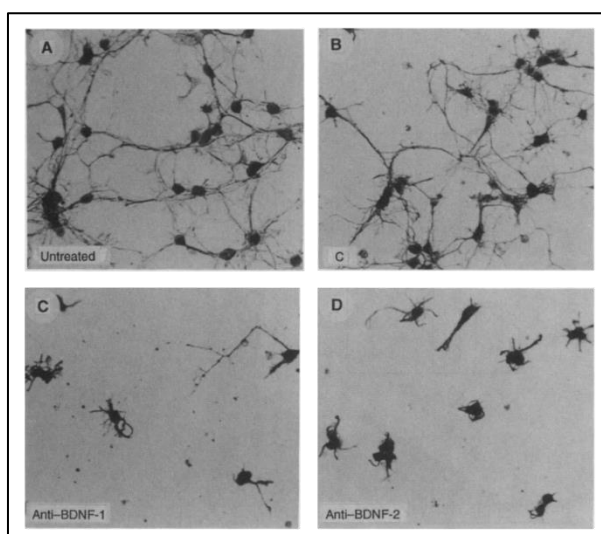


Figure 13 : Preuve *in vitro* du rôle du BDNF dans la survie neuronale

Des neurones corticaux ont été cultivés dans plusieurs conditions. **A** Condition non traitée (untreated). **B** Condition contrôle avec du sérum (**C**). **C et D** Conditions avec deux types d'anticorps différents dirigés contre le BDNF (anti-BDNF 1 et 2). Les photomicrographies indiquent que le blocage du BDNF réduit considérablement la viabilité des neurones corticaux en culture, entraînant la mort d'environ 80 % des neurones. D'après Carter *et al*. (1996).

En plus d'influencer, la survie, la prolifération et la différenciation neuronale, le BDNF est également un acteur clé de la fonction synaptique, en influençant à la fois la transmission synaptique basale, la plasticité synaptique et la croissance synaptique (Lu *et al*, 2013). Par exemple, dans des cultures de neurones hippocampiques, l'ajout rapide de BDNF, reproduisant une sécrétion régulée, active temporairement TrkB et ses voies de signalisation, ce qui améliore la transmission synaptique basale en augmentant la libération de neurotransmetteurs et en amplifiant les réponses postsynaptiques (**Figure 14a**) (Kang & Schuman, 1995; Ji *et al*, 2010). D'un autre côté, lorsque le BDNF est administré de manière progressive pour simuler une sécrétion constitutive, il entraîne une activation continue du récepteur TrkB et favorise la facilitation de la LTP (**Figure 14b**) (Kang & Schuman, 1995; Ji *et al*, 2010). De plus, des protocoles de stimulation de type TBS, généralement utilisés pour induire une LTP précoce, peuvent également induire une LTP tardive en présence de BDNF recombinant (Pang *et al*, 2004).

Dans les modèles animaux du *Val66Met*, il a été montré que les souris BDNF^{Met/Met} ne présentaient pas de déficit de transmission synaptique basale, mais une LTP atténuée induite par le TBS (Ninan *et al*, 2010). Fait intéressant, le BDNF est la seule molécule à ce jour dont le rôle dans la physiologie synaptique a été démontré *in vivo* chez l'Homme grâce au polymorphisme *Val66Met*. En effet, une moindre augmentation des MEP et une réduction de la réorganisation de la carte motrice, déterminées à l'aide de la TMS en réponse à un apprentissage moteur, ont été observées chez les porteurs du *Val66Met* (Kleim *et al*, 2006). De même, les homozygotes *Met* présentent une excitabilité et une plasticité altérées du cortex moteur, testées par la TMS et la PAS (Cheeran *et al*, 2008).

Enfin, le BDNF favorise la croissance dendritique, c'est-à-dire l'augmentation de la taille, de la complexité et du nombre d'épines dendritiques, ce qui augmente la probabilité de former de nouvelles synapses (**Figure 14c**) (McAllister *et al*, 1995; Horch *et al*, 1999; Horch & Katz, 2002). Des études *in vivo* ont montré qu'une surexpression du BDNF entraîne une augmentation significative de 63 % du nombre de synapses (Aguado *et al*, 2003). À l'inverse, les souris KO TrkB et les souris hétérozygotes BDNF^{-/+} présente une réduction de l'expression des protéines synaptiques, du nombre de vésicules synaptiques et du nombre de synapse dans l'hippocampe (Pozzo-Miller *et al*, 1999; Otal *et al*, 2005). De façon intéressante, l'administration de BDNF dans des cultures de neurones primaires de souris BDNF^{-/+} a permis de restaurer la densité synaptique en seulement 16 h (Singh *et al*, 2005).

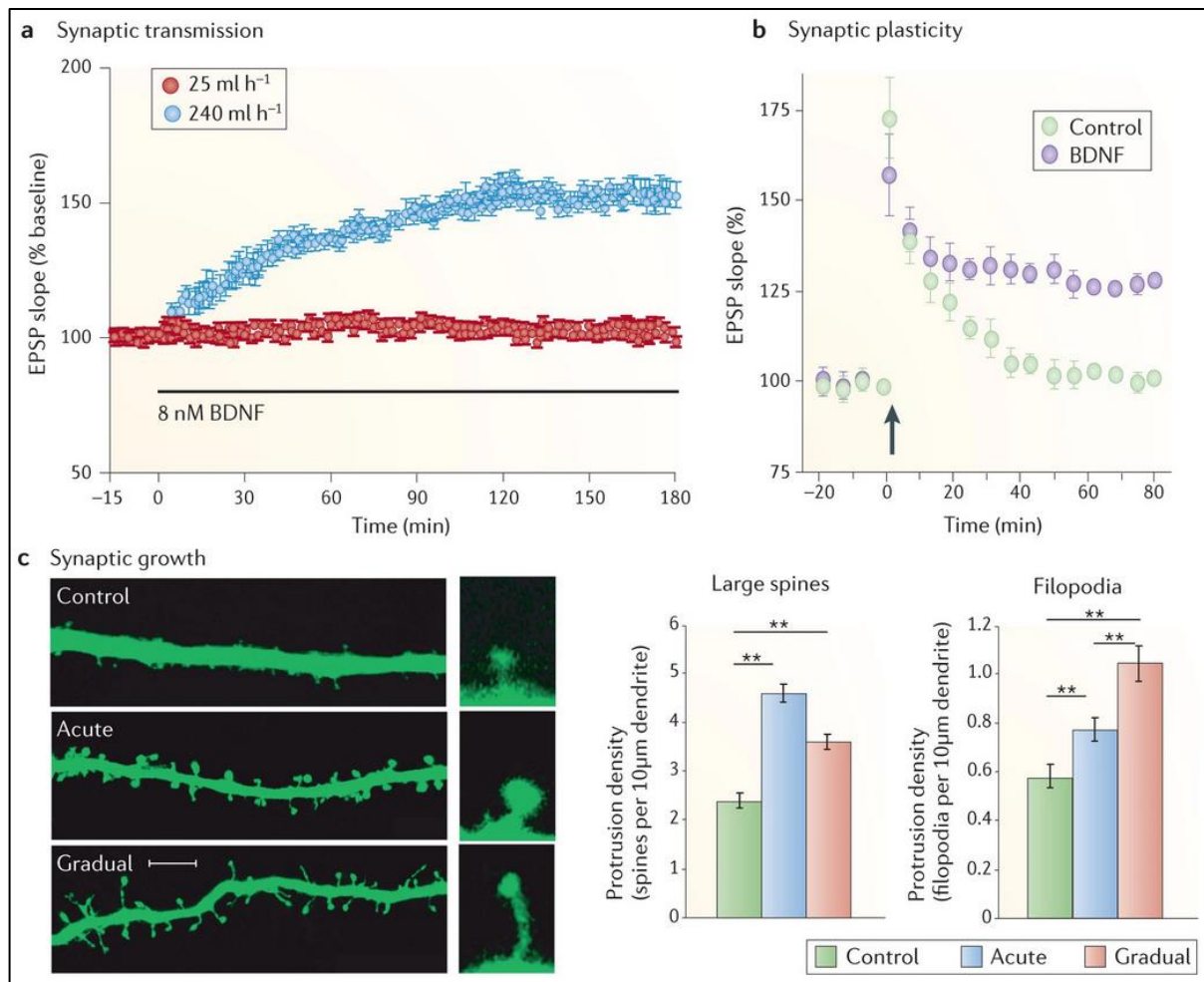


Figure 14 : Rôle du BDNF dans la fonction synaptique

a Effet du BDNF sur la transmission synaptique basale évaluée par les EPSP (excitatory postsynaptic potential). L'application aiguë de BDNF recombinant (8 nM) à des tranches d'hippocampe de souris âgées de 8 semaines à un taux de perfusion rapide (acute, bleu, 240 ml.h⁻¹) mais pas lent (gradual, rouge, 25 ml.h⁻¹) améliore rapidement la transmission synaptique enregistrée dans la zone CA1. **b** Effet du BDNF sur la LTP induite par une stimulation TBS. L'infusion de BDNF recombinant (2 nM) pendant 2,5 à 4 heures sur des tranches d'hippocampe de rats âgés de 2 semaines a induit une LTP mais pas chez les témoins. **c** Effet du BDNF sur la croissance synaptique. L'analyse des neurones transfectés avec la GFP 20 jours après le traitement « acute » ou « gradual » pendant 1 jour montre une augmentation de la complexité dendritique. Il semble que l'application « acute » favorise l'élévation du nombre de grosses épines alors que l'application « gradual » entraîne une élévation du nombre de filopodes. D'après la revue de Lu et al. (2013).

Rôles comportementaux. Le BDNF joue un rôle clé dans la survie neuronale, la neurogenèse adulte et la fonction synaptique, ce qui en fait un acteur essentiel dans la régulation de comportements tels que l'apprentissage et la mémoire. En effet, chez les rongeurs, l'exposition à diverses tâches comportementales sollicitant la mémoire est associée à une augmentation de l'expression du BDNF, suggérant que ce dernier est un corrélât neurobiologique de l'apprentissage et de la mémoire (Mizuno *et al*, 2000; Hall *et al*, 2000). En accord avec cette hypothèse, la réduction des niveaux de BDNF et de son récepteur TrkB, par des moyens pharmacologiques ou génétiques, altère la mémoire spatiale ainsi que la mémoire à court et à long terme des animaux (Linnarsson *et al*, 1997; Ma *et al*, 1998; Mu *et al*, 1999;

Minichiello *et al*, 1999; Alonso *et al*, 2002; Heldt *et al*, 2007). À l'inverse, la surexpression de BDNF ou de TrkB, ainsi que l'utilisation d'agonistes du récepteur TrkB, facilite l'apprentissage et la consolidation de la mémoire (Koponen *et al*, 2004; Cirulli *et al*, 2004). Chez les individus porteurs de la variation génétique *Val66Met*, des déficits mnésiques sont observés, accompagnés de modifications cérébrales, notamment une réduction du volume de l'hippocampe et du cortex préfrontal, ainsi qu'une hyperactivation neuronale inappropriée de l'hippocampe lors de tâches cognitives (Egan *et al*, 2003; Hariri *et al*, 2003; Pezawas *et al*, 2004). De plus, une diminution des niveaux de N-acétyl aspartate (NAA), un marqueur de l'intégrité neuronale et de la fonction mitochondriale, a été observée dans l'hippocampe de ces individus, ainsi qu'une réduction de l'absorption du glucose mesurée par la tomographie par émission de positons (TEP) (Egan *et al*, 2003; Xu *et al*, 2010). En plus d'influencer la mémoire, le polymorphisme *Val66Met* semble également avoir un impact sur les réponses anxieuses (Notaras & van den Buuse, 2020). Par exemple, les individus porteurs de l'allèle *Met* présentent des amygdales de taille réduite, ainsi que des augmentations de la FC et une détérioration plus marquée de la mémoire de travail en réaction à des situations de stress (Montag *et al*, 2009; Gatt *et al*, 2009). En ce qui concerne les études animales, la suppression du récepteur TrkB dans les progéniteurs neuronaux a été associée à une augmentation de l'anxiété chez les souris, tandis que les zebrafish présentant le génotype BDNF^{-/-} montrent des déficits sociaux et des comportements anxieux (Chen *et al*, 2006; Lucon-Xiccato *et al*, 2023). Enfin, il est intéressant de noter que le BDNF hypothalamique joue également un rôle crucial dans le contrôle métabolique du corps entier en régulant la prise alimentaire et la dépense énergétique (Kernie *et al*, 2000; Xu *et al*, 2003; Wang *et al*, 2010; An *et al*, 2015).

Intérêts thérapeutiques. En raison des rôles cruciaux du BDNF dans les fonctions cérébrales, il n'est pas étonnant qu'il soit devenu une cible thérapeutique pour le traitement des affections cérébrales. Des études post-mortem chez l'Homme ont identifié des altérations de l'expression de BDNF dans divers troubles neurologiques et psychiatriques, notamment la MA, la MP, la MH et la dépression associée au suicide (Connor *et al*, 1997; Mogi *et al*, 1999; Zuccato *et al*, 2001; Dwivedi *et al*, 2003). Les expérimentations sur des animaux ont révélé des effets thérapeutiques significatifs de l'injection de BDNF (Nagahara & Tuszynski, 2011). Toutefois, il est essentiel de noter qu'un essai clinique de phase III n'a pas réussi à démontrer une amélioration de la survie des patients atteints de sclérose latérale amyotrophique (SLA) après une injection systémique de BDNF, malgré les résultats prometteurs observés chez les animaux (Iii, 1999). Ces résultats s'ajoutent aux preuves mitigées concernant la capacité du BDNF à traverser la BHE (Pan *et al*, 1998; Wu & Pardridge, 1999). En effet, le principal défi pour l'utilisation du BDNF en tant que médicament réside dans sa capacité à atteindre les neurones en dégénérescence (Nagahara & Tuszynski, 2011). Par ailleurs, l'EX modifie les

niveaux de BDNF dans le cerveau, ce qui en fait une stratégie non médicamenteuse essentielle pour améliorer la santé cérébrale.

2.2 Effet de l'EX sur le BDNF

2.2.1 EX et BDNF cérébral

En 1995, Neeper et ses collègues ont montré pour la première fois, chez le rongeur, que l'EX volontaire augmente les ARNm de BDNF dans le néocortex et l'hippocampe (Neeper *et al*, 1995). Depuis lors, de nombreuses autres études ont démontré une élévation de l'expression de BDNF en réponse à l'EX dans des modèles animaux de maladies neurodégénératives, d'ischémie cérébrale, de troubles psychiatriques, d'inflammation, d'hypertension artérielle, ainsi que chez les rongeurs âgés (Quirié *et al*, 2012; Monnier *et al*, 2017; Choi *et al*, 2018; Sohroforouzani *et al*, 2022). De plus, plusieurs comparaisons intra-études ont montré des effets différents de l'EX sur le BDNF chez les mâles et les femelles, bien que les résultats soient contradictoires (Ma *et al*, 2012; Venezia *et al*, 2016; Barha *et al*, 2017; Islas-Preciado *et al*, 2022; Gallego *et al*, 2015). La majorité de ces changements ont été observés au niveau de l'hippocampe, bien que d'autres études rapportent des effets positifs de l'EX au niveau du cortex sensorimoteur, des amygdales, du striatum, ainsi que dans le cervelet (Liu *et al*, 2009; Rasmussen *et al*, 2009; Marais *et al*, 2009; Andreska *et al*, 2020). Au niveau cellulaire, il semblerait que les neurones et les cellules endothéliales surexpriment le BDNF en réponse à l'EX (Neeper *et al*, 1995; Monnier *et al*, 2017).

Il est intéressant de noter que l'EX volontaire et forcé aboutissent tous deux à des effets positifs sur l'expression de BDNF (Ke *et al*, 2011a; Alomari *et al*, 2013). Néanmoins, la durée et l'intensité de l'EX peuvent influencer les résultats obtenus par l'EX forcé. Par exemple, différentes études ont rapporté qu'une intensité légère était préférable à une intensité soutenue pour augmenter le BDNF, ce qui coïncide avec l'effet bénéfique de l'EX sur la neurogenèse (Lou *et al*, 2008; Soya *et al*, 2007; Shih *et al*, 2013). Ces résultats pourraient s'expliquer par la production accrue de corticostérone lors de l'EX intense, qui, en se fixant sur ses récepteurs GR, réprime la transcription du BDNF (*cf.* section 2.1.1 Régulation hormonale du gène *bdnf*). De même, des protocoles d'EX plus longs semblent avoir des effets plus importants sur l'expression de BDNF, même si un EX aigu suffit à augmenter son expression (**Figure 15**) (Berchtold *et al*, 2005; Rasmussen *et al*, 2009; Venezia *et al*, 2017). En revanche, il ne semble pas y avoir de différence entre un EX aérobic concentrique (course en montée) et excentrique (course en descente) sur l'expression de BDNF (Pedard *et al*, 2019). D'un point de vue cinétique, une étude a rapporté que les taux cérébraux de BDNF pouvaient rester significativement élevés jusqu'à 14 jours après l'arrêt de l'EX (Berchtold *et al*, 2010).

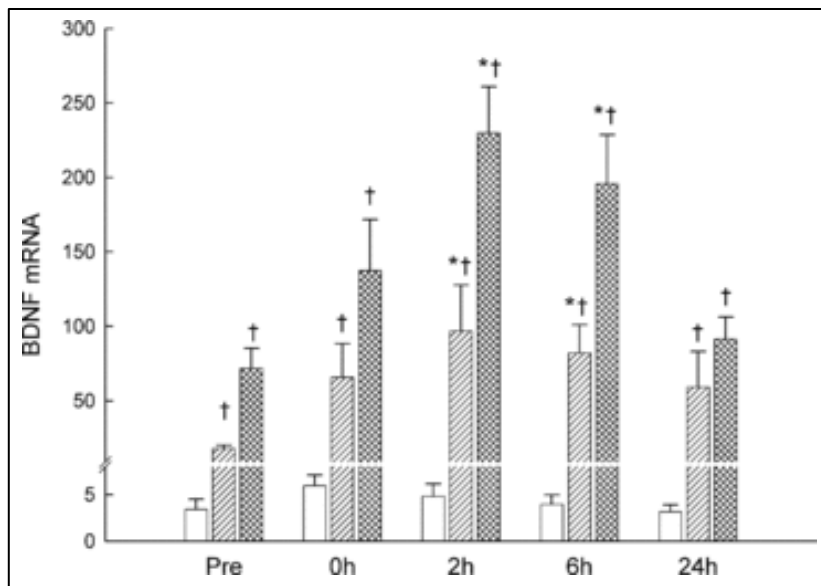


Figure 15 : Réponse du BDNF cérébral à l'EX aigu

Expression du BDNF dans le cervelet de souris (barres ouvertes), l'hippocampe (barres hachurées claires) et le cortex (barres hachurées foncées) avant (Pré), immédiatement après (0 h) et 2, 6 et 24 h après un EX de 2 h sur tapis roulant. L'élévation de l'expression des ARNm de BDNF est présente entre 2 et 6 h après l'EX dans l'hippocampe et le cortex. D'après Rasmussen et al. (2009).

Veillez noter que nous avons évalué l'impact de l'EMS aigu sur l'expression cérébrale de BDNF 4 h et 24 h après la fin du protocole.

La signification fonctionnelle et comportementale de l'élévation du BDNF en réponse à l'EX a été étudiée à l'aide d'approches pharmacologiques et génétiques. Par exemple, l'utilisation d'anticorps chimériques de TrkB, d'un antagoniste sélectif de TrkB ou la délétion de TrkB dans les NSPCs ont montré que le couple BDNF/TrkB était essentiel dans l'amélioration induite par l'EX de la mémoire spatiale, de la neurogenèse hippocampique et des marqueurs de plasticité synaptique tels que synapsine I et CREB (Vaynman *et al*, 2003, 2004; Gomez-Pinilla *et al*, 2008; Li *et al*, 2008b). De plus, chez les souris hétérozygotes BDNF^{-/+}, l'EX n'induit pas de neuroprotection après l'injection de 1-méthyl-4-phényl-1,2,3,6-tétrahydropyridine (MPTP), une neurotoxine utilisée pour mimer la MP chez l'animal (Gerecke *et al*, 2012). De même, l'EX n'a pas réussi à induire un phénotype anxiolytique chez les souris BDNF^{Met/Met} (Ieraci *et al*, 2016). Il est intéressant de noter qu'il a été rapporté chez l'Homme que le polymorphisme Val66Met pouvait réduire les effets de l'EX sur la cognition, bien que les études soient contradictoires (de Las Heras *et al*, 2022). Dans l'ensemble, ces données démontrent que le BDNF joue un rôle prépondérant dans les effets bénéfiques de l'EX sur le cerveau.

2.2.2 EX et BDNF circulant

Le BDNF est présent dans le sang chez le rat et chez l'Homme mais pas la souris (Radka *et al*, 1996). Les taux sériques de BDNF sont 100 à 200 fois supérieurs à ceux des taux plasmatiques (Rosenfeld *et al*, 1995). En effet, il semble que le BDNF soit présent dans les plaquettes et sécrété lors du processus de coagulation (Fujimura *et al*, 2002). Étant donné que les plaquettes sont anucléées, elles expriment le BDNF grâce à leur aptitude à capter le BDNF circulant. De plus, les mégacaryocytes humains et de rats mais pas de souris expriment le

BDNF, pouvant également expliquer la présence de BDNF dans les plaquettes (Chacón-Fernández *et al*, 2016). Enfin, les globules blancs expriment aussi le BDNF (Kerschensteiner *et al*, 1999; Kruse *et al*, 2007).

Plusieurs méta-analyses ont rapporté des effets significatifs de l'EX sur les taux plasmatiques et sériques de BDNF (Dinoff *et al*, 2017; Szuhany *et al*, 2015; Wang *et al*, 2022). Plus précisément, une seule session d'EX est suffisante pour augmenter la concentration sanguine de BDNF et l'EX chronique peut augmenter les concentrations basales de BDNF (Dinoff *et al*, 2017; Szuhany *et al*, 2015; Wang *et al*, 2022). L'analyse cinétique des taux circulants de BDNF montre une augmentation transitoire après l'EX, de quelques minutes à 2 heures selon les études, avant de revenir à des valeurs basales (Schmidt-Kassow *et al*, 2012; Rojas Vega *et al*, 2006; Tibana *et al*, 2022). Enfin, il semble qu'une durée et une intensité d'EX plus élevées soient associées à des élévations plus importantes de BDNF circulant (Schmidt-Kassow *et al*, 2012; Rojas Vega *et al*, 2006; Tibana *et al*, 2022).

L'origine de l'élévation des taux circulants de BDNF a fait l'objet de plusieurs études. Rasmussen et ses collègues (2009) ont apporté des preuves que le cerveau contribue à augmenter les taux circulants de BDNF en réponse à l'EX, en mesurant la différence de BDNF plasmatique entre les artères et les veines jugulaires (Rasmussen *et al*, 2009). En dehors du SNC, il a été démontré que l'EX augmente l'expression de BDNF dans les cellules mononucléaires du sang périphérique (PBMC, Peripheral Blood Mononuclear Cell) (Brunelli *et al*, 2012). De plus, les cellules endothéliales périphériques peuvent synthétiser du BDNF et pourraient contribuer à l'augmentation des taux circulants de BDNF après l'EX via des mécanismes dépendant du NO (Prigent-Tessier *et al*, 2013; Monnier *et al*, 2017). De même, l'EX aigu peut temporairement augmenter le nombre de plaquettes circulantes et la plupart des études portant sur les effets de l'EX sur les taux sanguins ne normalisent pas les valeurs en fonction du nombre de plaquettes (Chamberlain *et al*, 1990; Bakovic *et al*, 2013). Enfin, des données récentes suggèrent que le muscle squelettique lui-même pourrait sécréter du BDNF dans le sang (Fulgenzi *et al*, 2020). Ainsi, le SNC, les cellules endothéliales, les PBMC, les plaquettes et les muscles squelettiques peuvent contribuer à l'élévation de la concentration sanguine de BDNF induite par l'EX.

2.3 Mécanismes de surproduction du BDNF à l'EX

Ces dernières années, de nombreuses études se sont penchées sur la compréhension des mécanismes à l'origine de l'élévation des niveaux de BDNF dans le cerveau en réponse à l'EX. Jusqu'à récemment, on pensait que cette élévation était principalement le résultat d'une

augmentation de l'activité neuronale. Cependant, des découvertes de notre laboratoire ont révélé que l'endothélium réagit également à l'EX en augmentant les niveaux de BDNF. Par conséquent, le flux sanguin est maintenant considéré comme un possible modulateur de l'effet bénéfique de l'EX sur le BDNF. De plus, il a été démontré que des facteurs circulants d'origine périphérique peuvent contribuer à l'augmentation du BDNF dans le cerveau en réponse à l'EX. Les mécanismes clés sont expliqués en détail ci-dessous (**Figure 16**).

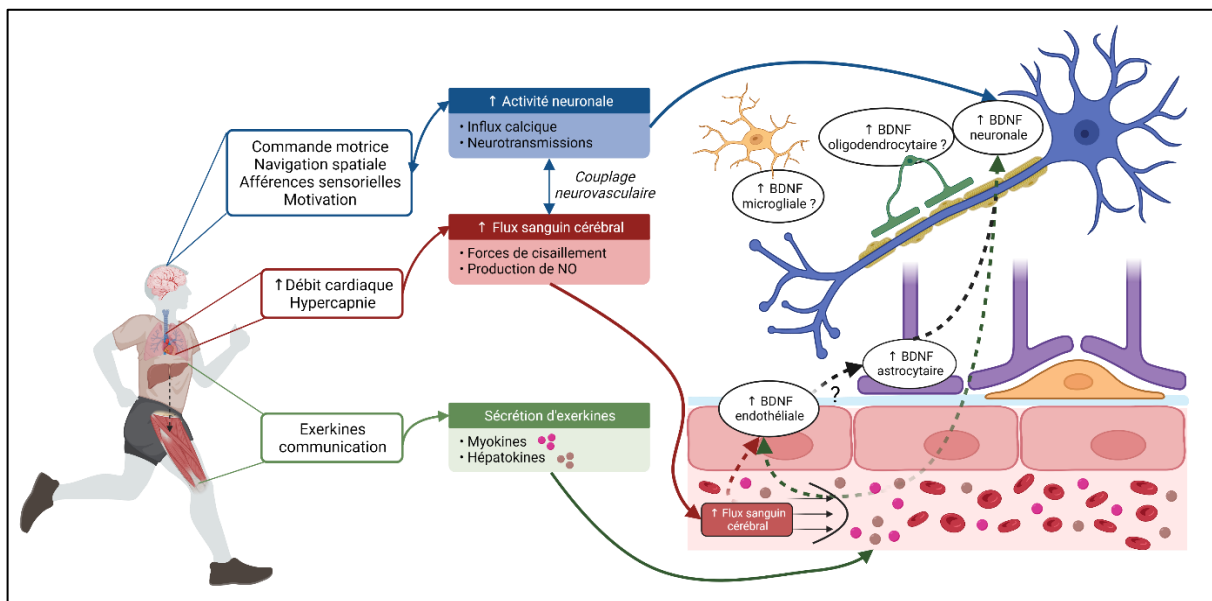


Figure 16 : Mécanismes impliqués dans l'élévation de BDNF en réponse à l'EX

L'augmentation du BDNF cérébral à la suite de l'EX est influencée par trois mécanismes principaux : l'activité neuronale accrue, l'élévation du flux sanguin cérébral et la libération d'exerkines des tissus périphériques. L'EX sollicite des groupes de neurones liés au contrôle moteur, aux rétroactions afférentes, à la motivation et à la navigation spatiale. Cette activité neuronale libère des neurotransmetteurs et favorise l'influx de Ca^{2+} . De plus, l'EX stimule le flux sanguin cérébral grâce à l'augmentation du débit cardiaque et à l'hypercapnie, générant des forces de cisaillement et de l'oxyde nitrique (NO). La hausse du débit sanguin dépend également du couplage neuronal. Par ailleurs, les tissus périphériques comme le foie et les muscles sécrètent des exerkines dans le sang pendant l'EX et augmentent le BDNF cérébral, probablement en traversant la BHE. La surexpression du BDNF après l'EX ne se limite pas aux neurones, car les cellules endothéliales montrent aussi une surexpression, tandis que le rôle des oligodendrocytes, des microglies et des astrocytes en tant que sources de BDNF requiert des études supplémentaires. Créée avec BioRender.

2.3.1 Voie neuronale

En regard du fait que la synthèse de BDNF est sensible à l'activité synaptique, il n'est pas surprenant que l'élévation de l'activité neuronale pendant l'effort participe à augmenter les taux cérébraux de BDNF. Les preuves d'une élévation de l'activité neuronale durant l'EX sont étayées par de nombreuses études et outils d'investigation. Par exemple, les enregistrements électrophysiologiques des cellules pyramidales de l'hippocampe chez les rongeurs rapportent une augmentation de la fréquence de décharge de ces cellules lorsque l'animal est placé dans une roue d'entraînement (Czurkó *et al*, 1999; Hirase *et al*, 1999). De manière intéressante, l'activation de ces cellules est d'autant plus soutenue que la vitesse de course dans la roue

est élevée. Bien qu'il soit complexe de mesurer directement les changements électrophysiologiques dans le cerveau humain, des études ont montré que l'EX conduit à des élévations de la puissance du rythme alpha et thêta mesurées par EEG (Mechau *et al*, 1998). De manière significative, des résultats similaires ont été obtenus chez les rongeurs en utilisant des microélectrodes EEG implantées dans le cerveau pour étudier les rythmes alpha et thêta (McFarland *et al*, 1975; Li *et al*, 2008a). De façon plus indirecte, la NIRS a montré que l'EX conduit à une augmentation de l'oxygénation du cortex préfrontal (Endo *et al*, 2013). Cette observation suggère que l'activité neuronale dans cette région cérébrale augmente pendant l'effort physique. Au niveau biochimique, les gènes précoces immédiats (IEG, immediate early genes), en tant que marqueurs de l'activité neuronale, ont été largement utilisés pour étudier la proportion de neurones activés pendant l'EX. Par exemple, il a été montré que l'EX volontaire et forcé augmente l'expression de *c-fos*, *Arc* et *Zif268* dans l'hippocampe (Oladehin & Waters, 2001; Rhodes *et al*, 2003; Lee *et al*, 2003; Clark *et al*, 2010, 2011a). De manière intéressante, une corrélation positive a été retrouvée entre l'augmentation de l'expression de *c-fos* et l'élévation de BDNF dans l'hippocampe en réponse à l'EX, confirmant le rôle de l'activité neuronale dans la synthèse de BDNF induite par l'EX (Tsai *et al*, 2019).

L'influx calcique et la libération de neurotransmetteurs semblent être des mécanismes prépondérants par lesquelles l'activité neuronale induite par l'EX influence le BDNF. Plus précisément, l'augmentation de Ca^{2+} intracellulaire, qui se produit via les canaux L-VGCC mais aussi par la mobilisation des stocks de Ca^{2+} intracellulaire, conduit à la phosphorylation de CREB sur la sérine 133 favorisant ainsi la transcription de *bdnf*. En effet, il a été montré que l'EX stimule l'activité de CREB et les souris KO CREB ne présentent pas d'élévation de BDNF en réponse à l'EX (Shen *et al*, 2001; Chen & Russo-Neustadt, 2009). De plus, l'exon IV du *bdnf*, dont la transcription est induite par le Ca^{2+} , répond favorablement à l'EX (Venezia *et al*, 2017, 2020).

Des données provenant de la microdialyse cérébrale réalisée pendant l'effort ont rapporté une augmentation de la concentration extracellulaire de dopamine, de glutamate, de sérotonine, de noradrénaline et d'acétylcholine dans différentes régions cérébrales, soutenant l'activation neuronale par l'EX (Meeusen *et al*, 2001). De manière intéressante, le blocage des transmissions glutamatergiques, sérotoninergiques et noradrénergiques à l'aide de moyens génétiques et pharmacologiques supprime les effets de l'EX sur la production de BDNF (Klempin *et al*, 2013; Ivy *et al*, 2003). En effet, la fixation du glutamate sur son récepteur NMDA entraîne une élévation du Ca^{2+} intracellulaire ainsi que l'activation de CaMKII déclenchant alors la synthèse neuronale de BDNF de façon dépendante de l'activation de CREB (Ma *et al*, 2014; Yasuda *et al*, 2022). Ainsi, le blocage de CaMKII abroge l'augmentation de BDNF induite

par l'EX. En revanche, les mécanismes concernant la régulation du BDNF par la 5-HT et la noradrénaline sont moins bien compris.

2.3.2 Voie hémodynamique

La régulation du débit sanguin cérébral (DSC) pendant l'EX doit être distinguée des effets chroniques de l'EX qui entraînent une augmentation du DSC au repos. Les études chez l'animal utilisant des microsphères radiomarquées ont montré une augmentation significative du DSC dans les régions sensorimotrices ainsi que dans les régions impliquées dans le contrôle cardiorespiratoire (tronc cérébral), la vision (cortex pariétal) et l'équilibre (cervelet) en réponse à l'EX sur tapis roulant (Delp *et al*, 2001). En revanche, les régions associées à l'odorat et à l'ouïe (cortex temporal et bulbe olfactif) n'ont pas montré de modification du DSC. Ces données ont été complétées par d'autres études chez l'animal utilisant la technologie Doppler laser, montrant une élévation du DSC dès le début de la course dans le cortex sensorimoteur et l'hippocampe, mais pas dans les bulbes olfactifs (Figure 17) (Nishijima *et al*, 2012; Nishijima & Soya, 2006).

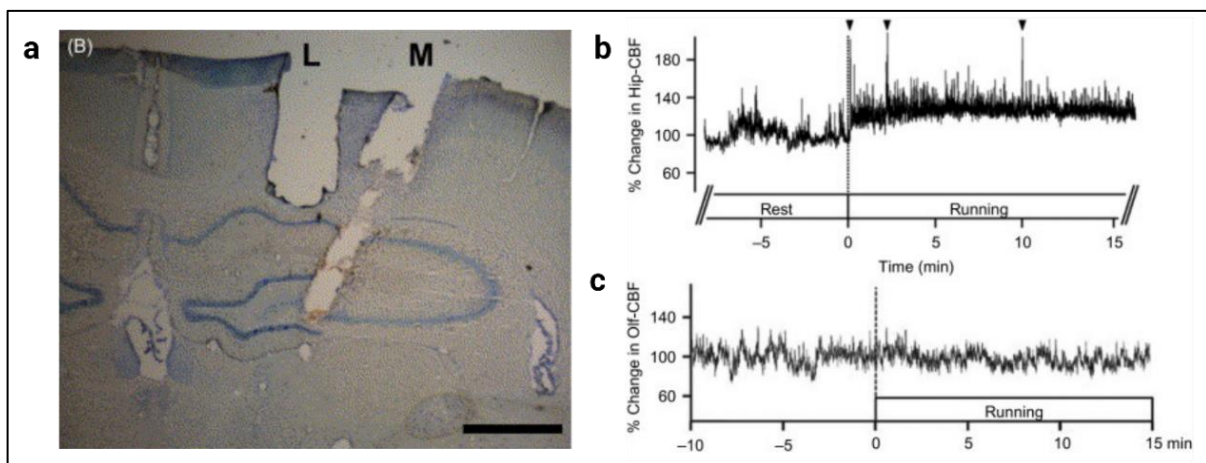


Figure 17 : Réponse du DSC à l'EX sur tapis roulant chez le rongeur

a Photomicrographie d'une coupe coronale de cerveau colorée avec la coloration de Nissl. Une sonde doppler laser (L) ainsi qu'une sonde à microdialyse cérébrale (M) ont été insérées au niveau de l'hippocampe afin de mesurer la flux sanguin cérébral dans l'hippocampe pendant une course sur tapis roulant de 80 min à la vitesse de 10 m/min. **b,c** Exemple typique d'enregistrements laser-Doppler du flux sanguin cérébral hippocampique (Hip-CBF) et olfactif (Olf-CBF). Les données montrent une élévation du flux sanguin dans l'hippocampe sans modification dans les bulbes olfactifs. Noter que dans l'hippocampe, le flux sanguin augmente dès l'initiation de la course sur tapis roulant. D'après les articles de Nishijima and Soya. (2006) et de Nishijima *et al*. (2012). **Veillez noter que nous avons utilisé la technologie Doppler laser pour évaluer les changements de DSC en réponse à la stimulation d'une large masse musculaire durant la thèse. Son principe de fonctionnement est décrit dans la Figure 5.**

Chez l'Homme, des élévations du flux sanguin ont été rapportées au niveau de l'artère carotide interne (ACI), de l'artère vertébrale (AV), de l'ACM et de l'artère cérébrale postérieure (ACP) par Doppler transcrânien lors d'un protocole de pédalage (Sato *et al*, 2011; Smith *et al*,

2016). Plus précisément, une réponse biphasique dépendante de l'intensité de l'EX est observée, c'est-à-dire une augmentation du flux jusqu'à 60 % de la $VO_{2\max}$ suivie d'un retour aux valeurs basales, probablement dû à l'hyperventilation induisant une hypocapnie à intensité élevée. En revanche, les données provenant d'études utilisant la TEP ont montré une légère élévation du DSC global après 5 min de pédalage (+ 28 %), mais pas après 15 min, tandis que le DSC au niveau du cortex moteur et du cervelet était augmenté aux deux moments et de manière plus prononcée (+ 37 à 70 %) (Hiura *et al*, 2014, 2018). L'élévation du DSC en réponse à l'EX peut résulter du couplage neurovasculaire, de l'hypercapnie ou encore de l'augmentation du débit cardiaque pendant l'effort (Querido & Sheel, 2007; Ogoh & Ainslie, 2009; Smith & Ainslie, 2017).

L'augmentation du DSC en réponse à l'EX s'accompagne d'une augmentation des forces de cisaillement, c'est-à-dire des contraintes mécaniques exercées sur l'endothélium en raison du flux sanguin (Mount *et al*, 2007). Cette augmentation du shear stress phosphoryle la eNOS sur les résidus sérine 1177 et sérine 633, ce qui conduit à la production de NO à partir de la L-arginine. Il est intéressant de noter que chez les souris KO eNOS et en cas d'inhibition pharmacologique de la synthèse du NO, les effets de l'EX sur l'augmentation des taux de BDNF dans l'hippocampe et la neuroprotection post-AVC sont abolis (Endres *et al*, 2003; Gertz *et al*, 2006; Mj *et al*, 2006). Sur le plan mécanistique, le NO produit par l'endothélium peut réguler à la hausse l'expression du BDNF endothélial. Par exemple, des expériences menées sur des cellules endothéliales de la veine ombilicale humaine (HUVEC, human umbilical vein endothelial cells) exposées à différents niveaux de flux sanguin ont montré une augmentation proportionnelle du BDNF endothélial en fonction de l'intensité du flux (Prigent-Tessier *et al*, 2013). De plus, des études *ex vivo* ont démontré que l'exposition des micro-vaisseaux cérébraux à un donneur de NO entraîne une augmentation de l'expression du BDNF endothélial (Monnier *et al*, 2017). Il est intéressant de noter qu'une corrélation positive a été observée entre l'augmentation de la phosphorylation de la eNOS sur la sérine 1177 (p-eNOS^{Ser1177}) et l'expression de BDNF en réponse à l'EX (Cefis *et al*, 2019). En outre, l'application de donneur de NO sur des tranches d'hippocampe stimule la LTP (Bon & Garthwaite, 2003; Hopper & Garthwaite, 2006).

En plus du rôle du NO, l'augmentation du shear stress provoquée par l'EX peut également entraîner une augmentation de l'activité du t-PA, ce qui pourrait favoriser le clivage du pro-BDNF en BDNF (*cf.* section 2.1.2 Métabolisme neuronal du BDNF). Ce concept est soutenu par des découvertes montrant que le blocage du t-PA supprime l'augmentation du pro-BDNF, du BDNF et des protéines synaptiques dans l'hippocampe des rats en réponse à un protocole d'EX (Ding *et al*, 2011). Sur le plan mécanistique, des données indiquent que le

t-PA sanguin peut traverser la BHE par le biais de la transcytose médiée par le récepteur des lipoprotéines de faible densité (LRP) (Benchenane *et al*, 2005). De plus, le t-PA, peut faciliter l'activation des récepteurs NMDA des neurones (Nicole *et al*, 2001), ce qui pourrait déclencher une entrée de Ca^{2+} et stimuler l'expression du gène *bdnf*. Étant donné que les cellules endothéliales expriment à la fois les récepteurs NMDA et LRP (Anfray *et al*, 2020), il est plausible que le t-PA agisse comme une molécule autocrine, déclenchant ainsi la production de BDNF au sein de ces cellules. Pour explorer davantage ces hypothèses, la création d'un modèle de souris présentant une invalidation du gène du t-PA et soumise à un protocole d'EX pourrait fournir des informations précieuses. Collectivement, toutes ces données suggèrent que le NO et le t-PA jouent des rôles de médiateurs dans les effets de l'EX en augmentant l'expression endothéliale de BDNF (Figure 18).

Il est important de noter que le rôle du BDNF endothélial dans le cerveau a été moins exploré que celui du BDNF neuronal. Les études actuelles suggèrent que le BDNF endothélial pourrait être impliqué dans divers processus, notamment la vasodilatation des vaisseaux cérébraux, l'angiogenèse cérébrale et la neuroprotection (Li *et al*, 2006; Guo *et al*, 2008; Santhanam *et al*, 2010). Nos données, issues d'une souris KO conditionnelle pour le BDNF endothélial, indiquent également que ce dernier pourrait jouer un rôle dans les processus de mémorisation et dans l'anxiété. Nous avons formulé trois hypothèses plausibles concernant les mécanismes d'action du BDNF endothélial (Figure 18) (Marie *et al*, 2018). Premièrement, la présence de récepteurs TrkB-FL endothéliaux suggère que le BDNF endothélial pourrait se lier à ces récepteurs, favorisant ainsi la production de NO par un effet autocrine. Des études ont montré que l'activation des récepteurs TrkB endothéliaux par le BDNF entraîne une production soutenue de NO dans les cellules endothéliales de l'artère pulmonaire humaine et dans l'ACM du rat (Meuchel *et al*, 2011; Totoston *et al*, 2021). Ce NO pourrait diffuser des cellules endothéliales vers les neurones, renforçant ainsi la plasticité synaptique. Deuxièmement, il est possible que le BDNF dérivé de l'endothélium se lie directement aux récepteurs neuronaux TrkB-FL, déclenchant ainsi des processus de neuroplasticité par un effet paracrine. Cette hypothèse est étayée par des études *in vitro* où l'infusion de milieu de culture provenant de cellules endothéliales sur des neurones a démontré des effets positifs sur la plasticité synaptique (Guo *et al*, 2008). Cet effet été annulé lorsqu'une protéine de fusion TrkB-Fc était ajoutée au milieu de culture, démontrant que le BDNF dérivé de l'endothélium peut agir sur les neurones. Cependant, ce mécanisme doit encore être démontré *in vivo*, même si la proximité entre les neurones et les cellules endothéliales cérébrales au niveau capillaire rend possible ce mécanisme. Troisièmement, le BDNF endothélial pourrait favoriser la neuroplasticité par le biais d'un mécanisme impliquant les astrocytes. En effet, la liaison du BDNF à TrkB-T1 au niveau des astrocytes entraîne l'activation de voies de signalisation

favorisant la maturation, la complexité des prolongements astrocytaires et leur survie cellulaire (Rose *et al*, 2003; Saba *et al*, 2018; Holt *et al*, 2019). De plus, il a été observé que le couple BDNF/TrkB-T1 peut être internalisé par les astrocytes de manière dépendante de la protéine membranaire associée aux vésicules 3 (Vamp3) et potentiellement libéré dans le milieu extracellulaire pour se fixer sur les récepteurs TrkB-FL neuronaux (Han *et al*, 2021). En outre, le couple proBDNF/p75^{NTR} peut également être internalisé par les astrocytes et recyclé sous forme de BDNF après un processus de maturation intra-vésiculaire (Bergami *et al*, 2008).

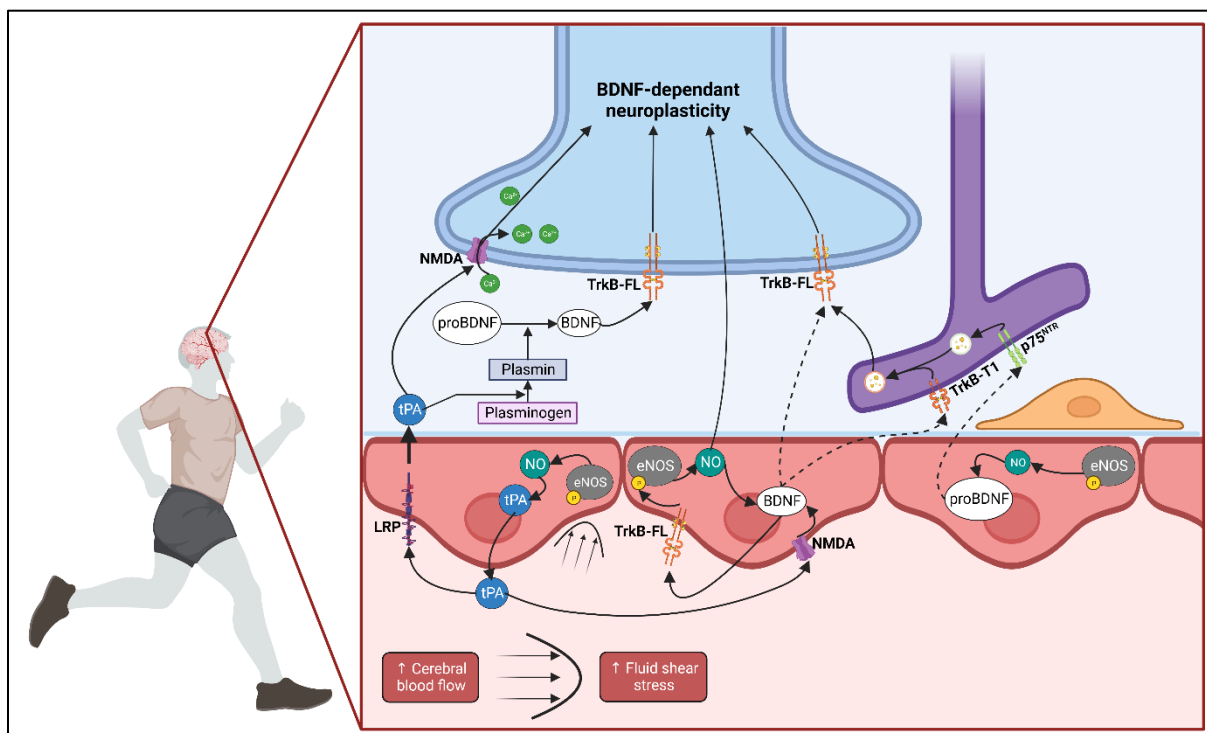


Figure 18 : Mécanismes potentiels de l'élévation du BDNF cérébral dépendant du DSC en réponse à l'EX

L'EX augmente le DSC, provoquant une force de cisaillement sur les parois des vaisseaux (FSS). Cela active l'eNOS, conduisant à la libération de NO. Le NO diffuse des cellules endothéliales aux neurones, induisant l'expression neuronale de BDNF. Le NO stimule aussi la synthèse de BDNF dans les cellules endothéliales elles-mêmes. Ce dernier pourrait agir sur les récepteurs neuronaux TrkB-FL, favorisant les voies neuroplastiques, hypothèse soutenue par la proximité entre les capillaires et les synapses. Alternativement, le BDNF dérivé de l'endothélium pourrait agir de manière autocrine, amplifiant la réponse au NO par le biais des récepteurs endothéliaux TrkB-FL. Simultanément, les astrocytes internalisent puis sécrètent le BDNF via les récepteurs TrkB-T1 ou p75^{NTR}. L'augmentation du DSC et du NO déclenche la libération de t-PA, qui traverse la BHE via la transcytose médiée par LRP, influençant les récepteurs NMDA neuronaux ou la conversion du pro-BDNF en BDNF par la plasmine. Il pourrait ensuite faciliter l'activation des récepteurs NMDA neuronaux ou influencer le traitement du pro-BDNF en BDNF, en convertissant le plasminogène en plasmine. En alternative, le t-PA pourrait faciliter l'activation des récepteurs NMDA endothéliaux, ce qui pourrait potentiellement contribuer à l'expression endothéliale de BDNF. Créée avec BioRender.

2.3.3 Voie endocrine

Le concept de « facteurs humoraux » jouant un rôle dans les adaptations de l'organisme à l'EX est établi depuis longtemps (Goldstein, 1961). Cependant, ce n'est qu'en 2016 que le terme « exerking » a été introduit pour désigner ces molécules spécifiques (Safdar *et al*, 2016).

Les exerkinines peuvent être définies en fonction des critères suivants : **1.** Elles sont synthétisées et/ou sécrétées en réponse à l'EX, dans le but de faciliter les adaptations systémiques à l'EX. **2.** Elles peuvent être produites par divers organes, ce qui permet de les classer en différentes catégories, telles que les myokines (provenant du muscle squelettique), les hépatokines (du foie) ou encore les adipokines (du tissu adipeux). **3.** Elles peuvent agir de manière autocrine, paracrine ou endocrine. **4.** Elles peuvent avoir différentes origines, y compris des peptides, des métabolites ou des acides nucléiques (transportés ou non dans des vésicules extracellulaires).

Les preuves les plus solides qui mettent en lumière le rôle central des exerkinines dans les bénéfices cognitifs de l'EX proviennent d'expériences de transfert de plasma. Deux études ont montré que le transfert de plasma de souris soumises à un protocole d'EX vers des souris sédentaires était suffisant pour améliorer la mémoire spatiale, la neurogenèse, l'expression de BDNF et protéger contre l'inflammation cérébrale induite par les lipopolysaccharides (LPS) (Horowitz *et al*, 2020; De Miguel *et al*, 2021). En dehors des transferts de plasma réalisés *in vivo*, des approches *in vitro* peuvent être utilisées pour étudier le dialogue entre la périphérie et les cellules cérébrales. Par exemple, dans un modèle *in vitro* consistant à transférer le milieu de culture de cellules musculaires primaires en contraction vers des cellules hippocampiques primaires, des chercheurs ont montré que les facteurs sécrétés par les cellules musculaires stimulaient l'activité et la croissance synaptique des neurones hippocampiques (Lee *et al*, 2022). De plus, les auteurs ont également observé que le milieu de culture issu des cellules musculaires favorisait la prolifération des astrocytes présents dans la culture de cellules hippocampiques primaires. Lorsque les auteurs ont appliqué un cocktail visant à réduire la population astrocytaire, les effets du milieu de culture issu des cellules musculaires sur l'activité neuronale étaient annulés, ce qui identifie les astrocytes comme des médiateurs du dialogue endocrine entre les cellules musculaires et les neurones.

Les recherches actuelles se concentrent sur l'identification des molécules sécrétées par les tissus périphériques en réponse à l'EX, qui sont capables d'induire des effets positifs sur le cerveau. Dans ce manuscrit, nous nous pencherons principalement sur l'irisine et le lactate, deux exerkinines sur lesquelles j'ai spécifiquement travaillé lors de ma thèse. D'autres exerkinines susceptibles d'influencer la production cérébrale de BDNF sont détaillées dans la revue intitulée « *Molecular mechanisms underlying physical exercise-induced brain BDNF overproduction* », à laquelle j'ai contribué en tant que co-auteur pendant ma thèse. Parmi ces molécules figurent la cathepsine B, l'acide kynurénique, ainsi que le BDNF lui-même, qui sont présentes au niveau musculaire. De plus, des exerkinines hépatiques telles que le β -HB, le facteur de croissance 1 à l'insuline (IGF-1), le facteur de croissance 21 des fibroblastes

(FGF21) et la phospholipase D1 spécifique du glycosylphosphatidylinositol (Gpld1) sont également en mesure de réguler l'expression cérébrale de BDNF en réponse à l'EX.

PGC-1 α /FNDC5/Irisine. L'EX stimule l'expression du coactivateur de transcription PGC-1 α (peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator-1 alpha) dans le muscle squelettique, connu pour jouer un rôle essentiel dans la transmission des effets de l'EX sur l'angiogenèse et la biogenèse mitochondriale au niveau musculaire (Lira *et al*, 2010). En 2012, l'équipe dirigée par Bruce Spiegelmann a observé que la surexpression musculaire de PGC-1 α entraînait le brunissement du tissu adipeux blanc chez la souris (Boström *et al*, 2012). Ces résultats ont suggéré l'existence d'une communication endocrine entre les muscles squelettiques et le tissu adipeux, impliquant des molécules secrétées régulées par PGC-1 α . Dans cette même étude, les souris surexprimant PGC-1 α ont présenté une augmentation de l'expression de la protéine 5 contenant le domaine de la fibronectine de type III (FNDC5, fibronectin type III domain-containing protein 5) dans le muscle squelettique. Découverte en 2002 et initialement appelée « protéine peroxysomale (PeP) », FNDC5 est une protéine transmembranaire composée de 209 acides aminés (Ferrer-Martínez *et al*, 2002; Schumacher *et al*, 2013). L'équipe de Bruce Spiegelmann a démontré que l'EX chronique augmentait l'expression musculaire des ARNm de PGC-1 α et de FNDC5, tant chez la souris que chez l'Homme (Boström *et al*, 2012). De manière cruciale, ils ont constaté que le domaine extracellulaire de FNDC5 pouvait être clivé en un peptide soluble capable d'induire le brunissement du tissu adipeux. Ce peptide a été nommé « irisine » en référence à la déesse messagère grecque Iris. Des méta-analyses ont confirmé l'augmentation de l'irisine circulante en réponse à un protocole d'EX aigu chez l'Homme (Fox *et al*, 2018; Fatouros, 2018; Kazeminasab *et al*, 2022) et il a été observé que les contractions involontaires induites par le froid ou par des vibrations du corps entier stimulaient également les niveaux d'irisine circulante (Huh *et al*, 2014b; Lee *et al*, 2014). L'élévation de l'irisine en réponse à un EX aigu varie de quelques minutes à une heure après l'effort selon les études, tandis que les effets liés à l'EX chronique demeurent actuellement contradictoires (Huh *et al*, 2014a; Nygaard *et al*, 2015; Zügel *et al*, 2016; Winn *et al*, 2017; Cosio *et al*, 2021; Bao *et al*, 2022). Pris ensemble, ces données soulignent l'existence d'un axe muscle-tissu adipeux régulé par PGC-1 α et stimulé par l'EX, impliquant le produit du clivage de FNDC5.

Au-delà de la fonction du système PGC-1 α /FNDC5/Irisine dans l'interaction entre les muscles et le tissu adipeux, des preuves substantielles dévoilent son rôle dans la communication endocrine entre les muscles et le cerveau en réponse à l'EX. En effet, la déplétion génétique de FNDC5 (souris KO FNDC5 global) empêche l'amélioration de la mémoire et de la plasticité synaptique induite par l'EX (Islam *et al*, 2021). À l'inverse, la

surexpression périphérique d'irisine à l'aide d'un adénovirus associé (AAV) administré au foie ou dans la veine caudale augmente l'expression de BDNF dans l'hippocampe et améliore la fonction cognitive (Lourenco *et al*, 2019; Islam *et al*, 2021). Il est crucial de souligner que l'élévation de l'irisine circulante induite par le vecteur AAV administré au foie conduit à une augmentation d'irisine dans le cortex cérébral sans altération de l'expression de l'ARNm de FNDC5, ce qui suggère que l'irisine endogène franchit la BHE (Islam *et al*, 2021). Ces résultats ont été confirmés dans une autre étude menée sur un modèle murin de MP où l'injection intraveineuse d'irisine s'est accompagnée d'une élévation rapide de l'irisine cérébrale (Kam *et al*, 2022). En outre, l'ajout d'irisine recombinante aux cultures de neurones induit une augmentation de l'expression de BDNF (Wrann *et al*, 2013). De plus, dans une élégante étude, il a été montré que la surexpression de PGC-1 α dans le muscle squelettique contrecarre la diminution de BDNF et la dépression induite par le stress chez la souris, bien qu'aucune corrélation directe avec l'irisine ne soit établie dans cette étude (Agudelo *et al*, 2014). Prises ensemble, ces données suggèrent que l'irisine sécrétée dans le sang en réponse à l'EX traverse la BHE et entraîne une augmentation du BDNF cérébral.

En plus de son implication dans l'interaction muscle-cerveau, il est plausible que l'irisine cérébrale joue un rôle médiateur dans les effets bénéfiques de l'EX sur la santé cérébrale. En effet, l'EX augmente l'expression de PGC-1 α et de FNDC5 dans l'hippocampe (Wrann *et al*, 2013). Or, l'inactivation hippocampique de FNDC5 à l'aide d'un ARN à épingle à cheveux (shRNA, short hairpin) ou d'un petit ARN interférent (siRNA, small interfering RNA) atténue les avantages de l'EX sur la mémoire, la plasticité synaptique et l'élévation de BDNF (Wrann *et al*, 2013; Lourenco *et al*, 2019). Mécaniquement, il a été signalé que PGC-1 α régule l'expression de FNDC5 en interagissant avec le récepteur alpha lié aux œstrogènes (ERR α , estrogen-related receptor alpha) et, à son tour, FNDC5 régule l'expression de BDNF en libérant probablement de l'irisine à effet local (Wrann *et al*, 2013). Par ce mécanisme, l'irisine n'aurait pas besoin de traverser la BHE.

Les mécanismes d'action de l'irisine au niveau cérébral demeurent partiellement compris. Des expériences utilisant des cultures de cellules SH-SY5Y ont révélé que l'irisine n'est pas internalisée par les cellules, suggérant qu'elle agit en se liant à un récepteur de surface (Zhang *et al*, 2023). En 2018, l'équipe dirigée par Bruce Spiegelmann a identifié que l'irisine peut se fixer au récepteur intégrine de type α V β 5 dans les tissus osseux et adipeux, entraînant ainsi l'activation de la kinase d'adhésion focale (FAK). Plus récemment, l'équipe de Bruce Spiegelmann a apporté d'importants détails mécanistiques sur la liaison entre l'irisine et l'intégrine α V β 5 (A *et al*, 2023). Ils ont notamment montré que la protéine de choc thermique 90 (Hsp90 α , heat shock protein), libérée dans la circulation après l'EX, augmentait l'affinité de

liaison entre l'irisine et l'intégrine $\alpha\beta 5$ en induisant un changement de conformation du récepteur (A *et al*, 2023). Cependant, dans le cerveau, l'intégrine $\alpha\beta 5$ est principalement exprimée dans les astrocytes et les cellules endothéliales cérébrales (Wu & Reddy, 2012; Islam *et al*, 2021). Par conséquent, l'impact de l'irisine sur le BDNF neuronal pourrait dépendre d'un autre récepteur, actuellement inconnu. Dans l'ensemble, ces résultats mettent en évidence le rôle du système PGC-1 α /FNDC5/irisine dans les bénéfices de l'EX sur le cerveau, en favorisant l'augmentation du BDNF, bien que des controverses persistent [Encadré 4].

ENCADRÉ 4 : Controverses concernant l'irisine

Codon d'initiation de *fnDC5*. Il a été rapporté que le codon d'initiation de l'ARNm de FNDC5 humain est ATA au lieu d'ATG (Raschke *et al.*, 2013). Les codons d'initiation non canoniques, tels que ATA, sont viables mais sont associés à une efficacité réduite de la traduction de l'ARNm (Kozak, 1989). Ainsi, la transfection du gène *fnDC5* humain contenant le codon ATA dans les cellules HEK93 a montré une efficacité de traduction de l'ARNm en protéine d'à peine 1 % par rapport à la transfection du *fnDC5* murin (Raschke *et al.*, 2013). Malgré ces éléments, le western blot a démontré l'existence de FNDC5 pleine longueur dans les biopsies musculaires humaines (Jedrychowski *et al.*, 2015; Piya *et al.*, 2014). De plus, l'équipe de Bruce Spiegelmann a confirmé la présence d'irisine en circulation chez l'Homme grâce à la spectrométrie de masse (MS, mass spectrometry). Ainsi, de nouvelles études sont nécessaires pour mieux comprendre la régulation transcriptionnelle de *fnDC5* chez l'Homme. **Régulation par PGC-1 α .** La régulation de FNDC5/Irisine par PGC-1 α est également controversée. En effet, plusieurs études ont signalé une augmentation de PGC-1 α dans le muscle squelettique en réponse à un protocole d'EX, sans observer de variation de l'expression musculaire de FNDC5 ou d'irisine circulante, que ce soit chez l'Homme, chez les rongeurs ou *in vitro* sur des cellules musculaires (Kurdiouva *et al.*, 2014a, 2014b; Moraes *et al.*, 2013; Norheim *et al.*, 2014; Peterson *et al.*, 2014; Raschke *et al.*, 2013; Timmons *et al.*, 2012). De plus, il a été montré que la sécrétion d'irisine a lieu dans la première heure suivant un EX aigu, alors que la synthèse de PGC-1 α après un EX aigu prend environ 3 h (Norheim *et al.*, 2014). Cependant, le groupe de Bruce Spiegelmann a démontré une corrélation étroite entre les niveaux d'expression des ARNm de PGC-1 α et de FNDC5 dans plusieurs organes périphériques ainsi que dans le cerveau au cours du développement chez la souris (Wrann *et al.*, 2013). Un autre groupe de recherche a rapporté que la sécrétion d'irisine induite par l'étirement cyclique *in vitro* des myotubes C2C12 était supprimé lorsque les isoformes PGC1 α -1 et PGC1 α -4 étaient réprimées (Zhang *et al.*, 2022). **Clivage de FNDC5.** L'hypothèse centrale concernant l'irisine est le clivage de l'ectodomaine de FNDC5 pour former de l'irisine soluble. Cependant, les preuves de ce clivage ne proviennent que de l'étude originale de Bruce Spiegelmann (Boström *et al.*, 2012), et des détails mécanistiques cruciaux sont manquants, tels que la sécrétase responsable. Certains chercheurs ont suggéré que les protéases de la famille ADAM (disintegrin and metalloproteinase), des sécrétases membranaires, pourraient être impliquées. En effet, l'inhibition spécifique des protéases ADAM dans les myotubes C2C12 a empêché l'augmentation induite par l'angiotensine II de l'irisine dans le milieu de culture, sans changer l'expression de FNDC5 dans les cellules (Yu *et al.*, 2019). Chez les patients atteints de myopathie inflammatoire idiopathique, des niveaux élevés d'irisine circulante ont été rapportés et associés à une surexpression musculaire d'ADAM10 (Zerlotin *et al.*, 2023). Une autre hypothèse avancée est que le clivage de FNDC5 en irisine pourrait être non « physiologique » et résulterait de lésions musculaires et/ou de perturbations mécaniques induites par l'EX (Bao *et al.*, 2022). Cette hypothèse est étayée par des observations montrant que la course excentrique a augmenté les niveaux circulants d'irisine de manière plus significative que la course horizontale chez l'Homme (Tsuchiya *et al.*, 2018). **Détection de FNDC5/Irisine.** Enfin, la détection de FNDC5/Irisine pose des problèmes méthodologiques. La structure cristalline de l'irisine révèle sa formation en dimère et la présence de deux sites de N-glycosylation (Schumacher *et al.*, 2013). Dans le western blot, l'irisine non glycosylée produite chez *E. coli* est détectée à 13 kDa, tandis que sa forme glycosylée présente une bande à 20 kDa (Albrecht *et al.*, 2015). Cette similitude de poids moléculaire avec la forme complète de FNDC5 (20-32 kDa) rend difficile la distinction avec l'irisine glycosylée (Boström *et al.*, 2012; Schumacher *et al.*, 2013). Ainsi, la terminologie couramment utilisée est « FNDC5/irisine » pour les homogénats tissulaires et simplement « irisine » pour le sang, car FNDC5, une protéine transmembranaire, ne devrait pas être présente dans la circulation. Il convient de noter que les études utilisant des western blots pour détecter FNDC5/irisine dans les homogénats tissulaires ont montré des bandes allant de 12 kDa (Boström *et al.*, 2012) à 90 kDa (Gul-Kahraman *et al.*, 2019), avec une majorité d'entre elles présentant une bande autour de 22-24 kDa, ce qui complique l'interprétation des résultats. Pour la détection de l'irisine circulante, les western blots ont montré une bande à 12 kDa dans le plasma humain et de souris après déglycosylation (Brenmoehl *et al.*, 2014; Jedrychowski *et al.*, 2015; Löffler *et al.*, 2015), mais ces résultats n'ont pas pu être reproduits dans d'autres études (Albrecht *et al.*, 2020) et les anticorps utilisés ne sont plus disponibles. Les kits ELISA pour mesurer l'irisine circulante présentent une importante réactivité croisée avec d'autres protéines sériques (Albrecht *et al.*, 2020). En outre, des niveaux d'irisine circulante sont détectables chez les souris KO FNDC5 (Islam *et al.*, 2021), ce qui démontre le manque de spécificité des kits ELISA. En utilisant la MS, l'équipe de Bruce Spiegelmann a montré des niveaux d'irisine circulante de 3,6 ng/mL, augmentant à 4,3 ng/mL après l'EX chez l'homme (Jedrychowski *et al.*, 2015). Cependant, d'autres équipes utilisant la même approche n'ont pas réussi à détecter l'irisine dans le sang ou ont observé des concentrations très faibles (0,09 ng/mL) (Ruan *et al.*, 2018; Albrecht *et al.*, 2020).

L-lactate. Découvert en 1780, le lactate est un acide carboxylique produit par la glycolyse en situation d'hypoxie (Li *et al*, 2022b). Plus précisément, le glucose subit une transformation en pyruvate, qui est ensuite converti en lactate par l'action de l'enzyme lactate déshydrogénase (LDH). Ce processus est généralement désigné sous le terme de « glycolyse anaérobie ». La forme prédominante de lactate produite par l'activité glycolytique est l'énantiomère L-lactate, en contraste avec le D-lactate (Ferguson *et al*, 2018). Étant principalement produit en conditions hypoxiques, l'EX à haute intensité conduit à une production plus importante de lactate par les muscles squelettiques, comparativement à l'exercice modéré (Brooks, 1986). Durant l'effort physique, le lactate généré par les muscles peut être libéré dans la circulation sanguine et traverser la BHE grâce à des transporteurs de monocarboxylates (MCT) (van Hall *et al*, 2009; Bergersen, 2015). En effet, des investigations ont confirmé qu'une séance d'EX aigu entraîne une hausse immédiate de la concentration cérébrale en lactate chez le rat (Takimoto & Hamada, 2014). Chez l'Homme également, un EX aigu augmente les taux de lactate dans le LCS (Bisgard *et al*, 1978; Li *et al*, 2022a). De plus, l'analyse de la différence artéro-veineuse cérébrale (calculée entre l'artère brachiale et la veine jugulaire) a validé la pénétration du lactate dans le tissu cérébral en réponse à l'EX chez l'Homme (Hashimoto *et al*, 2018). De façon importante, cette différence artéro-veineuse cérébrale en lactate a démontré une association positive avec les améliorations de la performance à la tâche de Stroop à la suite d'un protocole d'EX (Hashimoto *et al*, 2018). Ces résultats concordent avec les observations montrant que l'EX aigu à haute intensité exerce des effets plus marqués sur la tâche de Stroop et la mémoire visuospatiale, comparativement à l'EX à intensité modérée (Ballester-Ferrer *et al*, 2022b, 2022c). De plus, l'EX peut accroître l'expression des transporteurs MCT1 et MCT2 dans diverses régions cérébrales chez le rat (Takimoto & Hamada, 2014). Le blocage des transporteurs MCT au moyen d'un inhibiteur spécifique diminue les avantages de l'EX chronique sur la mémoire spatiale des animaux, comme observé dans le test de la piscine de Morris (El Hayek *et al*, 2019). Ces constatations suggèrent fortement que le lactate joue un rôle clé dans les bénéfices de l'EX sur les fonctions cérébrales, potentiellement en modulant l'expression du BDNF. En effet, l'administration intrapéritonéale de lactate à des concentrations comparables à celles observées pendant l'EX stimule l'expression de BDNF, de façon dépendante de SIRT1 / PGC-1 α / FNDC5, dans l'hippocampe de souris (El Hayek *et al*, 2019). Par ailleurs, des études *in vitro* menées sur des cultures de neurones primaires murins ont également mis en évidence que l'incubation avec du lactate entraîne une augmentation de l'expression de BDNF (Yang *et al*, 2014b; El Hayek *et al*, 2019). Enfin, chez l'Homme, des perfusions de solution de lactate de sodium ont provoqué une augmentation de la concentration sanguine en BDNF et des améliorations de l'excitabilité corticale M1 (Schiffer *et al*, 2011; Coco *et al*, 2020). La **Figure 19** page suivante résume le rôle de l'irisine et du lactate dans l'élévation du BDNF par l'EX.

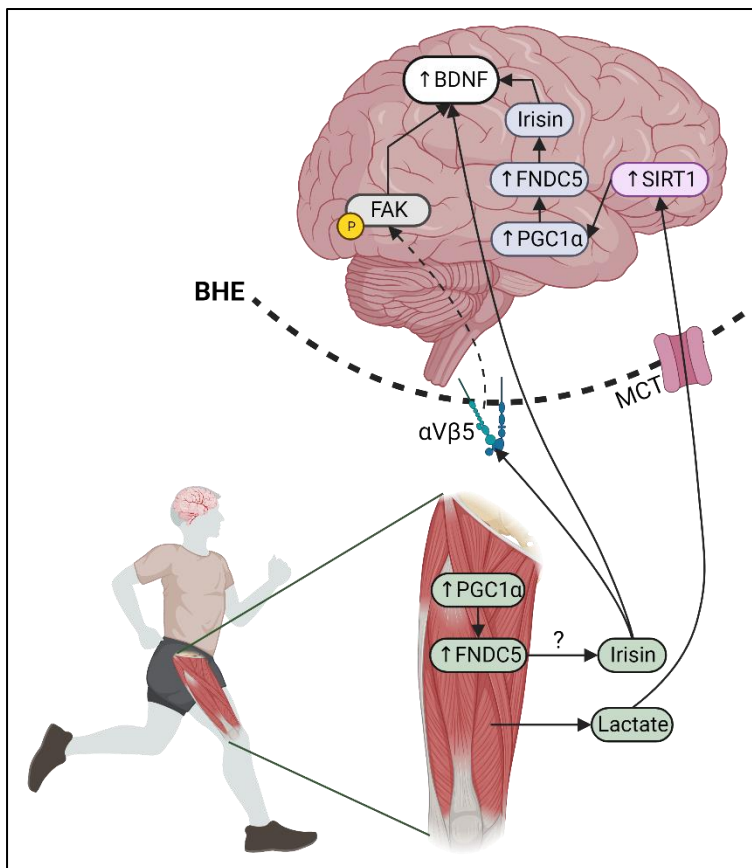


Figure 19 : Mécanismes impliquant l'irisine et le lactate dans l'élévation des taux cérébraux de BDNF en réponse à l'EX
 Lors de l'EX, il se produit une augmentation de PGC-1 α dans le muscle squelettique, qui orchestre une régulation positive de l'expression de FNDC5. Ce dernier est ensuite clivé pour former de l'irisine, laquelle entre dans la circulation sanguine et traverse la BHE afin de déclencher l'expression de BDNF dans les neurones. Cet effet pourrait être médié par le récepteur de type intégrine α V β 5 présent au niveau des cellules endothéliales de la BHE, entraînant l'activation de FAK. Parallèlement, l'EX peut augmenter l'expression cérébrale de PGC-1 α , ce qui pourrait contribuer à une surexpression cérébrale de BDNF en réponse à l'EX. Enfin, le lactate libéré par les muscles squelettiques durant l'effort peut traverser la BHE grâce à ses transporteurs MCT, entraînant une augmentation de l'expression de SIRT1, qui peut à son tour réguler à la hausse l'expression de PGC-1 α . Créée avec BioRender.

3. POTENTIEL DE L'EMS EN TANT QU'ALTERNATIVE À L'EX

Bien que l'EX soit une approche de premier plan pour améliorer la santé cérébrale en modulant l'expression du BDNF grâce à des mécanismes tels que l'activité neuronale, la circulation sanguine cérébrale et la production d'exerkines, il existe de nombreuses personnes qui ne peuvent pas participer à un programme d'EX dynamique. Cela inclut les patients alités, les individus fragiles, ceux souffrant de handicaps moteurs, ou ceux pour qui l'EX est contre-indiqué pour diverses raisons. C'est pourquoi dans cette thèse, nous nous sommes penchés sur les stimulations électriques périphériques transcutanées comme alternative à l'EX. Ce type de stimulation est couramment appelé « neuromuscular electrical stimulation (NMES) » dans la littérature scientifique (**Tableau I**) (Carson & Buick, 2021a). Plus précisément, lorsque des électrodes de surface sont placées sur la peau au-dessus d'un muscle et qu'un courant électrique est appliqué, cela s'appelle « électromyostimulation (EMS) ». En revanche, lorsque la stimulation est effectuée le long du trajet superficiel d'un nerf, on parle de « neurostimulation périphérique (NEUROstim) ». Une autre modalité de stimulation périphérique, largement utilisée chez les patients paralysés, est la « stimulation électrique fonctionnelle (FES, functional electrical stimulation) ». Elle consiste à appliquer des stimulations électriques à différents muscles de manière séquentielle pour accomplir des mouvements fonctionnels tels

que la saisie d'objets, le maintien debout, la marche ou même la réalisation d'un programme d'ergocycle. Enfin, un autre type de stimulation périphérique étudié est la « stimulation nerveuse électrique transcutanée (TENS, transcutaneous electrical nerve stimulation) », qui implique l'application d'un courant électrique d'intensité insuffisante pour provoquer une contraction musculaire, dans le but d'obtenir un effet analgésique. Dans cette section, nous nous pencherons principalement sur les études consacrées à l'EMS, en abordant brièvement les autres formes de stimulation lorsque cela sera pertinent. Nous commencerons par discuter de l'influence des courants utilisés pendant l'EMS sur la force musculaire générée, puis nous explorerons la physiologie des contractions électro-induites et leurs effets sur le fonctionnement cérébral.

Tableau I : Modalités de stimulation électrique périphérique

Type d'excitation		Intensité typique	Fréquence typique	Activation physiologique et objectif typique
NMES	EMS	> Seuil moteur	1-100 Hz	Activation des axones sensoriels et moteurs dans le but de reconditionner le muscle
	NEUROstim	> Seuil moteur	1-100 Hz	Activation des axones sensoriels et moteurs dans le but d'investiguer le système
FES		> Seuil moteur	20-60 Hz	Activation des axones sensoriels et moteurs dans le but d'aider à la motricité
TENS		< Seuil moteur	> 50 Hz	Activation des axones sensoriels dans le but de soulager la douleur

NMES : Neuromuscular electrical stimulation. EMS : Électromyostimulation. NEUROstim : Neurostimulation périphérique. FES : Functional electrical stimulation. TENS : Transcutaneous electrical nerve stimulation. D'après Carson & Buick. (2021).

3.1 Impact des caractéristiques du courant sur la tension musculaire

L'EMS s'applique généralement avec un courant par « impulsions » correspondant à une augmentation de l'intensité du courant pendant une très courte période, suivie de son retour à la valeur initiale (Nussbaum *et al*, 2017). Les impulsions électriques utilisées lors de l'EMS se caractérisent par une amplitude (intensité, mA), une largeur (durée, μ s) et une fréquence (Hz). Les différents paramètres de stimulation jouent un rôle crucial dans la tension musculaire provoquée par l'EMS et, par conséquent, dans son efficacité pour améliorer la fonction musculaire. En effet, dans la littérature, il est largement reconnu que le facteur clé de l'efficacité de l'EMS réside dans la relation entre la force évoquée par l'EMS et la force maximale volontaire (MVC, maximal voluntary contraction) (Lieber & Kelly, 1991; Maffiuletti, 2010; Gondin *et al*, 2011b). Par exemple, un programme d'EMS évoquant 50 % de MVC produit des gains de force plus importants qu'un programme d'EMS à 25 % de MVC (Lai *et al*, 1988).

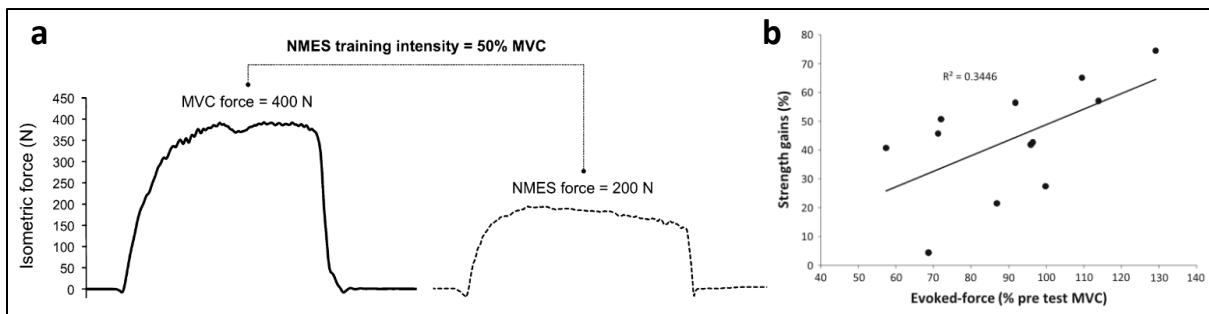


Figure 20 : Lien entre la force maximale volontaire, la force évoquée et l'efficacité de l'EMS

a Relation entre la force maximale volontaire et la force évoquée par l'EMS. Tracé de force produite par le muscle quadriceps lors d'une contraction maximale volontaire (MVC) de 5 s (à gauche) et lors d'une contraction induite par électromyostimulation durant 6 s (à droite). L'intensité de l'entraînement d'EMS est exprimée en pourcentage comme le rapport entre la force maximale volontaire et la force évoquée par l'EMS. D'après la revue de Maffiuletti et al. (2010). **b** Efficacité de l'EMS. Les gains de force après un entraînement chronique d'EMS sont positivement corrélés à l'intensité de l'entraînement (c'est-à-dire à la force évoquée). Veuillez noter les différences inter-individuelles dans la force évoquée. D'après la revue de Gondin et al. (2011).

Il existe une relation linéaire entre la force évoquée par l'EMS et l'intensité de stimulation utilisée (**Figure 21a**) (Maffiuletti, 2010). En effet, une augmentation de l'intensité des impulsions induit une plus grande dépolarisation des structures sous-jacentes, ce qui se traduit par une force évoquée plus importante, mais aussi par une sensation de douleur accrue chez les sujets. En outre, il est connu qu'au cours d'une session d'EMS à intensité constante, la force évoquée diminue au cours du temps dû à une augmentation du seuil d'excitabilité des unités motrices aboutissant à un recrutement moindre, mais aussi dû à la fatigue des fibres musculaires recrutées (**Figure 21b-c**) (Barss et al, 2018). Ainsi, il est nécessaire d'augmenter l'intensité de stimulation au cours de la session d'EMS pour maintenir la force évoquée constante. De même, la durée des impulsions électriques peut aussi influencer la production de force. Par exemple, une récente étude a montré que des protocoles d'EMS utilisant une longue durée d'impulsion permettent de produire une force évoquée supérieure (+ 6 % environ) par rapport à l'utilisation d'une courte durée d'impulsion (Espeit et al, 2023).

La « fréquence des impulsions (f) » désigne le nombre d'impulsions par seconde utilisées lors de l'application de l'EMS. Elle s'exprime en Hertz (Hz) et correspond à l'inverse de la période (T), c'est-à-dire l'intervalle de temps entre le début de deux impulsions. L'augmentation de la fréquence de stimulation entraîne une augmentation de la force produite par le muscle, jusqu'à atteindre un tétanos complet, c'est-à-dire l'activation maximale de toutes les protéines contractiles (**Figure 21d-e**) (Lee et al, 2009). L'EMS est généralement appliquée avec des fréquences allant de 1 à 100 Hz, et il semble qu'une fréquence de 50 Hz soit suffisante pour induire des contractions tétaniques fusionnées dans la plupart des muscles humains (Binder-Macleod & McDermond, 1992). En comparaison, les fréquences de décharge physiologique des unités motrices humaines mesurées lors d'une contraction maximale volontaire varient de 5 à 40 Hz (Bigland-Ritchie et al, 1992; Rubinstein & Kamen, 2005; Kirk &

Rice, 2017; Roos *et al*, 1999). En plus de son impact sur l'activation musculaire, la fréquence de stimulation influence également la perception de la stimulation sur la peau. Alors que les stimulations à haute fréquence semblent induire un effet « tétanique », les basses fréquences entraînent une sensation de « tapotement », où les impulsions individuelles peuvent être distinguées.

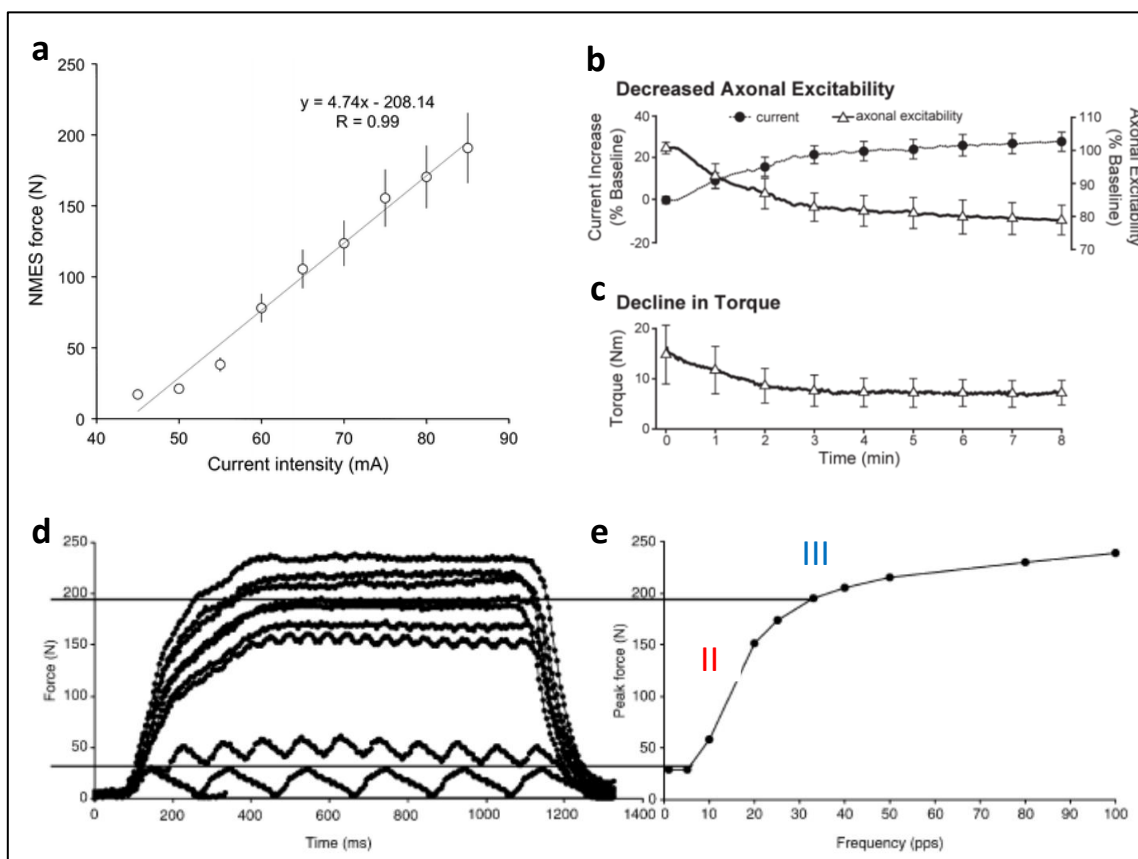


Figure 21 : Effet de l'intensité et de la fréquence de stimulation sur la force évoquée durant l'EMS

a L'intensité du courant utilisée durant l'EMS est linéairement reliée à la force évoquée. Ici, l'EMS a été appliquée au muscle quadriceps chez 10 sujets sains. D'après la revue de Maffiuletti *et al.* (2010). **b** L'excitabilité axonale a été mesurée en prenant l'inverse du changement de courant (rond noir) pour maintenir une onde M cible et normalisée au début du protocole de stimulation appliquée sur le nerf péronier commun. On observe une diminution de l'excitabilité axonale au fur et à mesure du protocole. D'après la revue de Bars *et al.* (2018). **c** La force évoquée produite (ou couple, « torque » en anglais) diminue au cours des 8 min de stimulation appliquée sur le nerf péronier commun dû à la diminution de l'excitabilité axonale et de la fatigue neuromusculaire. D'après Bars *et al.* (2018). **d** Tracé de force produite à différentes fréquences de stimulation pour le muscle quadriceps. **e** Relation force – fréquence correspondante au tracé de force pour le muscle quadriceps. Avec l'augmentation de la fréquence de stimulation, une élévation de la force évoquée est observée (phase II). À des fréquences suffisamment élevées (40-50 Hz), une contraction tétanique fusionnée est observée, ce qui n'entraîne pratiquement aucune augmentation supplémentaire de la force évoquée (phase III). D'après Lee *et al.* (2009).

Bien que la force évoquée pendant une session d'EMS soit l'un des principaux facteurs modulant l'efficacité de l'entraînement par EMS, il est important de souligner que les caractéristiques intrinsèques de chaque individu, telles que sa tolérance à l'EMS ou encore l'épaisseur de la couche de tissu adipeux sont également des facteurs déterminants dans l'efficacité de l'EMS pour le reconditionnement musculaire. En effet, la peau et le tissu adipeux

sous-cutané agissent comme des condensateurs, ce qui signifie qu'ils stockent les charges électriques à leur surface extérieure. Dans un modèle analytique à trois volumes (peau = 1 mm, tissu adipeux = 1 mm, muscle = 96 mm), il a été calculé que la densité de courant diminue de 10 % de la valeur appliquée sur la peau à une distance de 10 mm des électrodes (Mesin & Merletti, 2008). Ainsi, l'application de l'EMS chez des patients obèses pourrait être limitée. Enfin, l'efficacité de l'EMS dépend également de facteurs liés au placement des électrodes. En effet, le placement des électrodes sur un point moteur optimise considérablement l'activation musculaire et réduit la douleur associée au courant électrique sur la peau (Gobbo *et al*, 2014).

3.2 Physiologie des contractions induites par l'EMS

De nombreux aspects physiologiques diffèrent entre une contraction volontaire et une contraction évoquée par une source électrique externe telle que l'EMS. Ces aspects englobent notamment le recrutement des unités motrices, la sollicitation métabolique et les lésions musculaires. De plus, l'EMS chronique peut conduire à des adaptations différentes de l'EX classique.

3.2.1 Recrutement des unités motrices

En 1983, Hultman a démontré que l'EMS transcutanée dépolarise les axones présents sous le champ électrique, plutôt que la dépolarisation directe des fibres musculaires (Hultman *et al*, 1983), en raison de leur seuil d'excitabilité beaucoup plus élevé (Figure 22a) (Mortimer & Bhadra, 1981). Fait important, les axones recrutés peuvent propager des potentiels d'action antidromiques en plus de la propagation orthodromique attendue (Figure 22b) (Enoka *et al*, 2020). D'un point de vue anatomique, les nerfs pénètrent dans le tissu musculaire et se divisent en plusieurs branches axonales intramusculaires (Figure 22c-d), qui peuvent innerver des parties superficielles ou profondes du muscle (soléaire) ou bien innerver différents compartiments musculaires séparés par une membrane tendineuse (gastrocnémien) (Yu *et al*, 2016). Par ailleurs, contrairement aux contractions volontaires qui impliquent le recrutement « sélectif » des unités motrices selon le principe de taille (Henneman, 1957; Henneman *et al*, 1965a, 1965b), l'EMS induit un recrutement « non sélectif » des unités motrices, c'est-à-dire que les axones intramusculaires situés sous le champ électrique induit par les électrodes peuvent être dépolarisés indépendamment de leur taille (Gregory & Bickel, 2005; Jubeau *et al*, 2007). Ainsi, pour un même niveau de force, il est plausible que l'EMS recrute davantage de fibres musculaires rapides par rapport à l'EX volontaire (Sinacore *et al*, 1990; Knight & Kamen, 2005).

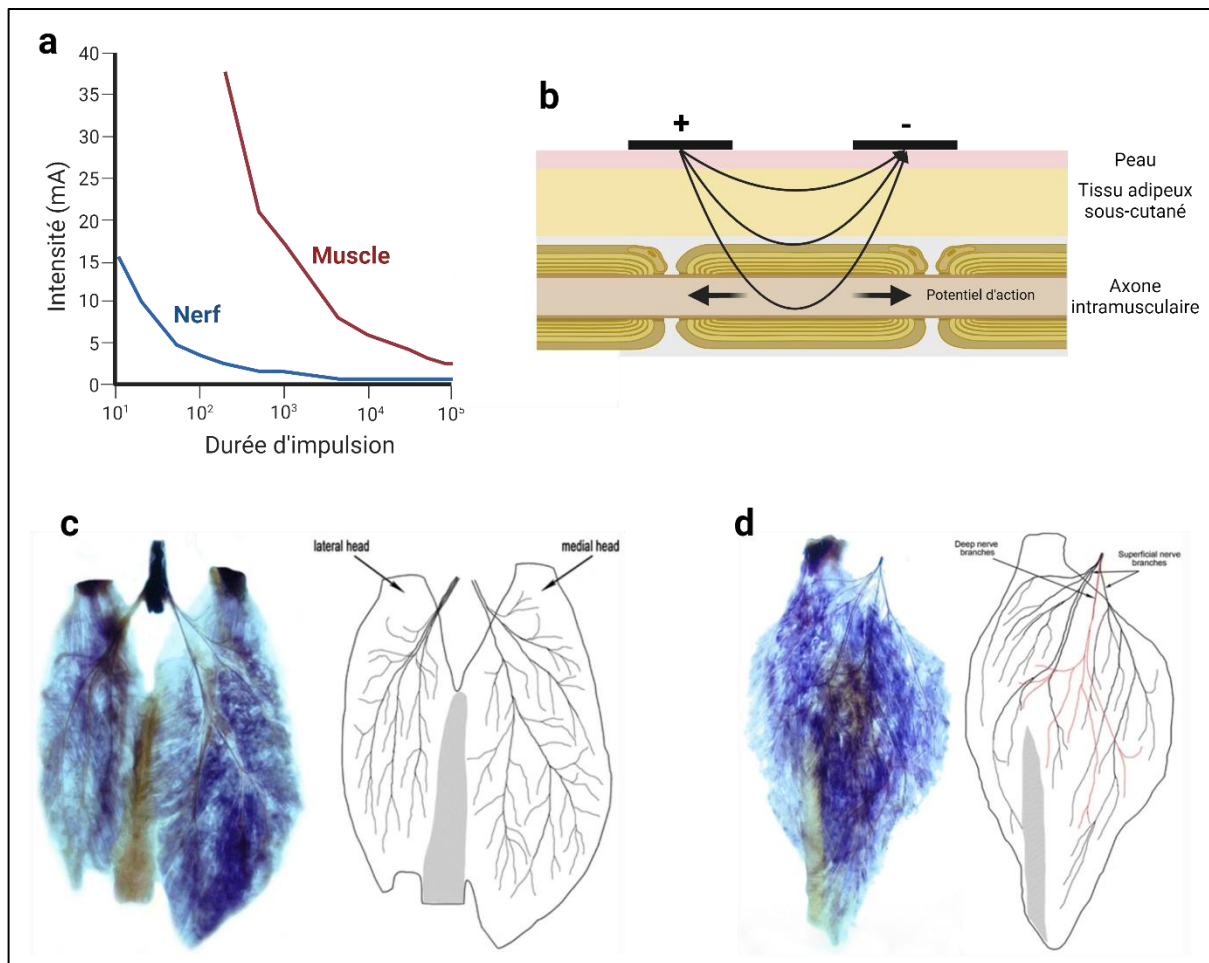


Figure 22 : Excitabilité, recrutement et localisation des axones intramusculaires

a Relation entre l'intensité de stimulation et la durée de l'impulsion. Le seuil d'excitabilité des nerfs se révèle inférieur à celui des cellules musculaires. En d'autres termes, une intensité et une durée d'impulsion moindres suffisent pour induire la dépolarisation d'un nerf par rapport à un muscle. Reproduit avec BioRender d'après Mortimer et al. (1981). **b** Le seuil d'excitabilité plus faible des nerfs conduit au recrutement préférentiel des axones intramusculaires présents sous le champ électrique imposé par les électrodes de stimulation. Les potentiels d'action générés peuvent se propager de façon antidromique en plus de la propagation orthodromique attendue. Créée avec BioRender. **c-d** Coloration des muscles gastrocnémiens et soléaires humains par la technique modifiée de Sihler, pour la visualisation des axones intramusculaires. D'après Yu et al. (2016).

La contraction volontaire se caractérise par un recrutement spatial non fixe (rotation des unités motrices) et asynchrone (modulation de la fréquence de décharge) des unités motrices, optimisant l'efficacité énergétique pour produire des niveaux de force élevés (Bawa *et al*, 2006; P & C, 2009; Rm & J, 2017). En revanche, l'EMS présente un recrutement spatial fixe en raison du positionnement des électrodes, ce qui empêche la rotation des unités motrices (Knaflitz *et al*, 1990; Enoka *et al*, 2020). Cependant, des données IRM ont montré que l'EMS peut induire un recrutement à la fois de fibres musculaires superficielles mais également de fibres musculaires situées en profondeur (**Figure 23A-i**) (Adams *et al*, 1993). Ce recrutement spatialement éloigné du site de stimulation pourrait s'expliquer par la capacité des courants appliqués sur la peau à se propager de façon orthodromique et antidromique le long des axones intramusculaires, pouvant ainsi recruter l'ensemble des fibres musculaires de l'unité

motrice (Yu *et al*, 2016; Enoka *et al*, 2020). En outre, pendant l'EMS, les unités motrices déchargent de manière synchrone en raison de la fréquence imposée par le stimulateur (Figure 23j).

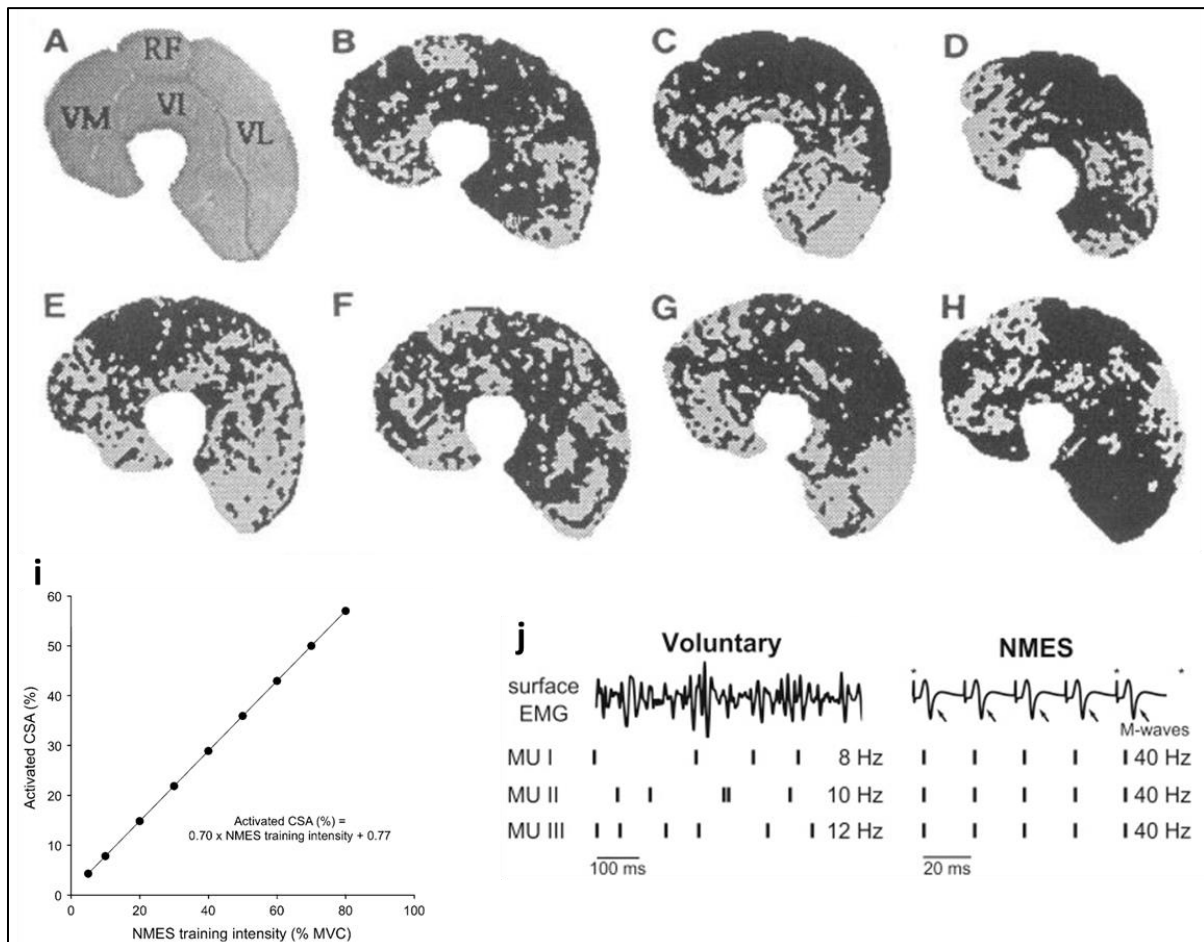


Figure 23 : Recrutements spatial et temporel des unités motrices lors de l'EMS

A-H Représentation cartographique de l'activation musculaire (A). Profil d'activation musculaire observé chez sept participants soumis à un protocole d'EMS, correspondant à 75 % de leur force maximale volontaire (B-H). Les fibres musculaires, tant en surface qu'en profondeur, ont été activées. D'après Adams *et al.* (1993) **i** Variation de la surface de section activée (CSA, cross-sectional area) du quadriceps en réponse à l'EMS, en fonction du niveau de force évoquée. Ces observations sont extraites de la revue de Maffioletti *et al.* (2010) et s'appuient sur les résultats d'Adams *et al.* (1993). **j** Mesures EMG enregistrées durant une contraction musculaire volontaire (gauche) et une contraction induite électriquement (droite). Trois unités motrices caractéristiques (MU) sont mises en évidence, accompagnées de leurs fréquences de décharges respectives. Pendant la contraction volontaire, les taux de décharge varient d'une unité motrice à l'autre, tandis que lors de la contraction électriquement induite, les taux de décharge présentent une similitude notable parmi les unités motrices. D'après la revue de Bars *et al.* (2018).

Une autre spécificité de l'EMS concerne sa capacité à induire un recrutement « direct » et « indirect » des unités motrices (Figure 24) (Collins, 2007). En effet, l'EMS provoque des contractions musculaires en dépolarisant les axones moteurs, entraînant un recrutement direct des fibres musculaires, sans implication du SNC. Les unités motrices recrutées de cette manière se déchargent de manière synchrone, générant une onde M dans un signal EMG, avec une latence relativement courte. Les axones sensoriels sont également recrutés de

manière synchrone lors de l'EMS, conduisant à un recrutement réflexe des unités motrices par voie monosynaptique, enregistré sous la forme d'un réflexe H avec une latence plus longue que l'onde M. La majorité des protocoles d'EMS utilisés actuellement conduit au recrutement direct des unités motrices. Cependant, des protocoles d'EMS de longues durées d'impulsion (1 ms) permettant de recruter préférentiellement les axones sensoriels (Panizza *et al*, 1989, 1992), associées à des fréquences élevées pour maximiser le courant effectif délivré aux motoneurones spinaux (> 80 Hz), ont émergé afin de favoriser un recrutement indirect des unités motrices (Collins, 2007). En effet, ce type de protocole présente l'intérêt de suivre le principe de taille, respectant ainsi la physiologie « normale ». De plus, il a été montré que ce type de protocole pouvait conduire à une plus grande force évoquée durant l'EMS (Collins *et al*, 2001, 2002).

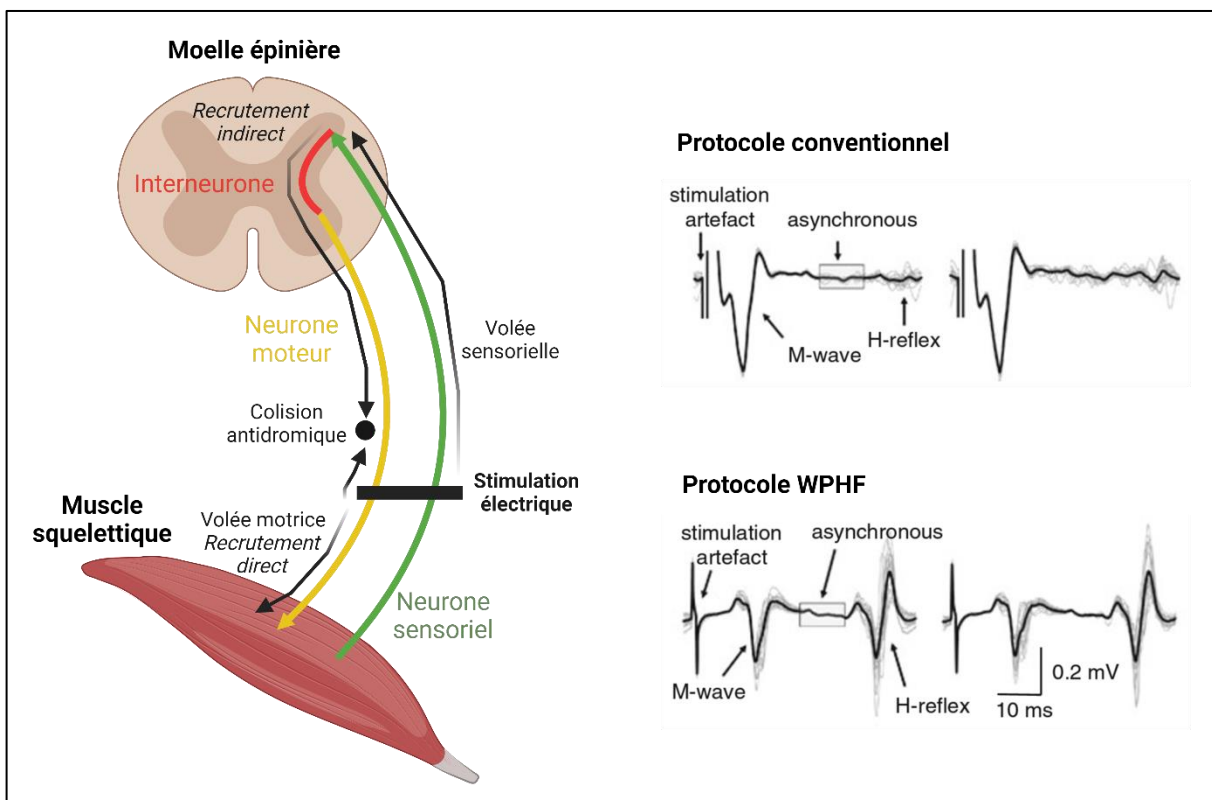


Figure 24 : Recrutements direct et indirect lors de l'EMS

L'application de la stimulation électrique conduit au recrutement direct des unités motrices en dépolarisant les neurones moteurs. Ce recrutement direct se mesure comme une onde M dans un signal EMG. L'application de la stimulation électrique induit également la dépolarisation des neurones sensoriels présents sous le champ électrique imposé par les électrodes. La volée sensorielle causée par l'activation des neurones sensoriels conduit au recrutement indirect des neurones moteurs par voie monosynaptique. Ce recrutement indirect est visualisable en tant que réflexe H dans un signal EMS avec une latence plus longue l'onde M. Cependant, les neurones moteurs dépolarisés lors de l'application de la stimulation électrique propagent des potentiels d'action dans le sens orthodromique (volée motrice) mais également dans le sens antidromique. Il y a alors une collision entre les potentiels d'action propagés de façon antidromique et les potentiels d'action dû au recrutement indirect des neurones moteurs. Ainsi, lors d'un protocole conventionnel d'EMS, on observe uniquement une onde M dans le signal EMS dû à cette collision antidromique. En revanche, lors d'un protocole à longue durée d'impulsion et haute fréquence (WPHF) favorisant le recrutement préférentiel des axones sensoriels et utilisant une faible intensité de stimulation pour limiter le recrutement des axones moteurs, on limite la collision antidromique. Une onde M de plus petite amplitude et un réflexe H peuvent alors être visualisés sur le signal EMS avec les protocoles WPHF. Les signaux EMG proviennent de la revue de Collins *et al*. (2007). **Veillez noter que nous avons utilisé un protocole conventionnel d'EMS (100 Hz, 0,4 ms) durant cette thèse.**

3.2.2 Sollicitation métabolique

La sollicitation métabolique induite par l'EMS a été étudiée par spectroscopie à résonance magnétique nucléaire (RMN). Les études ont rapporté une diminution de l'ATP, de la phosphocréatine (PCr) et une baisse du pH dans le muscle stimulé (Shenton *et al*, 1986; Vanderthommen *et al*, 1999, 2003; Liu *et al*, 2007). Notamment, l'EMS à 8 Hz provoque une moindre déplétion de la PCr par rapport à l'EMS à 70 Hz (Shenton *et al*, 1986). De plus, pour une même production de force, l'EMS entraîne un rapport Pi/PCr plus élevé, une plus grande désaturation de la myoglobine et une baisse du pH plus importante par rapport à la contraction volontaire (Vanderthommen *et al*, 1999, 2003). Il semble également que la production d'ATP lors de l'EMS soit davantage d'origine anaérobie par rapport à la contraction volontaire, comme indiqué par la mesure du turnover de l'ATP en utilisant la RMN (Ratkevicius *et al*, 1998). En accord avec ces résultats, l'EMS appliquée au quadriceps provoque des augmentations beaucoup plus marquées de la lactatémie par rapport à l'EX en résistance impliquant le même muscle (Figure 25) (Jubeau *et al*, 2008). D'autres études utilisant la NIRS ont montré que l'EMS induisait une plus grande diminution de l'oxygénation musculaire par rapport aux contractions volontaires (Muthalib *et al*, 2016, 2009; McNeil *et al*, 2006). Ainsi, au niveau systémique, l'EMS entraîne une augmentation plus importante de la consommation d'oxygène, de la ventilation et de la FC par rapport à une contraction volontaire de même intensité sollicitant la même masse musculaire (Theurel *et al*, 2007). Collectivement, ces études montrent que l'EMS génère une demande métabolique plus élevée que l'EX volontaire.

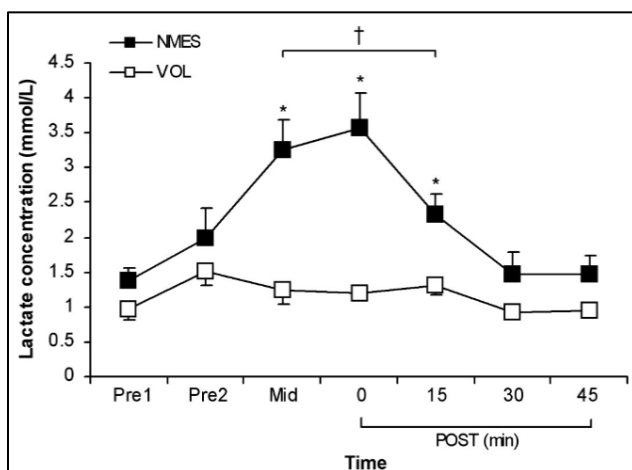


Figure 25 : Comparaison de l'EX volontaire et de l'EMS sur la production de lactate

Le lactate a été mesuré à l'aide de bandelettes réactives après prélèvement d'une goutte de sang au lobe de l'oreille. La séance d'EMS (NMES) consistait en 40 contractions du muscle quadriceps (75 Hz, 0,4 ms, 6,25 s, ON, 20 s OFF). L'EX volontaire comprenait une session de 40 contractions isométriques volontaires sur une machine de musculation, avec la même force développée que lors du protocole d'EMS. Alors que l'EX volontaire (VOL) de musculation n'a pas induit de changement dans la lactatémie, le NMES a entraîné des élévations pendant, immédiatement et jusqu'à 15 min après la séance. D'après Jubeau et al. (2008). **Veillez noter que nous avons mesuré la lactatémie immédiatement après nos protocoles d'EMS chez l'Homme et le rat.**

3.2.3 Lésions musculaires

Enfin, l'EMS est également connue pour induire des lésions musculaires parfois substantielles. Chez l'Homme, une étude de Mackey et ses collègues (2008) a montré des

preuves histologiques de lésions musculaires dans le muscle gastrocnémien 48 h après une séance d'EMS (intensité maximale tolérable, 60 Hz, 0,3 ms) (Mackey *et al*, 2008). Ils ont observé une désorganisation des sarcomères, une augmentation des fibres négatives à la desmine et une infiltration de macrophages à la suite de l'EMS (Figure 26a-b). Ces lésions sont similaires à celles observées après un EX excentrique (Figure 26c) (Lauritzen *et al*, 2009). Dans une autre étude, les auteurs ont rapporté que l'EMS entraînait une élévation de la prolifération des cellules satellites, démontrant que les lésions musculaires induites par l'EMS sont suivies du processus de régénération (Mackey *et al*, 2011).

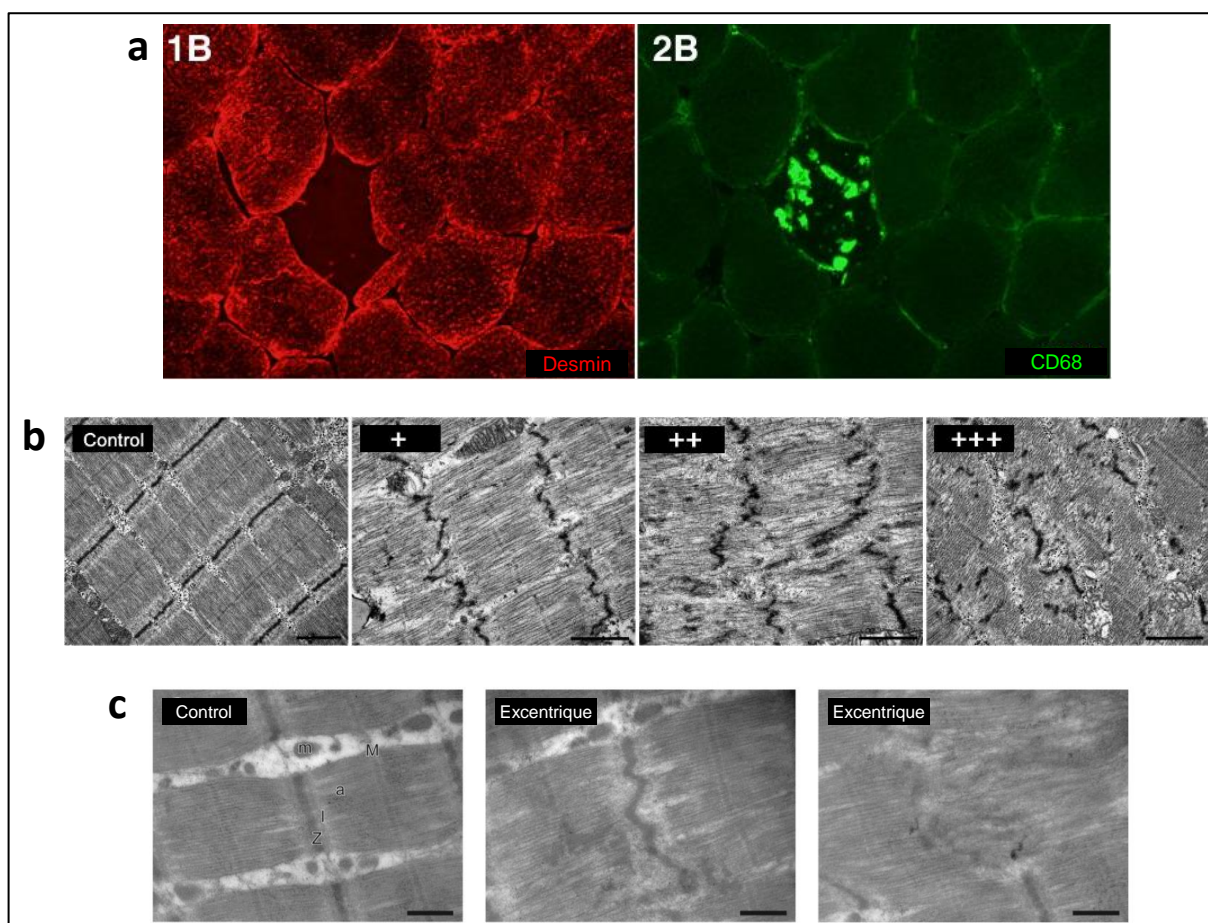


Figure 26 : Preuves histologiques des lésions musculaires induites par l'EMS

a, b Des biopsies musculaires ont été prélevées 48 h après une séance d'EMS, avec une intensité maximale tolérable, une fréquence de 60 Hz et une durée d'impulsion de 0,3 ms. L'analyse par immunofluorescence révèle la présence de fibres musculaires présentant un marquage négatif à la desmine (illustration dans le coin supérieur gauche), ce qui suggère une altération des filaments des sarcomères au sein des fibres. Parallèlement, des cellules affichant une positivité au marqueur CD68 sont observées, indiquant la présence de macrophages (coin supérieur droit). En complément de ces observations, l'examen en microscopie électronique met en évidence une désorganisation variable des sarcomères, avec des degrés allant de légers à plus prononcés (+ à +++). D'après Mackey *et al*. (2008). **c** Des biopsies musculaires ont été prélevées à différents temps après une session d'EX excentrique réalisée sur ergomètre isocinétique. De façon semblable à l'EMS, la microscopie électronique révèle une désorganisation des sarcomères à des degrés variables. D'après Lauritzen *et al*. (2009). **Veillez noter que nous avons réalisé des colorations histologiques sur des coupes de muscles de rats électrostimulés afin de vérifier l'intégrité du tissu musculaire.**

D'autres études ont révélé une augmentation des biomarqueurs circulants des lésions musculaires, telles que la créatine kinase (CK) et la LDH après une EMS aiguë (Mackey *et al*, 2008; Nosaka *et al*, 2011). Notamment, des protocoles d'EMS du corps entier ont entraîné des taux anormalement élevés de CK, signe de rhabdomyolyse, ce qui limite l'utilisation de ce type de protocole (Kästner *et al*, 2015; Kemmler *et al*, 2015). Les analyses par IRM ont montré un temps de relaxation T2 plus élevé après un protocole d'EMS appliquée sur le quadriceps, en raison de l'œdème et de l'inflammation intramusculaire (Fouré *et al*, 2019, 2015a, 2015b, 2014). Ces lésions se traduisent par une perte de force temporaire et des douleurs musculaires retardées (DOMS, delayed onset muscle soreness) atteignant leur pic environ 2 jours après l'EMS et s'atténuant après 5 à 7 jours (Mackey *et al*, 2011; Fouré *et al*, 2015a, 2020). Les comparaisons ont révélé que l'EMS entraînait davantage de lésions musculaires, de DOMS et une augmentation plus importante de la CK sanguine par rapport à l'EX volontaire isométrique et équivalent à l'EX excentrique (Jubeau *et al*, 2012; Nosaka *et al*, 2011). Cependant, une deuxième session d'EMS, réalisée 7 jours après la première, semble réduire ces effets, suggérant une adaptation (Mackey *et al*, 2011; Aldayel *et al*, 2010). De plus, les protocoles à basses fréquences induisent moins de lésions et de DOMS que les protocoles à hautes fréquences (Black & McCully, 2008). Ainsi, il est possible de limiter les dommages musculaires induits par l'EMS en jouant sur la progressivité et les paramètres de stimulation.

3.2.4 Adaptations chroniques

Il a été démontré que l'application chronique d'un protocole d'EMS peut entraîner des améliorations de la force musculaire presque comparables à celles obtenues par l'EX en résistance chez des individus en bonne santé (Duchateau & Hainaut, 1988). Des effets positifs de l'EMS sur la force et la masse musculaire ont également été observés dans un large éventail de patients fragiles en soins intensifs ainsi que chez des personnes âgées (Abu-Khabber *et al*, 2013; Mancinelli *et al*, 2019). Au-delà de son impact sur la force musculaire et la masse, l'EMS peut également contrer le déconditionnement cardiorespiratoire et l'intolérance à l'EX associés à plusieurs affections telles que l'insuffisance cardiaque et la broncho-pneumopathie chronique obstructive (Nuhr *et al*, 2004; Hill *et al*, 2018). Sur le plan biologique, l'EMS semble induire un changement du phénotype rapide à lent, comme en témoigne l'augmentation des fibres de type I et l'élévation de la teneur en enzyme oxydative dans le muscle squelettique (Nuhr *et al*, 2003, 2004; Gondin *et al*, 2011a; Minetto *et al*, 2013). Par ailleurs, il a été rapporté que l'EMS peut améliorer la fonction endothéliale chez les patients souffrant d'insuffisance cardiaque (Tanaka *et al*, 2016). Chez les patients diabétiques, une récente méta-analyse a rapporté que l'EMS contribue à améliorer le contrôle de la glycémie (Sanchez *et al*, 2023). De manière intéressante, l'application de l'EMS chez des souris

soumises à un choc septique a même permis d'améliorer leur survie (Irahara *et al*, 2020). L'ensemble de ces données révèle que l'EMS peut avoir de multiples effets bénéfiques sur les fonctions musculaire, cardiorespiratoire, endothéliale et le contrôle métabolique. Cependant, il convient de noter que son impact sur la fonction cérébrale reste peu exploré.

3.3 Effets de l'EMS sur la fonction cérébrale

Les effets de l'EMS sur le cerveau sont moins bien caractérisés que ceux de l'EX. De plus, les études portant sur les effets de l'EMS chez l'animal sont relativement rares, en partie en raison des défis liés à la reproduction de cette stimulation chez de petits animaux de laboratoire. En conséquence, en raison du nombre limité d'études disponibles et des résultats parfois contradictoires, une certaine controverse subsiste. Dans cette section, nous explorerons l'impact de l'EMS sur le comportement, sur le BDNF, ainsi que les mécanismes associés à l'augmentation du BDNF (voie neuronale, hémodynamique, endocrine).

3.3.1 Influence de l'EMS sur le comportement

Bien que des études aient démontré les effets bénéfiques de l'EX sur les fonctions cognitives et le bien-être psychologique, peu de recherches se sont intéressées aux effets des protocoles d'EMS sur ces paramètres, et les résultats sont mitigés. Une étude datant de 1992 a signalé une amélioration de l'état psychologique négatif et un effet antidépresseur grâce à un protocole de FES mis en place pendant 30 semaines chez des patients paraplégiques (Twist *et al*, 1992). Cependant, aucune amélioration n'a été observée concernant l'anxiété, la dépression ou la qualité du sommeil chez des patients atteints d'un cancer du larynx avancé, suivant un protocole d'EMS de 8 semaines comprenant deux séances hebdomadaires (Zhang *et al*, 2018). En ce qui concerne la cognition, une étude récente a révélé qu'une seule séance d'EMS aiguë à basse fréquence (4 Hz, 250 μ s) n'améliorait pas les performances sur la tâche de Stroop ou le test des cartes de Wisconsin chez des participants en bonne santé (Miyamoto *et al*, 2018b). De plus, une autre étude a montré que la performance à la tâche Go/No Go évaluant les fonctions exécutives chez des sujets sains ne changeait pas après une séance d'EMS appliquée sur l'ensemble des muscles des membres inférieurs (4 Hz et 20 Hz, 250 μ s) (Ando, 2022).

Chez les souris C57BL/6J, la stimulation du nerf sciatique imitant la NEUROstim (100 Hz, 0,1 ms, 40 contractions, 4 s ON, 4 s OFF, 8 semaines, 2 sessions/semaine) n'a pas permis d'améliorer les performances à la piscine de Morris, au rotarod et au test de conditionnement

contextuel de la peur, indiquant qu'il n'y avait pas d'impact sur la mémoire spatiale, la motricité et la mémoire émotionnelle ([Gardner et al, 2020](#)). En outre, dans la même étude, les auteurs ont également rapporté que le protocole de NEUROstim n'avait pas permis d'augmenter la neurogénèse hippocampique, mais a plutôt produit une augmentation du nombre d'astrocytes. Cependant, il faut souligner que le nombre de sessions réalisées par semaine dans cette étude était faible, et loin des recommandations actuelles qui préconisent 30 min d'EX par jour. Enfin, en utilisant un protocole d'implantation d'électrodes de part et d'autre de différents muscles, reliées à un stimulateur permettant d'envoyer les impulsions électriques dans une séquence précise afin de reproduire la FES (100 Hz, 0,3 ms, 3x10 min/jour pendant 2 semaines, modèle de course sur une échelle à 12 m/min) chez les rongeurs, il a été montré que la FES pouvait restaurer la performance sur le NORT et le labyrinthe de Barnes à la suite d'une chirurgie 2VO ([Lin et al, 2015b, 2015c](#)). Dans l'ensemble, les données disponibles sont limitées, et il sera nécessaire d'approfondir les études sur les effets de l'EMS sur les résultats cognitifs à l'avenir.

3.3.2 EMS, BDNF cérébral et circulant

De manière intéressante, les auteurs ont observé que les effets bénéfiques induits par la FES sur le comportement étaient associés à une augmentation de BDNF, de la phosphorylation de son récepteur TrkB et des voies de signalisation en aval (p-Akt, p-ERK, p-CREB) dans l'hippocampe ([Lin et al, 2015c](#)). En accord avec ces résultats, la FES a restauré les niveaux de protéines synaptiques (PSD-95, SYN) et amélioré la survie des neurones hippocampiques après la chirurgie 2VO. Une autre étude, utilisant un protocole de FES (100 Hz, 0,3 ms, 3x10 min/jour, modèle de course sur tapis roulant à 20 m/min) chez des rats soumis à une MCAO, a également montré des élévations de BDNF dans l'hippocampe et le striatum, mais pas dans le cortex ([Ke et al, 2011b](#)). Il a également été démontré que la NEUROstim (50 contractions, 100 Hz, 1 ms, 3 s ON, 7 s OFF) augmentait l'expression hippocampique de BDNF et l'activation du récepteur TrkB ([Maekawa et al, 2018](#)). De façon surprenante, dans cette étude, l'expression hippocampique des ARNm de BDNF était inchangée malgré les augmentations protéiques observées. Enfin, en utilisant un protocole d'EMS avec des électrodes fabriquées à l'aide de gel conducteur et maintenues sur la peau rasée des animaux, il a été rapporté que l'EMS appliquée sur le triceps et le biceps brachial chez le rat (50 Hz, 150 μ s, 5 s ON, 10 s OFF, session de 10, 20 ou 30 contractions, 5 jours / semaine, pendant 4 semaines) conduisait à une augmentation des taux d'ARNm de BDNF, de VEGF et d'IGF-1 dans l'hippocampe ([Dalise et al, 2017](#)). Alors que les élévations de VEGF et d'IGF-1 étaient indépendantes du nombre de contractions utilisées, les auteurs rapportent que l'élévation de BDNF s'est produite uniquement avec des sessions de 10 contractions. Fait important, dans

cette étude, une élévation des taux sériques de BDNF a été observée avec l'EMS, mais pas de VEGF et d'IGF-1.

Tableau II : Effet des protocoles de NMES sur l'expression cérébrale de BDNF

Référence	Animal	Modèle	BDNF	Autre
Lin et al. (2015)	Rat mâle Sprague–Dawley soumis à une 2VO	FES. 100 Hz, 0,3 ms, 3x10 min/jour pendant 2 semaines, modèle de course sur une échelle à 12 m/min	↑ BDNF protéique (hippocampe)	↑ TrkB, p-ERK, p-Akt, p-CREB (hippocampe)
Ke et al. (2011)	Rat mâle Sprague–Dawley soumis à une MCAO	FES. 100 Hz, 0,3 ms, 3x10 min/jour, modèle de course sur tapis roulant à 20 m/min	↑ BDNF protéique (hippocampe et striatum) = BDNF protéique (cortex)	↑ corticostérone circulante ↑ récupération motrice
Maekawa et al. (2018)	Rat mâle Sprague–Dawley de 7 semaines	NEUROstim. Nerf sciatique. 50 contractions, 100 Hz, 1 ms, 3s ON, 7s OFF.	↑ BDNF protéique (hippocampe) = ARNm de BDNF (hippocampe) = BDNF protéique (muscle)	↑ FNDC5, p-TrkB, p-Akt = ARNm de FNDC5, synaptophysine
Dalise et al. (2017)	Rat mâle Sprague–Dawley de 12 semaines	EMS. Biceps/Triceps brachial. 50 Hz, 150 µs, 5s ON, 10s OFF, session de 10, 20 ou 30 contractions, 5 jours / semaine pendant 4 semaines	↑ BDNF circulant indépendamment du nombre de contraction ↑ ARNm de BDNF avec seulement 10 contractions (hippocampe)	= VEGF et IGF1 circulant ↑ VEGF et IGF1 (hippocampe)

Chez l'Homme, nous avons trouvé 8 études dans la littérature ayant mesuré les niveaux sanguins de BDNF après un protocole d'EMS. Parmi celles-ci, une seule a rapporté qu'il n'y avait aucun effet de l'EMS du corps entier (75-85 Hz, 0,35 ms, intensité maximale tolérable, 4 s ON, 4 s OFF) sur les taux circulants de BDNF chez des patients atteints de la MP (Fiorilli et al, 2021). De manière contradictoire, une autre étude menée chez des sujets sains, comparant l'EMS du quadriceps à celui de l'ensemble des muscles des membres inférieurs (20 Hz, 0,1 ms, intensité maximale tolérable, 1 session, 23 min), a rapporté une augmentation plus importante du BDNF lorsque la masse musculaire stimulée était plus importante (Nishikawa et al, 2023). De même, l'EMS superposé à l'EX volontaire (cyclisme) chez des sujets sains a suffi à augmenter les taux circulants de BDNF (Wahl et al, 2015). De manière intéressante, il a été rapporté une augmentation plus importante des taux sériques de BDNF avec l'EMS appliquée sur le quadriceps de sujets sains (20 Hz, 0,3 ms, 31,3 mA, 4,5 s ON, 4,5 s OFF, 1 session, 20 min) par rapport à l'EX volontaire (Kimura et al, 2019). Des résultats similaires ont été observés en comparant l'EMS du corps entier à l'EX de type HIIT sur les taux sanguins de BDNF chez des individus obèses (Ghalamsiah & Nourshahi, 2023). Chez les patients diabétiques de type 2, l'EMS chronique a également induit une augmentation des taux plasmatiques de BDNF (Miyamoto et al, 2018a). En accord avec ces résultats, la réalisation chronique de séances d'EMS à domicile chez 3 personnes âgées a conduit à une augmentation des taux sériques de BDNF (Nishikawa et al, 2021). Enfin, il est intéressant de noter que même si l'EMS a

provoqué une augmentation significative des taux circulants de BDNF, cette élévation n'a pas été corrélée à une amélioration de la fonction exécutive à la suite du protocole d'EMS (Miyamoto *et al*, 2018b).

3.3.3 Effet de l'EMS sur les voies sous-jacentes à l'élévation du BDNF

Voie neuronale. L'activation neuronale lors de l'EMS a été étudiée chez l'Homme grâce à l'IRM. Les résultats ont révélé une activation de plusieurs régions, notamment le cortex moteur primaire (M1), le cortex somatosensoriel primaire (S1), le gyrus cingulaire, le thalamus et le cervelet. Ces activations étaient proportionnelles à l'intensité de la stimulation (Smith *et al*, 2003). De plus, il a été montré qu'un protocole d'EMS « classique (25 Hz, 50 μ s) » et un protocole d'EMS « WPHF (100 Hz, 1 ms) » entraînent tous les deux l'activation des zones sensorimotrices (M1, S1, S2, thalamus, cervelet) (Wegrzyk *et al*, 2017). L'augmentation de l'activité neuronale dans ces régions en l'absence de commande motrice peut être attribuée à l'activation des fuseaux neuromusculaires en réponse à la stimulation (Francis *et al*, 2000). De plus, les afférences cutanées stimulées par le courant appliqué sur la peau peuvent également contribuer à l'augmentation de l'activité neuronale dans S1 et S2 (Allison *et al*, 1991). Il est intéressant de remarquer que tout comme l'EX, des élévations de l'excitabilité corticale de M1 ont été observées après un protocole d'EMS (Chipchase *et al*, 2011). Des observations ont également montré des augmentations de l'oxygénation du cortex sensorimoteur pendant l'EMS (Re *et al*, 2013; Muthalib *et al*, 2015). Cependant, chez la souris, la stimulation du nerf sciatique pour induire la contraction musculaire n'a pas entraîné une augmentation de l'expression de c-fos, un marqueur de l'activité neuronale, dans l'hippocampe (Gardner *et al*, 2020). Ainsi, il semble que l'EMS active principalement des régions liées au contrôle sensorimoteur via les afférences musculaires et cutanées.

Voie hémodynamique. Il n'y a actuellement qu'une seule étude ayant évalué l'effet de l'EMS sur le DSC (Figure 27) (Ando *et al*, 2021). Dans cette étude, il a été constaté qu'une session d'EMS de 20 min à basse fréquence (4 Hz), appliquée à l'aide de sangles sur différentes parties du corps de sujets en position allongée, a provoqué une augmentation du flux sanguin dans l'artère carotide interne (ACI). Cependant, aucune modification n'a été observée au niveau de l'artère vertébrale (AV). Ces changements ont été associés à une légère hypercapnie (+1,6 mmHg) ainsi qu'à une augmentation de la FC (+21 bpm). Dans une autre étude non publiée, menée par l'un des doctorants de notre laboratoire, il a été montré que l'EMS appliquée uniquement sur le muscle quadriceps induisait une élévation du flux dans l'ACM (+ 6 %), sans changement du flux dans l'artère cérébrale postérieure (ACP)

(Descollonges et al, données non publiées). De manière importante, il a été montré que l'EX aérobie effectué sur tapis roulant conduit à des élévations plus importantes du flux sanguin dans l'artère carotide par rapport à un EX en résistance sollicitant une masse musculaire restreinte (par exemple, mouvement de « biceps curl » pour solliciter les muscles biceps brachiaux) (Montalvo et al, 2022). Ainsi, il est probable que la masse musculaire engagée lors de l'EMS est un facteur critique pour induire une élévation du DSC.

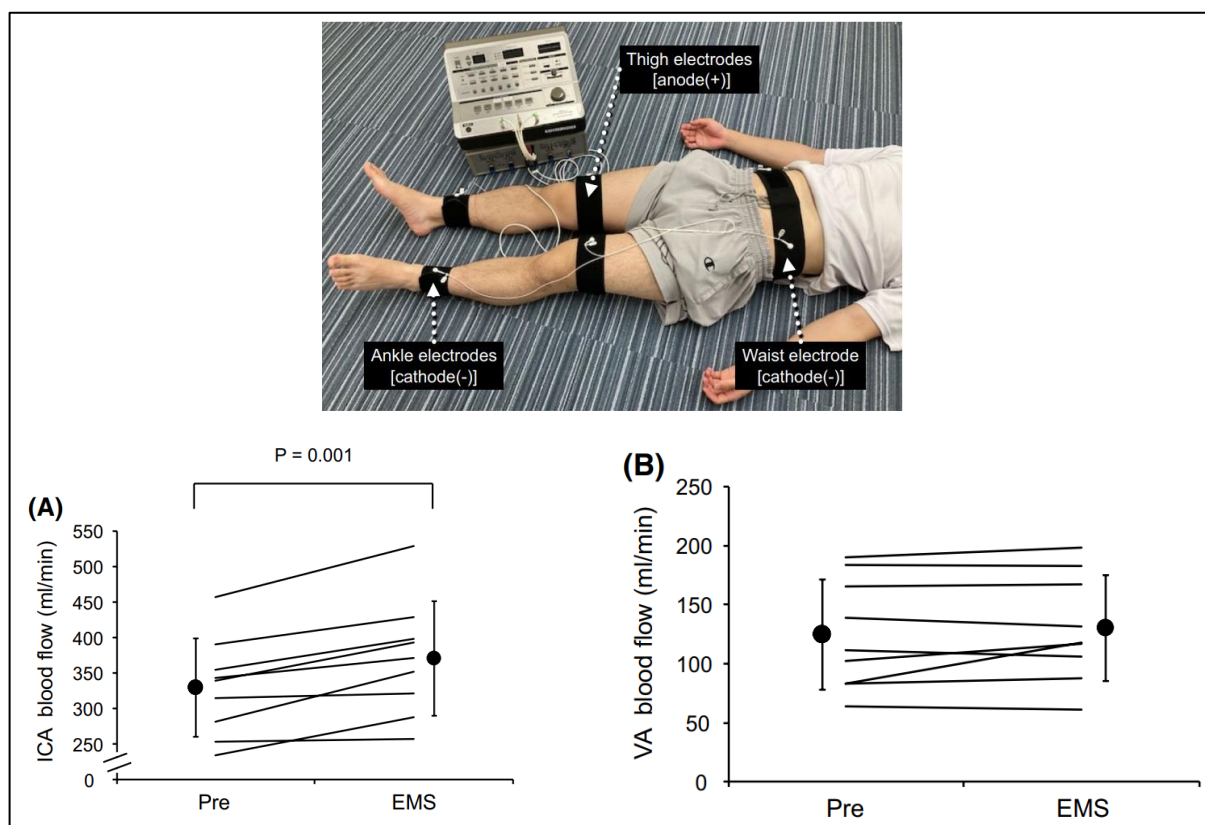


Figure 27 : Effet de la stimulation d'une large masse musculaire sur le DSC chez l'Homme

En haut. Image de la stimulation musculaire électrique. Une ceinture d'électrodes était fixée à la taille ainsi que sur les parties distales bilatérales de la cuisse et de la cheville avec des sangles. Ainsi, la stimulation était appliquée sur l'abdomen, les fessiers, les cuisses et le bas des jambes. Vitesse du flux sanguin dans l'artère carotide interne (ICA) (A) et l'artère vertébrale (VA) (B) avant et immédiatement après la stimulation. Les lignes représentent des données individuelles (N=9). D'après Ando et al. (2021).

Voie endocrine. Les données concernant les effets de l'EMS sur la sécrétion de myokines sont encore rares. Comme mentionné précédemment, l'EMS induit la libération de lactate, mais une session aiguë de NEUROstim, appliquée au nerf sciatique, n'a pas entraîné d'augmentation de l'expression musculaire de FNDC5 et des niveaux circulants d'irisine mesurés trois heures après le sacrifice des animaux (Maekawa et al, 2018). En revanche, chez les rats soumis à une ischémie cardiaque, une élévation de FNDC5 musculaire a été observée à la suite d'un protocole d'EMS appliqué aux muscles gastrocnémiens (secousse musculaire, 10 Hz, 0,25 ms, 35 min par jour pendant 3 jours consécutifs), bien que cela n'ait

eu aucun effet sur l'irisine circulante (Szabó *et al*, 2023). Il est intéressant de noter que chez les individus obèses, une élévation de l'irisine circulante a été observée après un protocole d'EMS du corps entier, et cette augmentation était positivement corrélée à l'élévation du BDNF circulant (Ghalamsiah & Nourshahi, 2023). Chez les patients paralysés soumis à un protocole d'EMS chronique (200 à 500 mA, 5 à 20 Hz, 0,2 ms, 3 fois par semaine pendant 3 à 6 mois), une augmentation de l'expression génique de PGC-1 α et de FNDC5 a été observée, mais les taux d'irisine n'ont pas été investigués dans cette étude (Petrie *et al*, 2020). De plus, chez les patients en unité de soins intensifs, l'EMS (secousse musculaire, 45 Hz, 0,35 ms, 8 s ON, 12 s OFF, 7 jours consécutifs pendant 1 h par jour) a permis d'augmenter l'expression de FNDC5 dans le vaste latéral (Vanhorebeek *et al*, 2023). En conclusion, les données disponibles suggèrent que l'EMS peut influencer la synthèse et la sécrétion de myokines, mais des recherches supplémentaires sont nécessaires.

4. RÉSUMÉ ET OBJECTIF

Un ensemble croissant de preuves soutient l'efficacité de l'EX pour améliorer la cognition et le bien-être psychologique, ainsi que pour prévenir et atténuer les manifestations pathologiques de divers troubles cérébraux. Ces bienfaits de l'EX pour la santé cérébrale sont associés à des mécanismes de plasticité cérébrale observés tant chez l'Homme que chez les rongeurs. Plus précisément, l'EX a des effets positifs sur la structure cérébrale, modifie l'excitabilité corticale et améliore la circulation sanguine cérébrale chez l'Homme. Parallèlement, les études sur les animaux ont montré que l'EX stimule la neurogenèse, favorise la plasticité synaptique, renforce la fonction des cellules gliales et induit une angiogenèse cérébrale. En outre, il est bien établi que le BDNF joue un rôle essentiel dans la médiation des effets positifs de l'EX sur le cerveau, et que son augmentation est liée à l'activité neuronale, au DSC et à la libération d'exerkines.

Cependant, de nombreuses personnes ne sont pas en mesure de s'engager dans un programme d'EX actif en raison de diverses contraintes telles que l'alitement, la fragilité physique, le handicap moteur ou des contre-indications médicales. Dans ce contexte, l'EMS, déjà utilisée en clinique pour le renforcement musculaire, pourrait constituer une alternative à l'EX pour préserver la santé cérébrale. Néanmoins, il est important de noter que la physiologie des contractions volontaires et celle des contractions induites par l'EMS présentent de nombreuses différences, notamment en ce qui concerne le recrutement des unités motrices et la sollicitation métabolique. Au niveau cérébral, les effets de l'EMS ont été peu étudiés et les résultats sont mitigés. L'EMS semble augmenter l'activité neuronale dans les régions

sensorimotrices et pourrait également accroître le DSC dépendamment de la masse musculaire stimulée. De plus, l'EMS pourrait favoriser la production d'exerkines tels que le lactate et l'irisine, contribuant alors à l'augmentation de l'expression de BDNF.

Dans ce contexte, le projet de cette thèse était d'évaluer dans quelle mesure l'EMS pourrait être une alternative viable à la pratique de l'EX actif pour maintenir ou améliorer la santé cérébrale. Nous avons examiné l'impact de protocoles de stimulation, impliquant une large masse musculaire (racines nerveuses lombaires) et une stimulation plus ciblée (quadriceps), sur l'expression de BDNF dans le cerveau, ainsi que sur les mécanismes sous-jacents à sa surproduction (activité neuronale, DSC, irisine, lactate). De plus, nous avons évalué l'impact de l'EMS localisé (quadriceps) sur la cognition et l'humeur chez des individus en bonne santé. Enfin, des études complémentaires ont été réalisées durant ce travail de thèse, notamment l'investigation des mécanismes de sécrétion de l'irisine par les cellules musculaires et la localisation cellulaire du BDNF dans le muscle squelettique de rat.

PARTIE II : MATÉRIELS ET MÉTHODES

1. PROTOCOLE D'EMS CHEZ L'HOMME

Pour les études impliquant des sujets humains, les investigations ont été approuvées par le comité scientifique de la Faculté des Sciences du Sport de l'Université de Bourgogne, à Dijon (CPP EST : numéro d'approbation A00064-49) et elles ont été menées en conformité avec les principes de la Déclaration d'Helsinki. Les participants ont été pleinement informés des détails de l'étude, des risques potentiels et des désagréments associés aux expériences. Tous les participants ont donné leur consentement éclairé avant de participer.

Pour mettre en œuvre l'EMS, les participants ont été invités à s'installer confortablement sur une chaise équipée d'un dispositif de fixation des chevilles, permettant de solliciter les muscles du quadriceps en mode isométrique. Deux électrodes carrées de dimensions 5x5 cm (Fyzéa, BAS95050, La Roche-sur-Yon, France) ont été respectivement positionnées sur le muscle vaste latéral et le muscle vaste médial, tandis qu'une électrode plus grande de 5x10 cm a été appliquée sur le muscle droit fémoral pour induire une contraction du quadriceps. Ces électrodes étaient connectées à un stimulateur (Cefar Rehab X2, 111126) qui permettait de configurer les paramètres du courant de la manière suivante : une fréquence de 100 Hz, une largeur d'impulsion de 0,4 ms, 7 s ON suivies de 14 s OFF, pendant une durée de 30 min. Au cours de la session, l'intensité de stimulation a été progressivement augmentée jusqu'à atteindre le niveau maximal tolérable par chaque participant (commençant de 6 mA, allant de 26 à 99 mA selon les sujets).

Les caractéristiques des participants sont détaillées dans le **Tableau III**. Dans une première étude impliquant 40 participants (cohorte 1), nous avons étudié les effets aigus de l'EMS sur les fonctions cognitives. Au sein de cette investigation, tous les sujets se sont rendus au laboratoire à deux reprises, avec un intervalle de 7 jours entre les visites. La première visite avait pour but de familiariser les participants avec l'expérimentateur, le protocole d'EMS et les évaluations cognitives, tandis que la seconde avait pour objectif d'évaluer l'impact de l'EMS sur les capacités cognitives. De plus, nous avons également réalisé un enregistrement de paramètres physiologiques pendant les séances d'EMS, comme décrit ci-dessous. Dans une seconde série d'expériences menées sur un groupe de 8 participants (cohorte 2), nous avons reproduit les mêmes protocoles que ceux utilisés dans la première cohorte, en y ajoutant la mesure de la lactatémie, comme elle sera décrite dans la section 7.6.

Tableau III : Caractéristiques des sujets volontaires pour nos études

Cohorte	Cohorte 1 (n=40)		Cohorte 2 (n=8)
Groupe	CTRL (n=20)	EMS (n=20)	EMS (n=8)
Homme	14	14	6
Femme	6	6	2
Âge	22,2 ± 3,4	24,8 ± 2,5	24,2 ± 1,7
IMC	21,7 ± 2,2	21,6 ± 1,9	22,5 ± 3,0
Caféine	8	8	3
Tabac	2	2	1

Caféine : nombre d'individu ayant consommé de la caféine le jour de l'expérimentation. La caféine peut interagir avec les performances cognitives et l'humeur. **Tabac** : nombre d'individu ayant une consommation régulière de tabac.

2. ENREGISTREMENT PHYSIOLOGIQUE CHEZ L'HOMME

Au cours des 30 min d'EMS, nous avons procédé à la surveillance de la FC et de la PA en utilisant un tensiomètre brachial (Torm, BP 3NZ1 -3P), de la saturation en oxygène à l'aide d'un oxymètre de pouls de marque (SaO₂, Braun, YK-81CEU) et de la température corporelle grâce à un thermomètre laser frontal (T°, Thermo FH2 - Thomson).

3. ÉVALUATION NEUROPSYCHOLOGIQUE CHEZ L'HOMME

Dans le but d'évaluer les effets de l'EMS sur la cognition, nous avons réalisé des tests pour évaluer la fonction exécutive (Stroop), la mémoire épisodique (liste de 15 mots) et la mémoire spatiale (figure de Rey). En parallèle, nous avons également examiné les effets de l'EMS sur les états d'humeur auto-déclarés en utilisant le questionnaire POMS.

3.1 Test des mots de couleur de Stroop

La version standardisée de la tâche de Stroop a été utilisée dans la présente étude (**Figure 28a**). Il se composait de 3 pages, chacune contenant 100 éléments répartis en 10 colonnes de 10 éléments. Sur la première page, les mots « bleu », « rouge », « jaune » et « vert » traduits en français étaient imprimés en encre noire. Sur la deuxième page, les mots étaient imprimés comme « XXXX » en bleu, rouge, jaune et vert. La dernière page se composait des mêmes mots de couleurs imprimés dans une couleur discordante (par exemple, « bleu » écrit en encre jaune) et le participant devait nommer la couleur de l'encre. Le nombre de mots lus en 45 s et le nombre d'erreurs commises étaient évalués. Lors de la session de

familiarisation (7 jours avant la session d'évaluation), les participants ont réalisé 3 blocs de 45 s pour chaque page afin d'éviter un effet d'apprentissage. Pour la session d'évaluation, les participants ont réalisé un bloc pour chaque condition avant et après l'EMS.

3.2 Figure complexe de Rey-Osterrieth

Ce test impliquait une phase d'apprentissage de 3 min avant l'EMS et d'une reproduction de la figure immédiatement après l'EMS. Les scores ont été analysés en double aveugle sur une échelle de 72 points. La figure de Rey est présentée dans la **Figure 28b**.

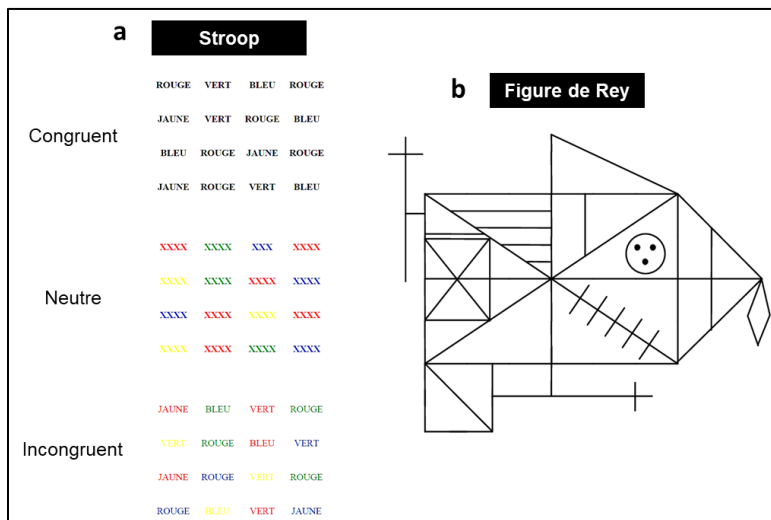


Figure 28 : Tâche de Stroop et Figure de Rey

a La tâche de Stroop était constituée de trois conditions : congruente, neutre et incongruente. Les sujets devaient lire le plus de mot possible en 45 s. **b** Tracé de la figure de Rey fournit au sujet le jour de l'évaluation.

3.3 Liste de 15 mots

Ce test a été immédiatement réalisé après l'EMS. Les participants ont été exposés à une première série de 15 mots (liste A) pendant une période de 3 min, puis ils ont été invités à restituer autant de mots que possible. Les sujets ont ensuite été exposés à une deuxième série de 15 mots (liste B) pendant la même durée de 3 min. Ils ont ensuite été sollicités pour restituer les mots de la liste B, suivis des mots de la liste A, afin d'évaluer la mémoire en présence d'interférence. Enfin, 24 h après la session, les participants ont été contactés par téléphone pour un rappel différé de la liste A. Les listes de mots A et B étaient les mêmes pour tous les sujets (**Tableau IV**).

Tableau IV : Liste de 15 mots utilisée chez l'Homme

Liste A	Violon, Arbre, Cravate, Jambon, Valise, Cousin, Oreille, Couteau, Escalier, Chien, Banane, Outil, Chasseur, Seau, Campagne
Liste B	Orange, Fauteuil, Crapaud, Bouchon, Voiture, Menton, Rivage, Savon, Hôtel, Cheval, Insecte, Toilette, Marmite, Soldat, Serrure

3.4 Questionnaire POMS

Les participants devaient indiquer leur ressenti par rapport à 35 adjectifs (**Tableau V**) au cours des dernières heures, y compris le moment présent, en utilisant une échelle de cinq points allant de 0 (pas du tout) à 4 (extrêmement). Le questionnaire est subdivisé en 6 catégories d'humeur : anxiété, dépression, hostilité, vigueur, fatigue et confusion. Le POMS a été réalisé avant et après l'EMS.

Tableau V : Liste des adjectifs utilisée dans le questionnaire POMS

Anxiété	Tendu, Énervé, Mal à l'aise, Agité, Nerveux, Anxieux
Dépression	Malheureux, Triste, Sans espoir, Découragé, Cafardeux, Désespéré, Sans valeur
Colère	En colère, Grognon, Contrarié, Plein de ressentiment, Amer
Fatigue	Lessivé, Fatigué, Épuisé, Las, Extenué
Vigueur	Plein de vie, Actif, Énergique, Plein d'énergie, Furieux, Vigoureux
Confusion	Confus, Incapable de se concentrer, Pensée embrouillée, Négligeant

4. MODÈLES DE STIMULATION *IN VIVO* CHEZ LE RAT

Les procédures impliquant des animaux ont été conduites en conformité avec les directives du ministère de l'Agriculture français (licence 21-CAE-102), et ont été approuvées par le comité éthique local des expériences animales à Dijon (numéro d'agrément 105, #33300). Nos protocoles expérimentaux ont été soigneusement élaborés pour minimiser tout potentiel de souffrance chez les animaux utilisés.

Toutes nos études ont été menées sur des rats mâles adultes de la souche Wistar, acquis auprès de Janvier Labs (Le Genest-Saint-Isle, France). Les animaux ont été hébergés par groupes de cinq dans des cages, avec un cycle jour/nuit de 12 h/12 h, et un accès libre à la nourriture et à l'eau. Les conditions d'hébergement ont été maintenues dans une armoire ventilée avec une température ambiante contrôlée entre 20 et 24 °C, ainsi qu'une humidité de 45 à 65 %.

Au cours de la thèse, nous avons utilisé deux modèles de stimulation distincts chez les rats (**Figure 29**). Le premier modèle impliquait la stimulation des racines nerveuses lombaires provoquant la contraction d'une grande masse musculaire. Le second modèle consistait en une stimulation plus localisée, visant uniquement les muscles quadriceps des animaux.

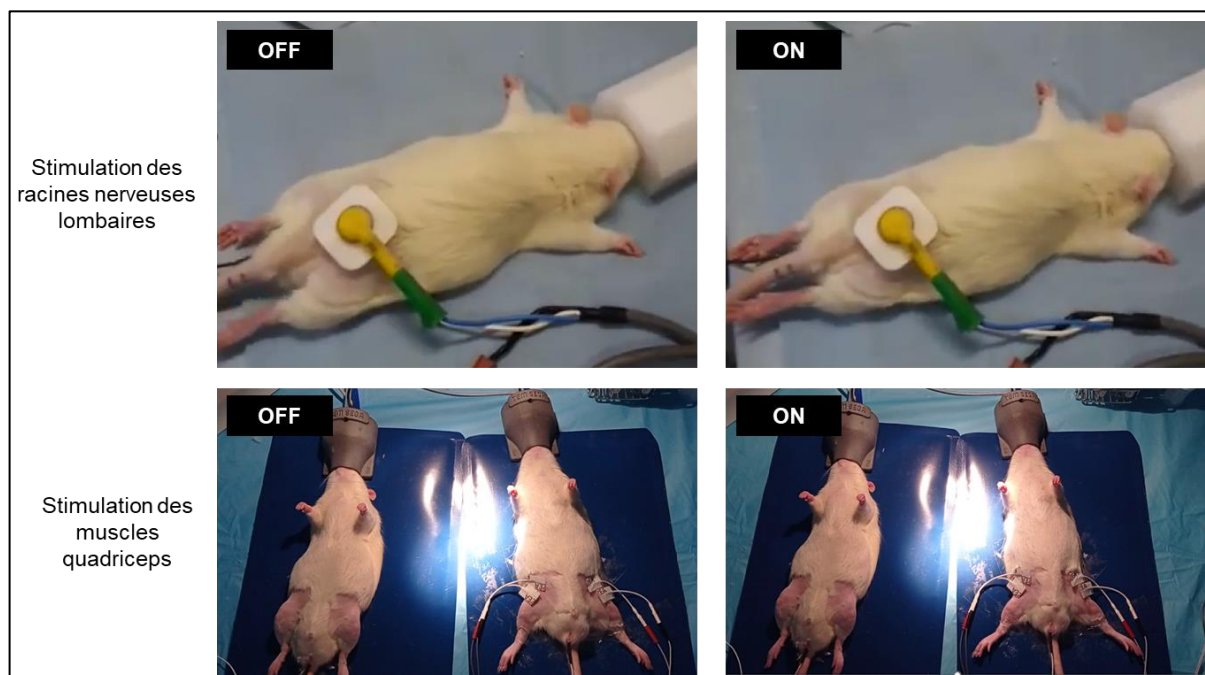


Figure 29 : Modèles de stimulation utilisés durant la thèse

La stimulation des racines nerveuses lombaires consistait à raser le dos et l'abdomen des animaux afin d'y placer une anode et une cathode, respectivement. La phase OFF correspond à l'absence de courant. La phase ON correspond à l'envoi des trains de stimulation. On peut observer, pendant la phase ON, la contraction de l'ensemble des muscles des pattes postérieures. La stimulation des muscles quadriceps consistait à raser les cuisses des animaux afin d'y fixer deux électrodes de stimulation sur le quadriceps. Pendant la phase ON, on peut observer une légère extension du genou due à la contraction du quadriceps, bien que nous ayons bloqué les chevilles avec du ruban adhésif afin de maintenir des conditions isométriques, comme cela était le cas dans notre protocole d'EMS chez l'Homme. Dans ce protocole, les animaux ont été traités deux par deux, un SHAM et un EMS, grâce à l'achat d'un nouvel appareil d'anesthésie.

4.1 Stimulation des racines nerveuses lombaires

Dans nos études de stimulation des racines nerveuses lombaires chez les rats (protocole STIM), différentes méthodes d'anesthésie ont été employées. Les animaux ont été anesthésiés soit par inhalation gazeuse d'isoflurane (5 % pour l'induction, suivi de 2 % pour le maintien de l'anesthésie, Vetflurane de Virbac, Carros, France), soit par injection intrapéritonéale d'un mélange de kétamine et de xylazine (kétamine : Virbac, Carros, France, à une dose de 75 mg/kg ; xylazine : Bayer, Leverkusen, Allemagne, à une dose de 8 mg/kg, soit 0,115 mL/100g), ou encore par l'administration d'hydrate de chloral (Sigma-Aldrich, Saint-Quentin Fallavier, France, à une concentration de 4 %, à raison de 10 mL/kg par voie intrapéritonéale). Une fois anesthésiés, la zone abdominale et le dos des rats ont été rasés pour permettre le placement des électrodes. L'anode a été positionnée sur l'abdomen, tandis que la cathode a été placée au niveau des racines nerveuses lombaires, dans le but d'induire la contraction simultanée des deux membres postérieurs. Des électrodes circulaires d'un diamètre de 7 mm (Contrôle Graphique Medical, Brie-Comte-Robert, France) ont été utilisées et connectées à un stimulateur électrique (DS7AH, Digitimer, Hertfordshire, Royaume-Uni), contrôlé par le logiciel TIDA (Tida, Heka Elektronik, Lambrecht, Allemagne). La stimulation

électrique a été générée sous forme d'un courant rectangulaire biphasique avec une fréquence de 100 Hz, une durée d'impulsion de 0,2 ms, et avec des périodes de 6 s ON alternant avec 3 s OFF, sur une durée totale de 30 min. L'intensité du courant a été réglée à 2,5 ou 5 fois le seuil moteur (MT), défini comme la plus faible intensité de stimulation capable d'induire la contraction des deux membres postérieurs (généralement entre 6 et 7 mA pour chaque rat). L'intensité a été progressivement augmentée de manière continue (jusqu'à atteindre 70 mA) pour maintenir un niveau de contraction équivalent tout au long de la session.

4.2 Stimulation des muscles quadriceps

Les rats ont été préalablement soumis à une anesthésie gazeuse à l'isoflurane (5 % pour l'induction, puis 2 % pour le maintien de l'anesthésie). Par la suite, les cuisses ont été rasées afin d'y placer des électrodes de stimulation. Les électrodes utilisées étaient les mêmes que celles employées pour les études humaines, mais elles ont été coupées afin de les adapter à la morphologie des rats. Une électrode a été fixée sur la partie supérieure du quadriceps, tandis qu'une autre a été positionnée sur la partie inférieure, dans le but de déclencher la contraction musculaire. Le stimulateur électrique utilisé est identique à celui employé chez l'Homme (Cefar Rehab X2, 111126), et les paramètres du courant sont également les mêmes : une fréquence de 100 Hz, une largeur d'impulsion de 0,4 ms, avec des cycles de 7 s de stimulation suivis de 14 s de pause, pour une durée totale de 30 min. L'intensité de la stimulation a été progressivement augmentée, passant de 6 mA à 20 mA pour chaque rat, afin de maintenir un niveau de contraction similaire tout au long de la session.

5. PROCÉDURES CHIRURGICALES ET MESURE DE LA FC, LA PA ET LE DSC

Nous avons mené des procédures chirurgicales dans le but d'évaluer les variations de DSC en réponse à la stimulation des racines nerveuses lombaires (large masse musculaire). Toutes les procédures chirurgicales décrites ci-dessous ont été effectuées sous anesthésie intrapéritonéale, utilisant soit un cocktail de kétamine et de xylazine (kétamine : Virbac, Carros, France, à une dose de 75 mg/kg ; xylazine : Bayer, Leverkusen, Allemagne, à une dose de 8 mg/kg, soit 0,115 mL/100g administré par voie intrapéritonéale), soit de l'hydrate de chloral (Sigma-Aldrich, Saint-Quentin Fallavier, France, à une concentration de 4 %, à raison de 10 mL/kg, administré par voie intrapéritonéale). Il convient de noter qu'après avoir observé que le mélange anesthésiant de kétamine/xylazine interférait avec les variations hémodynamiques observées pendant la stimulation des racines nerveuses lombaires et entraînait une forte mortalité (50 %), nous avons opté pour l'hydrate de chloral comme agent anesthésique après

discussion avec le vétérinaire référant de l'époque. En outre, le cathétérisme, la trachéotomie et la stéréotaxie cérébrale couplé à la débimétrie doppler laser ont été utilisés pour mesurer la FC, la PA, le CO₂ expiré (PET-CO₂) et le DSC, respectivement.

Après l'anesthésie et l'administration d'héparine (50 UI/100 g, administrée par voie intraveineuse, Lovenox, Aventis, Strasbourg, France), la FC et la PA ont été enregistrées à partir d'un cathéter inséré dans une artère carotide commune, dans l'artère caudale ou dans une artère fémorale, en utilisant un moniteur de PA (Easy Graf, GOULD, États-Unis). Sachant que les valeurs de DSC chutent sous une PA de 50 mmHg (plage d'autorégulation cérébrale), nous avons exclus les rats avec une PA inférieure à 60 mmHg.

Les rats ont ensuite été ventilés (Harvard Apparatus, Fircroft, Eddenbridge, Royaume-Uni) avec de l'air ambiant par le biais d'un tube endotrachéal et placés sur un cadre stéréotaxique (Modèle 900, Kopf Instruments, Tujunga, CA, États-Unis). Il convient de noter que PET-CO₂ a été maintenue à 35 mmHg durant toutes nos expériences. Une zone circulaire de 5 mm de diamètre couvrant la représentation corticale du membre postérieur a été amincie à l'aide d'une fraise dentaire jusqu'à ce qu'une plaque crânienne translucide soit obtenue. Ensuite, cette plaque a été retirée avant de positionner une sonde connectée à un appareil de débimétrie Doppler laser (BLF21, Transonics Systems, NY, États-Unis) sur la dure-mère.

Plus précisément, la sonde a été positionnée perpendiculairement à la surface corticale et centrée sur la zone sensorimotrice représentant le membre postérieur, en suivant les coordonnées stéréotaxiques suivantes : AP = -1,8 mm, L = 2,8 mm à partir du bregma comme référence (selon l'Atlas de Paxinos et Watson). Il convient de noter que le signal du DSC a été exprimé en unités arbitraires de perfusion tissulaire (TPU, tissue perfusion unit).

Le DSC a été enregistré chez les rats stimulés à faible (2,5x MT) ou haute intensité (5x MT), avec ou sans traitement à l'aténolol (antagoniste des récepteurs β -adrénergique, Sigma-Aldrich, Saint-Quentin Fallavier, France, 10 mg/kg, i.v) afin d'abroger l'augmentation de débit cardiaque induite par la stimulation. À l'inverse, un lot de rats non stimulés recevant de la dobutamine (agoniste des récepteurs β -adrénergique, Sigma, D0676, 5.5 μ L/min/100 g pendant 30 min, i.v) a été constitué afin d'étudier l'impact de l'augmentation du débit cardiaque sur le DSC. Dans ces expériences, le cortex sensorimoteur, le cortex préfrontal et l'hippocampe ont été prélevés immédiatement après la fin des enregistrements du DSC.

La **Figure 30** page suivante illustre quelques-unes des procédures chirurgicales décrites ci-dessus.

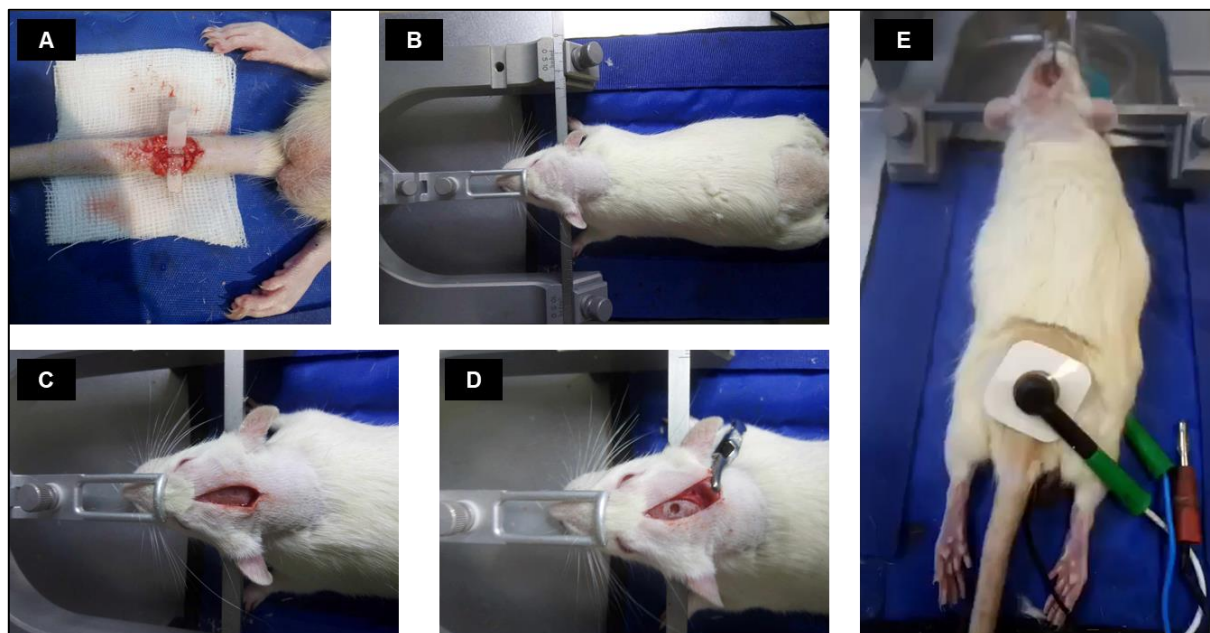


Figure 30 : Illustration des procédures chirurgicales utilisées durant la thèse

A. Isolement de l'artère caudale de la queue dans le but d'y insérer un cathéter afin de mesurer la FC et la PA. **B.** Placement de l'animal sur un cadre stéréotaxique. **C.** Incision de la peau du crâne. **D.** Réalisation de la fenêtration crânienne à l'aide d'une fraise dentaire. **E.** Placement des électrodes de stimulation au niveau des racines nerveuses lombaires et de la sonde Doppler laser sur la dure-mère.

6. CULTURE CELLULAIRE ET TRAITEMENT *IN VITRO*

Les expérimentations *in vitro* ont été menées au sein du "Laboratory of Health and Sport Sciences" de l'Université de Jyväskylä, en Finlande. Nos études se sont axées sur l'utilisation de cellules musculaires L6 provenant de rats, ainsi que sur des cultures primaires de cellules musculaires squelettiques humaines (hSkM, human skeletal primary muscle cells) issues de donateurs finlandais. Pour étudier les mécanismes de sécrétion de l'irisine, nous avons mis en œuvre une stimulation électrique des cellules en culture, provoquant ainsi leur contraction *in vitro*.

6.1 Culture des cellules musculaires L6

Des myoblastes L6 de rats, conservés à une température de -150°C , ont été utilisés dans cette étude. Après décongélation, ils ont été cultivés à une température de 37°C dans un incubateur à CO_2 (5 %), dans le but de favoriser leur croissance et leur différenciation en myotubes. Plus précisément, les myoblastes ont été répartis dans des plaques à 6 puits (NunclonTM Delta ; Thermo Fisher Scientific, Waltham, USA) à une densité de 100 000 cellules par puits. Ils ont ensuite été cultivés jusqu'à atteindre une confluence minimale de 90 % dans un milieu de croissance (GM : growth medium) dont la composition est décrite dans le **Tableau VI**. Pour induire la différenciation des myoblastes en myotubes, le milieu de

croissance a été remplacé par un milieu de différenciation (DM : differentiation medium) identique au milieu de croissance GM, à l'exception de la concentration de FBS réduite à 5 %. Le DM a été renouvelé tous les 2 jours, et ce processus a été maintenu pendant 6 jours afin de favoriser une fusion maximale des myoblastes.

Tableau VI : Composition des milieux de culture

Composition	Milieu de croissance GM (L6 et hSkM)	Milieu de différenciation DM (L6)	Milieu de différenciation DM (hSkM)
DMEM 4 g/L (BE12-614F, Lonza)	78 %	93 %	95 %
FBS (10270, Gibco)	20 %	5 %	----
HS (26050088, Gibco)	----	----	2 %
ITS-X (51500056, Gibco)	----	----	1 %
L-Glutamine (25030, Gibco)	1 %	1 %	1 %
P/S (Gibco)	1 %	1 %	1 %

DMEM : Dulbecco's modified Eagle medium ; FBS : sérum bovin fœtal ; HS : sérum de cheval ; ITS-X : insuline-transférinesélénium-éthanolamine ; P/S : pénicilline et streptomycine

6.2 Culture des cellules musculaires primaires humaines

Des biopsies du muscle quadriceps (vastus lateralis) ont été effectuées chez des volontaires sains et actifs âgés de 25 à 32 ans, sous anesthésie locale, en utilisant une aiguille à biopsie de type Bergström. Ces prélèvements ont été réalisés en conformité avec les principes de la Déclaration d'Helsinki, et le protocole a été préalablement approuvé par le comité d'éthique de l'Université de Jyväskylä (857/13.00.04.00/2021).

Une fois les échantillons prélevés, ceux-ci ont été digérés dans 5 mL de trypsine-EDTA pendant 3 cycles de 15 min chacun, tout en étant agités sur une plate-forme magnétique à 37 °C. Cette étape visait à dissocier les cellules mononucléaires dérivées du muscle. Le surnageant résultant a été collecté et combiné avec du sérum de bovin inactivé par la chaleur (hiFBS), puis centrifugé à 450 g pendant 5 min à température ambiante. Le culot cellulaire obtenu a été remis en suspension dans un milieu de croissance (GM) et placé dans des flasques de culture précotées pour induire leur expansion à 37°C dans l'incubateur à CO₂ (5 %). Après 3 divisions (passage), les cellules ont été stockées à -150°C en présence de GM et de 0,5 % de diméthylsulfoxyde (DMSO). Avant d'initier la culture des myoblastes humains, ces derniers ont été isolés des autres types de cellules en utilisant des colonnes de tri cellulaire

activé magnétiquement (MACS). La culture des cellules hSkM (**Figure 31**) a ensuite été réalisée de manière similaire à la culture des cellules L6, à l'exception du milieu de différenciation DM qui présentait des différences détaillées dans le **Tableau VI**.

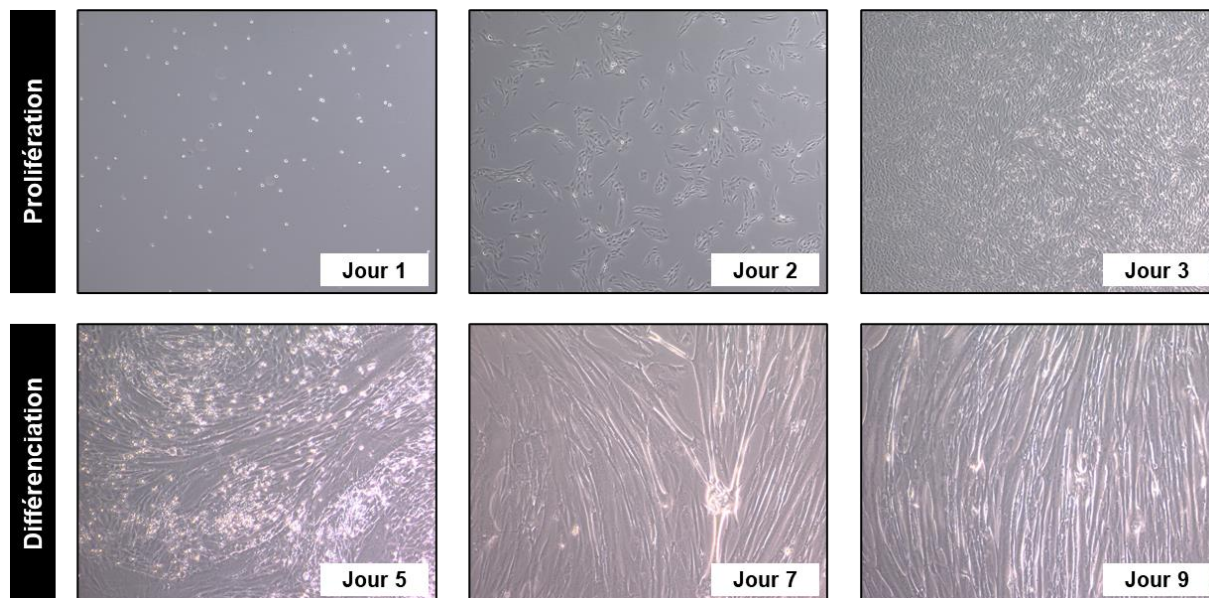


Figure 31 : Prolifération et différenciation des cellules hSkM en culture

Environ 100 000 cellules ont été ensemées par puits dans des plaques à six puits (Jour 1). En présence du milieu de croissance GM, les cellules ont proliféré (Jour 2) jusqu'à atteindre une confluence minimale de 90 % (Jour 3). À ce stade, le milieu de croissance GM a été remplacé par le milieu de différenciation DM afin d'initier la fusion des myoblastes (Jour 5, 7 et 9). Les images ont été prises au microscope à contraste de phase. Grossissement x40.

6.3 Stimulation électrique des cellules musculaires

Après différenciation, les myotubes humains et les myotubes L6 ont été soumis à une stimulation électrique en vue d'induire leur contraction *in vitro*, selon la méthode connue sous le nom de « electrical-pulse stimulation » (EPS). Des électrodes en carbone ont été positionnées dans le milieu de culture des myotubes différenciés, puis connectées à un stimulateur (C-Pace EM, IonOptix, Milton, USA). La stimulation a été effectuée à une température de 37 °C, à l'intérieur d'un incubateur à CO₂ (5 %).

Deux protocoles d'EPS ont été mis en œuvre dans cette thèse. Le premier protocole consistait en l'application d'un courant à haute fréquence de 100 Hz, avec une impulsion courte de 0,4 ms et une intensité de 20 V. Le schéma de stimulation adopté était similaire à celui de l'EMS *in vivo*, comprenant une période de 7 s ON suivie de 14 s OFF, pour une durée totale de 2 h. Le second protocole, largement documenté dans la littérature, impliquait l'utilisation d'une fréquence plus basse de 1 Hz, une intensité de 12 V et une impulsion prolongée de 2 ms, maintenue en continu pendant 24 h, sans alternance ON/OFF. Les échantillons de milieu

de culture ont été prélevés immédiatement après l'application de l'EPS, ainsi qu'à 2 h et 4 h après, puis soumis à une centrifugation à 3 000 g pendant 15 min afin d'éliminer les cellules résiduelles. Par la suite, les échantillons ont été immédiatement congelés à une température de -80 °C. Pour l'extraction des protéines de la fraction cellulaire, la méthode décrite dans la section 7.1 a été suivie, à trois moments différents : immédiatement après l'EPS, à 2 h et à 4 h après l'EPS.

6.4 Stratégies d'étude des mécanismes de sécrétion de l'irisine

Afin d'explorer les mécanismes sous-jacents à la sécrétion de l'irisine par les cellules musculaires, nous avons mis en œuvre diverses approches d'investigation. Une première approche a été adoptée, consistant à utiliser un inhibiteur à large spectre (TAPI-2, Inhibiteur de protéase TNF 2, référence HY-100211) ciblant la famille des protéases ADAM ainsi que les MMP. L'inhibiteur a été dilué dans du DMSO à une concentration de 20 µM, correspondant à l'IC₅₀ pour les MMP, et ensuite incorporé au milieu de culture de différenciation. La concentration finale en DMSO dans la DM était inférieure à 0,5 %.

Une deuxième approche a été mise en œuvre, impliquant l'ajout d'EGTA à une concentration de 50 mM, préalablement dilué dans du NaOH, au milieu de culture juste avant la mise en œuvre du protocole EPS. Cette stratégie visait à entraver les flux calciques. Tout au long de ces conditions expérimentales, nous avons veillé à vérifier l'intégrité cellulaire en effectuant des contrôles réguliers au microscope à contraste de phase.

Enfin, nous avons entrepris des modifications du taux de glucose au sein du milieu de culture différencié. En effet, après quatre jours de différenciation, le milieu de culture DM contenant un taux de glucose de 4 g/L a été remplacé par un milieu de culture à une concentration de glucose de 1 g/L (n° BE12-707F, Lonza). Il convient de noter que la seule variation entre les milieux de culture employés réside dans leur contenu en glucose.

7. ÉTUDES BIOCHIMIQUES

7.1 Extraction des protéines

Les tissus musculaires et cérébraux ont été broyés à l'aide du système Precellys à 4°C (Berlin Technologies) avec 7 volumes de tampon de lyse (100 mM de Tris Base, 150 mM de NaCl, 1 mM d'EGTA, 1 % de Triton X100, 1 % d'inhibiteurs de protéases et de phosphatases, pH 7,4). Après une exposition aux ultrasons pendant 5 min, les homogénats ont été centrifugés à 15 000 g pendant 20 min à 4°C. La teneur en protéines dans le surnageant a été déterminée

en utilisant la méthode de Lowry (Lowry Pierce™, ThermoFisher Scientific). Des aliquots du surnageant ont été mélangés avec un tampon Laemmli 2X (Tris 125 mM, SDS 4%, Glycérol 20 %, bleu de bromophénol 0,01 %) et stockées à -80°C.

Concernant l'extraction des protéines des cellules L6 et hSkM, un volume de 100 µL de tampon de lyse (20 mM d'HEPES, 1mM d'EDTA, 5 mM d'EGTA, 10 mM de MgCl₂, 1mM de DTT, 1 % de Triton X-100, 1 mM de Na₃VO₄, 100 mM de β-glycérophosphate, 3 % cocktail d'inhibiteur de protéases et de phosphatases) a été déposé dans les puits contenant les cellules. La couche de cellules présente dans les puits a ensuite été grattée durant 30 s. Le lysat obtenu a été transféré dans des micro-tubes puis centrifugé durant 5 min à 13 000 g. Le surnageant a été collecté puis congelé à -80 °C afin de réaliser des analyses par western blot. La teneur en protéine a été évaluée par la méthode BCA (BiCinchoninic acid Assay, Pierce™ BCA Protein Assay Kits).

7.2 Immunoprécipitation

Nous avons employé l'immunoprécipitation pour purifier et amplifier le signal de l'irisine lors de nos expériences de western blot. Cette technique a été appliquée sur les sérum de rats ainsi que sur les milieux de culture des cellules L6 et hSkM. Pour ce faire, nous avons utilisé des billes magnétiques conjuguées à la protéine A (Dynabeads, 10002D, Thermo Fisher Scientific). Ces billes ont été incubées avec l'anticorps anti-FNDCC5 pendant 10 min à température ambiante en utilisant un mélangeur d'échantillon (HulaMixer™, 15920D, ThermoFisher Scientific). Ensuite, le complexe billes-anticorps a été isolé en utilisant un aimant approprié (DynaMag™-2, 12321D, ThermoFisher Scientific). Le sérum de rats ainsi que les milieux de culture des myoblastes/myotubes humains et murins ont été regroupés selon leur groupe, puis incubés avec le complexe billes-anticorps pendant 20 min à température ambiante en utilisant un mélangeur d'échantillon. Après trois lavages avec un tampon de solution saline phosphate (PBS), le complexe billes-anticorps-antigène a été re-suspendu dans 20 µL de tampon Laemmli 2X (Tris 125 mM, SDS 4%, Glycérol 20 %, bleu de bromophénol 0,01 %), puis élué par un chauffage à 95 °C pendant 10 min. Cette étape a permis de libérer les complexes anticorps-antigènes des billes magnétiques. Enfin, l'échantillon a été mis en contact avec l'aimant, et le surnageant ainsi obtenu a été chargé sur le gel de western blot.

7.3 Western blotting

Les échantillons de protéines ont été séparés par électrophorèse sur gel SDS-PAGE (kit TGX Stain-Free FastCast, Biorad), puis transférés sur une membrane PVDF (Biorad) à l'aide du système de transfert TransBlot (Biorad). Une image de transfert sans coloration (Stain-Free Blot) a été prise à l'aide du système d'imagerie ChemiDoc (Biorad) pour évaluer la quantité totale de protéines dans chaque puit. Les membranes ont été bloquées avec du lait écrémé à 5 % ou de la BSA à 10 % pendant 1 h à température ambiante, puis incubées toute la nuit à 4°C avec les anticorps primaires. La liste complète des anticorps utilisés pour l'immunoblotting est fournie dans le **Tableau VII**. Ensuite, les membranes ont été incubées avec des anticorps secondaires conjugués à l'HRP anti-rabbit (111-035-144, Jackson ImmunoResearch) ou anti-mouse (115-035-166, Jackson ImmunoResearch) pendant 1 h à température ambiante. Les membranes ont été analysées à l'aide d'un substrat de chimiluminescence (Biorad, substrat Clarity ECL, 170-5060) et du système d'imagerie ChemiDoc (Biorad). Les intensités des bandes ont été analysées à l'aide du logiciel ImageLab et normalisées grâce à l'image de Stain-Free Blot ou par l'expression de protéines de ménage telles que la β -actine (pour les tissus cérébraux) et l' α SMA (pour les tissus musculaires).

Tableau VII : Liste des anticorps primaires utilisés pour le western blot

Indication	Cible	Référence	Dilution
Neurotrophine	BDNF	Recombinant Anti-BDNF antibody Rabbit monoclonal [EPR1292] (ab108319) Abcam	1/3000 TBST-Lait (5 %)
	TrkB	BD Transduction Laboratories™ Purified Mouse Anti-TrkB (610101)	1/3000 TBST-Lait (5 %)
	p-TrkB ^{Tyr816}	ABN1381 Sigma-Aldrich Anti-phospho-TrkB (Tyr816) Antibody	1/3000 TBST-BSA (7,5 %)
Protéines synaptiques	PSD-95	Cell signalling PSD95 (D27E11) XP® Rabbit mAb (3450)	1/3000 TBST-Lait (5 %)
	GAP-43	Cell signalling GAP43 (D9C8) Rabbit mAb (8945)	1/3000 TBST-Lait (5 %)
	SYP	Rabbit polyclonal RB-1461-P1 Interchim	1/3000 TBST-Lait (5 %)
Couplage neurovasculaire	c-fos	Genetex Rabbit c-fos antibody GTX129846	1/3000 TBST-Lait (5 %)
	p-eNOS ^{Ser1177}	BD Transduction Laboratories™ Purified Mouse Anti-eNOS (pS1177) (612392)	1/3000 TBST-BSA (7,5 %)
Signalisation intracellulaire	p-ERK1/2 ^{Thr202/Tyr204}	Cell signalling Phospho-p44/42 MAPK (Erk1/2) (Thr202/Tyr204) Rabbit mAb (4370)	1/3000 TBST-BSA (7,5 %)
	p-Akt ^{Ser473}	Cell signalling Phospho-Akt (Ser473) (D9E) XP® Rabbit mAb (4060)	1/3000 TBST-BSA (7,5 %)
	p-FAK ^{Tyr397}	Cell signalling Phospho-FAK (Tyr397) Antibody (3283)	1/3000 TBST-BSA (7,5 %)

Apoptose & Réactivité astrocytaire	Cas3	Cell signaling Caspase-3 (8G10) Rabbit mAb (9665)	1/3000 TBST-Lait (5 %)
	CytC	Anti-Cytochrome C Antibody Rabbit polyclonal (ab90529) Abcam	1/3000 TBST-Lait (5 %)
	BCI-xL	Recombinant Anti-Bcl-XL antibody Rabbit monoclonal [E18] (ab32370) Abcam	1/3000 TBST-Lait (5 %)
	GFAP	Cell signaling GFAP (GA5) Mouse mAb (3670)	1/3000 TBST-Lait (5 %)
HDAC	SIRT1	Cell signaling SirT1 (D1D7) Rabbit mAb (9475)	1/3000 TBST-Lait (5 %)
Myokines	FNDC5/Irisine	Recombinant Anti-FNDC5 antibody Rabbit monoclonal [EPR12209] (ab174833) Abcam	1/3000 TBST-Lait (5 %)
Contrôle interne	β -actine	Monoclonal Anti- β -Actin (A5441) Sigma-Aldrich	1/3000 TBST
	α SMA	Anti-Alpha Skeletal Muscle Actin antibody [Alpha Sr-1] (ab28052) Abcam	1/3000 TBST-Lait (5 %)

7.4 Extraction des ARN et RTq-PCR

L'ARN total du cortex sensorimoteur, du cortex préfrontal et de l'hippocampe a été extrait à l'aide du kit NucleoSpin RNA pour NucleoZol (740406.50, Macherey-Nagel) selon les recommandations du fabricant. La transcription inverse a été réalisée à l'aide du kit de synthèse d'ADNc iScript (Bio-Rad). La PCR a été effectuée à l'aide du mélange Powerup SYBR Green (Applied Biosystems, Life Technologies) sur le système de PCR en temps réel StepOnePlus™ (Applied Biosystems). L'expression génique relative a été déterminée à l'aide des valeurs $\Delta\Delta C_t$. Les niveaux d'ARNm cibles ont été normalisés par rapport à l'ARNm de β -actine et à l'ARNm 18S. Les amorces (**Tableau VIII**) ont été achetées chez ThermoFischer Scientific.

Tableau VIII : Liste des amorces PCR

Cible	Forward	Reverse
<i>Bdnf total</i>	<i>TACCTGGATGCCGCAACAT</i>	<i>TGGCCTTTTGATACCGGGAC</i>
<i>β-actine</i>	<i>ATGGAGGGGAATACAGCCC</i>	<i>TTCTTTGCAGCTCCTTCGTT</i>
<i>18S</i>	<i>GTAACCCGTTGAACCCATT</i>	<i>CCATCCAATCGGTAGTAGCG</i>

7.5 Dosage ELISA

Nous avons employé la technique ELISA pour quantifier les niveaux d'irisine (N°EK-067-29, Phoenix Pharmaceuticals, Mannheim, Allemagne) et de BDNF (BEK-2211-2P, Biosensis) dans le sérum des rats, ainsi que dans le milieu de culture des myotubes humains et des

myotubes L6, en suivant les protocoles fournis par les fabricants. Tous les dosages ont été réalisés en duplicate. Les résultats ont été pris en compte si les coefficients de variation étaient inférieurs à 10 %.

7.6 Mesure du lactate sanguin

La concentration de lactate dans le sang total a été mesurée immédiatement après la fin du protocole d'EMS (0 h) à l'aide de l'équipement de mesure Lactate pro II. L'échantillon de sang total a été prélevé au niveau du doigt chez les humains au moyen d'une lancette ou au niveau de la queue chez les rats après incision.

8. ÉTUDES HISTOLOGIQUES

8.1 Coloration hématoxyline & éosine (H&E)

Les muscles préalablement fixés dans une solution de paraformaldéhyde (PFA, 4%) ont été inclus dans des blocs de paraffine et coupés en sections de 5 μm par une plateforme d'histologie (Cellimap, Dijon). Les sections ont été déparaffinées et réhydratées dans différents bains successifs de xylène, d'éthanol et d'eau du robinet. Par la suite, les coupes ont été colorées avec des bains d'hématoxyline (Hématoxyline de Harris, Leica 3801562E) et d'éosine (Eosin Y, Leica 3801601E).

8.2 Immunofluorescence

Les coupes ont été déparaffinées et réhydratées dans différents bains successifs de xylène et d'éthanol, puis lavées dans une solution de TBS. La perméabilisation des coupes a ensuite été réalisée dans un tampon de citrate de sodium (citrate trisodique, 10 mmol. L⁻¹, 0,1 % Tween 20, pH 6.0) ou dans un tampon Tris-EDTA (Tris 10 mmol. L⁻¹, EDTA 1 mmol. L⁻¹, 0,1 % Tween 20, pH 9.0) pendant 20 min à 95 °C. Après le blocage des sites de fixation non spécifiques avec une solution de TBST contenant 3 % de sérum de chèvre (GS) pendant 30 min à température ambiante, les coupes ont été incubées toute la nuit à 4 °C avec une solution de TBST contenant 1 % de GS et l'anticorps spécifique correspondant (**Tableau IX**). Toutes nos expériences d'immunofluorescence ont été réalisées avec un témoin négatif, c'est-à-dire une coupe sans anticorps primaire, afin de visualiser tout marquage non spécifique éventuel ou l'autofluorescence des tissus. Les coupes musculaires ont ensuite été exposées à un couple d'anticorps secondaires fluorescents : Alexa Fluor 488 et 568 [A11029 (488 anti-souris) et A11036 (568 anti-lapin), ou A11034 (488 anti-lapin) et A11031 (568 anti-souris), Molecular

Probes, Invitrogen, 1/1000 dans TBST avec 1 % de GS], pendant 60 min à température ambiante. Enfin, les coupes ont été montées entre lame et lamelles avec un milieu de montage contenant du DAPI (Fluoro-gel avec DAPI, FP-DT094A, Interchim, Montluçon, France). Les coupes ont été analysées à l'aide d'un microscope à épifluorescence (Axioscop 40FL, Carl Zeiss, Oberkochen, Allemagne) et du logiciel ProView v4.1 (Optika, Ponteranica, Italie).

Tableau IX : Liste des anticorps primaires utilisés pour l'immunofluorescence

Cellule cible	Protéine cible	Référence	Dilution
---	BDNF	Recombinant Anti-BDNF antibody Rabbit monoclonal [EPR1292] (ab108319) Abcam	1/200 TBST-GS (1 %)
---	p-TrkB ^{Tyr816}	ABN1381 Sigma-Aldrich Anti-phospho-TrkB (Tyr816) Antibody	1/200 TBST-GS (1 %)
Fibre lente	MyHC I	Anti-Slow Skeletal Myosin Heavy chain antibody [NOQ7.5.4D] (ab11083), Abcam	1/200 TBST-GS (1 %)
Fibre rapide	MyHC II	Anti-Fast Myosin Skeletal Heavy chain antibody [MY-32] (ab51263), Abcam	1/300 TBST-GS (1 %)
Cellule satellite quiescente	Pax7	Anti-PAX7 antibody [PAX7497] (ab199010)	1/50 TBST-GS (1 %)
Cellule satellite activée	MyoD	Anti-MyoD1 antibody [5.2F] (ab16148)	1/50 TBST-GS (1 %)
Endothélium	vWF	142828 Mouse Anti-Von Willebrand Factor US Biological Life Science	1/200 TBST-GS (1 %)
Jonction neuromusculaire	SYP	Invitrogen Synaptophysin Monoclonal Antibody (SY38)	1/200 TBST-GS (1 %)

PARTIE III : CONTRIBUTIONS SCIENTIFIQUES

REVUE DE LITTÉRATURE DES MÉCANISMES SOUS-JACENTS À L'ÉLEVATION DES TAUX CÉRÉBRAUX DE BDNF EN RÉPONSE À L'EX

Marina Cefis, Rémi Chaney, Julien Wirtz, Alexandre Méloux, Aurore Quirié, Clémence Léger, Anne Prigent-Tessier, Philippe Garnier

Des preuves de plus en plus nombreuses corroborent l'efficacité de l'EX en tant que stratégie non pharmacologique pour favoriser la santé cérébrale. En effet, l'EX prévient le déclin cognitif associé au vieillissement et réduit le risque de développer des maladies neurodégénératives et des troubles psychiatriques. Ces bienfaits de l'EX découlent principalement d'une stimulation de la neurogenèse et des mécanismes de neuroplasticité, contribuant ainsi à l'amélioration de l'apprentissage et de la mémoire. Au niveau moléculaire, il existe un consensus concernant l'implication du BDNF dans les effets positifs de l'EX sur le cerveau. Néanmoins, malgré l'indéniable impact bénéfique de l'EX sur l'expression de BDNF, les origines cellulaires et les mécanismes moléculaires sous-jacents à la surproduction cérébrale de BDNF induite par l'EX demeurent encore en cours d'exploration. Dans ce contexte, la présente revue s'attache à dresser une synthèse des divers mécanismes moléculaires intervenant dans la réponse cérébrale à l'EX, en mettant particulièrement l'accent sur le BDNF. Son objectif principal est de fournir une vue d'ensemble cohérente des trois mécanismes principaux conduisant à la surproduction de BDNF dans le cerveau en réponse à l'EX : la surexpression neuronale dépendante, l'augmentation du DSC (hypothèse hémodynamique) et la sécrétion d'exerkines par les tissus périphériques (réponse humorale). En éclairant ces mécanismes complexes, cette revue vise à contribuer à la poursuite de la compréhension de la relation entre EX et expression de BDNF dans le cerveau, offrant ainsi des perspectives précieuses quant aux implications thérapeutiques potentielles pour l'amélioration de la santé cérébrale.

Cette revue de littérature a été publiée dans le journal « Frontiers in Molecular Neuroscience » après révision par les pairs (IF : 4,5)



OPEN ACCESS

EDITED BY
George Smith,
Temple University, United States

REVIEWED BY
Marta Nowacka-Chmielewska,
Jerzy Kukuczka Academy of Physical Education
in Katowice, Poland
Muddanna Sakkattu Rao,
Kuwait University, Kuwait

*CORRESPONDENCE
Marina Cefis
✉ Cefis.marina@courrier.uqam.ca
Philippe Garnier
✉ Philippe.Garnier@iut-dijon.u-bourgogne.fr

RECEIVED 10 August 2023
ACCEPTED 18 September 2023
PUBLISHED 05 October 2023

CITATION
Cefis M, Chaney R, Wirtz J, Méloux A, Quirié A,
Leger C, Prigent-Tessier A and Garnier P (2023)
Molecular mechanisms underlying physical
exercise-induced brain BDNF overproduction.
Front. Mol. Neurosci. 16:1275924.
doi: 10.3389/fnmol.2023.1275924

COPYRIGHT
© 2023 Cefis, Chaney, Wirtz, Méloux, Quirié,
Leger, Prigent-Tessier and Garnier. This is an
open-access article distributed under the terms
of the [Creative Commons Attribution License
\(CC BY\)](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/). The use, distribution or reproduction
in other forums is permitted, provided the
original author(s) and the copyright owner(s)
are credited and that the original publication in
this journal is cited, in accordance with
accepted academic practice. No use,
distribution or reproduction is permitted which
does not comply with these terms.

Molecular mechanisms underlying physical exercise-induced brain BDNF overproduction

Marina Cefis^{1,2*}, Remi Chaney², Julien Wirtz², Alexandre Méloux²,
Aurore Quirié², Clémence Leger², Anne Prigent-Tessier² and
Philippe Garnier^{2,3*}

¹Département des Sciences de l'Activité Physique, Faculté des Sciences, Université du Québec à Montréal, Montreal, QC, Canada, ²INSERM UMR1093-CAPS, Université de Bourgogne, UFR des Sciences de Santé, Dijon, France, ³Département Génie Biologique, Institut Universitaire de Technologie, Dijon, France

Accumulating evidence supports that physical exercise (EX) is the most effective non-pharmacological strategy to improve brain health. EX prevents cognitive decline associated with age and decreases the risk of developing neurodegenerative diseases and psychiatric disorders. These positive effects of EX can be attributed to an increase in neurogenesis and neuroplastic processes, leading to learning and memory improvement. At the molecular level, there is a solid consensus to involve the neurotrophin brain-derived neurotrophic factor (BDNF) as the crucial molecule for positive EX effects on the brain. However, even though EX incontestably leads to beneficial processes through BDNF expression, cellular sources and molecular mechanisms underlying EX-induced cerebral BDNF overproduction are still being elucidated. In this context, the present review offers a summary of the different molecular mechanisms involved in brain's response to EX, with a specific focus on BDNF. It aims to provide a cohesive overview of the three main mechanisms leading to EX-induced brain BDNF production: the neuronal-dependent overexpression, the elevation of cerebral blood flow (hemodynamic hypothesis), and the exerkine signaling emanating from peripheral tissues (humoral response). By shedding light on these intricate pathways, this review seeks to contribute to the ongoing elucidation of the relationship between EX and cerebral BDNF expression, offering valuable insights into the potential therapeutic implications for brain health enhancement.

KEYWORDS

physical exercise, BDNF, exerkine, cognition, muscle, neuronal activity, cerebral blood flow, hemodynamic

1. Introduction

Physical exercise (EX) is the most efficient non-pharmacological strategy to improve health and prevent pathologies. Being physically active reduces not only the risk of developing cardiovascular, metabolic and chronic diseases but also brain disorders. Indeed, numerous studies reported the beneficial effects of EX across a lifespan on cognitive functions and neuroplastic mechanisms (Voss et al., 2011). EX reduces the prevalence and incidence of stroke, neurodegenerative diseases (e.g., Alzheimer's, Parkinson's diseases [AD, PD]) and mental disorders such as depression, schizophrenia and addiction (Dunn et al., 2005; Sofi et al., 2011; Paillard et al., 2015; Xu et al., 2023). Accumulating evidence supports that EX improves learning,

memory, executive functions, attention in children (Chaddock et al., 2010; de Greeff et al., 2018) and adulthood (Colcombe et al., 2006; Erickson et al., 2011; Sofi et al., 2011; Ludyga et al., 2020; Cheval et al., 2023). Moreover, EX has been linked to a decrease in stress and anxiety, as well as an improvement in emotional stability and sleep quality resulting in improved psychological well-being (Mandolesi et al., 2018).

In more details, the positive effects of EX on the brain may be explained by an increase in hippocampal neurogenesis, an enhancement of long-term potentiation (LTP) and the regulation of synaptic plasticity (van Praag et al., 1999; Farmer et al., 2004; Cefis et al., 2019). It has also been demonstrated that EX induces cerebral angiogenesis by increasing the density and sprouting of new capillaries from pre-existing vessels (Black et al., 1990; Ding et al., 2004). From animal and human studies, there is a consensus involving the neurotrophin brain-derived neurotrophic factor (BDNF) as responsible for the positive effects of EX on the brain. This neurotrophin is widely produced in the brain, where it plays a crucial role in neurogenesis, synaptic plasticity, angiogenesis and exerts neuroprotective effects (Korte et al., 1995; Bartoletti et al., 2002; Kim et al., 2004). The crucial role of BDNF is unquestionable since in animal studies, anti-BDNF strategies negate EX-associated cognitive benefits (Vaynman et al., 2003, 2004; Liu et al., 2008), while in humans, the val66met polymorphism (single nucleotide polymorphism in *bdnf* gene corresponding to a valine-to-methionine substitution), which is associated with a defect in activity-dependent regulated secretion, attenuates the cognitive advantage of EX (Egan et al., 2003; Erickson et al., 2012; Hopkins et al., 2012). The synergic interrelation between neuronal activity and synaptic plasticity designates BDNF as an ideal mediator of cellular and molecular mechanisms underlying cognitive and memory improvements induced by EX. However, even though BDNF involvement is incontestable, molecular mechanisms underlying EX-induced cerebral BDNF overproduction are not entirely delineated.

In this context, this review aims to provide a comprehensive overview of scientific evidence on the different molecular mechanisms explaining how EX leads to cerebral BDNF upregulation. It is important to underscore that within the context of this review, the term “EX” has been utilized inclusively, encompassing a wide range of physical activities, irrespective of their specific type, duration, or intensity while these factors influence the cerebral expression of BDNF (Walsh et al., 2020; Fernandez-Rodriguez et al., 2022). After a brief description of BDNF metabolism and signaling pathways, this manuscript will focus on the different mechanisms responsible for EX-induced cerebral BDNF production. Hence, the increase in neuronal expression through activity-dependent mechanisms, the contribution of endothelial cells through cerebral blood flow (CBF) elevation (hemodynamic hypothesis) and the recent mechanisms involving humoral factors (exerkines) originating from peripheral tissues will be detailed and provided in Figure 1A. A better comprehension of the molecular mechanisms that lead to cerebral BDNF upregulation is required, not only because it could help to promote exercise prescription for brain health, but also since the modulation of these mechanisms could be an attractive possibility for the prevention and treatment of various brain pathologies.

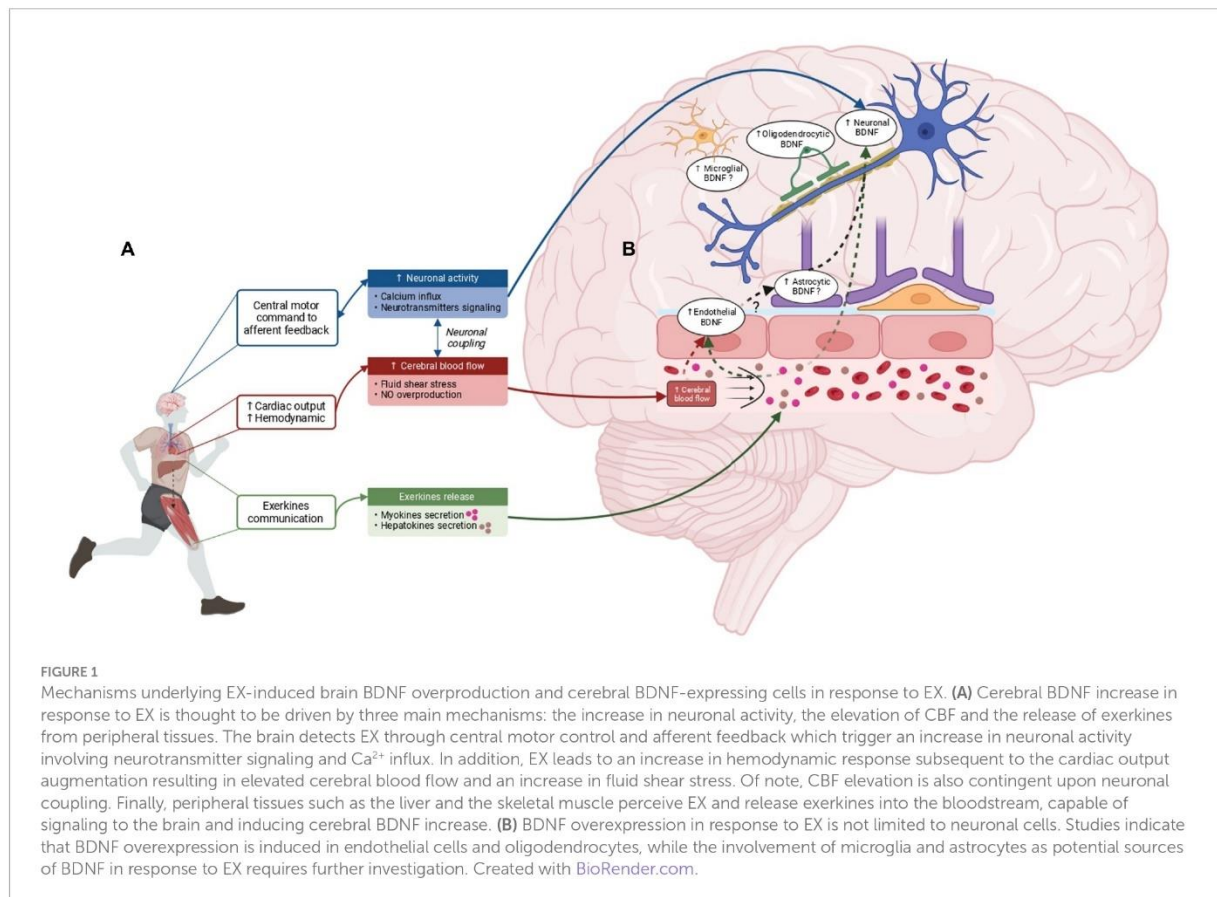
2. BDNF: the key mediator of EX-induced cerebral plasticity

2.1. Localization and cellular expression

Initially discovered in the porcine brain by Barde et al. (1982), BDNF is a member of the neurotrophic factor family expressed by the neurons of the central nervous system (CNS) predominantly in the cortex and hippocampus (Ernfors et al., 1990; Hofer et al., 1990). In addition to neurons, many cells have been shown to express BDNF in the brain, such as astrocytes, microglia (Dougherty et al., 2000), pericytes (Ishitsuka et al., 2012) and endothelial cells (Leventhal et al., 1999; Nakahashi et al., 2000). Cerebral endothelial cells (CEC) are particularly noteworthy, as they synthesize 50 times more BDNF than primary cortical neuron cultures (Guo et al., 2008). Consistently, data reported that the *in vivo* removal of cerebral endothelium using a detergent (3-[(3-cholamidopropyl) dimethylammonio]-1-propane sulphate, CHAPS), halved the cerebral BDNF content (Monnier et al., 2017b). Contrary to what its name may suggest, BDNF is also expressed in the cardiovascular system (heart, vessels) (Timmusk et al., 1993; Meuchel et al., 2011; Quirie et al., 2012; Prigent-Tessier et al., 2013), lungs, thymus, spleen (Aid et al., 2007), skeletal muscles (Cefis et al., 2022), and blood (Rosenfeld et al., 1995).

2.2. Metabolism and secretion

BDNF is initially synthesized in the endoplasmic reticulum as a precursor form, the pre-pro-BDNF that is subsequently transformed into pro-BDNF by the removal of the signal peptide. After N-terminal glycosylation of the N123 residue in the pro-domain, pro-BDNF is then either proteolytically cleaved intracellularly (i.e., by furin and pro-protein convertase 7 in Golgi but also by pro-protein convertase 1/3 in secretion vesicles) or extracellularly (i.e., by tissue plasminogen activator [tPA]/plasmin and matrix metalloproteinases) in mature BDNF (Mowla et al., 2001). Of note, extracellular processing of pro-BDNF is still a matter of debate since evidence came from *in vitro* studies using tagged pro-BDNF that do not reflect physiological conditions (Pang et al., 2004; Nagappan et al., 2009). BDNF is then secreted by either a constitutive or a regulated pathway, the latter involving the interaction of the pro-domain with the sortilin receptor (Chen et al., 2005). According to Aid and colleague's data, *bdnf* gene consists in a common 3' exon that encodes the entire pro-BDNF protein and at least eight 5' non-coding exons (exons I-VIII). Each 5' non-coding exon is spliced into the coding exon that encodes a similar BDNF protein product (Aid et al., 2007). Thus, the gene encoding for BDNF protein leads to multiple transcripts according to the use of alternative promoters and of the different splicing and polyadenylation sites. Although the significance of this complex organization is still obscure, it could afford for a distinct tissue-specific expression and regulation under specific physiological conditions (Timmusk et al., 1993; Aid et al., 2007). Concerning neuronal activity-dependent regulation of BDNF transcription, exons I and IV have been shown to be the most upregulated (Tao et al., 1998; Pruunsild et al., 2011; Zheng et al., 2011). Besides, promoters I- and IV-dependent *bdnf* transcription are both increased in response to EX (Intlekofer et al., 2013; Luft et al., 2022).



2.3. BDNF receptors and signaling pathways

BDNF acts through two different plasma membrane receptors, the tropomyosin-related kinase B (TrkB) receptor and pan75 neurotrophin receptor ($p75^{NTR}$), the affinity being much higher for TrkB than $p75^{NTR}$ (Chao, 2003) with its positive action being attributed to TrkB activation only. Conversely, the $p75^{NTR}$ is the preferential receptor for pro-BDNF and its activation mainly leads to the activation of pro-apoptotic pathway (Friedman, 2000; Beattie et al., 2002). These data showed the yin and yang effects of this neurotrophin and highlighted the importance of the balance between the two forms for the proper functioning of BDNF (for review Lu et al., 2005). In neurons, TrkB receptors include the full-length (FL) form with a tyrosine kinase domain and the truncated forms (T1, T2, T3) devoid of the kinase domains (Stoilov et al., 2002; Fenner, 2012). All these isoforms share the same extracellular pattern and binding affinity for BDNF. The binding of BDNF to the TrkB-FL receptor induces its dimerization and auto-phosphorylation of different tyrosine residues at the cytoplasmic domain leading to the activation of three major signaling pathways involving the phospholipase $C\gamma$ (PLC- γ), the phosphatidylinositol-3 kinase (PI3K) and the mitogen-activated protein kinase (MAPK) pathways that trigger neurite outgrowth, cell differentiation, neuronal survival and synaptic plasticity (Huang and Reichardt, 2003; Reichardt, 2006; Fenner, 2012). For the major truncated form, it has been shown that when TrkB-FL and -T1 are

co-expressed, TrkB-T1 can repress the TrkB-FL signaling (Fenner, 2012). Furthermore, BDNF binding to TrkB-T1 could induce both its own signaling (Rose et al., 2003), internalization and/or release (Alderson et al., 2000). Of note, also poorly documented, TrkB expression is not restricted to neurons but also expressed in different cells of the neurovascular unit such as endothelial cells (TrkB-FL and truncated) (Kim et al., 2004; Pedard et al., 2017) and astrocytes which in addition to $p75^{NTR}$ (Rudge et al., 1994), expressed almost exclusively the truncated isoform, TrkB-T1 (Rose et al., 2003).

2.4. Cerebral cells overexpressing BDNF in response to EX

The cerebral cells responding to EX by an increase of cerebral BDNF expression are illustrated and summarized in Figure 1B.

2.4.1. Neuronal expression

As an immediate-early gene, transcription of new BDNF mRNA occurs rapidly without the requirement of new protein synthesis in a process involving post-translational modification of pre-existing transcription factors. Using *in situ* hybridization, Neeper et al. (1995) were the first to report that voluntary wheel running increases BDNF mRNA in hippocampal and cortical neurons of rats. Since this initial finding, many studies have confirmed this discovery using different types, intensities and durations of EX (Oliff et al., 1998; Berchtold

et al., 2005; Griffin et al., 2009; Cefis et al., 2019; Pedard et al., 2019). The mechanism regulating *bdnf* gene expression is intriguing since synaptic activation regulates the neuronal synthesis and secretion of BDNF, which in turn modifies synaptic morphology and efficacy (Poo, 2001). This review only focuses on biological mechanisms induced by EX that led to transcriptional upregulation.

2.4.2. Endothelial expression

Initial investigations on endothelial BDNF expression have demonstrated its constitutive synthesis, release and regulation (Leventhal et al., 1999) by both peripheral (Nakahashi et al., 2000) and CEC (Bayas et al., 2002; Takeo et al., 2003) in culture. Secreted BDNF is bioactive since it exerts a neuroprotective effect by promoting neuronal growth and survival (Guo et al., 2008). *In vivo* studies have shown the presence of BDNF in the vascular endothelium both at peripheral and cerebral levels, with a significant part of cerebral BDNF corresponding to BDNF expressed by the cerebral endothelium (Monnier et al., 2017b; Cefis et al., 2020; Totson et al., 2021). Moreover, endothelial BDNF expression was significantly higher after EX in the aorta, vein and cerebral microvessel fractions (Monnier et al., 2017a; Cefis et al., 2020). Conversely, pathologies associated with endothelial dysfunction, such as diabetes (Navaratna et al., 2011), cerebral ischemia (Bejot et al., 2011), high blood pressure (Monnier et al., 2017b) or rheumatoid arthritis (Pedard et al., 2017) decrease cerebral BDNF expression.

2.4.3. Glial cells expression

The question of whether astrocytes serve as a source of BDNF in response to EX remains to be clarified. Research has demonstrated that EX stimulates astrocyte proliferation (Uda et al., 2006), as well as morphological changes in an AD mouse model (Rodriguez et al., 2013). In addition, studies have suggested that astrocytes overexpressing BDNF can promote hippocampal neurogenesis (Quesseveur et al., 2013) and their own remodeling (Holt et al., 2019). Besides, EX was reported to elongate astrocytic projections in the dentate gyrus and to increase TrkB expression in GFAP-positive cells (Fahimi et al., 2017) while in a PD mouse model, Palasz et al. (2019) showed that treadmill training protects neurons through increase in astrocyte-derived BDNF. Given the central role of these cells in maintaining CNS homeostasis, in modulating synaptic transmission and their function as gatekeepers of the blood–brain barrier (BBB) (Li et al., 2021), the observed astrocytic BDNF–TrkB expression following EX may reflect a complex interplay between endothelial and neuronal cells, with astrocytes acting as a bridge, as we propose in the hemodynamic hypothesis section. Further investigation is needed to unravel the intricacies of astrocytic involvement in EX-induced cerebral BDNF production.

In addition to astrocytes, EX has been reported to promote oligodendrogenesis (For review, Guo et al., 2020). After EX, oligodendrocyte proliferation has been observed in spinal cord and hippocampus of healthy mice (Kriyakiarana et al., 2010; Matsumoto et al., 2011) and in various diseases models including multiple sclerosis (Guo et al., 2020) or chronic cerebral hypoperfusion (Jiang et al., 2017). In addition, oligodendrocytes modulate synaptic transmission through the secretion of BDNF (Jang et al., 2019). Consistently, glutamate transmission and vesicular release were decreased in a model of mice with conditional deletion for BDNF in oligodendrocytes while these effects were offsetted with the application of BDNF or

TrkB agonist (7,8-DHF). Taken together, these data suggest that oligodendrocytes are involved as a cellular source in EX-induced cerebral BDNF expression.

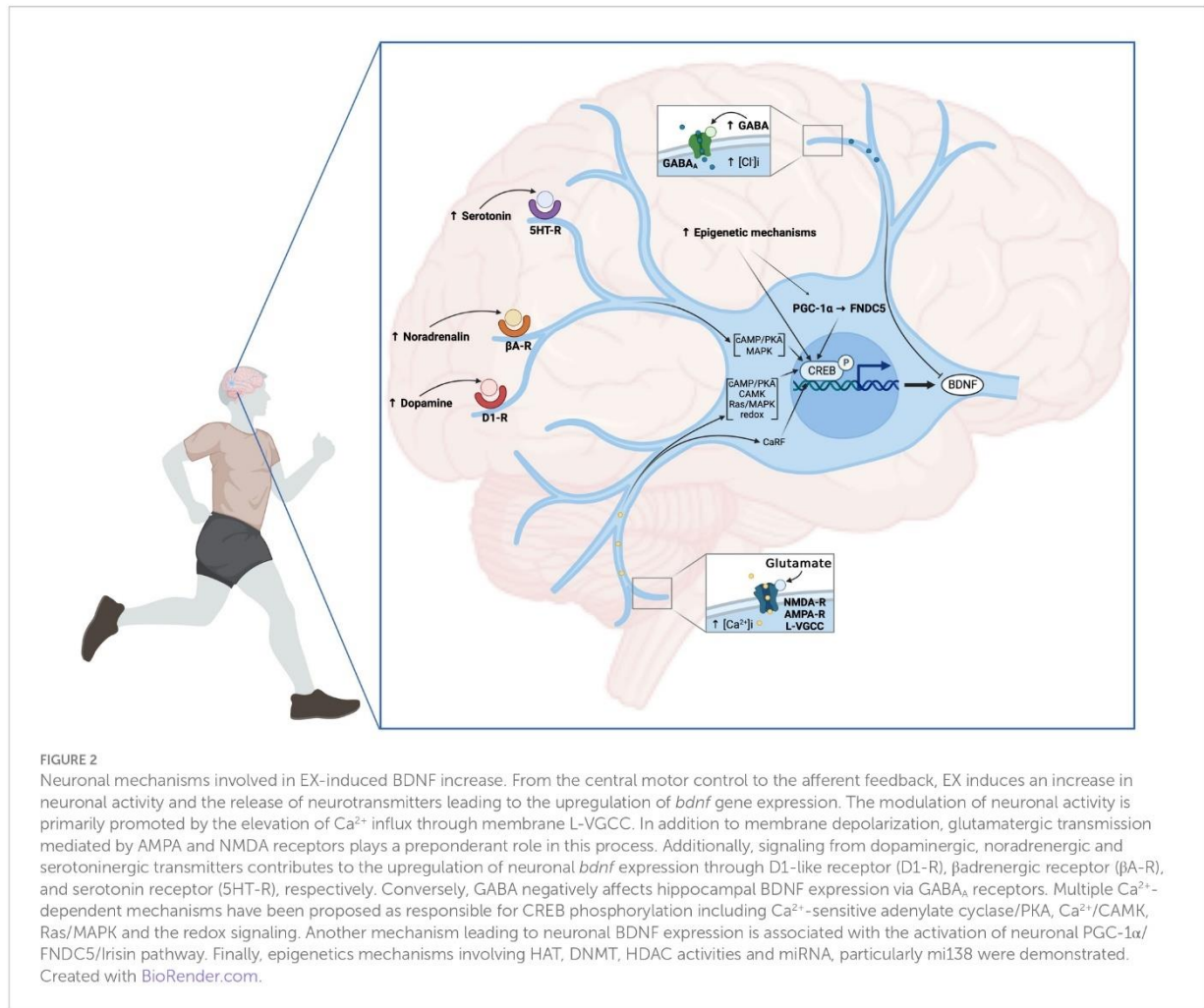
Concerning microglial cells, EX has been shown to modulate microglial activation. Thus, Mee-Inta et al. (2019) have highlighted the regulatory effect of EX on microglial activation, leading to an increase in anti-inflammatory factors and a decrease in pro-inflammatory factors. Additionally, in a mouse model of AD submitted to long-term EX, microglial activation was decreased in cerebral cortex and hippocampus, accompanied by an increase of BDNF-positive cells (Xiong et al., 2015). While there is evidence suggesting that microglia can produce BDNF (Madinier et al., 2009) and that microglia promote learning and memory through BDNF signaling (Parkhurst et al., 2013), a recent article suggests that BDNF expressed by microglia is not produced in sufficient amount to modulate neuronal function (Honey et al., 2022). Therefore, further investigations are needed to fully elucidate the involvement of microglia in the cellular expression of BDNF in response to EX.

3. Cerebral mechanisms involved in EX-increased BDNF production

All the mechanisms described in sections a-e are summarized in Figure 2.

3.1. Calcium influx-induced neuronal activity

Neuronal activity-regulated gene expression has been proposed to be a key mediator for experience-dependent changes in the nervous system (Katz and Shatz, 1996). From initial studies showing that EX, from the central motor control to the afferent feedback, induced electrical activity and sustained hippocampal activation (Vanderwolf, 1969; Czurko et al., 1999), the mechanism by which EX induces neuronal BDNF synthesis has been well investigated. From electrical to chemical level, Ca^{2+} influx is critical in transmitting depolarization status and triggering synaptic activity. Thus, using physiologically relevant stimulation patterns of hippocampal neurons, Balkowiec and Katz (2002) showed that BDNF production needed not only Ca^{2+} influx but also mobilization from intracellular Ca^{2+} stores. Once initiated, Ca^{2+} -dependent signaling cascades trigger activity-induced changes in gene expression and protein synthesis (Ghosh and Greenberg, 1995). Using the induction of BDNF mRNA, West et al. (2001) have shown how Ca^{2+} induces neuronal gene expression. Membrane depolarization and neurotransmitter binding lead to ligand-gated and voltage-gated Ca^{2+} channels (L-VGCC) at the cell membrane, triggering the influx of extracellular Ca^{2+} into the cell. In terms of ligand-gated channels responsible for Ca^{2+} entry into neurons after EX, different mechanisms have been proposed involving preponderantly glutamatergic transmission through α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid (AMPA) and *N*-methyl-D-aspartate-type (NMDA) receptors (Kitamura et al., 2003; Vaynman et al., 2003; Nishijima et al., 2012). As stated above, promoter IV-dependent *bdnf* transcription, one of the main promoters driving neuronal activity-dependent BDNF expression, is the most thoroughly investigated (Tao et al., 2002). Using a mouse model with impaired



activity-dependent *bdnf* expression through mutagenesis, Hong et al. (2008) revealed the existence of three Ca^{2+} -responsive elements (CaREs) able to drive activity-dependent induction of promoter IV. Among the three DNA sequences that are cooperatively recruited for Ca^{2+} -induced *bdnf* promoter IV expression, Tao et al. (2002) have shown that Ca^{2+} -response factor (CaRF) is a regulator of activity-dependent *bdnf* gene expression through CaRE1 and that the transcriptional activity of CaRF is dependent on Ca^{2+} influx in a neuron selective manner. CaRE3 has also received specific attention. Indeed, once bound by CREB (cAMP response element-binding protein), this latter is phosphorylated on serine 133 (Ma et al., 2014) and then induces BDNF transcription (Tao et al., 1998; Shen et al., 2001). Multiple Ca^{2+} -dependent mechanisms have been proposed to be responsible for CREB phosphorylation at the upstream steps of CREB activation. These mechanisms included the Ca^{2+} -sensitive adenylyl cyclase/PKA (Shen et al., 2001), the Ca^{2+} /calmodulin-activated kinase (CAMK) (Sun et al., 1994; Bito et al., 1996), Ras/MAPK (Wu et al., 2001) and the redox signaling (Radak et al., 2016) systems. Since BDNF has been shown to subsequently interact with NMDA receptors, CAMK and MAPK (Vaynman et al., 2003; Nakata and Nakamura, 2007), EX-induced changes in neuronal activity-dependent gene induction may use BDNF itself as a perpetuating loop.

3.2. Other neurotransmitter signaling

In addition to glutamate, signaling from cholinergic, noradrenergic and serotonergic transmitters are involved in cerebral *bdnf* gene expression (Garcia et al., 2003; Ivy et al., 2003; Chen et al., 2007). The cortical acetylcholine (ACh) content is increased in rats following a short period of walking, suggesting that ACh is released even at low-intensity of EX (Kurosawa et al., 1993). Conversely, cholinergic transmission impairment is associated with a downregulation of the hippocampal BDNF pathway in rats submitted to Morris Water Maze training that could be reversed by galantamine, a selective ACh esterase inhibitor (Gil-Bea et al., 2011). Interestingly, the blockade of noradrenergic signaling blunts the EX-effect on *bdnf* gene transcription (Garcia et al., 2003; Ivy et al., 2003) and is reversed when animals received reboxetine, a selective noradrenalin reuptake inhibitor (Russo-Neustadt et al., 2004). Mechanistically, the binding of noradrenalin to adrenergic receptor activates the phosphorylation cascades and induces BDNF expression in hippocampal neurons (Chen et al., 2007). Dopamine (DA) has also been reported to be upregulated by EX and to induce an increase in serum Ca^{2+} levels, which can enhance DA synthesis in the brain (Suttoo and Akiyama, 2003). There is evidence showing that DA receptor activation leads to

BDNF expression probably through D1-like receptor activation (Kuppers and Beyer, 2001; Williams and Undieh, 2009). In addition, serotonin (5-HT) signaling may also be involved in EX-induced *bdnf* expression but to a lesser extent since 5-HT_{2A/C} blockade minimally altered EX-induced BDNF mRNA activation (Ivy et al., 2003; Russo-Neustadt et al., 2004). Finally, gamma-aminobutyric acid (GABA), the primary inhibitory neurotransmitter of the CNS, has been shown to decrease hippocampal BDNF expression and to impair learning and memory (Kim et al., 2012) while bicuculline, a GABA_A receptor antagonist, enhances memory consolidation by increasing hippocampal BDNF levels (Kim et al., 2012). Interestingly, the anxiolytic effect of a 3-week running protocol in mice was blocked by the infusion of bicuculline in the ventral hippocampus. These observed results suggest that GABAergic transmission in the hippocampus, in response to EX, may play an important role in dampening excitatory circuits that might otherwise trigger an anxious response. These findings demonstrate a complex and finely tuned adaptation (Schoenfeld et al., 2013).

3.3. Cerebral PGC-1 α /FNDC5/irisin pathway

Primarily discovered as a secreted factor from skeletal muscle, irisin is regulated by the peroxisome proliferator activator receptor γ coactivator-1 α (PGC-1 α) pathway, cleaved from fibronectin type III domain-containing protein 5 (FNDC5) and released in blood circulation (Bostrom et al., 2012). In addition to its peripheral expression, FNDC5/irisin is also produced in different brain regions (Dun et al., 2013) and Wrann et al. (2013) were the first showing that EX increases hippocampal BDNF expression through the PGC-1 α /FNDC5 pathway. Indeed, the authors reported that the knockdown of PGC-1 α reduced FNDC5 expression in the brain. Using primary cortical neurons, forced expression of FNDC5 increases BDNF levels whereas RNA interference directed against FNDC5 reduces its expression. Consistent with these findings, another study in mice has reported that the val66met polymorphism is associated with reduced expression of brain FNDC5 and BDNF following EX (Ieraci et al., 2016). Additionally, in an AD mouse model, hippocampal neurogenesis and cognition are improved by EX through both FNDC5 and BDNF upregulation (Choi et al., 2018). Interestingly, data reported that the exposition of *ex vivo* human cortical slices to recombinant irisin leads to the activation of the cAMP-PKA-CREB memory pathway (Lourenco et al., 2019).

3.4. Epigenetic mechanisms

Among epigenetic mechanisms, DNA methylation and histone modifications through methylation or acetylation are the most studied processes affecting gene expression. Numerous studies have shown that EX can act as an epigenetic modulator of brain plasticity and cognition influencing the activity of enzymes responsible for methylation (DNA methyltransferase, DNMT), histone acetylation (histone acetyltransferase, HAT) or deacetylation (histone deacetylase, HDAC). Thus, various studies have demonstrated that different models of EX lead to the modulation of HAT, DNMT, and HDAC activities at BDNF promoters (Gomez-Pinilla et al., 2011; Intlekofer et al., 2013; Sleiman et al., 2016). These changes ultimately result in an

increase in *bdnf* gene transcription associated with cognitive improvement. For example, the research conducted by Gomez-Pinilla et al. (2011) demonstrated that EX has the capability to decrease methylation of CpG sites. This reduction occurs through the dissociation of methyl-CpG-binding protein 2 due to its phosphorylation, leading to enhanced *bdnf* transcription (Gomez-Pinilla et al., 2011). Additionally, Ionescu-Tucker et al. (2021) have recently highlighted that EX counteracts with the repressive histone modification trimethylated histone 3, lysine 9 (H3K9me3) at *bdnf* promoter, increasing BDNF expression in aged mice. Additionally, evidence suggests the role of small non-coding mRNAs on transcriptional gene silencing. Using transgenic mice in which Dicer which plays a pivotal role in the initiation of RNA silencing was inactivated, the overall decrease in hippocampal miRNAs was associated with a higher BDNF level leading to learning and memory improvements (Konopka et al., 2010). Using profiling array data, the authors identified two miRNAs (miRNA-138 and miRNA-384-5p) that potentially target BDNF mRNA. miRNA-138 was shown to act specifically on sirtuin 1 (SIRT-1), which regulates the acetylation status of PGC-1 α responsible for *bdnf* gene expression through FNDC5 as stated in the preceding paragraph (Li et al., 2020). On the other hand, it has been reported that EX increases hippocampal SIRT-1 activity that downregulated miRNA-134 known to repress the translation of CREB and consequently that of BDNF (Gao et al., 2010). Other miRNAs have been proposed as regulators of BDNF (Varendi et al., 2014) and it has been reported that EX modifies the levels of many miRNAs in the brain (Cosin-Tomas et al., 2014; Pan-Vazquez et al., 2015). However, whether EX modulates miRNAs that directly affect cerebral *bdnf* gene expression requires further clarification.

3.5. Hemodynamic hypothesis: involvement of cerebral blood flow

EX is known to increase CBF in sensorimotor region and areas involved in cognitive capacities such as the prefrontal cortex, hippocampus and amygdala (Nishijima and Soya, 2006; Endo et al., 2013; Matsukawa et al., 2015). Considering the established synthesis of tPA by endothelial cells and its release into the bloodstream in response to different stimuli, including EX (Ding et al., 2011), a hypothetical mechanism can be proposed. Specifically, the elevation of CBF and the subsequent increase in fluid shear stress (FSS) induced by EX may result in an increase in tPA activity, which could then influence BDNF processing by cleaving pro-BDNF into its mature form through the conversion of plasminogen into active protease plasmin. Alternatively, tPA by facilitating neuronal NMDA receptors activation (Nicole et al., 2001; Anfray et al., 2020), could trigger Ca²⁺ influx and *bdnf* gene expression as stated in a precedent section. This notion is supported by the findings of Ding, Ying, and Gomez-Pinilla et al. (2011), who demonstrated that tPA-blocking strategies effectively abolished the increase in both pro- and mature BDNF in rat hippocampus, as well as the effect of EX on TrkB signaling and synaptic plasticity. The hypothesis that tPA produced by endothelial cells in response to FSS-related EX plays a key role in BDNF processing is plausible, particularly in light of evidence showing that blood tPA can cross the BBB via low-density lipoprotein receptor-related protein (LRP)-mediated transcytosis (Benchenane et al., 2005). Furthermore, considering the expression of NMDA and LRP receptors by

endothelial cells (Hogan-Cann et al., 2019; Lu et al., 2019; Anfray et al., 2020), it is conceivable to postulate that tPA may function as an autocrine molecule, triggering the production of BDNF within these cells. To investigate these different hypotheses, the implementation of an endothelial tPA knockout (KO) model subjected to EX could provide valuable insights.

Strong evidence in favor of the hemodynamic hypothesis is also provided when strategies to reduce CBF were applied. One-week daily EX in rats with unilateral carotid occlusion (irreversible clamping) did not increase cortical BDNF levels in ipsilateral compared to exercised rats without carotid occlusion (Banoujaafar et al., 2014). Mechanistically, EX induces elevation of CBF, increases FSS which in turn stimulates endothelial nitric oxide synthase (eNOS) and the subsequent production of endothelial NO (Rubanyi et al., 1986). Interestingly, pharmacological inhibition of NO production by L-NAME (N-nitro-L-arginine methyl ester) (Chen et al., 2006) prevents the enhancement of BDNF mRNA occurring with EX while genetic deletion of eNOS abolishes the positive effects of EX on ischemic stroke (Endres et al., 2003). Accordingly, using an FSS-dependent increase in endothelial NO production, data demonstrate in Human umbilical vein endothelial cells subjected to different flows that endothelial BDNF expression was proportional to shear stress intensity (Prigent-Tessier et al., 2013). The hypothesis of NO regulation is also supported by a strong correlation, in cerebral microvessels, between BDNF protein levels and the activated form of eNOS (p-eNOS) phosphorylated at serine 1,177. Additionally, a positive association was also found between the elevation of p-eNOS and p-TrkB activation, in response to EX (Cefis et al., 2020). Besides, Monnier et al. (2017b) have shown that exposure of cerebral microvessel-enriched fractions or hippocampus sections from spontaneous hypertensive rats (SHR) to slow-releasing NO donor (glycerol trinitrate) increased endothelial BDNF production. Importantly, FSS-related EX-dependent response was prevented by TrkB inhibition (Wang et al., 2018). Collectively, these data and the one showing that NO controls t-PA release by human endothelial cells (Giannarelli et al., 2007) provide strong arguments suggesting that NO may be the intermediate between FSS and endothelial BDNF synthesis and maturation at the cerebral level.

Finally, the precise role of endothelial BDNF in the brain remains speculative, but there is compelling evidence suggesting its involvement in cerebral vessel vasodilation (Santhanam et al., 2010; Bordy et al., 2020), cerebral angiogenesis (Kim et al., 2004) and neuroplastic processes (Marie et al., 2018). The presence of endothelial TrkB-FL receptors suggests that endothelial BDNF may exert an autocrine effect by promoting NO production, which could then diffuse from endothelial cells to neurons, enhancing LTP and neuroplasticity (Hopper and Garthwaite, 2006). Alternatively, endothelium-derived BDNF may directly bind to neuronal TrkB-FL receptors and trigger neuroplastic pathways. The proximity between synapses and capillaries supports this hypothesis, although it still needs to be demonstrated. Finally, as mentioned above, endothelial BDNF may promote neuroplasticity through an astrocyte-dependent mechanism. Astrocytes have been implicated in the recycling of extracellular BDNF proteins, suggesting their involvement in facilitating BDNF availability. Two potential mechanisms can be proposed in this regard. A first mechanism may involve internalization of pro-BDNF through p75^{NTR}-dependent endocytosis which is subsequently re-secreted by astrocytes in its mature form

(Bergami et al., 2008; Vignoli et al., 2016). The second mechanism implies BDNF release by CEC into the perivascular space. The nearby astrocytes end-feet able to internalize it through TrkB-T1 receptor could then transfer BDNF to neighboring neurons via transcytosis or a related mechanism. Recent research by Han et al. (2021) showing in astrocyte recycling, the re-secretion of TrkB-endocytic BDNF substantiates this theory. Consequently, the released BDNF from astrocytes into the extracellular space could bind to neuronal TrkB-FL triggering neuroplastic signaling pathway. Ultimately, the utilization of molecular strategies aimed at specifically inhibiting endothelial BDNF could serve as a potent tool to elucidate its precise role, especially in the context of neuroplasticity. All mechanisms proposed in the present section are summarized in Figure 3.

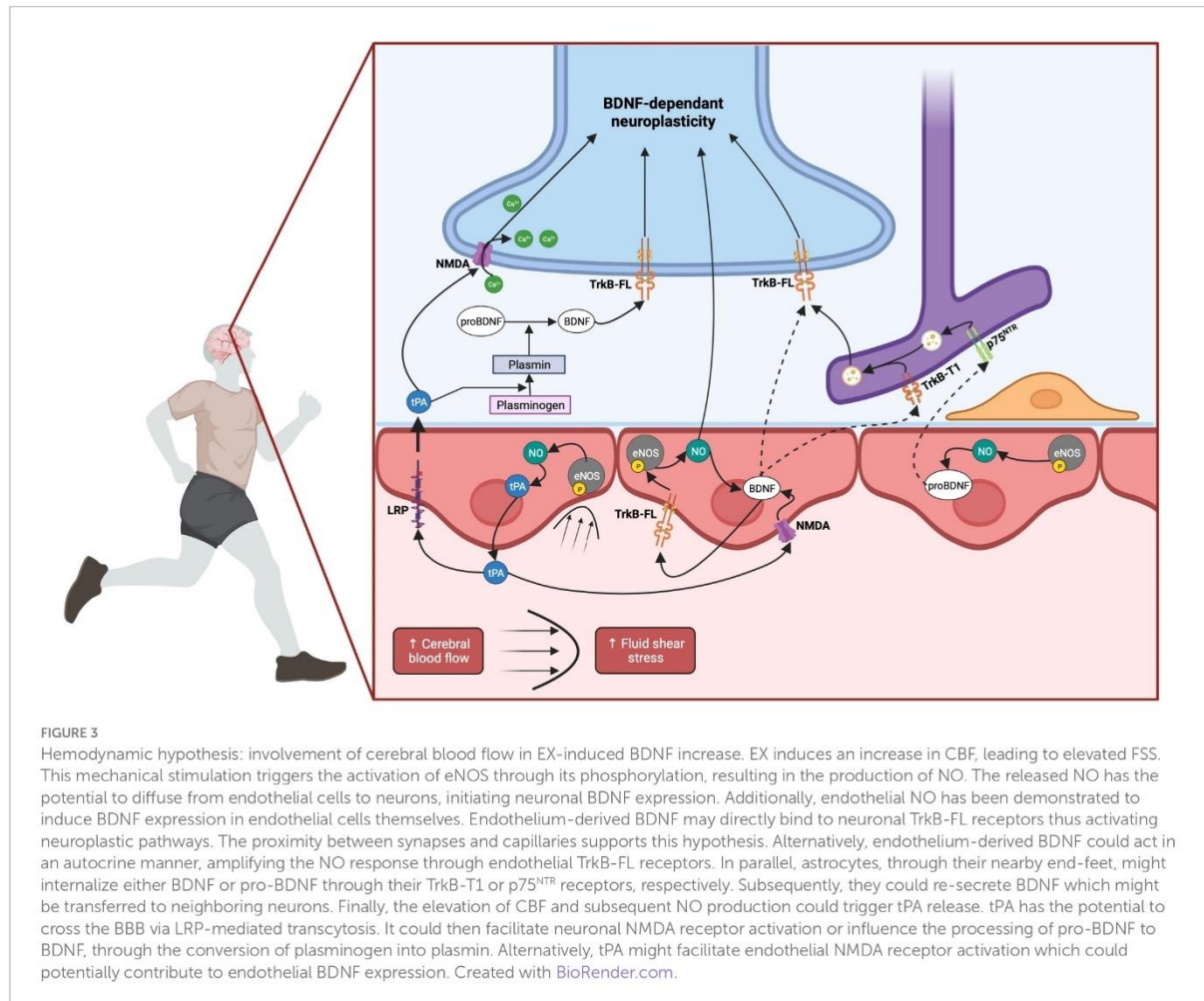
4. Peripheral mechanisms involved in EX-induced BDNF increase

In the present section, our focus lies on elucidating the various humoral factors that have the potential to modulate brain BDNF levels in the context of liver- or muscle-brain crosstalk after EX. All mechanisms described in the following sections are summarized in Figure 4. We have assigned these factors into liver- or muscle-brain sections based on preliminary findings and their prominent expression in these organs. However, it should be emphasized that several molecules which will be expounded upon herein are known to be produced and secreted by various sources including the brain. In addition, while we have focused on molecules produced by the liver (Figure 4A) and skeletal muscle (Figure 4B), it should be noted that EX results in adaptations of many organ systems including adipose tissue and bone which could also contribute to the humoral pathway.

4.1. Liver-brain crosstalk

4.1.1. β -hydroxybutyrate

The ketone bodies acetoacetate and β -hydroxybutyrate (β -HB) serve as fuel substrates that are upregulated in metabolic changes such as caloric restriction (Lin et al., 2015), ketogenic diets, fasting and EX (Sleiman et al., 2016; Evans et al., 2017). It has been reported that β -HB can cross the BBB and function as a signaling molecule promoting BDNF expression after EX (Sleiman et al., 2016). Indeed, these authors demonstrated that hippocampal β -HB contents were significantly increased in mice after 30 days of voluntary wheel running. Furthermore, exposing both cortical neuron cultures and mice hippocampus slices to β -HB led to an overexpression of *bdnf* gene. *In vivo*, intraventricular administration of β -HB in mice induced a significant increase in hippocampal *bdnf* gene expression. Consistently, a positive correlation between plasmatic β -HB levels and hippocampal BDNF contents was highlighted in mice after 6 weeks of voluntary running (Marosi et al., 2016). Interestingly, in the absence of EX, a similar increase in hippocampal BDNF was observed after *in vivo* β -HB administration in mice with normal diet (Hu et al., 2018) while infusion of β -HB attenuates motor deficits in mouse models of Huntington's disease and protects neurons in models of AD and PD (Kashiyawa et al., 2000). Additionally, a ketogenic diet seems to play neuroprotective roles during cerebral ischemia, neurodegenerative diseases and enhanced memory processes in aged mice (Suzuki et al.,



2002; Gano et al., 2014; Paoli et al., 2014; Newman et al., 2017). At the molecular level, β -HB acts directly on *bdnf* gene promoter by HDAC inhibition. Indeed, β -HB exposure of cultured primary neurons decreases HDAC 2/3 activity on the *bdnf* promoter. Besides, the inactivation of HDAC3 by BRD3308 (an inhibitor) or short hairpin RNA strategy, increases *bdnf* transcript expression (Sleiman et al., 2016).

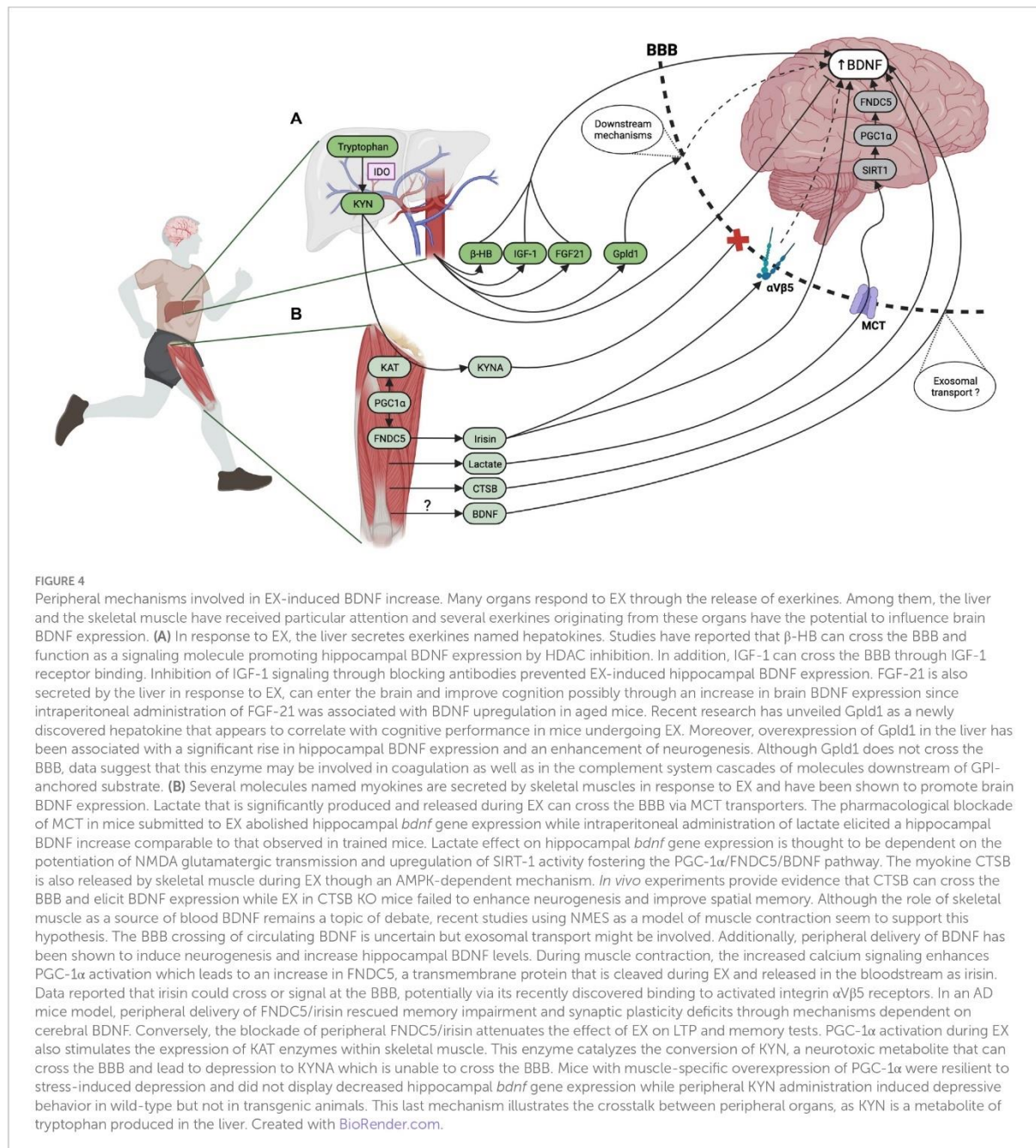
4.1.2. Insulin like growth factor 1

Structurally related to pro-insulin, Insulin like growth factor 1 (IGF-1) is a polypeptide hormone primarily identified in the liver, which can be transported to other tissues and act as an important mediator of body growth and tissue remodelling (Laron, 2001). Although bone and skeletal muscle can produce IGF-1 (Yakar et al., 2010), the major peripheral source of IGF-1 is believed to be the liver as demonstrated by a 75% decrease in plasma concentration in liver-specific IGF-1 deficient mice (Yakar et al., 1999). IGF-1 is involved not only in the growth and development of the brain during early life, but also in its maintenance and plasticity. Once secreted in the systemic circulation, IGF-1 can cross the BBB (Pan and Kastin, 2000) by binding to IGF-1 receptors in a mechanism driven by neuronal activity (Trejo et al., 2001; Nishijima et al., 2010). Data indicated that

IGF-1 mediates neurogenesis (Ding et al., 2006), synaptogenesis (O'Kusky et al., 2000), vessels growth (Lopez-Lopez et al., 2004), neuroprotection and neuroplasticity (Ding et al., 2006). In rats, intracarotid injection of IGF-1 induced BDNF mRNA expression in the hippocampus (Carro et al., 2000). In addition, the specific inhibition of IGF-1 receptors in the hippocampus using latex microbeads containing alphaIR3 antibody in trained rats, prevented EX-induced enhancement in memory recall and significantly decreased both pro-BDNF and BDNF expressions (Ding et al., 2006). Similarly, using antiserum raised against IGF-1, Chen and Russo-Neustadt (2007) reported that the blockade of the uptake of peripheral IGF-1 reversed the increase in BDNF mRNA and protein expressions elicited by EX.

4.1.3. Fibroblast growth factor 21

Using liver specific Fibroblast growth factor 21 (FGF21) knockout mice, Markan et al. (2014) demonstrated that FGF21 is preferentially expressed in the liver. FGF21 functions as a metabolic regulator (Kharitonov et al., 2005) capable of preventing insulin resistance, increasing fatty acid oxidation (Badman et al., 2007) and weight loss in obese animal models (Jimenez et al., 2018) and humans (Gaich et al., 2013). EX induces an increase in FGF21 expression in mice and



humans (Kim et al., 2013) which seems to be dependent on the rise in glucagon-to-insulin ratio since prevention of this increase during EX blunts EX-induced increase in FGF21 (Hansen et al., 2016). In addition to its beneficial effects on the whole body, FGF21 may also exert positive effects on cognition in response to EX. In this regard, FGF21 has been shown to enter the brain (Hsueh et al., 2007), to improve cognition by restoring synaptic plasticity in obese-insulin-resistant male rats (Sa-Nguanmoo et al., 2016) and to be neuroprotective in a mouse model of aging (Yu et al., 2015). Moreover, data have shown that the intraperitoneal administration of

FGF21 in aged mice was associated with activation of the AMPK pathway associated with an increase in cerebral BDNF levels and a significant improvement in Morris water maze assessment (Kang et al., 2020).

4.1.4. Glycosylphosphatidylinositol-specific phospholipase D1 (Gpld1)

Recently, using an elegant plasma transfer strategy, Horowitz et al. (2020) showed that plasma obtained from both aged and mature exercised mice could alleviate hippocampal impairments when

transferred to naïve aged mice. Among the 12 factors that were found to be increased in trained mice, the authors focused on Gpld1. They confirmed that this enzyme was predominantly expressed in the liver (Maguire and Gossner, 1995) and that liver Gpld1 expression was increased after EX whereas no change was observed in muscle and hippocampus. Furthermore, Gpld1 plasma contents were significantly enhanced by EX in both mature and aged mice with a significant correlation between liver-derived Gpld1 and cognitive performances in the radial arm water-maze. In addition, they reported that liver overexpression of Gpld1 was associated with a significant increase in hippocampal BDNF expression and an enhancement of neurogenesis markers in the dentate gyrus. These cellular and molecular changes were consistent with an improvement of cognitive function since these mice showed better spatial and recognition memory (Horowitz et al., 2020). Although the precise mechanism underlying the connection between this Glycosylphosphatidylinositol (GPI) hydrolyzing enzyme and the improvement of hippocampal-dependent learning and memory is not fully delineated by the authors, Horowitz and colleagues reported using a catalytically inactive mutant, that the enzymatic activity was necessary for its effects. The authors suggest that this enzyme may be involved in coagulation, as well as in the complement system cascades of molecules downstream of GPI-anchored substrate. Accordingly, in a similar experimental design using plasma transfer from exercising mice, complement and coagulation factor such as clusterin, largely produced by hepatocytes, was recently reported to reduce hippocampal inflammation and promote neurogenesis and cognition although BDNF expression was not assessed in this study (De Miguel et al., 2021).

4.2. Muscle-brain crosstalk

Over an extended period, the term “exercise factor” served to depict molecules originating from contracting muscles, potentially orchestrating metabolic and physiological effects on central or peripheral organs. Among these factors, cytokines were the first reported in the literature (Sprenger et al., 1992) and it was through studies showing that muscle IL-6 can act as a humoral factor operating in an autocrine, paracrine, or endocrine manner that the neologism “myokines” was introduced (Pedersen et al., 2003). Although it would have been logical to initiate this muscle-brain crosstalk section with a paragraph dedicated to cytokines, the evidence of a direct impact of these molecules on cerebral BDNF production remains inconclusive despite it has been demonstrated that IL-6 can cross the BBB (Banks et al., 1994). The same lack of direct evidence exists for IL-10 or TNF- α even though studies have reported a similar pattern of variation with BDNF in the hippocampus (Noga et al., 2007; Cabral-Santos et al., 2016; Jahangiri et al., 2019). In contrast, several myokines have been identified, bolstered by compelling scientific rationale, establishing a causative link to brain BDNF expression.

4.2.1. Lactate

Lactate is a metabolite largely produced during EX and mainly released from skeletal muscles. Lactate can cross the BBB via monocarboxylate transporters (MCT) binding on neuroglial unit (including astrocytes, neurons, endothelial cells and pericytes) (Proia et al., 2016) and participate to neuroplastic processes such as neurogenesis (Lev-Vachnish et al., 2019), neuronal excitability

(Skwarzynska et al., 2023) and LTP (Suzuki et al., 2011). Recently, lactate has been identified as an appealing candidate for inducing cerebral BDNF expression in response to EX. Interestingly, using intraperitoneal infusion of the lactate MCT inhibitor (AR-C155858) in mice submitted to voluntary EX, El Hayek et al. (2019) demonstrated that hippocampal *bdnf* gene expression was completely abolished. Conversely, intraperitoneal administration of lactate in mice elicited a hippocampal BDNF increase similar to that obtained in trained mice. The authors also reported that the improvement in learning/memory performance was dependent on BDNF as co-administration of lactate and a TrkB antagonist (CEP701) prevented this effect. Although the interaction between lactate and cerebral BDNF levels is not fully elucidated, some mechanisms have been proposed [For review (Muller et al., 2020)]. Firstly, lactate promoted plasticity-related gene expressions (*bdnf*, *Arc*, *Zif⁶⁸* and *c-fos*) in neuronal cultures of mouse neocortex by potentiating neuronal NMDA glutamatergic transmission (Yang et al., 2014). Secondly, peripheral administration of lactate induced SIRT-1 activity, thereby fostering the cerebral PGC-1 α /FNDC5/BDNF pathway (El Hayek et al., 2019). Conversely, inhibition of SIRT-1 with sirtinol administration or RNA interference impeded both hippocampal *bdnf* gene induction and the lactate- and EX-mediated improvement of learning/memory (El Hayek et al., 2019).

4.2.2. PGC-1 α pathways

4.2.2.1. FNDC5/irisin

Recent research has provided compelling evidence suggesting that the activation of the PGC-1 α FNDC5/irisin pathway in skeletal muscles is also involved in EX-induced cerebral plasticity (Lourenco et al., 2019). Using AD mice models, the authors demonstrated that FNDC5 adenovirus delivery through the tail vein or intracerebrovascular injection of FNDC5 rescued memory impairment and synaptic plasticity mechanisms dependent on cerebral BDNF. Conversely, the blockade of peripheral FNDC5/irisin attenuates the effect of EX on LTP and memory tests. Although this blockade was not directly linked to a decrease in brain BDNF expression in this study, these data support the role of peripheral FNDC5/irisin on physiological memory process. In this regard, in the context of hypertension, EX-induced enhanced BDNF expression was reported to be dependent on peripheral but not central FNDC5 (Wang et al., 2019). Furthermore, based on the premise that irisin is secreted by the skeletal muscle, Islam et al. (2021) have provided evidence that irisin can cross the BBB. Indeed, through the injection of fluorescently labeled irisin into the bloodstream of mice and subsequent confocal microscopy analysis, the authors successfully detected the distribution of labeled irisin within the cerebral region. Then, they have shown that peripheral delivery of irisin improved learning and memory in young and old mice and significantly reduced the buildup of beta-amyloid plaques in a mouse model of AD. Collectively, these findings support the hypothesis that FNDC5/irisin may cross the BBB or induce another factor that triggers cerebral BDNF expression, possibly through CREB activation, as previously stated. Accordingly, a very recent study reported that irisin binds to activated integrin α V β 5 receptors, which are abundantly expressed on brain endothelial cells (Mu et al., 2023). However, while FNDC5/irisin appears as a very attractive myokine, it is important to note that the detection of this hormone by commercial antibodies reveals an important

cross-reactivity (Albrecht et al., 2015). Besides, the translatability of the studies from animals to humans may encounter a major pitfall since the transcription pattern of *fnDC5* gene is not conserved from rodent to human resulting in very low translation efficiency (Raschke et al., 2013; Albrecht et al., 2020).

4.2.2.2. Kynurenine to kynurenic acid pathway

Another PGC-1 α dependent mechanism involves the conversion of Kynurenine (KYN) to kynurenic acid (KYNA). Indeed, tryptophan, primarily derived from the liver, is metabolized to KYN through indolamine-2,3-dioxygenase (IDO) (Martin et al., 2020). Interestingly, KYN has been reported to cross the BBB whereas KYNA cannot (Fukui et al., 1991) and was shown to be neurotoxic (Sundaram et al., 2020) leading to depression and neurodegenerative disorders (Myint et al., 2007). Conversely, KYNA which is produced from KYN via muscle kynurenine aminotransferases (KAT) activity (Schwarcz et al., 2012), is neuroprotective (Foster et al., 1984) and cognitive performance were positively associated with KYNA concentrations in plasma of AD patients (Gulaj et al., 2010). Therefore, maintaining a well-balanced ratio between these two metabolites appears to be crucial. Following EX, the activation of the PGC-1 α pathway stimulates the expression of KAT enzymes within skeletal muscle. Consequently, data also reported that EX increases plasma KYNA levels both in rodents (Agudelo et al., 2014) and humans (Lewis et al., 2010) while an increase in KYN was shown in a model of stress-induced depression (Agudelo et al., 2014). Interestingly, mice with muscle-specific overexpression of PGC-1 α were resilient to stress-induced depression compared to wild-type littermates and did not exhibit decreased hippocampal *bdnf* gene expression while peripheral KYN administration induced depressive behavior in wild-type but not in transgenic animals (Agudelo et al., 2014). Consistent with these results, in a murine model of PD, IDO inhibition was associated with reduced oxidative stress, lower impairment in coordination and locomotion and restoration of striatal BDNF levels (Sodhi et al., 2021). Collectively, these data emphasize the importance of muscle KYN-to-KYNA conversion in facilitating BDNF-induced cognitive improvement after EX.

4.2.3. Cathepsin-B

Cathepsin-B (CTSB), a lysosomal cysteine protease ubiquitously expressed was identified in 2016 as a myokine by Moon et al. (2016). Using proteomic analysis of the culture media from L6 myoblast cells treated with the AMPK agonist 5-aminoimidazole-4-carboxamide ribonucleotide (AICAR) to mimic the effects of EX, the authors reported an increase in CTSB. To validate CTSB as a candidate myokine, they further showed that the rise in plasma CTSB levels in voluntary running mice was concomitant with an increase in CTSB mRNA and protein expressions in gastrocnemius muscles after 30 days. In addition, similar increases in CTSB plasma levels were observed in Rhesus monkeys and humans after four months of treadmill running. To delineate the underlying mechanisms, Moon et al. (2016) conducted studies in CTSB KO mice showing that compared to wild-type control mice, EX in CTSB KO mice failed to enhance neurogenesis and improve spatial memory. Additionally, intravenous injection of CTSB in CTSB KO mice led to a significant increase in CTSB levels in the blood and brain tissues, indicating that CTSB can cross the BBB. Interestingly, these authors demonstrated that recombinant CTSB administration induced the increase in both

doublecortin and BDNF mRNA levels in adult hippocampal progenitor cells. These data are consistent with a previous study showing in contrast that inhibition of cathepsins B and L reduced kainate-induced BDNF mRNA expression in cultured hippocampal slices (Bednarski et al., 1998). Although these data support a causative link between CTSB and cerebral BDNF expressions, the complex interplay between them should be interpreted considering the origin of CTSB and the specific physiological context. Indeed, recent studies have suggested that microglia-derived CTSB may be a key driver in inflammatory brain diseases and aging (Nakanishi, 2020) while genetic CTSB deletion prevented cognitive impairments, reduced amyloid peptides, brain damage and pro-inflammatory factors, in animal models of traumatic brain injury, AD and aging (Hook et al., 2022).

4.2.4. BDNF as a myokine?

BDNF is produced in skeletal muscle by various cell types, including myofibers, satellite cells, motoneurons and endothelial cells (Mousavi and Jasmin, 2006; Matthews et al., 2009; Cefis et al., 2022). BDNF has been found to play an important role in muscle growth, function, regeneration (Mousavi and Jasmin, 2006; Clow and Jasmin, 2010) and metabolism (Matthews et al., 2009; Yang et al., 2019). In response to EX, a significant increase in BDNF mRNA and/or protein levels has been observed in skeletal muscles (Cuppini et al., 2007; Ogborn and Gardiner, 2010; Yu et al., 2017). According to the definition of myokines, BDNF could be classified as one (Matthews et al., 2009; Yang et al., 2019). However, whether it may be tempting to believe that skeletal muscle could be a primary source of circulating BDNF levels remains a subject of debate. Although the muscle cells produce BDNF, the precise mechanism of its release into the bloodstream remains uncertain, and there is supportive evidence from various studies indicating that circulating BDNF predominantly originates from the brain (Rasmussen et al., 2009). Thus, using prolonged EX, Rasmussen and collaborators demonstrated in Human that the increase in circulating BDNF originated from the brain, as evidenced by the difference between plasmatic BDNF from arterial and jugular origins (Rasmussen et al., 2009). Besides, in skeletal muscle, a study using electroporation to overproduce BDNF in mice failed to increase circulating BDNF levels, suggesting that muscle derived-BDNF may act only in an auto/paracrine manner (Matthews et al., 2009). However, recent evidences have shown that neuromuscular electric stimulation (NMES) increases circulating BDNF levels both in humans (Miyamoto et al., 2018; Kimura et al., 2019) and animals (Fulgenzi et al., 2020). Additionally, it has been recently demonstrated for the first time that human myocytes produced and secreted biologically active BDNF (Fulgenzi et al., 2020). These outcomes reinforce the idea that skeletal muscle could be a potential source of circulating BDNF in humans and animals, but a further question still needs to be clarified: Is BDNF released from the skeletal muscle into bloodstream can directly interact with the brain?

To address this question, particular attention should be provided to extracellular vesicles, especially exosomes. Based on the provided references, BDNF can be transported within exosomes, (Yuan et al., 2017; Gelle et al., 2021) and it has been observed that muscle contraction induced their release (Watanabe et al., 2022). At the cerebral level, it was recently suggested that BDNF transported in exosomes could allow sustained and specific release of BDNF in the brain (Yuan et al., 2017), a mechanism that could potentially extend to BDNF derived from skeletal muscle. In addition, the transport by

exosomes offers a considerable advantage since exosomes can cross the BBB (Yuan et al., 2017; D'Anca et al., 2019). Indeed, at the peripheral level, exosomes could allow BDNF, which has a short half-life, to evade the catabolic processes. Finally, even if modulation of neuroplasticity by skeletal muscle-derived BDNF has yet to be demonstrated, peripheral delivery of BDNF has been shown to induce neurogenesis and increase BDNF levels in hippocampus, leading to antidepressant and anxiolytic effects in mice (Schmidt and Duman, 2010). Taken together, these findings support the hypothesis that muscle-derived BDNF may cross the BBB and positively act in the brain following EX. Further *in vivo* studies are needed to provide more conclusive evidence in support of this hypothesis.

5. Conclusion and future directions

As the most downstream factor mediating EX-induced brain health, manipulating BDNF content in the brain has emerged as a promising strategy for mitigating cognitive deficits, addressing neurodegenerative disorders, counteracting age-related cognitive impairment, and promoting overall brain health. EX has been identified as a potent and robust non-pharmacological intervention for enhancing cognitive function and limiting cognitive deficits through increased brain BDNF levels. Recent research has shed light on two additional pathways, namely hemodynamic and humoral, which complement the well-established role of neuronal activity in modulating brain BDNF levels. Notably, these pathways offer more feasible and achievable pharmacological strategies for intensifying brain BDNF expression compared to the neuronal activity pathway, as they circumvent the challenges of drug delivery across the BBB and potential drug-related side effects on neurotransmission.

However, the question of the relative contribution of each of these mechanisms to the beneficial effects of EX-induced brain BDNF increase remains complex and challenging to answer definitively. It is hypothesized that each pathway plays an essential role, as strategies that dampen any of these mechanisms individually have been shown to result in defective BDNF expression associated with cognitive impairment. It is plausible that these distinct mechanisms exist to offer a differential and persistent age-dependent temporal response, or to compensate for the deficiencies of one pathway with the others. Moreover, evidence suggests that these mechanisms are intricately interconnected, as neuronal activation is coupled with CBF regulation, and irisin, one of the well-studied humoral factors, has been found to modulate both vasorelaxation and neuronal activity. To understand the contributive part of the different pathways involved, employing transgenic mice with selective endothelial deletion of tPA or BDNF could provide valuable insights into the neuroplastic consequences of the hemodynamic pathway. Similarly, conducting studies that compare NMES to conventional models of EX would enable the isolation of the humoral muscle-brain crosstalk from the broader whole-body response. Indeed, this strategy would overcome an experimental bias as current studies investigating the muscle-brain dialogue are conducted following conventional protocols which engender a pre-dialogue between peripheral tissues that are also responsive to EX. The conversion of KYN into KYNA or the production of irisin by adipose tissue are some examples.

In conclusion, manipulating brain BDNF content through non-pharmacological interventions such as EX has emerged as a

promising strategy to enhance cognitive function and mitigate cognitive deficits. Recent findings on hemodynamic and humoral pathways provide additional insights into the mechanisms through which EX induces brain BDNF overproduction. Further research is warranted to better understand the contribution of each pathway to the beneficial effects of EX on brain health and cognitive function. In addition, due to a wide range of EX types and the complexity of their classification, it is crucial to keep in mind that the contribution of the pathways described could be contingent upon EX type (e.g., resistance, aerobic), duration, intensity, frequency. Although this aspect has not been addressed in the manuscript, we encourage readers to consider this remark. Altogether, the findings on hemodynamic and humoral pathways will undoubtedly have implications for clinicians aiming to promote EX interventions or for scientists seeking to develop alternative strategies to mimic EX effects, particularly in populations who may face challenges with regular EX adherence. By unraveling the intricate interplay of these mechanisms, the scientific community can unlock the full potential of brain BDNF modulation for cognitive health and neuroprotection in various clinical and research settings.

Author contributions

MC: Writing – original draft, Writing – review & editing. RC: Writing – original draft, Writing – review & editing. JW: Writing – review & editing. AM: Writing – review & editing. AQ: Writing – review & editing. CL: Writing – review & editing. AP-T: Writing – original draft, Writing – review & editing. PG: Writing – original draft, Writing – review & editing.

Funding

The author(s) declare financial support was received for the research, authorship, and/or publication of this article. MC is supported by a postdoctoral fellowship from the Fonds de Recherche en Santé du Québec. RC is supported by a Ph.D. scholarship from the Fondation pour la Recherche Médicale. This work has been supported by INSERM.

Conflict of interest

The authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.

Publisher's note

All claims expressed in this article are solely those of the authors and do not necessarily represent those of their affiliated organizations, or those of the publisher, the editors and the reviewers. Any product that may be evaluated in this article, or claim that may be made by its manufacturer, is not guaranteed or endorsed by the publisher.

References

- Agudelo, L. Z., Femenia, T., Orhan, F., Porsmyr-Palmertz, M., Gojny, M., Martinez-Redondo, V., et al. (2014). Skeletal muscle PGC-1 α modulates kynurenine metabolism and mediates resilience to stress-induced depression. *Cells* 159, 33–45. doi: 10.1016/j.cell.2014.07.051
- Aid, T., Kazantseva, A., Piirsoo, M., Palm, K., and Timmusk, T. (2007). Mouse and rat BDNF gene structure and expression revisited. *J. Neurosci. Res.* 85, 525–535. doi: 10.1002/jnr.21139
- Albrecht, E., Norheim, F., Thiede, B., Holen, T., Ohashi, T., Schering, L., et al. (2015). Irisin - a myth rather than an exercise-inducible myokine. *Sci. Rep.* 5:8889. doi: 10.1038/srep08889
- Albrecht, E., Schering, L., Buck, F., Vlach, K., Schober, H. C., Drevon, C. A., et al. (2020). Irisin: still chasing shadows. *Mol. Metab.* 34, 124–135. doi: 10.1016/j.molmet.2020.01.016
- Alderson, R. F., Curtis, R., Alterman, A. L., Lindsay, R. M., and DiStefano, P. S. (2000). Truncated TrkB mediates the endocytosis and release of BDNF and neurotrophin-4/5 by rat astrocytes and schwann cells in vitro. *Brain Res.* 871, 210–222. doi: 10.1016/S0006-8993(00)02428-8
- Alfray, A., Drieu, A., Hingot, V., Hommet, Y., Yetim, M., Rubio, M., et al. (2020). Circulating IGF contributes to neurovascular coupling by a mechanism involving the endothelial NMDA receptors. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 40, 2038–2054. doi: 10.1177/0271678X19883599
- Badman, M. K., Pissios, P., Kennedy, A. R., Koukos, G., Flier, J. S., and Maratos-Flier, E. (2007). Hepatic fibroblast growth factor 21 is regulated by PPAR α and is a key mediator of hepatic lipid metabolism in ketotic states. *Cell Metab.* 5, 426–437. doi: 10.1016/j.cmet.2007.05.002
- Balkowicz, A., and Katz, D. M. (2002). Cellular mechanisms regulating activity-dependent release of native brain-derived neurotrophic factor from hippocampal neurons. *J. Neurosci.* 22, 10399–10407. doi: 10.1523/JNEUROSCI.22-23-10399.2002
- Banks, W. A., Kastin, A. J., and Gutierrez, E. G. (1994). Penetration of interleukin-6 across the murine blood-brain barrier. *Neurosci. Lett.* 179, 53–56. doi: 10.1016/0304-3940(94)90933-4
- Banoujaafar, H., Van Hoecke, J., Mossiat, C. M., and Marie, C. (2014). Brain BDNF levels elevation induced by physical training is reduced after unilateral common carotid artery occlusion in rats. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 34, 1681–1687. doi: 10.1038/jcbfm.2014.133
- Barde, Y. A., Edgar, D., and Thoenen, H. (1982). Purification of a new neurotrophic factor from mammalian brain. *EMBO J.* 1, 549–553. doi: 10.1002/j.1460-2075.1982.tb01207.x
- Bartoletti, A., Cancedda, L., Reid, S. W., Tessarollo, L., Porciatti, V., Pizzorusso, T., et al. (2002). Heterozygous knock-out mice for brain-derived neurotrophic factor show a pathway-specific impairment of long-term potentiation but normal critical period for monocular deprivation. *J. Neurosci.* 22, 10072–10077. doi: 10.1523/JNEUROSCI.22-23-10072.2002
- Bayas, A., Hummel, V., Kallmann, B. A., Karch, C., Toyka, K. V., and Rieckmann, P. (2002). Human cerebral endothelial cells are a potential source for bioactive BDNF. *Cytokine* 19, 55–58. doi: 10.1006/cyto.2002.0892
- Beattie, M. S., Harrington, A. W., Lee, R., Kim, J. Y., Boyce, S. L., Longo, F. M., et al. (2002). ProNGF induces p75-mediated death of oligodendrocytes following spinal cord injury. *Neuron* 36, 375–386. doi: 10.1016/S0896-6273(02)01005-X
- Bednarski, E., Lauterborn, J. C., Gall, C. M., and Lynch, G. (1998). Lysosomal dysfunction reduces brain-derived neurotrophic factor expression. *Exp. Neurol.* 150, 128–135. doi: 10.1006/exnr.1997.6747
- Bejot, Y., Mossiat, C., Giroud, M., Prigent-Tessier, A., and Marie, C. (2011). Circulating and brain BDNF levels in stroke rats. Relevance to clinical studies. *PLoS One* 6:e29405. doi: 10.1371/journal.pone.0029405
- Benchenane, K., Berezowski, V., Ali, C., Fernandez-Monreal, M., Lopez-Atalaya, J. P., Brillault, J., et al. (2005). Tissue-type plasminogen activator crosses the intact blood-brain barrier by low-density lipoprotein receptor-related protein-mediated transcytosis. *Circulation* 111, 2241–2249. doi: 10.1161/01.CIR.0000163542.48611.A2
- Berchtold, N. C., Chinn, G., Chou, M., Kessler, J. P., and Cotman, C. W. (2005). Exercise primes a molecular memory for brain-derived neurotrophic factor protein induction in the rat hippocampus. *Neuroscience* 133, 853–861. doi: 10.1016/j.neuroscience.2005.03.026
- Bergami, M., Santi, S., Formaggio, E., Cagnoli, C., Verderio, C., Blum, R., et al. (2008). Uptake and recycling of pro-BDNF for transmitter-induced secretion by cortical astrocytes. *J. Cell Biol.* 183, 213–221. doi: 10.1083/jcb.200806137
- Bito, H., Deisseroth, K., and Tsien, R. W. (1996). CREB phosphorylation and dephosphorylation: a ca(2+)- and stimulus duration-dependent switch for hippocampal gene expression. *Cells* 87, 1203–1214. doi: 10.1016/S0092-8674(00)81816-4
- Black, J. E., Isaacs, K. R., Anderson, B. J., Alcantara, A. A., and Greenough, W. T. (1990). Learning causes synaptogenesis, whereas motor activity causes angiogenesis, in cerebellar cortex of adult rats. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 87, 5568–5572. doi: 10.1073/pnas.87.14.5568
- Bordy, R., Quirie, A., Marie, C., Wendling, D., Totoson, P., and Demougeot, C. (2020). Vascular arginase is a relevant target to improve cerebrovascular endothelial dysfunction in rheumatoid arthritis: evidence from the model of adjuvant-induced arthritis. *Transl. Stroke Res.* 11, 4–15. doi: 10.1007/s12975-019-00699-7
- Bostrom, P., Wu, J., Jedrychowski, M. P., Korde, A., Ye, L., Lo, J. C., et al. (2012). A PGC1- α -dependent myokine that drives brown-fat-like development of white fat and thermogenesis. *Nature* 481, 463–468. doi: 10.1038/nature10777
- Cabral-Santos, C., Castrillon, C. I., Miranda, R. A., Monteiro, P. A., Inoue, D. S., Campos, E. Z., et al. (2016). Corrigendum: inflammatory cytokines and BDNF response to high-intensity intermittent exercise: effect the exercise volume. *Front. Physiol.* 7:662. doi: 10.3389/fphys.2016.00662
- Carro, E., Nunez, A., Busiguina, S., and Torres-Aleman, I. (2000). Circulating insulin-like growth factor I mediates effects of exercise on the brain. *J. Neurosci.* 20, 2926–2933. doi: 10.1523/JNEUROSCI.20-08-02926.2000
- Cefis, M., Chaney, R., Quirie, A., Santini, C., Marie, C., Garnier, P., et al. (2022). Endothelial cells are an important source of BDNF in rat skeletal muscle. *Sci. Rep.* 12:311. doi: 10.1038/s41598-021-03740-8
- Cefis, M., Prigent-Tessier, A., Quirie, A., Pernet, N., Marie, C., and Garnier, P. (2019). The effect of exercise on memory and BDNF signaling is dependent on intensity. *Brain Struct. Funct.* 224, 1975–1985. doi: 10.1007/s00429-019-01889-7
- Cefis, M., Quirie, A., Pernet, N., Marie, C., Garnier, P., and Prigent-Tessier, A. (2020). Brain-derived neurotrophic factor is a full endothelium-derived factor in rats. *Vasc. Pharmacol.* 128–129:106674. doi: 10.1016/j.vph.2020.106674
- Chaddock, L., Erickson, K. I., Prakash, R. S., Kim, J. S., Voss, M. W., Vanpatter, M., et al. (2010). A neuroimaging investigation of the association between aerobic fitness, hippocampal volume, and memory performance in preadolescent children. *Brain Res.* 1358, 172–183. doi: 10.1016/j.brainres.2010.08.049
- Chao, M. V. (2003). Neurotrophins and their receptors: a convergence point for many signalling pathways. *Nat. Rev. Neurosci.* 4, 299–309. doi: 10.1038/nrn1078
- Chen, M. J., Ivy, A. S., and Russo-Neustadt, A. A. (2006). Nitric oxide synthesis is required for exercise-induced increases in hippocampal BDNF and phosphatidylinositol 3' kinase expression. *Brain Res. Bull.* 68, 257–268. doi: 10.1016/j.brainresbull.2005.08.013
- Chen, M. J., Nguyen, T. V., Pike, C. J., and Russo-Neustadt, A. A. (2007). Norepinephrine induces BDNF and activates the PI-3K and MAPK cascades in embryonic hippocampal neurons. *Cell. Signal.* 19, 114–128. doi: 10.1016/j.cellsig.2006.05.028
- Chen, M. J., and Russo-Neustadt, A. A. (2007). Running exercise- and antidepressant-induced increases in growth and survival-associated signaling molecules are IGF-dependent. *Growth Factors* 25, 118–131. doi: 10.1080/08977190701602329
- Chen, Z. Y., Ieraci, A., Teng, H., Dall, H., Meng, C. X., Herrera, D. G., et al. (2005). Sortilin controls intracellular sorting of brain-derived neurotrophic factor to the regulated secretory pathway. *J. Neurosci.* 25, 6156–6166. doi: 10.1523/JNEUROSCI.1017-05.2005
- Cheval, B., Darrous, L., Choi, K. W., Klimentidis, Y. C., Raichlen, D. A., Alexander, G. E., et al. (2023). Genetic insights into the causal relationship between physical activity and cognitive functioning. *Sci. Rep.* 13:5310. doi: 10.1038/s41598-023-32150-1
- Choi, S. H., Bylykbashi, E., Chatila, Z. K., Lee, S. W., Pulli, B., Clemenson, G. D., et al. (2018). Combined adult neurogenesis and BDNF mimic exercise effects on cognition in an Alzheimer's mouse model. *Science* 361. doi: 10.1126/science.aan8821
- Clow, C., and Jasmin, B. J. (2010). Brain-derived neurotrophic factor regulates satellite cell differentiation and skeletal muscle regeneration. *Mol. Biol. Cell* 21, 2182–2190. doi: 10.1091/mbc.e10-02-0154
- Colcombe, S. J., Erickson, K. I., Scalf, P. E., Kim, J. S., Prakash, R., McAuley, E., et al. (2006). Aerobic exercise training increases brain volume in aging humans. *J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci.* 61, 1166–1170. doi: 10.1093/gerona/61.11.1166
- Cosin-Tomas, M., Alvarez-Lopez, M. J., Sanchez-Roige, S., Lalanza, J. F., Bayod, S., Sanfeliu, C., et al. (2014). Epigenetic alterations in hippocampus of SAMP8 senescent mice and modulation by voluntary physical exercise. *Front. Aging Neurosci.* 6:51. doi: 10.3389/fnagi.2014.00051
- Cuppini, R., Sartini, S., Agostini, D., Guescini, M., Ambrogini, P., Betti, M., et al. (2007). Bdnf expression in rat skeletal muscle after acute or repeated exercise. *Arch. Ital. Biol.* 145, 99–110. doi: 10.4449/aib.v145i2.868
- Czurko, A., Hirase, H., Csicsvari, J., and Buzsaki, G. (1999). Sustained activation of hippocampal pyramidal cells by 'space clamping' in a running wheel. *Eur. J. Neurosci.* 11, 344–352. doi: 10.1046/j.1460-9568.1999.00446.x
- D'Anca, M., Fenoglio, C., Serpente, M., Arosio, B., Cesari, M., Scarpini, E. A., et al. (2019). Exosome determinants of physiological aging and age-related neurodegenerative diseases. *Front. Aging Neurosci.* 11:232. doi: 10.3389/fnagi.2019.00232
- de Greeff, J. W., Bosker, R. J., Oosterlaan, J., Visscher, C., and Hartman, E. (2018). Effects of physical activity on executive functions, attention and academic performance in preadolescent children: a meta-analysis. *J. Sci. Med. Sport* 21, 501–507. doi: 10.1016/j.jsams.2017.09.595

- De Miguel, Z., Khoury, N., Betley, M. J., Lehallier, B., Willoughby, D., Olsson, N., et al. (2021). Exercise plasma boosts memory and dampens brain inflammation via clusterin. *Nature* 600, 494–499. doi: 10.1038/s41586-021-04183-x
- Ding, Q., Vaynman, S., Akhavan, M., Ying, Z., and Gomez-Pinilla, F. (2006). Insulin-like growth factor I interfaces with brain-derived neurotrophic factor-mediated synaptic plasticity to modulate aspects of exercise-induced cognitive function. *Neuroscience* 140, 823–833. doi: 10.1016/j.neuroscience.2006.02.084
- Ding, Q., Ying, Z., and Gomez-Pinilla, F. (2011). Exercise influences hippocampal plasticity by modulating brain-derived neurotrophic factor processing. *Neuroscience* 192, 773–780. doi: 10.1016/j.neuroscience.2011.06.032
- Ding, Y., Li, J., Luan, X., Ding, Y. H., Lai, Q., Rafols, J. A., et al. (2004). Exercise preconditioning reduces brain damage in ischemic rats that may be associated with regional angiogenesis and cellular overexpression of neurotrophin. *Neuroscience* 124, 583–591. doi: 10.1016/j.neuroscience.2003.12.029
- Dougherty, K. D., Dreyfus, C. F., and Black, I. B. (2000). Brain-derived neurotrophic factor in astrocytes, oligodendrocytes, and microglia/macrophages after spinal cord injury. *Neurobiol. Dis.* 7, 574–585. doi: 10.1006/nbdi.2000.0318
- Dunn, A. L., Trivedi, M. H., Kampert, J. B., Clark, C. G., and Chambliss, H. O. (2005). Exercise treatment for depression: efficacy and dose response. *Am. J. Prev. Med.* 28, 1–8. doi: 10.1016/j.amepre.2004.09.003
- Dun, S. L., Lyu, R. M., Chen, Y. H., Chang, J. K., Luo, J. J., and Dun, N. J. (2013). Irisin-immunoreactivity in neural and non-neural cells of the rodent. *Neuroscience* 240, 155–162. doi: 10.1016/j.neuroscience.2013.02.050
- Egan, M. F., Kojima, M., Callicott, J. H., Goldberg, T. E., Kolachana, B. S., Bertolino, A., et al. (2003). The BDNF val66met polymorphism affects activity-dependent secretion of BDNF and human memory and hippocampal function. *Cells* 112, 257–269. doi: 10.1016/S0092-8674(03)00035-7
- El Hayek, L., Khalifeh, M., Zibara, V., Abi Assaad, R., Emmanuel, N., Karnib, N., et al. (2019). Lactate mediates the effects of exercise on learning and memory through SIRT1-dependent activation of hippocampal brain-derived neurotrophic factor (BDNF). *J. Neurosci.* 39, 2369–2382. doi: 10.1523/JNEUROSCI.1661-18.2019
- Endo, K., Matsukawa, K., Liang, N., Nakatsuka, C., Tsuchimochi, H., Okamura, H., et al. (2013). Dynamic exercise improves cognitive function in association with increased prefrontal oxygenation. *J. Physiol. Sci.* 63, 287–298. doi: 10.1007/s12576-013-0267-6
- Endres, M., Gertz, K., Lindauer, U., Katchanov, J., Schultze, J., Schrock, H., et al. (2003). Mechanisms of stroke protection by physical activity. *Ann. Neurol.* 54, 582–590. doi: 10.1002/ana.10722
- Erickson, K. I., Miller, D. L., and Roecklein, K. A. (2012). The aging hippocampus: interactions between exercise, depression, and BDNF. *Neuroscientist* 18, 82–97. doi: 10.1177/1073858410397054
- Erickson, K. I., Voss, M. W., Prakash, R. S., Basak, C., Szabo, A., Chaddock, L., et al. (2011). Exercise training increases size of hippocampus and improves memory. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 108, 3017–3022. doi: 10.1073/pnas.1015950108
- Ernfors, P., Ibanez, C. F., Ebendal, T., Olson, L., and Persson, H. (1990). Molecular cloning and neurotrophic activities of a protein with structural similarities to nerve growth factor: developmental and topographical expression in the brain. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 87, 5454–5458. doi: 10.1073/pnas.87.14.5454
- Evans, M., Cogan, K. E., and Egan, B. (2017). Metabolism of ketone bodies during exercise and training: physiological basis for exogenous supplementation. *J. Physiol.* 595, 2857–2871. doi: 10.1113/JP273185
- Fahimi, A., Baktir, M. A., Moghadam, S., Mojabi, F. S., Sumanth, K., McNerney, M. W., et al. (2017). Physical exercise induces structural alterations in the hippocampal astrocytes: exploring the role of BDNF-TrkB signaling. *Brain Struct. Funct.* 222, 1797–1808. doi: 10.1007/s00429-016-1308-8
- Farmer, J., Zhao, X., van Praag, H., Wodtke, K., Gage, F. H., and Christie, B. R. (2004). Effects of voluntary exercise on synaptic plasticity and gene expression in the dentate gyrus of adult male Sprague-Dawley rats in vivo. *Neuroscience* 124, 71–79. doi: 10.1016/j.neuroscience.2003.09.029
- Fenner, B. M. (2012). Truncated TrkB: beyond a dominant negative receptor. *Cytokine Growth Factor Rev.* 23, 15–24. doi: 10.1016/j.cytogfr.2012.01.002
- Fernandez-Rodriguez, R., Alvarez-Bueno, C., Martinez-Ortega, I. A., Martinez-Vizcaino, V., Mesas, A. E., and Notario-Pacheco, B. (2022). Immediate effect of high-intensity exercise on brain-derived neurotrophic factor in healthy young adults: a systematic review and meta-analysis. *J. Sport Health Sci.* 11, 367–375. doi: 10.1016/j.jshs.2021.08.004
- Foster, A. C., Vezzani, A., French, E. D., and Schwarcz, R. (1984). Kynurenic acid blocks neurotoxicity and seizures induced in rats by the related brain metabolite quinolinic acid. *Neurosci. Lett.* 48, 273–278. doi: 10.1016/0304-3940(84)90050-8
- Friedman, W. J. (2000). Neurotrophins induce death of hippocampal neurons via the p75 receptor. *J. Neurosci.* 20, 6340–6346. doi: 10.1523/JNEUROSCI.20-17-06340.2000
- Fukui, S., Schwarcz, R., Rapoport, S. I., Takada, Y., and Smith, Q. R. (1991). Blood-brain barrier transport of kynurenines: implications for brain synthesis and metabolism. *J. Neurochem.* 56, 2007–2017. doi: 10.1111/j.1471-4159.1991.tb03460.x
- Fulgenzi, G., Hong, Z., Tomassoni-Ardori, F., Barella, L. F., Becker, J., Barrick, C., et al. (2020). Novel metabolic role for BDNF in pancreatic beta-cell insulin secretion. *Nat. Commun.* 11:1950. doi: 10.1038/s41467-020-15833-5
- Gaich, G., Chien, J. Y., Fu, H., Glass, L. C., Deeg, M. A., Holland, W. L., et al. (2013). The effects of LY2405319, an FGF21 analog, in obese human subjects with type 2 diabetes. *Cell Metab.* 18, 333–340. doi: 10.1016/j.cmet.2013.08.005
- Gano, L. B., Patel, M., and Rho, J. M. (2014). Ketogenic diets, mitochondria, and neurological diseases. *J. Lipid Res.* 55, 2211–2228. doi: 10.1194/jlr.R048975
- Gao, J., Wang, W. Y., Mao, Y. W., Graff, J., Guan, J. S., Pan, L., et al. (2010). A novel pathway regulates memory and plasticity via SIRT1 and miR-134. *Nature* 466, 1105–1109. doi: 10.1038/nature09271
- Garcia, C., Chen, M. J., Garza, A. A., Cotman, C. W., and Russo-Neustadt, A. (2003). The influence of specific noradrenergic and serotonergic lesions on the expression of hippocampal brain-derived neurotrophic factor transcripts following voluntary physical activity. *Neuroscience* 119, 721–732. doi: 10.1016/S0306-4522(03)00192-1
- Gelle, T., Samey, R. A., Plansont, B., Bessette, B., Jauberteau-Marchan, M. O., Lalloue, F., et al. (2021). BDNF and pro-BDNF in serum and exosomes in major depression: evolution after antidepressant treatment. *Prog. Neuro-Psychopharmacol. Biol. Psychiatry* 109:110229. doi: 10.1016/j.pnpbp.2020.110229
- Ghosh, A., and Greenberg, M. E. (1995). Calcium signaling in neurons: molecular mechanisms and cellular consequences. *Science* 268, 239–247. doi: 10.1126/science.7716515
- Giannarelli, C., De Negri, F., Viridis, A., Ghiadoni, L., Cipriano, A., Magagna, A., et al. (2007). Nitric oxide modulates tissue plasminogen activator release in normotensive subjects and hypertensive patients. *Hypertension* 49, 878–884. doi: 10.1161/01.HYP.0000260471.16113.d8
- Gil-Bea, F. J., Solas, M., Mateos, L., Winblad, B., Ramirez, M. J., and Cedazo-Minguez, A. (2011). Cholinergic hypofunction impairs memory acquisition possibly through hippocampal arc and BDNF downregulation. *Hippocampus* 21, 999–1009. doi: 10.1002/hipo.20812
- Gomez-Pinilla, F., Zhuang, Y., Feng, J., Ying, Z., and Fan, G. (2011). Exercise impacts brain-derived neurotrophic factor plasticity by engaging mechanisms of epigenetic regulation. *Eur. J. Neurosci.* 33, 383–390. doi: 10.1111/j.1460-9568.2010.07508.x
- Griffin, E. W., Bechara, R. G., Birch, A. M., and Kelly, A. M. (2009). Exercise enhances hippocampal-dependent learning in the rat: evidence for a BDNF-related mechanism. *Hippocampus* 19, 973–980. doi: 10.1002/hipo.20631
- Gulaj, E., Pawlak, K., Bien, B., and Pawlak, D. (2010). Kynurenine and its metabolites in Alzheimer's disease patients. *Adv. Med. Sci.* 55, 204–211. doi: 10.2478/v10039-010-0023-6
- Guo, L. Y., Lozinski, B., and Yong, V. W. (2020). Exercise in multiple sclerosis and its models: focus on the central nervous system outcomes. *J. Neurosci. Res.* 98, 509–523. doi: 10.1002/jnr.24524
- Guo, S., Kim, W. J., Lok, J., Lee, S. R., Besancon, E., Luo, B. H., et al. (2008). Neuroprotection via matrix-trophic coupling between cerebral endothelial cells and neurons. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 105, 7582–7587. doi: 10.1073/pnas.0801105105
- Han, J., Yoon, S., and Park, H. (2021). Endocytic BDNF secretion regulated by Vamp3 in astrocytes. *Sci. Rep.* 11:21203. doi: 10.1038/s41598-021-00693-w
- Hansen, J. S., Pedersen, B. K., Xu, G., Lehmann, R., Weigert, C., and Plomgaard, P. (2016). Exercise-induced secretion of FGF21 and Follistatin are blocked by pancreatic clamp and impaired in type 2 diabetes. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 101, 2816–2825. doi: 10.1210/je.2016-1681
- Hofer, M., Pagliusi, S. R., Hohn, A., Leibrock, J., and Barde, Y. A. (1990). Regional distribution of brain-derived neurotrophic factor mRNA in the adult mouse brain. *EMBO J.* 9, 2459–2464. doi: 10.1002/j.1460-2075.1990.tb07423.x
- Hogan-Cann, A. D., Lu, P., and Anderson, C. M. (2019). Endothelial NMDA receptors mediate activity-dependent brain hemodynamic responses in mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 116, 10229–10231. doi: 10.1073/pnas.1902647116
- Holt, L. M., Hernandez, R. D., Pacheco, N. L., Torres Ceja, B., Hossain, M., and Olsen, M. L. (2019). Astrocyte morphogenesis is dependent on BDNF signaling via astrocytic TrkB.T1. *eLife* 8:e44667. doi: 10.7554/eLife.44667
- Honey, D., Wosnitzka, E., Klann, E., and Weinhard, L. (2022). Analysis of microglial BDNF function and expression in the motor cortex. *Front. Cell. Neurosci.* 16:961276. doi: 10.3389/fncel.2022.961276
- Hong, E. J., McCord, A. E., and Greenberg, M. E. (2008). A biological function for the neuronal activity-dependent component of BDNF transcription in the development of cortical inhibition. *Neuron* 60, 610–624. doi: 10.1016/j.neuron.2008.09.024
- Hook, G., Reinheckel, T., Ni, J., Wu, Z., Kindy, M., Peters, C., et al. (2022). Cathepsin B gene knockout improves behavioral deficits and reduces pathology in models of neurologic disorders. *Pharmacol. Rev.* 74, 600–629. doi: 10.1124/pharmrev.121.000527
- Hopkins, M. E., Davis, F. C., Vantighem, M. R., Whalen, P. J., and Bucci, D. J. (2012). Differential effects of acute and regular physical exercise on cognition and affect. *Neuroscience* 215, 59–68. doi: 10.1016/j.neuroscience.2012.04.056
- Hopper, R. A., and Garthwaite, J. (2006). Tonic and phasic nitric oxide signals in hippocampal long-term potentiation. *J. Neurosci.* 26, 11513–11521. doi: 10.1523/JNEUROSCI.2259-06.2006
- Horowitz, A. M., Fan, X., Bieri, G., Smith, L. K., Sanchez-Diaz, C. I., Schroer, A. B., et al. (2020). Blood factors transfer beneficial effects of exercise on neurogenesis and cognition to the aged brain. *Science* 369, 167–173. doi: 10.1126/science.aaw2622

- Hsueh, H., Pan, W., and Kastin, A. J. (2007). The fasting polypeptide FGF21 can enter brain from blood. *Peptides* 28, 2382–2386. doi: 10.1016/j.peptides.2007.10.007
- Huang, E. J., and Reichardt, L. F. (2003). Trk receptors: roles in neuronal signal transduction. *Annu. Rev. Biochem.* 72, 609–642. doi: 10.1146/annurev.biochem.72.121801.161629
- Hu, E., Du, H., Zhu, X., Wang, L., Shang, S., Wu, X., et al. (2018). Beta-hydroxybutyrate promotes the expression of BDNF in hippocampal neurons under adequate glucose supply. *Neuroscience* 386, 315–325. doi: 10.1016/j.neuroscience.2018.06.036
- Ieraci, A., Madaio, A. I., Mallei, A., Lee, F. S., and Popoli, M. (2016). Brain-derived neurotrophic factor Val66Met human polymorphism impairs the beneficial exercise-induced neurobiological changes in mice. *Neuropsychopharmacology* 41, 3070–3079. doi: 10.1038/npp.2016.120
- Intlekofer, K. A., Berchtold, N. C., Malvaez, M., Carlos, A. J., McQuown, S. C., Cunningham, M. J., et al. (2013). Exercise and sodium butyrate transform a subthreshold learning event into long-term memory via a brain-derived neurotrophic factor-dependent mechanism. *Neuropsychopharmacology* 38, 2027–2034. doi: 10.1038/npp.2013.104
- Ionescu-Tucker, A., Butler, C. W., Berchtold, N. C., Matheos, D. P., Wood, M. A., and Cotman, C. W. (2021). Exercise reduces H3K9me3 and regulates brain derived neurotrophic factor and GABRA2 in an age dependent manner. *Front. Aging Neurosci.* 13:798297. doi: 10.3389/fnagi.2021.798297
- Ishitsuka, K., Ago, T., Arimura, K., Nakamura, K., Tokami, H., Makihara, N., et al. (2012). Neurotrophin production in brain pericytes during hypoxia: a role of pericytes for neuroprotection. *Microwasc. Res.* 83, 352–359. doi: 10.1016/j.mvr.2012.02.009
- Islam, M. R., Valaris, S., Young, M. F., Haley, E. B., Luo, R., Bond, S. F., et al. (2021). Exercise hormone irisin is a critical regulator of cognitive function. *Nat. Metab.* 3, 1058–1070. doi: 10.1038/s42255-021-00438-z
- Ivy, A. S., Rodriguez, F. G., Garcia, C., Chen, M. J., and Russo-Neustadt, A. A. (2003). Noradrenergic and serotonergic blockade inhibits BDNF mRNA activation following exercise and antidepressant. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 75, 81–88. doi: 10.1016/S0091-3057(03)00044-3
- Jahangiri, Z., Gholamnezhad, Z., and Hosseini, M. (2019). The effects of exercise on hippocampal inflammatory cytokine levels, brain oxidative stress markers and memory impairments induced by lipopolysaccharide in rats. *Metab. Brain Dis.* 34, 1157–1169. doi: 10.1007/s11011-019-00410-7
- Jang, M., Gould, E., Xu, J., Kim, E. J., and Kim, J. H. (2019). Oligodendrocytes regulate presynaptic properties and neurotransmission through BDNF signaling in the mouse brainstem. *eLife* 8:e42156. doi: 10.7554/eLife.42156
- Jiang, T., Zhang, L., Pan, X., Zheng, H., Chen, X., Li, L., et al. (2017). Physical exercise improves cognitive function together with microglia phenotype modulation and Remyelination in chronic cerebral Hypoperfusion. *Front. Cell. Neurosci.* 11:404. doi: 10.3389/fncel.2017.00404
- Jimenez, V., Jambina, C., Casana, E., Sacristan, V., Munoz, S., Darriba, S., et al. (2018). FGF21 gene therapy as treatment for obesity and insulin resistance. *EMBO Mol. Med.* 10:e8y. doi: 10.15252/emmm.201708791
- Kang, K., Xu, P., Wang, M., Chunyu, J., Sun, X., Ren, G., et al. (2020). FGF21 attenuates neurodegeneration through modulating neuroinflammation and oxidant-stress. *Biomed. Pharmacother.* 129:110439. doi: 10.1016/j.biopha.2020.110439
- Kashiwaya, Y., Takeshima, T., Mori, N., Nakashima, K., Clarke, K., and Veech, R. L. (2000). D-beta-hydroxybutyrate protects neurons in models of Alzheimer's and Parkinson's disease. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 97, 5440–5444. doi: 10.1073/pnas.97.10.5440
- Katz, L. C., and Shatz, C. J. (1996). Synaptic activity and the construction of cortical circuits. *Science* 274, 1133–1138. doi: 10.1126/science.274.5290.1133
- Kharitonov, A., Shiyanova, T. L., Koester, A., Ford, A. M., Micanovic, R., Galbreath, E. J., et al. (2005). FGF-21 as a novel metabolic regulator. *J. Clin. Invest.* 115, 1627–1635. doi: 10.1172/JCI23606
- Kim, D. H., Kim, J. M., Park, S. J., Cai, M., Liu, X., Lee, S., et al. (2012). GABA(A) receptor blockade enhances memory consolidation by increasing hippocampal BDNF levels. *Neuropsychopharmacology* 37, 422–433. doi: 10.1038/npp.2011.189
- Kim, H., Li, Q., Hempstead, B. L., and Madri, J. A. (2004). Paracrine and autocrine functions of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and nerve growth factor (NGF) in brain-derived endothelial cells. *J. Biol. Chem.* 279, 33538–33546. doi: 10.1074/jbc.M404115200
- Kim, K. H., Kim, S. H., Min, Y. K., Yang, H. M., Lee, J. B., and Lee, M. S. (2013). Acute exercise induces FGF21 expression in mice and in healthy humans. *PLoS One* 8:e63517. doi: 10.1371/journal.pone.0063517
- Kimura, T., Kaneko, F., Iwamoto, E., Saitoh, S., and Yamada, T. (2019). Neuromuscular electrical stimulation increases serum brain-derived neurotrophic factor in humans. *Exp. Brain Res.* 237, 47–56. doi: 10.1007/s00221-018-5396-y
- Kitamura, T., Mishina, M., and Sugiyama, H. (2003). Enhancement of neurogenesis by running wheel exercises is suppressed in mice lacking NMDA receptor epsilon 1 subunit. *Neurosci. Res.* 47, 55–63. doi: 10.1016/S0168-0102(03)00171-8
- Konopka, W., Kiryk, A., Novak, M., Herwerth, M., Parkitna, J. R., Wawrzyniak, M., et al. (2010). MicroRNA loss enhances learning and memory in mice. *J. Neurosci.* 30, 14835–14842. doi: 10.1523/JNEUROSCI.3030-10.2010
- Korte, M., Carroll, P., Wolf, E., Brem, G., Thoenen, H., and Bonhoeffer, T. (1995). Hippocampal long-term potentiation is impaired in mice lacking brain-derived neurotrophic factor. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 92, 8856–8860. doi: 10.1073/pnas.92.19.8856
- Krityakiarana, W., Espinosa-Jeffrey, A., Ghiani, C. A., Zhao, P. M., Topaldjikian, N., Gomez-Pinilla, F., et al. (2010). Voluntary exercise increases oligodendrogenesis in spinal cord. *Int. J. Neurosci.* 120, 280–290. doi: 10.3109/00207450903222741
- Kuppers, E., and Beyer, C. (2001). Dopamine regulates brain-derived neurotrophic factor (BDNF) expression in cultured embryonic mouse striatal cells. *Neuroreport* 12, 1175–1179. doi: 10.1097/00001756-200105080-00025
- Kurosawa, M., Okada, K., Sato, A., and Uchida, S. (1993). Extracellular release of acetylcholine, noradrenaline and serotonin increases in the cerebral cortex during walking in conscious rats. *Neurosci. Lett.* 161, 73–76. doi: 10.1016/0304-3940(93)90143-9
- Laron, Z. (2001). Insulin-like growth factor 1 (IGF-1): a growth hormone. *Mol. Pathol.* 54, 311–316. doi: 10.1136/mp.54.5.311
- Leventhal, C., Rafii, S., Rafii, D., Shahar, A., and Goldman, S. A. (1999). Endothelial trophic support of neuronal production and recruitment from the adult mammalian subependyma. *Mol. Cell. Neurosci.* 13, 450–464. doi: 10.1006/mcne.1999.0762
- Lev-Vachnish, Y., Cadury, S., Rotter-Maskowitz, A., Feldman, N., Roichman, A., Illouz, T., et al. (2019). L-Lactate Promotes Adult Hippocampal Neurogenesis. *Front Neurosci.* 24:403. doi: 10.3389/fnins.2019.00403
- Lewis, G. D., Farrell, L., Wood, M. J., Martinovic, M., Arany, Z., Rowe, G. C., et al. (2010). Metabolic signatures of exercise in human plasma. *Sci. Transl. Med.* 2:33ra37. doi: 10.1126/scitranslmed.3001006
- Li, C., Wang, F., Miao, P., Yan, L., Liu, S., Wang, X., et al. (2020). miR-138 increases depressive-like behaviors by targeting SIRT1 in Hippocampus. *Neuropsychiatr. Dis. Treat.* 16, 949–957. doi: 10.2147/NDT.S237558
- Li, F., Geng, X., Yun, H. J., Haddad, Y., Chen, Y., and Ding, Y. (2021). Neuroplastic effect of exercise through astrocytes activation and cellular crosstalk. *Aging Dis.* 12, 1644–1657. doi: 10.14336/AD.2021.0325
- Lin, A. L., Zhang, W., Gao, X., and Watts, L. (2015). Caloric restriction increases ketone bodies metabolism and preserves blood flow in aging brain. *Neurobiol. Aging* 36, 2296–2303. doi: 10.1016/j.neurobiolaging.2015.03.012
- Liu, Y. F., Chen, H. I., Yu, L., Kuo, Y. M., Wu, F. S., Chuang, J. I., et al. (2008). Upregulation of hippocampal TrkB and synaptotagmin is involved in treadmill exercise-enhanced aversive memory in mice. *Neurobiol. Learn. Mem.* 90, 81–89. doi: 10.1016/j.nlm.2008.02.005
- Lopez-Lopez, C., LeRoith, D., and Torres-Aleman, I. (2004). Insulin-like growth factor 1 is required for vessel remodeling in the adult brain. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 101, 9833–9838. doi: 10.1073/pnas.0400337101
- Lourenco, M. V., Frozza, R. L., de Freitas, G. B., Zhang, H., Kincheski, G. C., Ribeiro, F. C., et al. (2019). Exercise-linked FNDC5/irisin rescues synaptic plasticity and memory defects in Alzheimer's models. *Nat. Med.* 25, 165–175. doi: 10.1038/s41591-018-0275-4
- Lu, B., Pang, P. T., and Woo, N. H. (2005). The yin and yang of neurotrophin action. *Nat. Rev. Neurosci.* 6, 603–614. doi: 10.1038/nrn1726
- Ludyga, S., Gerber, M., Puhse, U., Looser, V. N., and Kamijo, K. (2020). Systematic review and meta-analysis investigating moderators of long-term effects of exercise on cognition in healthy individuals. *Nat. Hum. Behav.* 4, 603–612. doi: 10.1038/s41562-020-0851-8
- Luft, C., da Costa, M. S., Antunes, G. L., de Oliveira, J. R., and Donadio, M. V. F. (2022). The role of maternal exercise on placental, behavioral and genetic alterations induced by prenatal stress. *Neurochem. Int.* 158:105384. doi: 10.1016/j.neuint.2022.105384
- Lu, L., Hogan-Cann, A. D., Globa, A. K., Lu, P., Nagy, J. I., Bamji, S. X., et al. (2019). Astrocytes drive cortical vasodilatory signaling by activating endothelial NMDA receptors. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 39, 481–496. doi: 10.1177/0271678X17734100
- Madinier, A., Bertrand, N., Mossiat, C., Prigent-Tessier, A., Beley, A., Marie, C., et al. (2009). Microglial involvement in neuroplastic changes following focal brain ischemia in rats. *PLoS One* 4:e8101. doi: 10.1371/journal.pone.0008101
- Maguire, G. A., and Gossner, A. (1995). Glycosyl phosphatidyl inositol phospholipase D activity in human serum. *Ann. Clin. Biochem.* 32, 74–78. doi: 10.1177/000456329503200107
- Ma, H., Groth, R. D., Cohen, S. M., Emery, J. F., Li, B., Hoedt, E., et al. (2014). gammaCaMKII shuttles Ca(2+)(+)/CaM to the nucleus to trigger CREB phosphorylation and gene expression. *Cells* 159, 281–294. doi: 10.1016/j.cell.2014.09.019
- Mandolesi, L., Polverino, A., Montuori, S., Foti, F., Ferraioli, G., Sorrentino, P., et al. (2018). Effects of physical exercise on cognitive functioning and wellbeing: biological and psychological benefits. *Front. Psychol.* 9:509. doi: 10.3389/fpsyg.2018.00509
- Marie, C., Pedard, M., Quirie, A., Tessier, A., Garnier, P., Totosen, P., et al. (2018). Brain-derived neurotrophic factor secreted by the cerebral endothelium: a new actor of brain function? *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 38, 935–949. doi: 10.1177/0271678X18766772
- Markan, K. R., Naber, M. C., Ameka, M. K., Anderreg, M. D., Mangelsdorf, D. J., Klierer, S. A., et al. (2014). Circulating FGF21 is liver derived and enhances glucose

- uptake during refeeding and overfeeding. *Diabetes* 63, 4057–4063. doi: 10.2337/db14-0595
- Marosi, K., Kim, S. W., Moehl, K., Scheibye-Knudsen, M., Cheng, A., Cutler, R., et al. (2016). 3-Hydroxybutyrate regulates energy metabolism and induces BDNF expression in cerebral cortical neurons. *J. Neurochem.* 139, 769–781. doi: 10.1111/jnc.13868
- Martin, K. S., Azzolini, M., and Lira Ruas, J. (2020). The kynurenine connection: how exercise shifts muscle tryptophan metabolism and affects energy homeostasis, the immune system, and the brain. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 318, C818–C830. doi: 10.1152/ajpcell.00580.2019
- Matsukawa, K., Ishii, K., Liang, N., Endo, K., Ohtani, R., Nakamoto, T., et al. (2015). Increased oxygenation of the cerebral prefrontal cortex prior to the onset of voluntary exercise in humans. *J. Appl. Physiol.* 118, 452–462. doi: 10.1152/jappphysiol.00406.2015
- Matsumoto, Y., Tsunekawa, Y., Nomura, T., Suto, F., Matsumata, M., Tsuchiya, S., et al. (2011). Differential proliferation rhythm of neural progenitor and oligodendrocyte precursor cells in the young adult hippocampus. *PLoS One* 6:e27628. doi: 10.1371/journal.pone.0027628
- Matthews, V. B., Astrom, M. B., Chan, M. H., Bruce, C. R., Krabbe, K. S., Prelovsek, O., et al. (2009). Brain-derived neurotrophic factor is produced by skeletal muscle cells in response to contraction and enhances fat oxidation via activation of AMP-activated protein kinase. *Diabetologia* 52, 1409–1418. doi: 10.1007/s00125-009-1364-1
- Mee-Inta, O., Zhao, Z. W., and Kuo, Y. M. (2019). Physical exercise inhibits inflammation and microglial activation. *Cells* 8:691. doi: 10.3390/cells8070691
- Meuchel, L. W., Thompson, M. A., Cassivi, S. D., Pabelick, C. M., and Prakash, Y. S. (2011). Neurotrophins induce nitric oxide generation in human pulmonary artery endothelial cells. *Cardiovasc. Res.* 91, 668–676. doi: 10.1093/cvr/cvr107
- Miyamoto, T., Iwakura, T., Matsuoka, N., Iwamoto, M., Takenaka, M., Akamatsu, Y., et al. (2018). Impact of prolonged neuromuscular electrical stimulation on metabolic profile and cognition-related blood parameters in type 2 diabetes: A randomized controlled cross-over trial. *Diabetes Res. Clin. Pract.* 142, 37–45. doi: 10.1016/j.diabres.2018.05.032
- Monnier, A., Garnier, P., Quirie, A., Pernet, N., Demougeot, C., Marie, C., et al. (2017a). Effect of short-term exercise training on brain-derived neurotrophic factor signaling in spontaneously hypertensive rats. *J. Hypertens.* 35, 279–290. doi: 10.1097/HJH.0000000000001164
- Monnier, A., Prigent-Tessier, A., Quirie, A., Bertrand, N., Savary, S., Gondcaille, C., et al. (2017b). Brain-derived neurotrophic factor of the cerebral microvasculature: a forgotten and nitric oxide-dependent contributor of brain-derived neurotrophic factor in the brain. *Acta Physiol (Oxf.)* 219, 790–802. doi: 10.1111/apha.12743
- Moon, H. Y., Becke, A., Berron, D., Becker, B., Sah, N., Benoni, G., et al. (2016). Running-induced systemic Cathepsin B secretion is associated with memory function. *Cell Metab.* 24, 332–340. doi: 10.1016/j.cmet.2016.05.025
- Mousavi, K., and Jasmin, B. J. (2006). BDNF is expressed in skeletal muscle satellite cells and inhibits myogenic differentiation. *J. Neurosci.* 26, 5739–5749. doi: 10.1523/JNEUROSCI.5398-05.2006
- Mowla, S. J., Farhadi, H. F., Pareek, S., Atwal, J. K., Morris, S. J., Seidah, N. G., et al. (2001). Biosynthesis and post-translational processing of the precursor to brain-derived neurotrophic factor. *J. Biol. Chem.* 276, 12660–12666. doi: 10.1074/jbc.M008104200
- Mu, A., Wales, T. E., Zhou, H., Draga-Coleta, S. V., Gorgulla, C., Blackmore, K. A., et al. (2023). Irisin acts through its integrin receptor in a two-step process involving extracellular Hsp90alpha. *Mol. Cell* 83:e12
- Muller, P., Duderstadt, Y., Lessmann, V., and Muller, N. G. (2020). Lactate and BDNF: key mediators of exercise induced neuroplasticity? *J. Clin. Med.* 9:1136. doi: 10.3390/jcm9041136
- Myint, A. M., Kim, Y. K., Verkerk, R., Scharpe, S., Steinbusch, H., and Leonard, B. (2007). Kynurenine pathway in major depression: evidence of impaired neuroprotection. *J. Affect. Disord.* 98, 143–151. doi: 10.1016/j.jad.2006.07.013
- Nagappan, G., Zaitsev, E., Senatorov, V. V. Jr., Yang, J., Hempstead, B. L., and Lu, B. (2009). Control of extracellular cleavage of ProBDNF by high frequency neuronal activity. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 106, 1267–1272. doi: 10.1073/pnas.0807322106
- Nakahashi, T., Fujimura, H., Altar, C. A., Li, J., Kambayashi, J., Tandon, N. N., et al. (2000). Vascular endothelial cells synthesize and secrete brain-derived neurotrophic factor. *FEBS Lett.* 470, 113–117. doi: 10.1016/S0014-5793(00)01302-8
- Nakanishi, H. (2020). Microglial cathepsin B as a key driver of inflammatory brain diseases and brain aging. *Neural Regen. Res.* 15, 25–29. doi: 10.4103/1673-5374.264444
- Nakata, H., and Nakamura, S. (2007). Brain-derived neurotrophic factor regulates AMPA receptor trafficking to post-synaptic densities via IP3R and TRPC calcium signaling. *FEBS Lett.* 581, 2047–2054. doi: 10.1016/j.febslet.2007.04.041
- Navaratna, D., Guo, S. Z., Hayakawa, K., Wang, X., Gerhardinger, C., and Lo, E. H. (2011). Decreased cerebrovascular brain-derived neurotrophic factor-mediated neuroprotection in the diabetic brain. *Diabetes* 60, 1789–1796. doi: 10.2337/db10-1371
- Neeper, S. A., Gomez-Pinilla, F., Choi, J., and Cotman, C. (1995). Exercise and brain neurotrophins. *Nature* 373:109. doi: 10.1038/373109a0
- Newman, J. C., Covarrubias, A. J., Zhao, M., Yu, X., Gut, P., Ng, C. P., et al. (2017). Ketogenic diet reduces midlife mortality and improves memory in aging mice. *Cell Metab.* 26:e8. doi: 10.1016/j.cmet.2017.08.004
- Nicole, O., Docagne, F., Ali, C., Margaill, I., Carmeliet, P., MacKenzie, E. T., et al. (2001). The proteolytic activity of tissue-plasminogen activator enhances NMDA receptor-mediated signaling. *Nat. Med.* 7, 59–64. doi: 10.1038/83358
- Nishijima, T., Okamoto, M., Matsui, T., Kita, I., and Soya, H. (2012). Hippocampal functional hyperemia mediated by NMDA receptor/NO signaling in rats during mild exercise. *J. Appl. Physiol.* 113, 197–203. doi: 10.1152/jappphysiol.00763.2011
- Nishijima, T., Piriz, J., Duffot, S., Fernandez, A. M., Gaitan, G., Gomez-Pinedo, U., et al. (2010). Neuronal activity drives localized blood-brain-barrier transport of serum insulin-like growth factor-I into the CNS. *Neuron* 67, 834–846. doi: 10.1016/j.neuron.2010.08.007
- Nishijima, T., and Soya, H. (2006). Evidence of functional hyperemia in the rat hippocampus during mild treadmill running. *Neurosci. Res.* 54, 186–191. doi: 10.1016/j.neures.2005.11.005
- Noga, O., Peiser, M., Altenahr, M., Knieling, H., Wanner, R., Hanf, G., et al. (2007). Differential activation of dendritic cells by nerve growth factor and brain-derived neurotrophic factor. *Clin. Exp. Allergy* 37, 1701–1708. doi: 10.1111/j.1365-2222.2007.02832.x
- Ogborn, D. I., and Gardiner, P. F. (2010). Effects of exercise and muscle type on BDNF, NT-4/5, and TrkB expression in skeletal muscle. *Muscle Nerve* 41, 385–391. doi: 10.1002/mus.21503
- O'Kusky, J. R., Ye, P., and D'Ercole, A. J. (2000). Insulin-like growth factor-I promotes neurogenesis and synaptogenesis in the hippocampal dentate gyrus during postnatal development. *J. Neurosci.* 20, 8435–8442. doi: 10.1523/JNEUROSCI.20-22-08435.2000
- Oliff, H. S., Berchtold, N. C., Isackson, P., and Cotman, C. W. (1998). Exercise-induced regulation of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) transcripts in the rat hippocampus. *Brain Res. Mol. Brain Res.* 61, 147–153. doi: 10.1016/S0169-328X(98)00222-8
- Paillard, T., Rolland, Y., and de Souto Barreto, P. (2015). Protective effects of physical exercise in Alzheimer's disease and Parkinson's disease: a narrative review. *J. Clin. Neurol.* 11, 212–219. doi: 10.3988/jcn.2015.11.3.212
- Palasz, E., Niewiadomska, W., Gasiorowska, A., Mietelska-Porowska, A., and Niewiadomska, G. (2019). Neuroplasticity and neuroprotective effect of treadmill training in the chronic mouse model of Parkinson's disease. *Neural Plast.* 2019:8215017. doi: 10.1155/2019/8215017
- Pang, P. T., Teng, H. K., Zaitsev, E., Woo, N. T., Sakata, K., Zhen, S., et al. (2004). Cleavage of proBDNF by tPA/plasmin is essential for long-term hippocampal plasticity. *Science* 306, 487–491. doi: 10.1126/science.1100135
- Pan-Vazquez, A., Rye, N., Ameri, M., McSparron, B., Smallwood, G., Bickerdyke, J., et al. (2015). Impact of voluntary exercise and housing conditions on hippocampal glucocorticoid receptor, miR-124 and anxiety. *Mol. Brain* 8:40. doi: 10.1186/s13041-015-0128-8
- Pan, W., and Kastin, A. J. (2000). Interactions of IGF-1 with the blood-brain barrier in vivo and in situ. *Neuroendocrinology* 72, 171–178. doi: 10.1159/000054584
- Paoli, A., Bianco, A., Damiani, E., and Bosco, G. (2014). Ketogenic diet in neuromuscular and neurodegenerative diseases. *Biomed. Res. Int.* 2014:474296. doi: 10.1155/2014/474296
- Parkhurst, C. N., Yang, G., Ninan, I., Savas, J. N., Yates, J. R. 3rd, Lafaille, J. J., et al. (2013). Microglia promote learning-dependent synapse formation through brain-derived neurotrophic factor. *Cells* 155, 1596–1609. doi: 10.1016/j.cell.2013.11.030
- Pedard, M., Cefis, M., Ennequin, G., Quirie, A., Garnier, P., Prigent-Tessier, A., et al. (2019). Brain-derived neurotrophic factor pathway after downhill and uphill training in rats. *Med. Sci. Sports Exerc.* 51, 27–34. doi: 10.1249/MSS.0000000000001771
- Pedard, M., Quirie, A., Garnier, P., Tessier, A., Demougeot, C., and Marie, C. (2017). The cerebral brain-derived neurotrophic factor pathway, either neuronal or endothelial, is impaired in rats with adjuvant-induced arthritis. Connection with endothelial dysfunction. *Front. Physiol.* 8:1125. doi: 10.3389/fphys.2017.01125
- Pedersen, B. K., Steensberg, A., Fischer, C., Keller, C., Keller, P., Plomgaard, P., et al. (2003). Searching for the exercise factor: is IL-6 a candidate? *J. Muscle Res. Cell Motil.* 24, 113–119. doi: 10.1023/A:1026070911202
- Poo, M. M. (2001). Neurotrophins as synaptic modulators. *Nat. Rev. Neurosci.* 2, 24–32. doi: 10.1038/35049004
- Prigent-Tessier, A., Quirie, A., Maguin-Gate, K., Szostak, J., Mossiat, C., Nappay, M., et al. (2013). Physical training and hypertension have opposite effects on endothelial brain-derived neurotrophic factor expression. *Cardiovasc. Res.* 100, 374–382. doi: 10.1093/cvr/cvt219
- Proia, P., Di Liegro, C. M., Schiera, G., Fricano, A., and Di Liegro, I. (2016). Lactate as a metabolite and a regulator in the central nervous system. *Int. J. Mol. Sci.* 17:1450. doi: 10.3390/ijms17091450
- Pruunsild, P., Sepp, M., Orav, E., Koppel, I., and Timmus, T. (2011). Identification of cis-elements and transcription factors regulating neuronal activity-dependent transcription of human BDNF gene. *J. Neurosci.* 31, 3295–3308. doi: 10.1523/JNEUROSCI.4540-10.2011

- Quesseveur, G., David, D. J., Gaillard, M. C., Pla, P., Wu, M. V., Nguyen, H. T., et al. (2013). BDNF overexpression in mouse hippocampal astrocytes promotes local neurogenesis and elicits anxiolytic-like activities. *Transl. Psychiatry* 3:e253. doi: 10.1038/tp.2013.30
- Quirie, A., Hervieu, M., Garnier, P., Demougeot, C., Mossiat, C., Bertrand, N., et al. (2012). Comparative effect of treadmill exercise on mature BDNF production in control versus stroke rats. *PLoS One* 7:e44218. doi: 10.1371/journal.pone.0044218
- Radak, Z., Suzuki, K., Higuchi, M., Balogh, L., Boldogh, I., and Koltai, E. (2016). Physical exercise, reactive oxygen species and neuroprotection. *Free Radic. Biol. Med.* 98, 187–196. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2016.01.024
- Raschke, S., Elsen, M., Gassenhuber, H., Sommerfeld, M., Schwahn, U., Brockmann, B., et al. (2013). Evidence against a beneficial effect of irisin in humans. *PLoS One* 8:e73680. doi: 10.1371/journal.pone.0073680
- Rasmussen, P., Brassard, P., Adser, H., Pedersen, M. V., Leick, L., Hart, E., et al. (2009). Evidence for a release of brain-derived neurotrophic factor from the brain during exercise. *Exp. Physiol.* 94, 1062–1069. doi: 10.1113/expphysiol.2009.048512
- Reichardt, L. F. (2006). Neurotrophin-regulated signalling pathways. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. Ser. B Biol. Sci.* 361, 1545–1564. doi: 10.1098/rstb.2006.1894
- Rodriguez, J. J., Terzieva, S., Olabarria, M., Lanza, R. G., and Verkhratsky, A. (2013). Enriched environment and physical activity reverse astroglial degeneration in the hippocampus of AD transgenic mice. *Cell Death Dis.* 4:e678. doi: 10.1038/cddis.2013.194
- Rose, C. R., Blum, R., Pichler, B., Lepier, A., Kafitz, K. W., and Konnerth, A. (2003). Truncated TrkB-T1 mediates neurotrophin-evoked calcium signalling in glia cells. *Nature* 426, 74–78. doi: 10.1038/nature01983
- Rosenfeld, R. D., Zeni, L., Haniu, M., Talvenheimo, J., Radka, S. F., Bennett, L., et al. (1995). Purification and identification of brain-derived neurotrophic factor from human serum. *Protein Expr. Purif.* 6, 465–471. doi: 10.1006/prep.1995.1062
- Rubanyi, G. M., Romero, J. C., and Vanhoutte, P. M. (1986). Flow-induced release of endothelium-derived relaxing factor. *Am. J. Phys.* 250, H1145–H1149. doi: 10.1152/ajpheart.1986.250.6.H1145
- Rudge, J. S., Li, Y., Pasmikowski, E. M., Mattsson, K., Pan, L., Yancopoulos, G. D., et al. (1994). Neurotrophic factor receptors and their signal transduction capabilities in rat astrocytes. *Eur. J. Neurosci.* 6, 693–705. doi: 10.1111/j.1460-9568.1994.tb00981.x
- Russo-Neustadt, A. A., Alejandre, H., Garcia, C., Ivy, A. S., and Chen, M. J. (2004). Hippocampal brain-derived neurotrophic factor expression following treatment with reboxetine, citalopram, and physical exercise. *Neuropsychopharmacology* 29, 2189–2199. doi: 10.1038/sj.npp.1300514
- Sa-Nguanmoo, P., Tanajak, P., Kerdpoo, S., Satjaritanun, P., Wang, X., Liang, G., et al. (2016). FGF21 improves cognition by restored synaptic plasticity, dendritic spine density, brain mitochondrial function and cell apoptosis in obese-insulin resistant male rats. *Horm. Behav.* 85, 86–95. doi: 10.1016/j.yhbeh.2016.08.006
- Santhanam, A. V., Smith, L. A., and Katusic, Z. S. (2010). Brain-derived neurotrophic factor stimulates production of prostacyclin in cerebral arteries. *Stroke* 41, 350–356. doi: 10.1161/STROKEAHA.109.564492
- Schmidt, H. D., and Duman, R. S. (2010). Peripheral BDNF produces antidepressant-like effects in cellular and behavioral models. *Neuropsychopharmacology* 35, 2378–2391. doi: 10.1038/npp.2010.114
- Schoenfeld, T. J., Rada, P., Pieruzzini, P. R., Hsueh, B., and Gould, E. (2013). Physical exercise prevents stress-induced activation of granule neurons and enhances local inhibitory mechanisms in the dentate gyrus. *J. Neurosci.* 33, 7770–7777. doi: 10.1523/JNEUROSCI.5352-12.2013
- Schwarcz, R., Bruno, J. P., Muchowski, P. J., and Wu, H. Q. (2012). Kynurenic acid in the mammalian brain: when physiology meets pathology. *Nat. Rev. Neurosci.* 13, 465–477. doi: 10.1038/nrn3257
- Shen, H., Tong, L., Balazs, R., and Cotman, C. W. (2001). Physical activity elicits sustained activation of the cyclic AMP response element-binding protein and mitogen-activated protein kinase in the rat hippocampus. *Neuroscience* 107, 219–229. doi: 10.1016/S0306-4522(01)00315-3
- Skwarzynska, D., Sun, H., Williamson, J., Kasprzak, L., and Kapur, J. (2023). Glycolysis regulates neuronal excitability via lactate receptor, HCA1R. *Brain* 146, 1888–1902. doi: 10.1093/brain/awac419
- Sleiman, S. F., Henry, J., Al-Haddad, R., El Hayek, L., Abou Haidar, E., Stringer, T., et al. (2016). Exercise promotes the expression of brain derived neurotrophic factor (BDNF) through the action of the ketone body beta-hydroxybutyrate. *eLife* 5:e15092. doi: 10.7554/eLife.15092
- Sodhi, R. K., Bansal, Y., Singh, R., Saroj, P., Bhandari, R., Kumar, B., et al. (2021). IDO-1 inhibition protects against neuroinflammation, oxidative stress and mitochondrial dysfunction in 6-OHDA induced murine model of Parkinson's disease. *Neurotoxicology* 84, 184–197. doi: 10.1016/j.neuro.2021.03.009
- Sofi, F., Valecchi, D., Bacci, D., Abbate, R., Gensini, G. F., Casini, A., et al. (2011). Physical activity and risk of cognitive decline: a meta-analysis of prospective studies. *J. Intern. Med.* 269, 107–117. doi: 10.1111/j.1365-2796.2010.02281.x
- Sprenger, H., Jacobs, C., Nain, M., Gressner, A. M., Prinz, H., Wesemann, W., et al. (1992). Enhanced release of cytokines, interleukin-2 receptors, and neopterin after long-distance running. *Clin. Immunol. Immunopathol.* 63, 188–195. doi: 10.1016/0090-1229(92)90012-D
- Stoilov, P., Castren, E., and Stamm, S. (2002). Analysis of the human TrkB gene genomic organization reveals novel TrkB isoforms, unusual gene length, and splicing mechanism. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 290, 1054–1065. doi: 10.1006/bbrc.2001.6301
- Sundaram, G., Lim, C. K., and Brew, B. J. (2020). Kynurenine pathway modulation reverses the experimental autoimmune encephalomyelitis mouse disease progression. *J. Neuroinflammation* 17, 176. doi: 10.1186/s12974-020-01844-y
- Sun, P., Enslin, H., Myung, P. S., and Maurer, R. A. (1994). Differential activation of CREB by Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinases type II and type IV involves phosphorylation of a site that negatively regulates activity. *Genes Dev.* 8, 2527–2539. doi: 10.1101/gad.8.21.2527
- Sutoo, D., and Akiyama, K. (2003). Regulation of brain function by exercise. *Neurobiol. Dis.* 13, 1–14. doi: 10.1016/S0969-9961(03)00030-5
- Suzuki, A., Stern, S. A., Bozdagi, O., Huntley, G. W., Walker, R. H., Magistretti, P. J., et al. (2011). Astrocyte-neuron lactate transport is required for long-term memory formation. *Cells* 144, 810–823. doi: 10.1016/j.cell.2011.02.018
- Suzuki, M., Suzuki, M., Kitamura, Y., Mori, S., Sato, K., Dohi, S., et al. (2002). Beta-hydroxybutyrate, a cerebral function improving agent, protects rat brain against ischemic damage caused by permanent and transient focal cerebral ischemia. *Jpn. J. Pharmacol.* 89, 36–43. doi: 10.1254/jip.89.36
- Takeo, C., Nakamura, S., Tanaka, T., Uchida, D., Noguchi, Y., Nagao, T., et al. (2003). Rat cerebral endothelial cells express trk C and are regulated by neurotrophin-3. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 305, 400–406. doi: 10.1016/S0006-291X(03)00770-8
- Tao, X., Finkbeiner, S., Arnold, D. B., Shaywitz, A. J., and Greenberg, M. E. (1998). Ca²⁺ influx regulates BDNF transcription by a CREB family transcription factor-dependent mechanism. *Neuron* 20, 709–726. doi: 10.1016/S0896-6273(00)81010-7
- Tao, X., West, A. E., Chen, W. G., Corfas, G., and Greenberg, M. E. (2002). A calcium-responsive transcription factor, CaRF, that regulates neuronal activity-dependent expression of BDNF. *Neuron* 33, 383–395. doi: 10.1016/S0896-6273(01)00561-X
- Timmusk, T., Palm, K., Metsis, M., Reintam, T., Paalme, V., Saarma, M., et al. (1993). Multiple promoters direct tissue-specific expression of the rat BDNF gene. *Neuron* 10, 475–489. doi: 10.1016/0896-6273(93)90335-O
- Totoson, P., Santini, C., Prigent-Tessier, A., Marie, C., and Demougeot, C. (2021). Endothelial TrkB receptor activation controls vascular tone of rat middle cerebral artery. *Vasc. Pharmacol.* 141:106930. doi: 10.1016/j.vph.2021.106930
- Trejo, J. L., Carro, E., and Torres-Aleman, I. (2001). Circulating insulin-like growth factor I mediates exercise-induced increases in the number of new neurons in the adult hippocampus. *J. Neurosci.* 21, 1628–1634. doi: 10.1523/JNEUROSCI.21-05-01628.2001
- Uda, M., Ishido, M., Kami, K., and Masuhara, M. (2006). Effects of chronic treadmill running on neurogenesis in the dentate gyrus of the hippocampus of adult rat. *Brain Res.* 1104, 64–72. doi: 10.1016/j.brainres.2006.05.066
- Vanderwolf, C. H. (1969). Hippocampal electrical activity and voluntary movement in the rat. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.* 26, 407–418. doi: 10.1016/0013-4694(69)90092-3
- van Praag, H., Christie, B. R., Sejnowski, T. J., and Gage, F. H. (1999). Running enhances neurogenesis, learning, and long-term potentiation in mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 96, 13427–13431. doi: 10.1073/pnas.96.23.13427
- Varendi, K., Kumar, A., Harma, M. A., and Andressoo, J. O. (2014). miR-1, miR-10b, miR-155, and miR-191 are novel regulators of BDNF. *Cell. Mol. Life Sci.* 71, 4443–4456. doi: 10.1007/s00018-014-1628-x
- Vaynman, S., Ying, Z., and Gomez-Pinilla, F. (2003). Interplay between brain-derived neurotrophic factor and signal transduction modulators in the regulation of the effects of exercise on synaptic-plasticity. *Neuroscience* 122, 647–657. doi: 10.1016/j.neuroscience.2003.08.001
- Vaynman, S., Ying, Z., and Gomez-Pinilla, F. (2004). Hippocampal BDNF mediates the efficacy of exercise on synaptic plasticity and cognition. *Eur. J. Neurosci.* 20, 2580–2590. doi: 10.1111/j.1460-9568.2004.03720.x
- Vignoli, B., Battistini, G., Melani, R., Blum, R., Santi, S., Berardi, N., et al. (2016). Peri-synaptic glia recycles brain-derived neurotrophic factor for LTP stabilization and memory retention. *Neuron* 92, 873–887. doi: 10.1016/j.neuron.2016.09.031
- Voss, M. W., Nagamatsu, L. S., Liu-Ambrose, T., and Kramer, A. F. (2011). Exercise, brain, and cognition across the life span. *J. Appl. Physiol.* 1985, 1505–1513. doi: 10.1152/jappphysiol.00210.2011
- Walsh, E. I., Smith, L., Northey, J., Rattray, B., and Cherbuin, N. (2020). Towards an understanding of the physical activity-BDNF-cognition triumvirate: A review of associations and dosage. *Ageing Res. Rev.* 60:101044. doi: 10.1016/j.arr.2020.101044
- Wang, B. L., Jin, H., Han, X. Q., Xia, Y., and Liu, N. F. (2018). Involvement of brain-derived neurotrophic factor in exercise-induced cardioprotection of post-myocardial infarction rats. *Int. J. Mol. Med.* 42, 2867–2880. doi: 10.3892/ijmm.2018.3841
- Wang, K., Song, F., Xu, K., Liu, Z., Han, S., Li, F., et al. (2019). Irisin attenuates Neuroinflammation and prevents the memory and cognitive deterioration in Streptozotocin-induced diabetic mice. *Mediat. Inflamm.* 2019:1567179. doi: 10.1155/2019/1567179
- Watanabe, S., Sudo, Y., Makino, T., Kimura, S., Tomita, K., Noguchi, M., et al. (2022). Skeletal muscle releases extracellular vesicles with distinct protein and microRNA signatures that function in the muscle microenvironment. *PNAS Nexus* 1:173. doi: 10.1093/pnasnexus/pgac173

- West, A. E., Chen, W. G., Dalva, M. B., Dolmetsch, R. E., Kornhauser, J. M., Shaywitz, A. J., et al. (2001). Calcium regulation of neuronal gene expression. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 98, 11024–11031. doi: 10.1073/pnas.191352298
- Williams, S. N., and Undieh, A. S. (2009). Dopamine D1-like receptor activation induces brain-derived neurotrophic factor protein expression. *Neuroreport* 20, 606–610. doi: 10.1097/WNR.0b013e32832a0a98
- Wrann, C. D., White, J. P., Salogiannis, J., Laznik-Bogoslavski, D., Wu, J., Ma, D., et al. (2013). Exercise induces hippocampal BDNF through a PGC-1alpha/FNDC5 pathway. *Cell Metab.* 18, 649–659. doi: 10.1016/j.cmet.2013.09.008
- Wu, G. Y., Deisseroth, K., and Tsien, R. W. (2001). Activity-dependent CREB phosphorylation: convergence of a fast, sensitive calmodulin kinase pathway and a slow, less sensitive mitogen-activated protein kinase pathway. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 98, 2808–2813. doi: 10.1073/pnas.051634198
- Xiong, J. Y., Li, S. C., Sun, Y. X., Zhang, X. S., Dong, Z. Z., Zhong, P., et al. (2015). Long-term treadmill exercise improves spatial memory of male APPswe/PS1dE9 mice by regulation of BDNF expression and microglia activation. *Biol. Sport* 32, 295–300. doi: 10.5604/20831862.1163692
- Xu, L., Liu, R., Qin, Y., and Wang, T. (2023). Brain metabolism in Alzheimer's disease: biological mechanisms of exercise. *Transl. Neurodegener.* 12:33. doi: 10.1186/s40035-023-00364-y
- Yakar, S., Courtland, H. W., and Clemmons, D. (2010). IGF-1 and bone: new discoveries from mouse models. *J. Bone Miner. Res.* 25, 2543–2552. doi: 10.1002/jbmr.234
- Yakar, S., Liu, J. L., Stannard, B., Butler, A., Accili, D., Sauer, B., et al. (1999). Normal growth and development in the absence of hepatic insulin-like growth factor I. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 96, 7324–7329. doi: 10.1073/pnas.96.13.7324
- Yang, J., Ruchti, E., Petit, J. M., Jourdain, P., Grenningloh, G., Allaman, I., et al. (2014). Lactate promotes plasticity gene expression by potentiating NMDA signaling in neurons. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 111, 12228–12233. doi: 10.1073/pnas.1322912111
- Yang, X., Brobst, D., Chan, W. S., Tse, M. C. L., Herlea-Pana, O., Ahuja, P., et al. (2019). Muscle-generated BDNF is a sexually dimorphic myokine that controls metabolic flexibility. *Sci. Signal.* 12. doi: 10.1126/scisignal.aau1468
- Yuan, D., Zhao, Y., Banks, W. A., Bullock, K. M., Haney, M., Batrakova, E., et al. (2017). Macrophage exosomes as natural nanocarriers for protein delivery to inflamed brain. *Biomaterials* 142, 1–12. doi: 10.1016/j.biomaterials.2017.07.011
- Yu, T., Chang, Y., Gao, X. L., Li, H., and Zhao, P. (2017). Dynamic expression and the role of BDNF in exercise-induced skeletal muscle regeneration. *Int. J. Sports Med.* 38, 959–966. doi: 10.1055/s-0043-118343
- Yu, Y., Bai, F., Wang, W., Liu, Y., Yuan, Q., Qu, S., et al. (2015). Fibroblast growth factor 21 protects mouse brain against D-galactose induced aging via suppression of oxidative stress response and advanced glycation end products formation. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 133, 122–131. doi: 10.1016/j.pbb.2015.03.020
- Zheng, F., Zhou, X., Luo, Y., Xiao, H., Wayman, G., and Wang, H. (2011). Regulation of brain-derived neurotrophic factor exon IV transcription through calcium responsive elements in cortical neurons. *PLoS One* 6:e28441. doi: 10.1371/journal.pone.0028441

ÉTUDE DE LA VOIE HÉMODYNAMIQUE EN RÉPONSE À LA STIMULATION AIGUË DES RACINES NERVEUSES LOMBAIRES CHEZ LE RAT

Remi Chaney, Philippe Garnier, Aurore Quirié, Alain Martin, Anne Prigent-Tessier, Christine Marie

Introduction. Comme évoquée dans la revue et dans l'état de l'art, l'augmentation du DSC pourrait contribuer aux bienfaits cérébraux de la pratique régulière de l'EX en régulant à la hausse les taux cérébraux de BDNF. Cependant, les effets de l'EMS sur le DSC sont peu connus. Il est évident que la quantité de masse musculaire engagée pendant l'EMS est un paramètre essentiel permettant d'augmenter le DSC. Par conséquent, la présente étude a examiné les effets de la stimulation des racines nerveuses lombaires (STIM) induisant la contraction bilatérale des muscles des pattes postérieures sur le DSC dans la zone corticale représentant le membre postérieur et les structures impliquées dans la cognition telles que l'hippocampe et le cortex préfrontal chez des rats anesthésiés.

Méthodes. Tandis que le DSC dans la zone corticale représentant le membre postérieur a été évalué à la fois par la débitmétrie laser Doppler (LDF) et par les variations de l'expression de p-eNOS^{Ser1177} mesurées par western blot après prélèvement de la zone corticale 20 min après la fin du protocole de STIM, le DSC a été évalué uniquement par les variations des niveaux d'expression p-eNOS^{Ser1177} dans l'hippocampe et le cortex préfrontal. La contribution de l'augmentation du débit cardiaque relative aux changements du CBF a été examinée par l'injection d'aténolol (un antagoniste du récepteur β_1) pendant la stimulation, ainsi que par l'administration de dobutamine (un agoniste du récepteur β_1) chez des rats anesthésiés non stimulés. L'analyse de l'expression de c-fos, un marqueur de l'activité neuronale, a été utilisée pour étudier la contribution de l'activité neuronale aux variations de DSC.

Résultats. La STIM a été associée à une tachycardie et à aucune modification de la pression artérielle (PA). De plus, le protocole de STIM a augmenté le DSC de manière dépendante du temps et de l'intensité de la stimulation, ainsi que l'expression de p-eNOS^{Ser1177} dans la zone corticale représentant le membre postérieur. En revanche, l'expression de p-eNOS^{Ser1177} est restée inchangée dans le cortex préfrontal et l'hippocampe. L'augmentation du DSC induite par la STIM a été partiellement réduite consécutivement à l'injection de l'aténolol. L'administration de dobutamine chez des rats anesthésiés non stimulés n'a pas permis de reproduire l'augmentation du DSC induite par la STIM. Les niveaux de c-fos, en tant que marqueur de l'activation neuronale, ont augmenté de manière sélective dans la zone corticale représentant le membre postérieur.

Conclusion. La contraction bilatérale du membre postérieur, induite électriquement, a augmenté de manière sélective le DSC dans la zone corticale représentant les muscles stimulés en raison d'une hyperactivité neuronale et d'une augmentation du débit cardiaque. L'absence de changements du DSC dans les régions cérébrales liées à la cognition ne soutient pas l'hypothèse d'une neuroplasticité dépendante de la voie hémodynamique.

Les résultats de cette étude ont été publiés dans le journal « *Frontiers in Physiology* » après révision par les pairs (IF : 4,75)



Region-Dependent Increase of Cerebral Blood Flow During Electrically Induced Contraction of the Hindlimbs in Rats

Remi Chaney¹, Philippe Garnier^{1,2}, Aurore Quirié¹, Alain Martin³, Anne Prigent-Tessier^{1*} and Christine Marie¹

¹INSERM UMR1093-CAPS, Université Bourgogne Franche-Comté, UFR des Sciences de Santé, Dijon, France, ²Département Génie Biologique, IUT, Dijon, France, ³INSERM UMR1093-CAPS, Université Bourgogne Franche-Comté, UFR des Sciences du Sport, Dijon, France

OPEN ACCESS

Edited by:

James (Jim) David Cotter,
University of Otago, New Zealand

Reviewed by:

Kazuto Masamoto,
The University of Electro-
Communications, Japan
Kurt Smith,
University of Victoria, Canada
Sae Uchida,
Tokyo Metropolitan Institute of
Gerontology, Japan

*Correspondence:

Anne Prigent-Tessier
anne.tessier@u-bourgogne.fr

Specialty section:

This article was submitted to
Exercise Physiology,
a section of the journal
Frontiers in Physiology

Received: 08 November 2021

Accepted: 04 March 2022

Published: 23 March 2022

Citation:

Chaney R, Garnier P, Quirié A,
Martin A, Prigent-Tessier A and
Marie C (2022) Region-Dependent
Increase of Cerebral Blood Flow During
Electrically Induced Contraction of the
Hindlimbs in Rats.
Front. Physiol. 13:811118.
doi: 10.3389/fphys.2022.811118

Elevation of cerebral blood flow (CBF) may contribute to the cerebral benefits of the regular practice of physical exercise. Surprisingly, while electrically induced contraction of a large muscular mass is a potential substitute for physical exercise to improve cognition, its effect on CBF remains to be investigated. Therefore, the present study investigated CBF in the cortical area representing the hindlimb, the hippocampus and the prefrontal cortex in the same anesthetized rats subjected to either acute (30 min) or chronic (30 min for 7 days) electrically induced bilateral hindlimb contraction. While CBF in the cortical area representing the hindlimb was assessed from both laser doppler flowmetry (LDF_{CBF}) and changes in p-eNOS^{Ser1177} levels ($p-eNOS_{CBF}$), CBF was evaluated only from changes in p-eNOS^{Ser1177} levels in the hippocampus and the prefrontal cortex. The contribution of increased cardiac output and increased neuronal activity to CBF changes were examined. Stimulation was associated with tachycardia and no change in arterial blood pressure. It increased LDF_{CBF} with a time- and intensity-dependent manner as well as $p-eNOS_{CBF}$ in the area representing the hindlimb. By contrast, $p-eNOS_{CBF}$ was unchanged in the two other regions. The augmentation of LDF_{CBF} was partially reduced by atenolol (a β_1 receptor antagonist) and not reproduced by the administration of dobutamine (a β_1 receptor agonist). Levels of c-fos as a marker of neuronal activation selectively increased in the area representing the hindlimb. In conclusion, electrically induced bilateral hindlimb contraction selectively increased CBF in the cortical area representing the stimulated muscles as a result of neuronal hyperactivity and increased cardiac output. The absence of CBF changes in cognition-related brain regions does not support flow-dependent neuroplasticity in the pro-cognitive effect of electrically induced contraction of a large muscular mass.

Keywords: cerebral blood flow (CBF), heart rate (HR), exercise pressor reflex, rat–brain, electrically-induced muscle contraction

INTRODUCTION

Induced skeletal muscle contraction (ISMC) has been shown to improve muscle strength (Duchateau and Hainaut, 1988) and functional capacity (Maddocks et al., 2016). Over the last few years, ISMC has broadened its field of action beyond the muscle. For instance, improvement of motor function by ISMC was related not only to muscular changes but also to induction of cortical plasticity (Chipchase et al., 2011). For a few years, chronic ISMC has been envisaged as a potential substitute for aerobic physical exercise (EX), i.e., endurance exercise such as walking, running, cycling to improve brain health including mental health. To support this, chronic ISMC was reported to increase the production of myokines involved in neuroplasticity (Sanchis-Gomar et al., 2019) as well as cerebral levels of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) (Ke et al., 2011; Dalise et al., 2017) a neurotrophin playing a crucial role in EX-induced synaptic plasticity, neurogenesis and cognition (Vaynman et al., 2004; Lu et al., 2008; Erickson et al., 2012). There are also studies that reported an improvement by chronic ISMC of the negative psychological state associated with spinal cord injury (Twist et al., 1992) and memory impairment in Alzheimer's patients (Scherder et al., 1995). One unresolved point concerns the mechanisms underlying improved cognitive abilities in response to chronic ISMC, while elucidating these mechanisms is a prerequisite for optimizing protocols of ISMC aimed to improve cognition.

One mechanism underlying the cognitive benefit afforded by either chronic ISMC of a large muscular mass or chronic EX such as running could be the repeated elevation of cerebral blood flow as a result of increased neuronal activity, hypercapnia and increased cardiac output (Willie et al., 2014; Smith and Ainslie, 2017). Each increase of CBF may augment the delivery of myokines involved in neuroplasticity into the brain. In addition, increased blood flow in the cerebral microvasculature may stimulate NO production as a consequence of phosphorylation of endothelial NO synthase (eNOS) at serine 1177 by shear stress (Dimmeler et al., 1999) while NO secreted by the endothelium of cerebral capillaries plays a key role in neurogenesis and neuroplasticity (Chen et al., 2005; Hopper and Garthwaite, 2006). Surprisingly, the effect ISMC of a large muscular mass on regional CBF was never investigated. This effect cannot be extrapolated from studies reporting CBF elevation during acute EX. Indeed, the pattern of neuronal activation differs between voluntary and involuntary contraction (Wegrzyk et al., 2017) and whether neuronal activation occurs in cognition-related brain regions during stimulation as observed during acute EX is not known. In addition, while many studies reported a contribution of cardiac output to CBF (Meng et al., 2015), an independent relationship between cardiac output and CBF was recently questioned (Castle-Kirsbaum et al., 2021).

In this context, the present study aimed to investigate the effect of ISMC of a large muscular mass on regional CBF. For this purpose, CBF was measured at the microvascular level directly by laser doppler flowmetry (LDF_{CBF}) and indirectly by changes in tissue p-eNOS^{Ser1177} levels (p-eNOS_{CBF}) in anesthetized rats

subjected to induced bilateral hindlimb contraction or in unstimulated rats. Selective blockade of β_1 cardiac receptors by atenolol, their activation by dobutamine as well as modulation of stimulation intensity (2.5 vs. 5-fold the motor threshold) were used as strategies to assess the contribution of increased cardiac output to CBF changes. Changes in neuronal activity were assessed from the measurement of c-fos levels. CBF and c-fos levels were measured in the area representing the hindlimb and in two cognition-related brain regions (the hippocampus and the prefrontal cortex). Electrically induced bilateral hindlimb contraction was performed according to an acute stimulation protocol (stimulation for 30 min under ketamine/xylazine or chloral hydrate anesthesia) since an interaction between anesthesia and the effect of ISMC on blood pressure (BP) was previously suspected by Ishide et al. (2002) or to a subchronic stimulation protocol (stimulation of 30 min a day for 7 consecutive days under isoflurane anesthesia).

MATERIALS AND METHODS

Animals and Drugs

Animals. Experiments were conducted according to the French Department of Agriculture guidelines (license 21-CAE-102), approved by local ethics committee (Ethical committee of animal experiment, Dijon, aggregation number 105) and conformed to ARRIVE guidelines. They were carried out on 88 male Wistar rats (7 to 8 week-old) purchased from Janvier Labs (Le Genest Saint Isle, France). Rats were housed under a 12 h/12 h light/dark cycle and allowed free access to food and water.

Anesthetic agents. In experiments for which rats were placed on a stereotaxic frame, volatile anesthesia could not be used. Therefore, electrically induced contraction was first induced in rats anesthetized with ketamine (Virbac, Carros, France)/xylazine (Bayer, Leverkusen, Germany) that is the recommended no volatile anesthesia in rodents. The administration of a mixture (0.115 ml/100 g, i.p) of ketamine (75 mg/kg) and xylazine (8 mg/kg) was preceded (15 min) by the administration of buprenorphine (0.05 mg/kg, s.c, Buprécure, Axience, Pantin, France). An additional injection of ketamine (35 mg/kg) was administered as indicated by loss of withdrawal reflex to pinching of the hindpaw and/or spontaneous increases in heart rate (HR). Then, anesthesia was induced by chloral hydrate. This anesthetic agent has the reputation to not depress the cardiovascular system even though it is not recommended because of its depressive effect on ventilation when used at the dose required for surgical anesthesia, its irritating effect (peritonitis) when chronically administered by i.p route, its cancerogenic effect when administered chronically. However, in the present study, respiratory depression and toxicity of chloral hydrate could not occur since rats were placed under assisted ventilation and euthanized less than 100 min after induction of anesthesia, respectively. Anesthesia by chloral hydrate consisted in the administration of a 4% chloral hydrate (Sigma-Aldrich, Saint-Quentin Fallavier, France) solution (saline). This solution was administered under a

volume of 10 ml/kg (i.p) to induce anesthesia and then (30–40 min later) under a volume of 5 ml/kg (i.v) to maintain deep anesthesia. Pentobarbital anesthesia (60 mg/kg) was used to explore the effect of dobutamine on CBF. For experiments not requiring to place rats on a stereotaxic frame, anesthesia was induced by 4% isoflurane in a clear induction chamber and then maintained with 2% isoflurane in air in a standard rat nose mask. Advantage of gaseous anesthesia is that it allows a rapid awakening as compared to anesthesia with chloral hydrate, thus limiting potential interaction between CBF and anesthesia. Body temperature of anesthetized rats was maintained around 37°C with a heating pad.

Drugs. Atenolol (Sigma-Aldrich, Saint-Quentin Fallavier, France), a water-soluble and specific β_1 receptor competitive antagonist was administered at 10 mg/kg (1 ml/kg, i.v). Dobutamine (Sigma, D0676), a water-soluble specific β_1 receptor agonist was infused at 10 μ g/kg/min (5.5 μ L/min/100 g for 30 min, i.v). Dosages of atenolol and dobutamine were determined from dosages used in patients to treat tachycardia and low cardiac output hypoperfusion states.

Electrical Stimulation

Circular (7 mm) electrodes (Contrôle Graphique Medical, Brie-Compte-Robert, France) were connected to an electrical stimulator (DS7AH, Digitimer, Hertfordshire, United Kingdom) controlled by TIDA software (Tida, Heka Elektronik, Lambrecht/Pfalz, Germany) to trigger stimulation. After abdomen and back shaving in anesthetized rats, the anode was placed on the abdomen and the cathode on lumbar (L6) nerve roots to induce the simultaneous contraction of the two hindlimbs. Electrical stimulation was induced with a rectangular biphasic current of 100 Hz frequency, 200 μ s of pulse duration with an alternating of 6 s ON (contraction) and 3 s OFF (rest). The current intensity was set to 2.5- or 5- fold the motor threshold (MT) i.e., the smallest stimulation intensity to induce the contraction of both hindlimbs (7 mA). The intensity was continuously increased (up to 70 mA) to maintain the target torque output.

Two protocols of stimulation were used. According to the acute stimulation protocol, ventilated rats anesthetized with ketamine/xylazine or chloral hydrate were subjected to a 30 min-long stimulation period. End-tidal carbon dioxide (CO_2) was continuously recorded with a capnograph (CapnoScan, Kent Scientific, United States) and maintained at 35 mmHg by adjusting the ventilation rate, thus allowing us to eliminate the effect of hypercapnia on CBF. According to the chronic stimulation protocol, a daily (30 min) stimulation was repeated during 7 consecutive days in rats anesthetized with isoflurane and not placed under assisted ventilation. The rationale for this protocol is that a treadmill activity 30 min a day during 7 consecutive days was reported by our laboratory to increase levels of both c-fos and p-eNOS^{Ser1177} in the sensorimotor cortex, the hippocampus and the prefrontal cortex and to reduce memory deficit induced by scopolamine (Banoujaafar et al., 2014; Cefis et al., 2019; Pedard et al., 2019). The parameters of stimulation did not differ between the acute and chronic protocols of stimulation.

Methods to Investigate Cerebral Blood Flow

Changes in CBF during stimulation were assessed at the microvascular level as interrogation of the cerebral microvasculature provides a more accurate assessment of actual tissue perfusion than macrovascular hemodynamic measurements. Thus, CBF was directly assessed from laser doppler flowmetry (LDF_{CBF}) and indirectly from changes in tissue p-eNOS^{Ser1177} levels (p-eNOS_{CBF}). LDF method measures red blood cells velocity in the cerebral microcirculation while changes in cerebral p-eNOS^{Ser1177} levels reflect changes in shear stress in vessels of the cerebral microcirculation mainly the capillaries. Supporting changes in p-eNOS^{Ser1177} levels as a reliable marker of changes in CBF at the microvascular level, cerebral p-eNOS^{Ser1177} levels decreased in response to interruption of the carotid circulation (Banoujaafar et al., 2016) and increased in response to EX in the sensory-motor cortex, the prefrontal cortex and the hippocampus (Cefis et al., 2019; Pedard et al., 2019). Notably, even though eNOS phosphorylation is induced by both flow- and receptor-dependent mechanisms, an increase in microvasculature flow obligatorily translates into the induction of eNOS phosphorylation at serine 1177.

Laser Doppler Flowmetry

LDF_{CBF} was expressed as arbitrary tissue perfusion units (TPU) and continuously recorded before, during and after acute stimulation using a probe (diameter of 1.2 mm) connected to a laser Doppler flowmetry apparatus (BLF21, Transonics Systems, NY, United States). After anesthesia (with chloral hydrate or pentobarbital) and heparin administration (50 UI/100 g, i.v, Lovenox, Aventis, Strasbourg, France), arterial BP and heart rate (HR) were recorded from a catheter inserted into a common carotid artery, the caudal artery or a femoral artery using a BP monitor (Easy Graf, GOULD, United States). Rats were then ventilated (Harvard Apparatus, Fircroft, Eddenbridge, United Kingdom) with room air through an endotracheal tube and placed on a stereotaxic frame (Model 900, Kopf Instruments, Tujunga, CA, United States). The tip of the probe was placed perpendicularly to the cortical surface and centered on the area representing the hindlimb according to the following stereotaxic coordinates: AP = -1.8 mm, L = 2.8 mm from bregma as reference (Atlas of Paxinos and Watson). For this purpose, a circular area of 5 mm diameter overlying the cortical hindlimb representation was thinned using a dental drill until a translucent cranial plate remained. Then, this plate was removed before positioning the probe on the dura mater. Placement of the probe on area with large vessels was avoided. Rats with a mean arterial BP (MABP) below 60 mmHg were excluded for further experiments. LDF_{CBF} was recorded in rats stimulated at low (2.5x MT) or high intensity (5x MT), in rats with or without treatment with atenolol as well as in unstimulated rats receiving dobutamine.

Western Blotting Analysis

The cortical area representing the hindlimb, the hippocampus and the prefrontal cortex were collected 20 min after cessation

of stimulation in rats subjected to the acute stimulation protocol, 24 h after the last session of stimulation in rats subjected to the sub-chronic stimulation protocol and at equivalent times in corresponding unstimulated sham rats. Once collected, the structures were immediately weighed and frozen at -80°C . Levels of p-eNOS^{Ser1177} as an indirect marker of CBF (p-eNOS_{CBF}) and of c-fos as a marker of neuronal activation were measured by Western blotting analysis using Stain-Free imaging technology (Biorad). Briefly, equal amounts of protein were loaded on sodium dodecyl sulfate–polyacrylamide (SDS-PAGE) TGX Stain-Free FastCast gel electrophoresis (TGX Stain-Free FastCast Acrylamide Kit, 7.5%, 1610181, Bio-Rad) and electrophoretically transferred to polyvinylidene difluoride (PVDF) membranes using Turbo Transblot technology (1704150, Biorad). After blocking non-specific binding sites for 1 h at room temperature (RT), membranes were incubated overnight at 4°C with primary antibody directed against p-eNOS^{Ser1177} (1/1000, mouse monoclonal, 612,383, BD Biosciences) or c-fos (1/3,000, rabbit polyclonal, GTX129846, GeneTex). Membranes were then incubated (1 h, RT) with secondary antibody conjugated with horseradish peroxidase (1/25000, anti-mouse: 115-035-166, anti-rabbit: 111-035-144, Jackson ImmunoResearch). Membranes were then placed in Chemidoc imaging systems. A stain-free image of the blot was captured to control the total protein loading and normalize data. Protein-antibody complexes were visualized using the enhanced chemiluminescence Western blotting detection system (ECL 2, 1151-7371, Fisher Scientific). Band densities were analysed with ImageLab software (Bio-Rad) and standardized on total protein. Gels were run in duplicate. The appropriate amounts of total proteins to be analysed were previously determined from concentration (increasing amounts of proteins)/response (optical density of the band) curves.

Experimental Design

Four sets of experiments were conducted. The first set aimed to assess the peripheral cardiovascular effect (HR and BP recorded from a catheter inserted in a common carotid artery) of acute stimulation in rats anesthetized with either ketamine/xylazine ($n = 12$) or chloral hydrate ($n = 6$). The second set of experiments investigated the effect of acute stimulation on CBF in the area representing the hindlimb, the hippocampus and the prefrontal cortex in rats anesthetized with chloral hydrate ($n = 31$). In the same stimulated rats, LDF_{CBF} was measured in the area representing the hindlimb while p-eNOS_{CBF} was measured in the three brain regions of interest. HR and BP were recorded from a catheter inserted either in a common carotid artery ($n = 13$) or in the caudal artery ($n = 12$) in order to exclude a potential interaction between CBF and unilateral carotid occlusion. The third set of experiments investigated the contribution of cardiac output to the CBF response to acute stimulation ($n = 29$). It consisted in the recording of HR, BP (recorded from a common carotid artery, a caudal artery, or a femoral artery) and LDF_{CBF} in the area representing the hindlimb either in stimulated rats

treated with a β -blocker ($n = 12$), in rats stimulated at a lower intensity ($n = 5$) than that used in the previous experiments or in unstimulated rats treated with dobutamine ($n = 12$). The aim of the fourth set of experiments ($n = 10$) was to investigate the effects of subchronic stimulation on levels of c-fos and p-eNOS^{Ser1177} in the three regions of interest in isoflurane-anesthetized rats (5 stimulated rats and 5 sham rats).

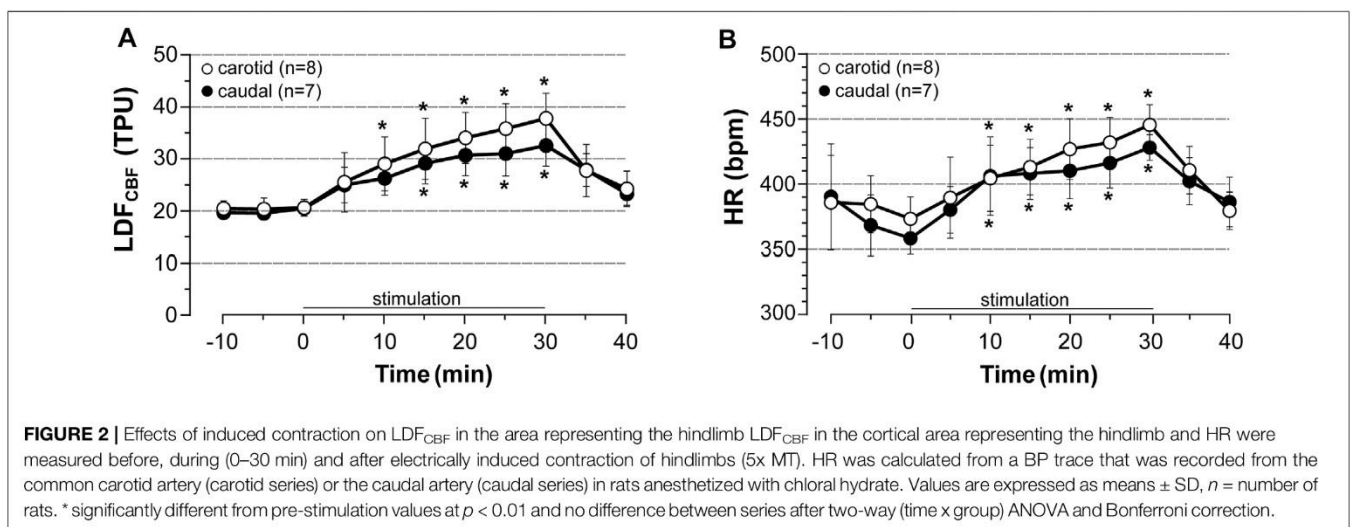
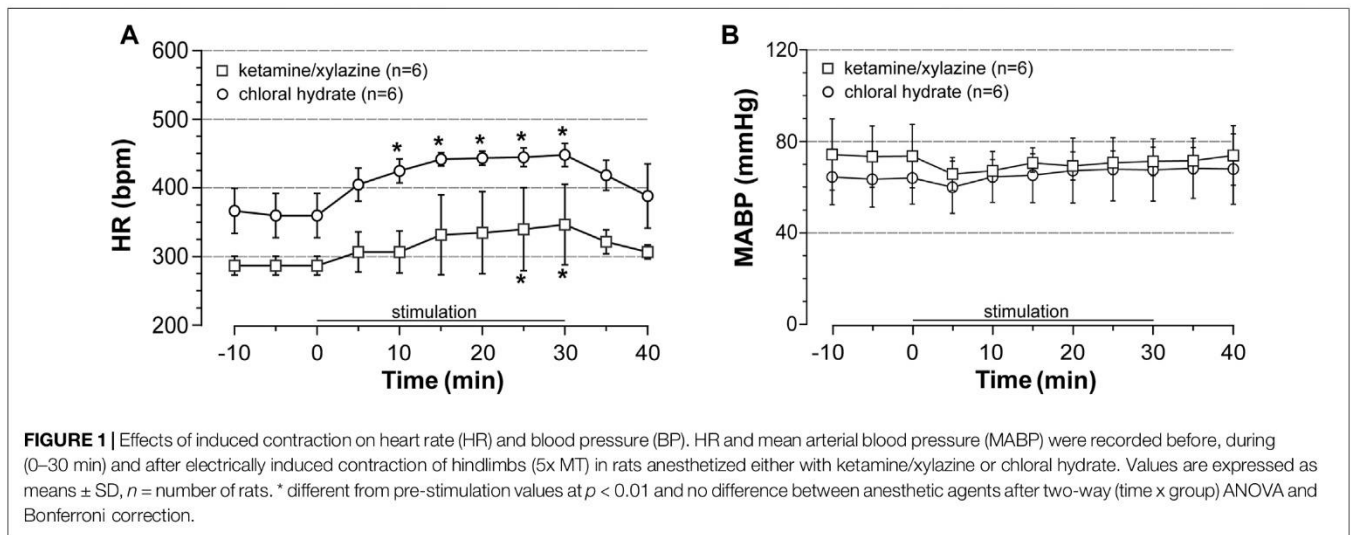
Statistical Analysis

Values are expressed as mean \pm standard deviation (SD). The normality of the values was carried out by a Shapiro-Wilk test. To study the effect of stimulation on HR, MABP and CBF over time, a one-way or two-way ANOVA (time \times group) was performed with time 0 or -10 min as reference time (control values). p values were subjected to a Bonferroni correction. Differences in p-eNOS^{Ser1177} and c-fos levels between groups of rats were assessed using unpaired t -test. Statistical significance was set at the 5% level.

RESULTS

Preliminary Experiments to Indirectly Assess the Effect of Stimulation on Cardiac Output

Increased cardiac output was reported to contribute to the elevation of flow in the cerebral arteries that occurs during acute EX involving a large body mass (Seifert et al., 2009). Therefore, to investigate whether cardiac output increased during our protocol of stimulation, we measured the response of BP and HR to acute stimulation protocol (intensity at 5-fold motor threshold). Experiments were first conducted in ventilated rats anesthetized with ketamine/xylazine ($n = 12$), BP and HR being recorded from a catheter inserted into the right common carotid. Among 12 ketamine/xylazine-anesthetized rats, half died before the end of stimulation likely as a result of cardiovascular arrest. In the surviving rats, stimulation induced a time-dependent increase in HR but did not change BP (**Figure 1**). Tachycardia at 30 min of stimulation reached $+25\%$ of the pre-stimulation values and the HR rapidly recovered pre-stimulation values after stopping the stimulation. From these data, increased cardiac output was expected to occur during stimulation. However, the substantial mortality (50%) observed in rats anesthetized with ketamine/xylazine in combination with the suspicion of interaction between anesthesia and the effect of ISMC on BP (Ishide et al., 2002) led us to conduct the same experiments in artificially ventilated rats anesthetized with chloral hydrate. As observed under ketamine/xylazine anesthesia, stimulation at 5-fold motor threshold induced a time-dependent elevation of HR without associated changes in BP (**Figure 1**) in chloral hydrate-anesthetized rats ($n = 6$). The superimposable response of HR and BP to stimulation between rats anesthetized with ketamine/xylazine and those anesthetized with chloral hydrate indicated that stress (adrenalin



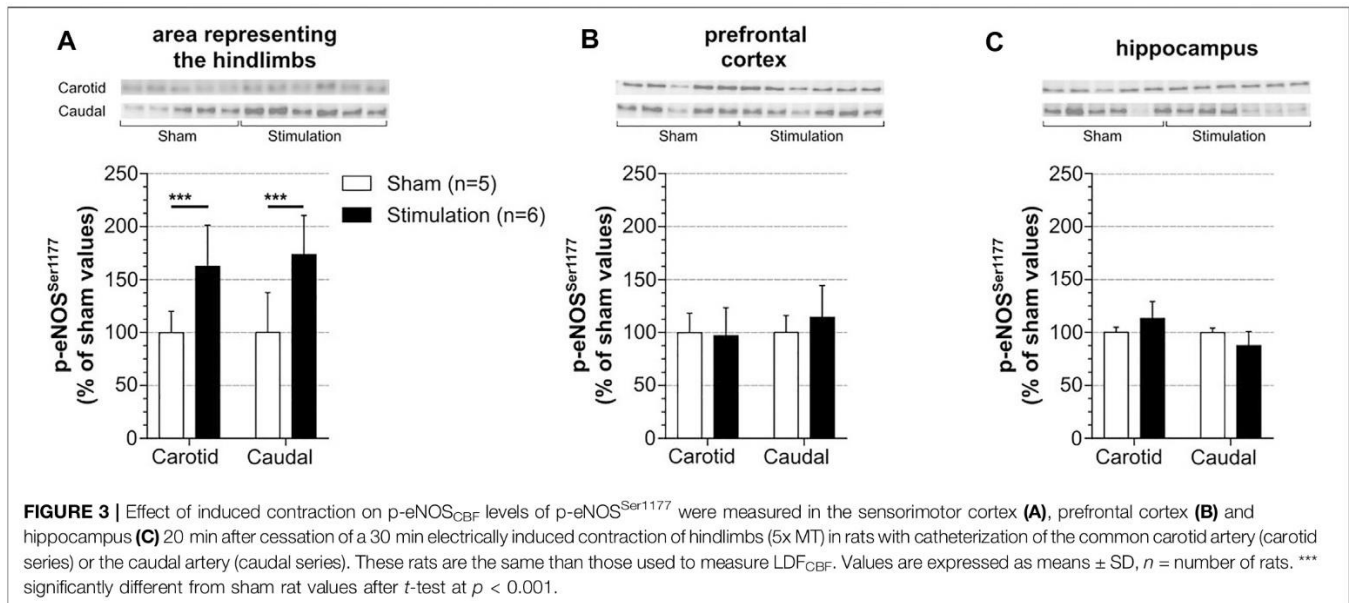
secretion)- if occurs during stimulation- did not differ between the two protocols of anesthesia. Furthermore, unlike ketamine/xylazine, chloral hydrate did not induce animal death. Therefore, chloral hydrate was used in the further experiments on rats subjected to acute stimulation protocol.

Effect of Induced Contraction on LDF_{CBF} in the Area Representing the Hindlimb

In the preceding experiment, BP was recorded from a catheter inserted into the common carotid artery due to the ability to easily insert a catheter into this large vessel and of the obtention of a large pulsatile pressure from which HR can be estimated without any difficulty. However, vascular catheterization resulted in a permanent occlusion of the vessel that may interact with the response of CBF to stimulation. Indeed, acute common carotid artery occlusion was reported to reduce basal global CBF (De Ley

et al., 1985). Therefore, the effect of the acute stimulation protocol on local CBF was investigated in rats in which HR and BP were recorded from either the left common carotid artery (carotid series) or the caudal artery (caudal series). The probe was placed on the right cortical area representing the hindlimb. This region and the two cognition-related brain regions were then collected for further determinations of p-eNOS^{Ser1177} levels. Notably, CBF was not measured in six rats (on 31) as their MABP dropped below 60 mmHg during LDF measure. As shown below, no statistical difference was observed between the two series indicating that unilateral carotid occlusion did not interact with the response of LDF_{CBF} to electrically induced contraction.

In unstimulated sham rats of both series ($n = 5$ rats each), a slight (less than 7% of control values) and insignificant decrease in HR, MABP and CBF were observed over time (not shown). By contrast, induced contraction (5x MT) evoked a time-dependent elevation in LDF_{CBF} and HR that rapidly returned to pre-stimulation values after cessation of stimulation (Figure 2). Thus, at 30 min of stimulation



and as compared to pre-stimulation values, CBF was significantly increased by 84% in rats of the carotid series ($n = 8$) and 65% in rats of the caudal series ($n = 7$) (Figure 2A, with no significant difference between the two series). Moreover, as previously observed (see results in 3.1) stimulation increased HR (+ 25% at 30 min of stimulation) in both series without differences between the series (Figure 2B) and did not change MABP (not shown). No statistical difference in HR was observed between carotid and caudal series.

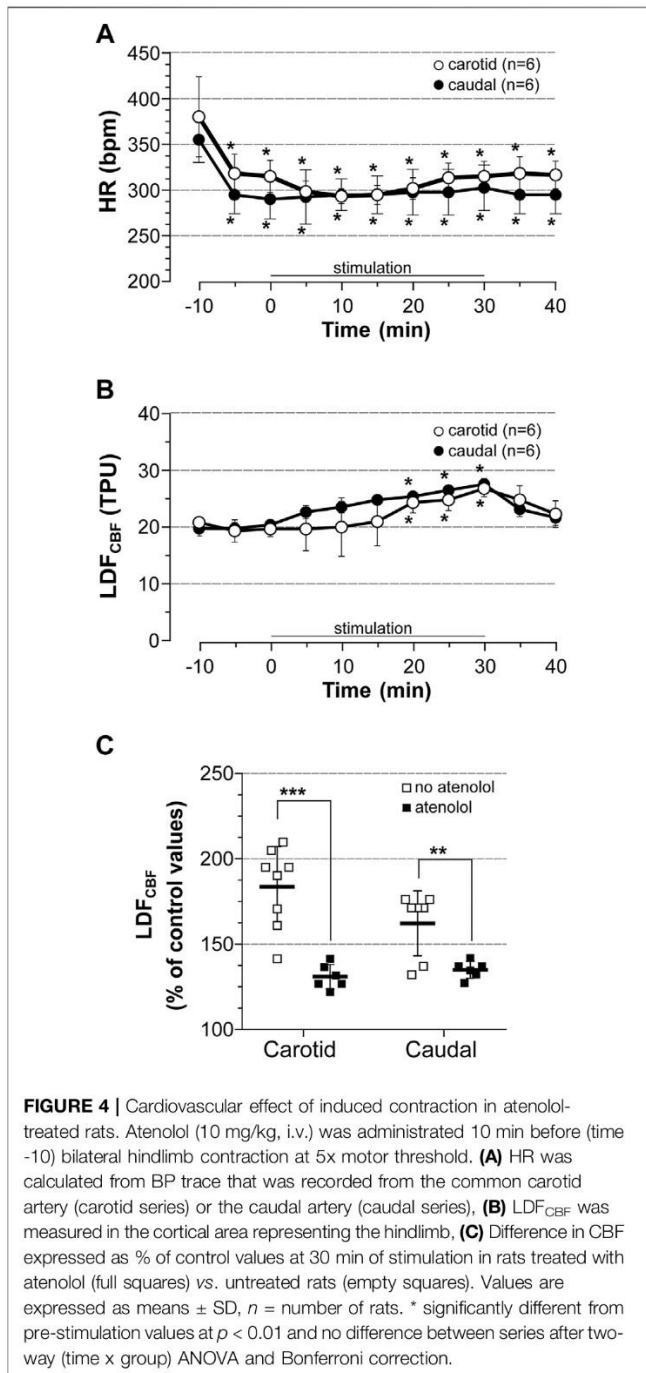
Effect of Induced Contraction on p-eNOS_{CBF} in the Area Representing the Hindlimb, the Hippocampus and the Prefrontal Cortex

Regarding the experimental difficulty to simultaneously measure CBF in different brain regions with LDF and the lack of validation of LDF method to explore subcortical CBF, changes of p-eNOS^{Ser1177} expression were used as an indirect marker of changes in CBF. Levels of p-eNOS^{Ser1177} were measured in the regions of interest in rats in which LDF_{CBF} was recorded (see paragraph 3.2). The brains were collected 20 min after cessation of stimulation (at 5x MT) in stimulated rats or at the equivalent time in unstimulated sham rats. The results are summarized in Figure 3. Supplemental Figure S1 shows full membranes as well as loading controls (stain-free) from which graphs of Figure 3 were constructed. In accordance with elevation of LDF_{CBF} in the area representing the hindlimb (Figure 2), this region exhibited increased p-eNOS^{Ser1177} levels in response to stimulation. Thus, as shown in Figure 3A, the rise in p-eNOS^{Ser1177} expression in the area representing the hindlimb reached +63% in the carotid series and +69% in the caudal series ($p < 0.001$), as compared to values obtained in unstimulated sham rats. By contrast, p-eNOS^{Ser1177} levels in the prefrontal cortex (Figure 3B) and the hippocampus (Figure 3C) did not differ between stimulated and unstimulated sham rats suggesting that CBF did not increase in these cognition-related regions.

Contribution of Cardiac Output to LDF_{CBF}

The contribution of cardiac output to the elevation of LDF_{CBF} in the area representing the hindlimb in response to stimulation was first investigated by the measurement of LDF_{CBF} in stimulated rats treated with the β -blocker atenolol. Atenolol was administrated 10 min before the onset of stimulation at 5 x MT, HR and BP being recorded either from the left common carotid (carotid series, $n = 6$) or the caudal artery (caudal series, $n = 6$) with the LDF probe placed on the right area representing the hindlimb. Results are summarized in Figure 4. Atenolol fully prevented the chronotropic effect of stimulation either in the carotid series or in the caudal series (Figure 4A, note the bradycardia induced by atenolol before induction of stimulation). By contrast, stimulation still induced a time-dependent increase in LDF_{CBF} (Figure 4B) but the increase was significantly lower than that observed in untreated rats (Figure 4C). Thus, CBF values at 30 min of stimulation were 26.8 and 27.6 TPU in the carotid and caudal series, respectively (i.e., 131 and 135% of control values). BP remained unchanged before and after stimulation in atenolol-treated rats (not shown).

Then, the cardiac response to stimulation was modulated by changing intensity of stimulation. Thus, LDF_{CBF} in the area representing the hindlimb, HR and BP (recorded from common carotid artery only) were measured before, during, and after stimulation at 2.5x MT in chloral hydrate anesthetized rats ($n = 5$) and compared to those obtained after stimulation at high (5x MT) intensity. As shown in Figure 5, stimulation at low intensity increased HR only by 10% (NS) and CBF by 44% ($p = 0.0251$) at 30 min of stimulation as compared to pre-stimulation values. These changes were significantly lower than those evoked by high-intensity stimulation, at least from 20 to 30 min of stimulation but significantly higher ($p = 0.0317$) than those observed in corresponding sham rats (not shown). Of note, MABP remained to pre-stimulation values during stimulation at low intensity (not shown).



Lastly, we investigated the effect of dobutamine (an agonist of β_1 -receptor able to increase cardiac output but unable to alter neuronal activity as a result to its incapacity to cross the blood-brain barrier) in unstimulated rats. LDF_{CBF} was continuously recorded in the cortical area representing the hindlimb, BP and HR being measured from a catheter inserted into a femoral artery in rats anesthetized with pentobarbital. As shown in **Figure 6** and as compared to saline, dobutamine increased HR by 18% (+80 beats/min) after 30 min of perfusion (**Figure 6A**), while it changed neither LDF_{CBF} (**Figure 6B**) nor MABP (not shown).

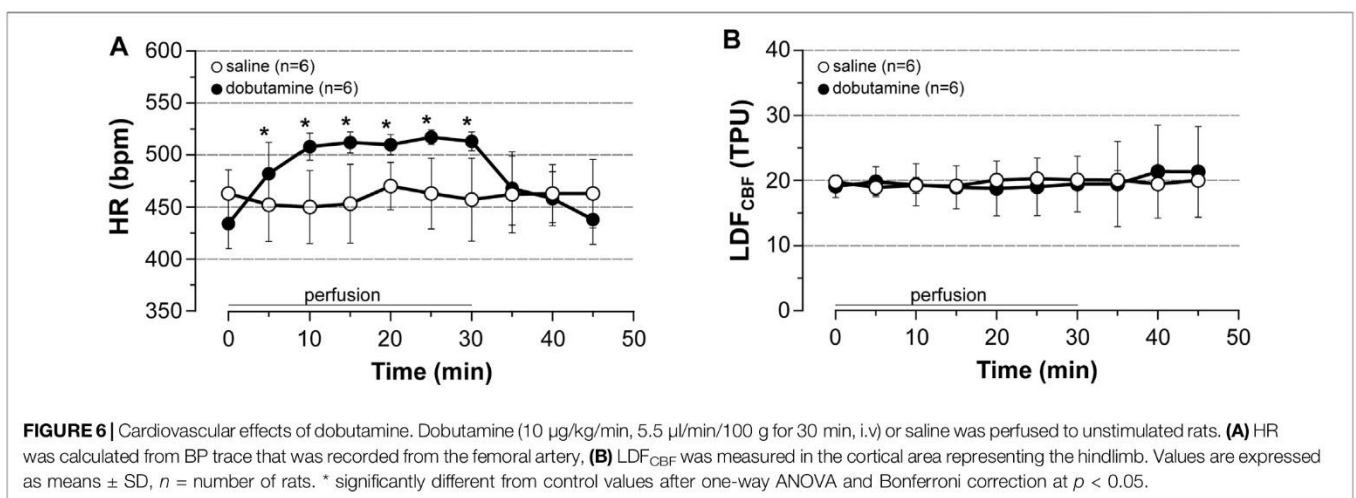
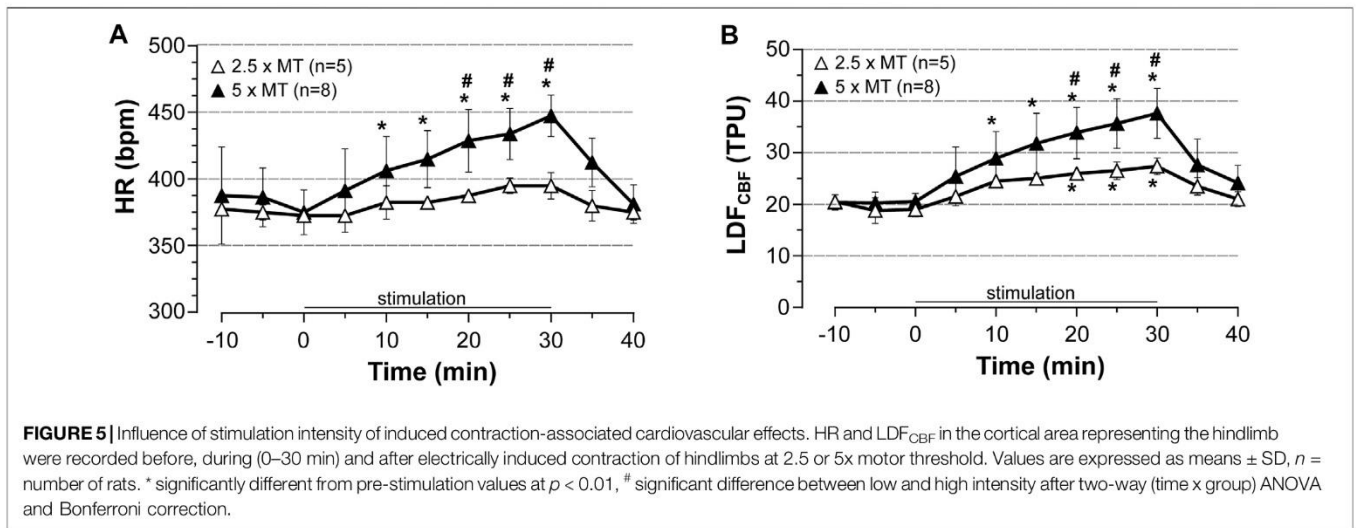
Cerebral Effects of Subchronic Stimulation

Subchronic stimulation was used to investigate the effect of stimulation of *c-fos* as a marker of neuronal activation. Levels of *c-fos* and p-eNOS^{Ser1177} were measured in the three regions of interest that were collected 24 h after the last session of stimulation. In fact, *c-fos* was not investigated in rats subjected to the acute stimulation protocol because -in these rats- the brain regions were collected 20 min after cessation of stimulation, a time too short to reveal potential *c-fos* protein upregulation. As shown in **Figure 7** and as compared to unstimulated sham rats, induced contraction increased *c-fos* and p-eNOS^{Ser1177} levels in the cortical area representing the hindlimb (**Figure 7A**) with no change in the prefrontal cortex (**Figure 7B**) and the hippocampus (**Figure 7C**). **Supplemental Figure S2** shows full membranes as well as loading controls (stain-free) from which graphs of **Figure 7** were constructed. Importantly, the selective increase in p-eNOS^{Ser1177} in the area representing the hindlimb suggests that hypercapnia did not occur during stimulation. Consistently, spontaneous hyperventilation was noticed during each period of stimulation.

DISCUSSION

The main results provided by the present study are that 1) stimulation increased LDF_{CBF} and p-eNOS^{Ser1177} levels in the area representing the stimulated muscles but did not change p-eNOS^{Ser1177} levels in the prefrontal cortex and the hippocampus, 2) LDF_{CBF} elevation was dependent on the intensity of stimulation, blunted by atenolol administration and not reproduced by dobutamine administration in unstimulated rats, 3) stimulation resulted in a selective augmentation in *c-fos* levels in the area representing the stimulated muscles.

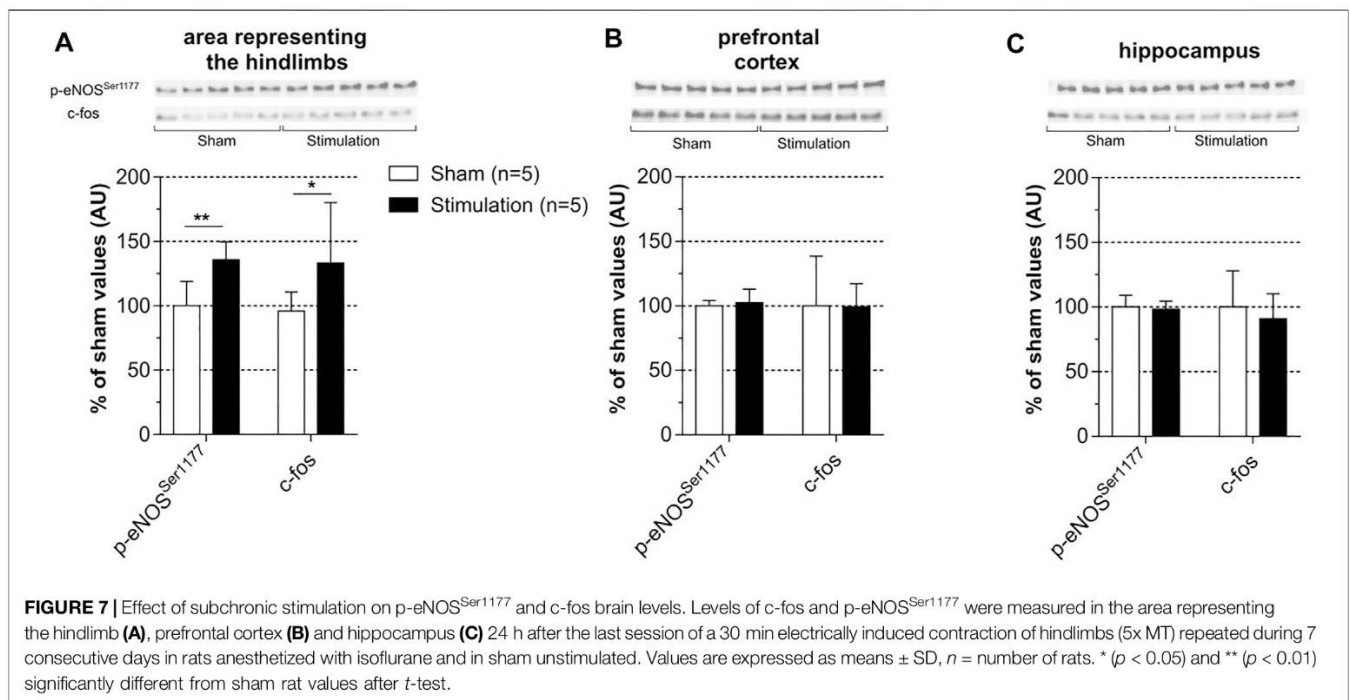
In opposition to the plethora of studies on the cardiovascular (CV) effects of physical activity, the CV effects of ISMC are poorly documented. Nevertheless, tachycardia was consistently reported during induced contraction (Crayton et al., 1979; Ishide et al., 2002). More controversial and for still hypothetical reasons (Ishide et al., 2002) is the effect of ISMC on arterial BP (an augmentation, a decrease or no effect), while BP increases during physical activity as a consequence of increased cardiac output. In the present study, tachycardia increased by 25% after 30 min of stimulation while BP remained to pre-stimulation values irrespective of the anesthetic agent (ketamine/xylazine or chloral hydrate). Of note, tachycardia without an associated change in BP was previously reported during bilateral sciatic nerve stimulation in anesthetized rats (Ishide et al., 2002). Tachycardia during stimulation related to activation of bulbar sympathetic centers and subsequent increased sympathetic outflow as evidenced from the complete prevention of tachycardia by atenolol. Notably, while sympathetic activation observed during voluntary contraction is driven by the central command (feed-forward mechanism originating from higher brain centers) (Williamson et al., 2006), the exercise pressor reflex (a feed-back mechanism originating from skeletal muscle) and the arterial baroreflex (a negative feed-back



mechanism originating from the carotid sinus and aortic arch) (Fisher et al., 2015), it is driven only by the exercise pressor reflex during our protocol of involuntary contraction since the central command is absent during stimulated contraction and BP did not change during stimulation. Thus, only the activation of sensory fibers originating from muscles may be responsible for the sympathetic activation observed during stimulation. According to our protocol, activation of these fibers was due not only to muscle contraction but also to electrical stimulation of the dorsal roots (that contain sensory fibers).

To the best of our knowledge, our study is the first to investigate the effect of involuntary contraction involving a large muscular mass on regional CBF. CBF was directly and indirectly investigated by LDF measures (LDF_{CBF}) and changes in p-eNOS^{Ser1177} levels (p-eNOS_{CBF}), respectively. Our results showed a region-dependent increase in CBF during electrically induced bilateral hindlimb contraction. More precisely, LDF_{CBF} and p-eNOS_{CBF} increased in the area representing the hindlimb, while p-eNOS_{CBF} did not change in cognition-related brain

regions in rats subjected to acute stimulation. The mechanisms that control blood supply to the brain are complex and multiple. However, both local factor i.e neuronal activity and systemic factor i.e BP, arterial partial pressure of CO₂ and cardiac output are involved (Willie et al., 2014). In the present study, LDF_{CBF} in the cortical area representing the hindlimb related neither to hypercapnia nor change in BP as end-tidal CO₂ pressure was maintained at 35 mmHg during stimulation by increasing the ventilation rate and BP remained to pre-stimulation values during stimulation. By contrast, our results on atenolol and stimulation intensity support the contribution of increased cardiac output to LDF_{CBF} elevation. However, despite the elevation of cardiac output evoked by stimulation, p-eNOS_{CBF} was not increased in all the regions examined indicating that increased cardiac output cannot by itself induce CBF elevation. Consistently, dobutamine failed to reproduce the effect of stimulation on LDF_{CBF}. Of note, pharmacologically induced cardiac output and MABP elevation by dobutamine was previously reported to not change global CBF in monkeys



(Bandres et al., 1992) while this strategy was recently reported to increase blood flow in the external carotid artery and reduce flow in the internal carotid artery in human beings (Ogoh et al., 2017). Such redistribution of cardiac output to extra-cranial structures likely emphasizes the importance of preventing brain overperfusion. In other words, increased cardiac output observed during stimulation cannot increase CBF in regions where neuronal activation is absent. This is confirmed by our results on c-fos that revealed a selective increase in neuronal activity in the area representing the hindlimb after chronic stimulation and pointed the importance of the voluntary nature of the contraction to expect increased neuronal activity in the cognition-related brain regions. The absence of c-fos elevation in the cognition-related brain regions is in line with a recent study showing no change in hippocampal c-fos in mice subjected to bilateral hindlimb contraction twice a week during 7 weeks (Gardner et al., 2020). Our results showing that increased levels of c-fos coexisted with increased levels p-eNOS^{Ser1177} confirm that it is neuronal activation that drives CBF elevation at the microvascular level during stimulation and argue for a contribution of increased cardiac output to CBF elevation only in the region where increased neuronal activity is present. Notably, EX (treadmill activity, 30 min a day for 7 consecutive days) was reported by our laboratory to induce c-fos upregulation and phosphorylation of eNOS at serine 1177 not only in the sensorimotor cortex but also in the hippocampus and the prefrontal cortex (Banoujaafar et al., 2014; Cefis et al., 2019; Pedard et al., 2019). These data are in line with studies that reported increased CBF (Nishijima et al., 2012) and neuronal activation (Nguyen et al., 2004) in cognition-related brain regions during EX. Such difference between induced and voluntary contraction indicates that muscle contraction alone cannot

fully reproduce the effect of EX on cognition-related brain regions. Moreover, increased neuronal activity in the area representing the hindlimbs is likely lower during stimulation than during EX at least in rats. Indeed, assuming that motor-sensory overlap is important for the hindlimb representation in rats (Hummelsheim and Wiesendanger, 1985), neuronal activation in this region involves both the voluntary motor command and activation of sensory fibers originating from active muscles during EX as expected from the projection on the somatosensitive cortex of proprioceptive information (Landgren and Silfvenius, 1969; Wiesendanger and Miles, 1982) but only the latter during stimulation. Supporting this, changes in p-eNOS^{Ser1177} and c-fos levels in the area representing the hindlimb were higher after EX than after subchronic stimulation. Of note, it is unlikely that anesthesia was a confounding factor in the interpretation of our results since neither chloral hydrate nor isoflurane reduced basal CBF as compared to conscious rats (Suzuki et al., 2021).

Limitations of the study. A limitation of the present study is that CBF changes in cognition-related brain regions were indirectly assessed from changes in p-eNOS^{Ser1177}. This method is less accurate than LDF_{CBF} method for two reasons. The first reason is that it requires to compare p-eNOS^{Ser1177} levels in a group of sham unstimulated rats vs. a group of stimulated rats, while by contrast LDF_{CBF} is measured before and after stimulation in the same rats. However, as shown in supplemental figures, the interindividual variability in p-eNOS^{Ser1177} levels in unstimulated rats is low. The second reason is that p-eNOS^{Ser1177} levels were measured by Western blotting analysis that is a semi quantitative method. Another limitation of the present study is the lack of demonstration that increased CBF in the area representing the hindlimb was

effectively driven by increased neuronal activity even though increased CBF was observed only in regions with increased neuronal activity. Nevertheless, the possibility that increased CBF in the area representing the stimulated muscles involved the activation of the intracerebral vasodilating cholinergic nerve fibers originating from the basal forebrain (Sato et al., 2001) cannot be excluded. However, evidence that activation of the basal forebrain observed during mastication muscle activity was induced by the cerebral command from the motor cortex, independently of feedback from contracting muscles (Hotta et al., 2020) does not argue for the occurrence of basal forebrain activation during hindlimb stimulation.

We concluded that stimulated contraction of a large muscle mass increases CBF in the area representing the stimulated muscles but not in cognition-related regions and that this selective CBF increase involves an increase in both neuronal activity and cardiac output. The absence of CBF changes in cognition-related brain regions does not support the involvement of flow-dependent neuroplasticity (cerebral hemodynamics) in the pro-cognitive effect of electrically induced contraction. From a physiological point of view, our results provide evidence that local CBF does not increase in response to increased cardiac output alone (without changes in BP and arterial pCO₂) at least in regions where metabolic needs are not increased. Importantly, during the review processing of the present study was published a work that explored the effect of electrical myostimulation on large muscle mass on CBF in normal human beings using a color-coded ultrasound system (Ando et al., 2021). The authors reported increased flow in the internal carotid artery (+12%), but no change in the vertebral artery. Regarding the association observed between CBF and pCO₂ changes for the carotid, but not the vertebral circulation, the differential effect of stimulation between the two circulations was related to the difference in the cerebrovascular response to hypercapnia. However, the mechanisms underlying increased flow in the internal carotid artery were not investigated. Our results

support the involvement of an increase in both neuronal activity and cardiac output.

DATA AVAILABILITY STATEMENT

The original contributions presented in the study are included in the article/Supplementary Material, further inquiries can be directed to the corresponding author.

ETHICS STATEMENT

The animal study was reviewed and approved by Ethic committee of animal experiment, Dijon, aggregation number 105.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

AT, CM, AM and PG contributed to the study design. RC performed the research. RC and CM conducted the statistical analysis and interpretation. RC, CM and AT prepared the manuscript. All authors contributed to the critical revision of the manuscript.

FUNDING

The authors thanks Hayat Banoujaafar for their technical support and the Foundation of Medical Research for their financial support (file number: PBR202006012208).

SUPPLEMENTARY MATERIAL

The Supplementary Material for this article can be found online at: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fphys.2022.811118/full#supplementary-material>

REFERENCES

- Ando, S., Takagi, Y., Watanabe, H., Mochizuki, K., Sudo, M., Fujibayashi, M., et al. (2021). Effects of Electrical Muscle Stimulation on Cerebral Blood Flow. *BMC Neurosci.* 22, 67. doi:10.1186/s12868-021-00670-z
- Bandres, J., Yao, L., Nemoto, E. M., Yonas, H., and Darby, J. (1992). Effects of Dobutamine and Dopamine on Whole Brain Blood Flow and Metabolism in Unanesthetized Monkeys. *J. Neurosurg. Anesthesiol.* 4, 250–256. doi:10.1097/00008506-199210000-00004
- Banoujaafar, H., Van Hoecke, J., Mossiat, C. M., and Marie, C. (2014). Brain BDNF Levels Elevation Induced by Physical Training Is Reduced after Unilateral Common Carotid Artery Occlusion in Rats. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 34, 1681–1687. doi:10.1038/jcbfm.2014.133
- Banoujaafar, H., Monnier, A., Pernet, N., Quirié, A., Garnier, P., Prigent-Tessier, A., et al. (2016). Brain BDNF Levels Are Dependent on Cerebrovascular Endothelium-Derived Nitric Oxide. *Eur. J. Neurosci.* 44, 2226–2235. doi:10.1111/ejn.13301
- Castle-Kirschbaum, M., Parkin, W. G., Goldschlager, T., and Lewis, P. M. (2021). Cardiac Output and Cerebral Blood Flow: A Systematic Review of Cardio-
Cerebral Coupling. *J. Neurosurg. Anesthesiol.* Publish Ahead of Print. doi:10.1097/ANA.0000000000000768
- Cefis, M., Prigent-Tessier, A., Quirié, A., Pernet, N., Marie, C., and Garnier, P. (2019). The Effect of Exercise on Memory and BDNF Signaling Is Dependent on Intensity. *Brain Struct. Funct.* 224, 1975–1985. doi:10.1007/s00429-019-01889-7
- Chen, H., Zhang, S. M., Schwarzschild, M. A., Hernan, M. A., and Ascherio, A. (2005). Physical Activity and the Risk of Parkinson Disease. *Neurology* 64, 664–669. doi:10.1212/01.WNL.0000151960.28687.93
- Chipchase, L. S., Schabrun, S. M., and Hodges, P. W. (2011). Peripheral Electrical Stimulation to Induce Cortical Plasticity: a Systematic Review of Stimulus Parameters. *Clin. Neurophysiol.* 122, 456–463. doi:10.1016/j.clinph.2010.07.025
- Crayton, S. C., Aung-Din, R., Fixler, D. E., and Mitchell, J. H. (1979). Distribution of Cardiac Output during Induced Isometric Exercise in Dogs. *Am. J. Physiol.-Heart Circul. Physiol.* 236, H218–H224. doi:10.1152/ajpheart.1979.236.2.H218
- Dalise, S., Cavalli, L., Ghuman, H., Wahlberg, B., Gerwig, M., Chisari, C., et al. (2017). Biological Effects of Dosing Aerobic Exercise and Neuromuscular Electrical Stimulation in Rats. *Sci. Rep.* 7, 10830. doi:10.1038/s41598-017-11260-7

- De Ley, G., Nshimyumuremyi, J. B., and Leusen, I. (1985). Hemispheric Blood Flow in the Rat after Unilateral Common Carotid Occlusion: Evolution with Time. *Stroke* 16, 69–73. doi:10.1161/01.str.16.1.69
- Dimmeler, S., Fleming, I., Fisslthaler, B., Hermann, C., Busse, R., and Zeiher, A. M. (1999). Activation of Nitric Oxide Synthase in Endothelial Cells by Akt-Dependent Phosphorylation. *Nature* 399, 601–605. doi:10.1038/21224
- Duchateau, J., and Hainaut, K. (1988). Training Effects of Sub-maximal Electrostimulation in a Human Muscle. *Med. Sci. Sports Exerc.* 20, 99–104. doi:10.1249/00005768-198802000-00015
- Erickson, K. I., Miller, D. L., and Roecklein, K. A. (2012). The Aging Hippocampus: Interactions between Exercise, Depression, and BDNF. *Neuroscientist* 18, 82–97. doi:10.1177/1073858410397054
- Fisher, J. P., Young, C. N., and Fadel, P. J. (2015). Autonomic Adjustments to Exercise in Humans. *Compr. Physiol.* 5, 475–512. doi:10.1002/cphy.c140022
- Gardner, J. C., Dvoretzky, S. V., Yang, Y., Venkataraman, S., Lange, D. A., Li, S., et al. (2020). Electrically Stimulated Hind Limb Muscle Contractions Increase Adult Hippocampal Astroglialgenesis but Not Neurogenesis or Behavioral Performance in Male C57BL/6J Mice. *Sci. Rep.* 10, 19319. doi:10.1038/s41598-020-76356-z
- Hopper, R. A., and Garthwaite, J. (2006). Tonic and Phasic Nitric Oxide Signals in Hippocampal Long-Term Potentiation. *J. Neurosci.* 26, 11513–11521. doi:10.1523/JNEUROSCI.2259-06.2006
- Hotta, H., Suzuki, H., Inoue, T., and Stewart, M. (2020). Involvement of the Basal Nucleus of Meynert on Regional Cerebral Cortical Vasodilation Associated with Masticatory Muscle Activity in Rats. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 40, 2416–2428. doi:10.1177/0271678X19895244
- Hummelsheim, H., and Wiesendanger, M. (1985). Is the Hindlimb Representation of the Rat's Cortex a 'sensorimotor Amalgam'? *Brain Res.* 346, 75–81. doi:10.1016/0006-8993(85)91096-0
- Ishide, T., Pearce, W. J., and Ally, A. (2002). Cardiovascular Responses during Stimulation of Hindlimb Skeletal Muscle Nerves in Anaesthetized Rats. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* 29, 689–695. doi:10.1046/j.1440-1681.2002.03719.x
- Ke, Z., Yip, S. P., Li, L., Zheng, X.-X., and Tong, K.-Y. (2011). The Effects of Voluntary, Involuntary, and Forced Exercises on Brain-Derived Neurotrophic Factor and Motor Function Recovery: a Rat Brain Ischemia Model. *PLoS One* 6, e16643. doi:10.1371/journal.pone.0016643
- Landgren, S., and Silfvenius, H. (1969). Projection to Cerebral Cortex of Group I Muscle Afferents from the Cat's Hind Limb. *J. Physiol.* 200, 353–372. doi:10.1113/jphysiol.1969.sp008698
- Lu, Y., Christian, K., and Lu, B. (2008). BDNF: a Key Regulator for Protein Synthesis-dependent LTP and Long-Term Memory? *Neurobiol. Learn. Mem.* 89, 312–323. doi:10.1016/j.nlm.2007.08.018
- Maddocks, M., Nolan, C. M., Man, W. D.-C., Polkey, M. I., Hart, N., Gao, W., et al. (2016). Neuromuscular Electrical Stimulation to Improve Exercise Capacity in Patients with Severe COPD: a Randomised Double-Blind, Placebo-Controlled Trial. *Lancet Respir. Med.* 4, 27–36. doi:10.1016/S2213-2600(15)00503-2
- Meng, L., Hou, W., Chui, J., Han, R., and Gelb, A. W. (2015). Cardiac Output and Cerebral Blood Flow: The Integrated Regulation of Brain Perfusion in Adult Humans. *Anesthesiology* 123, 1198–1208. doi:10.1097/ALN.0000000000000872
- Nguyen, P. T., Holschneider, D. P., Maarek, J.-M. I., Yang, J., and Mandelkern, M. A. (2004). Statistical Parametric Mapping Applied to an Autoradiographic Study of Cerebral Activation during Treadmill Walking in Rats. *Neuroimage* 23, 252–259. doi:10.1016/j.neuroimage.2004.05.014
- Nishijima, T., Okamoto, M., Matsui, T., Kita, I., and Soya, H. (2012). Hippocampal Functional Hyperemia Mediated by NMDA Receptor/NO Signaling in Rats during Mild Exercise. *J. Appl. Physiol.* (1985) 112, 197–203. doi:10.1152/jappphysiol.00763.2011
- Ogoh, S., Morales, G., Washio, T., Sarma, S., Hieda, M., Romero, S. A., et al. (2017). Effect of Increases in Cardiac Contractility on Cerebral Blood Flow in Humans. *Am. J. Physiol.-Heart Circul. Physiol.* 313, H1155–H1161. doi:10.1152/ajpheart.00287.2017
- Pedard, M., Cefis, M., Ennequin, G., Quirié, A., Garnier, P., Prigent-Tessier, A., et al. (2019). Brain-derived Neurotrophic Factor Pathway after Downhill and Uphill Training in Rats. *Med. Sci. Sports Exerc.* 51, 27–34. doi:10.1249/MSS.0000000000001771
- Sanchis-Gomar, F., Lopez-Lopez, S., Romero-Morales, C., Maffulli, N., Lippi, G., and Pareja-Galeano, H. (2019). Neuromuscular Electrical Stimulation: A New Therapeutic Option for Chronic Diseases Based on Contraction-Induced Myokine Secretion. *Front. Physiol.* 10, 1463. doi:10.3389/fphys.2019.01463
- Sato, A., Sato, Y., and Uchida, S. (2001). Regulation of Regional Cerebral Blood Flow by Cholinergic Fibers Originating in the Basal Forebrain. *Int. J. Dev. Neurosci.* 19, 327–337. doi:10.1016/s0736-5748(01)00017-x
- Scherder, E., Bouma, A., and Steen, L. (1995). Effects of Simultaneously Applied Short-Term Transcutaneous Electrical Nerve Stimulation and Tactile Stimulation on Memory and Affective Behaviour of Patients with Probable Alzheimer's Disease. *Behav. Neurol.* 8, 3–13. doi:10.1155/1995/825651
- Seifert, T., Rasmussen, P., Secher, N. H., and Nielsen, H. B. (2009). Cerebral Oxygenation Decreases during Exercise in Humans with Beta-Adrenergic Blockade. *Acta Physiol. (Oxf)* 196, 295–302. doi:10.1111/j.1748-1716.2008.01946.x
- Smith, K. J., and Ainslie, P. N. (2017). Regulation of Cerebral Blood Flow and Metabolism during Exercise. *Exp. Physiol.* 102, 1356–1371. doi:10.1113/EP086249
- Suzuki, C., Kosugi, M., and Magata, Y. (2021). Conscious Rat PET Imaging with Soft Immobilization for Quantitation of Brain Functions: Comprehensive Assessment of Anesthesia Effects on Cerebral Blood Flow and Metabolism. *EJNMMI Res.* 11, 46. doi:10.1186/s13550-021-00787-6
- Twist, D. J., Culpepper-Morgan, J. A., Ragnarsson, K. T., Petrillo, C. R., and Kreek, M. J. (1992). Neuroendocrine Changes during Functional Electrical Stimulation. *Am. J. Phys. Med. Rehabil.* 71, 156–163. doi:10.1097/00002060-199206000-00006
- Vaynman, S., Ying, Z., and Gomez-Pinilla, F. (2004). Hippocampal BDNF Mediates the Efficacy of Exercise on Synaptic Plasticity and Cognition. *Eur. J. Neurosci.* 20, 2580–2590. doi:10.1111/j.1460-9568.2004.03720.x
- Wegrzyk, J., Ranjeva, J.-P., Fouré, A., Kavounoudias, A., Vilmen, C., Mattei, J.-P., et al. (2017). Specific Brain Activation Patterns Associated with Two Neuromuscular Electrical Stimulation Protocols. *Sci. Rep.* 7, 2742. doi:10.1038/s41598-017-03188-9
- Wiesendanger, M., and Miles, T. S. (1982). Ascending Pathway of Low-Threshold Muscle Afferents to the Cerebral Cortex and its Possible Role in Motor Control. *Physiol. Rev.* 62, 1234–1270. doi:10.1152/physrev.1982.62.4.1234
- Williamson, J. W., Fadel, P. J., and Mitchell, J. H. (2006). New Insights into central Cardiovascular Control during Exercise in Humans: a central Command Update. *Exp. Physiol.* 91, 51–58. doi:10.1113/expphysiol.2005.032037
- Willie, C. K., Tzeng, Y.-C., Fisher, J. A., and Ainslie, P. N. (2014). Integrative Regulation of Human Brain Blood Flow. *J. Physiol.* 592, 841–859. doi:10.1113/jphysiol.2013.268953

Conflict of Interest: The authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.

Publisher's Note: All claims expressed in this article are solely those of the authors and do not necessarily represent those of their affiliated organizations or those of the publisher, the editors, and the reviewers. Any product that may be evaluated in this article, or claim that may be made by its manufacturer, is not guaranteed or endorsed by the publisher.

Copyright © 2022 Chaney, Garnier, Quirié, Martin, Prigent-Tessier and Marie. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (CC BY). The use, distribution or reproduction in other forums is permitted, provided the original author(s) and the copyright owner(s) are credited and that the original publication in this journal is cited, in accordance with accepted academic practice. No use, distribution or reproduction is permitted which does not comply with these terms.

ÉTUDE DES EFFETS CHRONIQUES DE LA STIMULATION DES RACINES NERVEUSES LOMBAIRES SUR L'HIPPOCAMPE

Rémi Chaney, Alexandre Méloux, Alain Martin, Christine Marie, Philippe Garnier, Anne Prigent-Tessier

Introduction. Nos travaux antérieurs ont étudié l'impact aigu d'une stimulation d'une large masse musculaire sur le DSC. Cependant, les effets chroniques de cette stimulation n'ont pas été évalués sur le BDNF et la libération de myokines telles que l'irisine.

Méthodes. Des rats mâles Wistar âgés de 8 semaines ont été utilisés dans cette étude. La stimulation des racines nerveuses (STIM) a été réalisée sous anesthésie à l'isoflurane, pendant 30 min par jour, et ce, durant 7 jours consécutifs. L'intégrité du tissu musculaire a été évaluée par des colorations H&E, ainsi que par l'étude de l'expression de la caspase 3, évaluée par western blot dans le muscle soléaire prélevé 24 h après la fin du protocole. Les expressions de BDNF, de son récepteur activé TrkB, des voies de signalisation en aval et des protéines synaptiques, ainsi que les marqueurs tels que la caspase 3, BCL-xL et le CytC, ont été mesurées dans l'hippocampe des rats par western blot. Enfin, les taux circulants d'irisine ont été quantifiés par ELISA, tandis que l'expression tissulaire de FNDC5/Irisine a été évaluée par western blot.

Résultats. Le protocole chronique de STIM a entraîné des lésions musculaires significatives, qui ont été observées à la fois sur des coupes colorées à l'H&E et par l'augmentation de l'expression de la caspase-3 dans le muscle soléaire. Cependant, ce protocole n'a pas provoqué de variations significatives de l'expression de BDNF dans l'hippocampe. Au contraire, il a conduit à une diminution de l'activation du récepteur TrkB, de la signalisation d'ERK et de l'expression des protéines synaptiques dans cette région cérébrale. Les marqueurs d'apoptose sont demeurés inchangés dans l'hippocampe. En dépit d'une augmentation de l'expression de FNDC5/Irisine au niveau musculaire, aucune variation significative des taux circulants d'irisine n'a été observée. De plus, l'expression de FNDC5/Irisine dans l'hippocampe ainsi que l'activation de FAK sont restées inchangées à la suite du protocole de STIM.

Conclusion. Nos résultats suggèrent que l'application chronique d'une stimulation des racines nerveuses conduisant à d'importantes lésions musculaires peut avoir des implications néfastes pour la santé cérébrale. De futures recherches sont nécessaires pour approfondir notre compréhension de la relation entre muscles lésés et santé cérébrale. De plus, il convient de noter que l'augmentation de l'expression de FNDC5/Irisine dans les muscles ne se traduit pas nécessairement par une augmentation des taux circulants d'irisine.

Effet du protocole de STIM sur l'intégrité musculaire.

Étant donné que les protocoles d'EMS peuvent potentiellement entraîner des lésions musculaires significatives qui pourraient restreindre leur utilisation, nous avons initialement cherché à évaluer les effets du protocole de stimulation sur l'intégrité physique et musculaire des animaux. Bien que nous n'ayons pas observé de variations de poids corporel (**Figure 32B**) et de poids du muscle soléaire (**Figure 32C**) entre les groupes d'animaux SHAM et ceux soumis à la stimulation (STIM), les analyses des colorations H&E

effectuées sur les muscles soléaires ont révélé des altérations notables chez les rats STIM. En effet, nous avons identifié plusieurs fibres musculaires en état de nécrose, une infiltration de cellules inflammatoires ainsi que plusieurs fibres qui présentaient un cytoplasme pâle ou blanchâtre (**Figure 32C**). Ces caractéristiques histologiques sont fréquemment retrouvées dans les muscles dystrophiques. Dans ce contexte, nous avons analysé l'expression de la caspase 3, une protéase synthétisée sous forme inactive qui, une fois clivée, déclenche les processus d'apoptose. Il est pertinent de noter que l'activité de la caspase 3 est

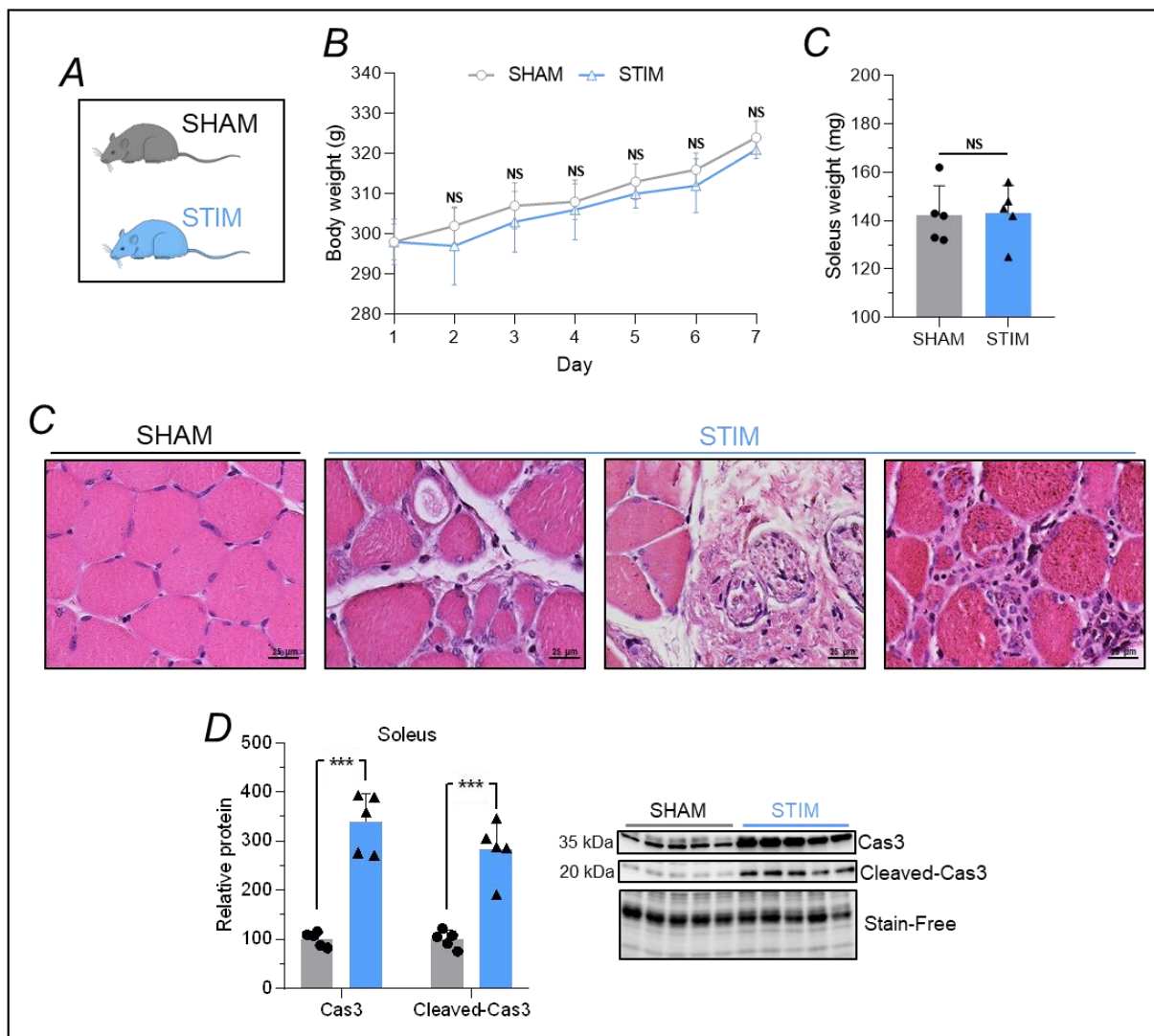


Figure 32 : Effet de la stimulation des racines nerveuses lombaires sur l'intégrité physique et musculaire

A. Code couleur utilisé pour la présente étude. **B.** Poids corporels des animaux relevés quotidiennement durant les 7 jours du protocole. **C.** Poids des muscles soléaires relevés au moment du sacrifice des animaux. **D.** Expression de la caspase 3 (Cas3) inactive et clivée dans les muscles soléaires 24 h après la stimulation chronique des racines nerveuses lombaires.

significativement augmentée dans les muscles atteints de dystrophie (Sandri *et al*, 2001). Nos résultats montrent que le protocole de STIM a induit une nette augmentation de l'expression (+237 %, test-t, $p < 0.0001$, **Figure 32D**) et de l'activation

(+283 %, test-t, $p < 0.0001$, **Figure 32D**) de la caspase 3. Pris ensemble, ces données montrent que le protocole de STIM a induit d'importantes lésions musculaires.

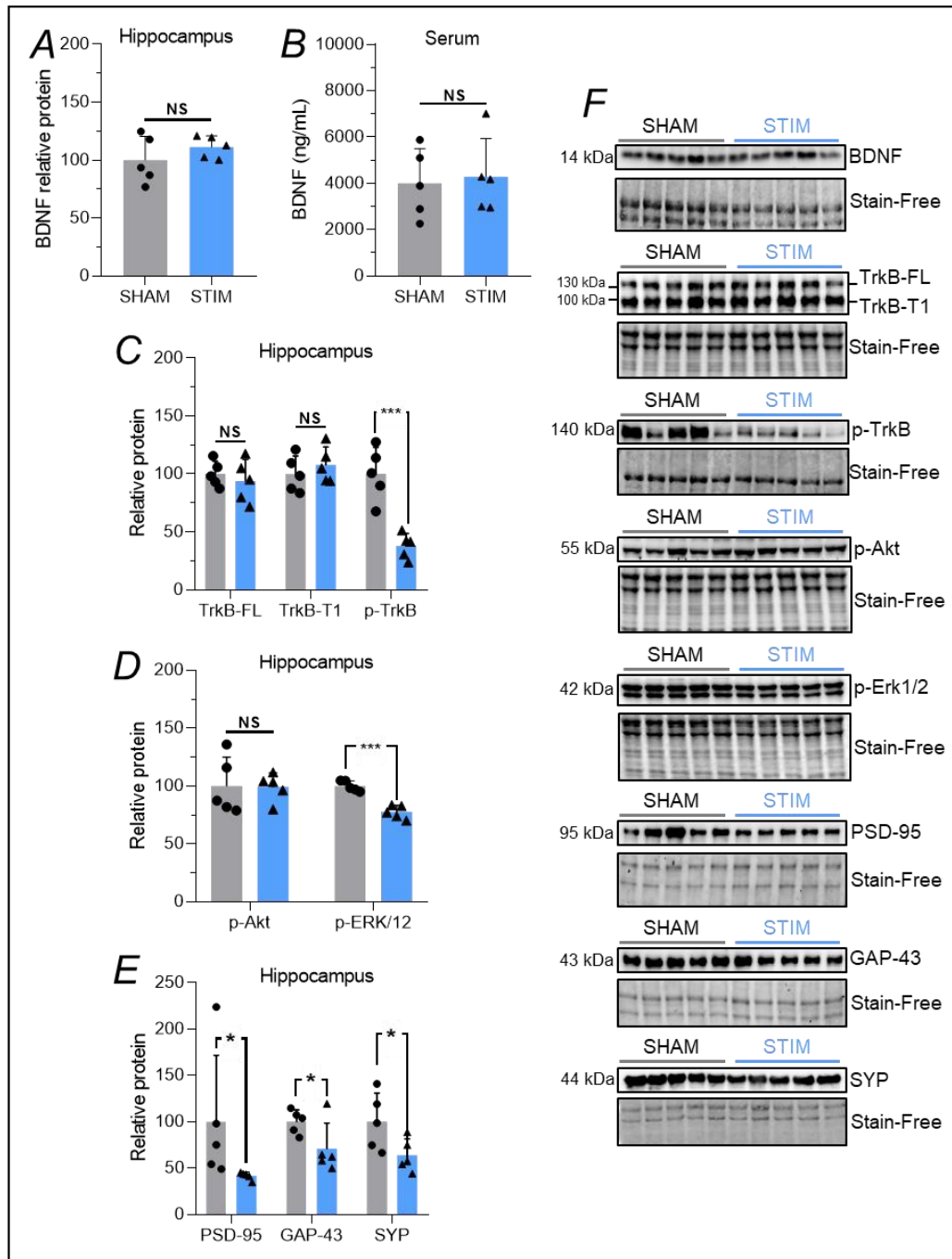


Figure 33 : Effet de la stimulation des racines nerveuses lombaires sur la signalisation du BDNF dans l'hippocampe

A. Expression du BDNF dans l'hippocampe 24 h après la stimulation chronique des racines nerveuses lombaires. **B.** Taux circulants de BDNF 24 h après la stimulation chronique des racines nerveuses lombaires. **C.** Expression du récepteur TrkB-FL, TrkB-T1 et de la forme active pTrkB dans l'hippocampe 24 h après la stimulation chronique des racines nerveuses lombaires. **D.** Expression des formes actives d'Akt et d'ERK dans l'hippocampe 24 h après la stimulation chronique des racines nerveuses lombaires. **E.** Expression des protéines synaptiques PSD-95, GAP-43 et SYP dans l'hippocampe 24 h après la stimulation chronique des racines nerveuses lombaires. **F.** Immunoblots correspondants.

Effet du protocole de STIM sur la signalisation du BDNF et les protéines synaptiques.

Après avoir caractérisé l'impact chronique de notre protocole de STIM sur l'intégrité physique et musculaire des animaux, nous avons évalué l'effet de ce protocole sur la signalisation du BDNF et l'expression des protéines synaptiques par western blot dans l'hippocampe. Le BDNF a une forte affinité pour le récepteur TrkB et sa liaison à ce récepteur peut conduire à l'activation d'Akt et d'ERK favorisant la survie neuronale et la plasticité synaptique. Nos résultats ne révèlent aucun impact du protocole de STIM sur l'expression hippocampique du BDNF (**Figure 33A**) ainsi que sur les taux circulants de BDNF (**Figure 33B**). De façon étonnante, nous avons observé une importante réduction de la phosphorylation de TrkB (-62 %, test-t, $p < 0.0001$, **Figure 33C**) sans aucun changement de l'expression de TrkB-FL et de TrkB-T1 (**Figure 33C**). Bien que l'activation d'Akt fût inchangée dans

l'hippocampe des rats STIM par rapport aux rats SHAM (**Figure 33D**), nos résultats mettent en évidence une réduction de l'activation d'ERK (-23 %, test-t, $p < 0.0001$, **Figure 33D**). Conformément aux rôles d'ERK dans la plasticité synaptique, nous avons observé une diminution de l'expression de plusieurs protéines synaptiques telles que PSD-95 (-59 %, test-t, $p = 0.0454$, **Figure 33E**), GAP-43 (-29 %, test-t, $p = 0.0460$, **Figure 33E**) et SYN (-37 %, $p = 0.0426$, test-t, **Figure 33E**). Ces résultats indiquent un effet délétère du protocole de STIM sur la plasticité synaptique.

Effet du protocole de STIM sur les marqueurs d'apoptose et la réactivité astrocytaire dans l'hippocampe.

Le couple BDNF/TrkB joue un rôle crucial dans la survie neuronale en activant les voies de signalisation Akt et ERK. Sachant que nos résultats montrent une réduction de l'activité d'ERK, nous avons regardé

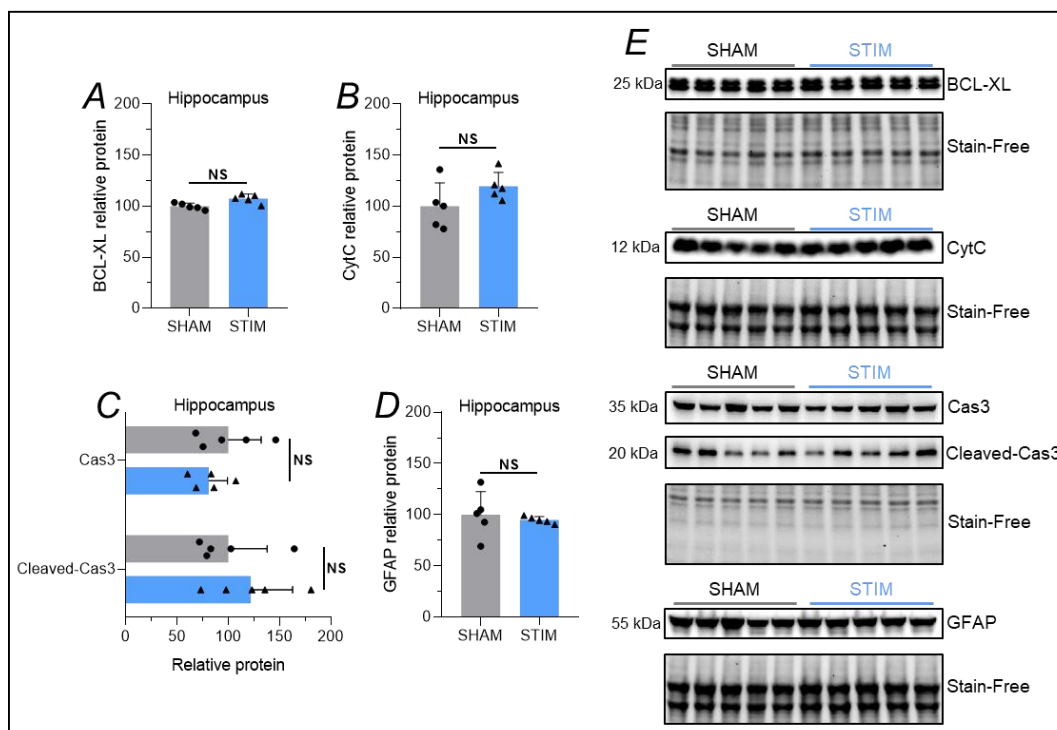


Figure 34 : Effet de la stimulation des racines nerveuses lombaires sur les marqueurs d'apoptose dans l'hippocampe

A. Expression de BCL-XL dans l'hippocampe 24 h après la stimulation chronique des racines nerveuses lombaires. **B.** Expression du CytC dans l'hippocampe 24 h après la stimulation chronique des racines nerveuses lombaires. **C.** Expression de la caspase 3 inactive et clivée dans l'hippocampe 24 h après la stimulation chronique des racines nerveuses lombaires. **D.** Expression de GFAP dans l'hippocampe 24 h après la stimulation chronique des racines nerveuses lombaires.

l'incidence de ce protocole de STIM sur l'expression hippocampique de diverses protéines impliquées dans le processus apoptotiques, notamment BCL-XL, la caspase 3 et le cytochrome C (CytC). Nos résultats révèlent que le protocole de STIM n'a pas eu d'effet sur l'expression et l'activation de ces marqueurs (**Figure 34A-C**). Nous nous sommes également intéressés à l'expression de GFAP, un marqueur de la réactivité astrocytaire. Là encore, nous n'avons pas observé de changements significatifs dans l'expression de GFAP (**Figure 34D**). L'activation et la prolifération microgliale seront prochainement déterminées par l'étude de l'expression de marqueurs spécifiques, tels que IBA1, par la technique de western blot.

Effet du protocole de STIM sur le système FNDC5/Irisine.

Enfin, nous avons exploré l'impact du protocole de STIM sur le système FNDC5/Irisine. Le protocole de STIM a induit une nette augmentation de l'expression de FNDC5/Irisine dans le muscle soléaire (+260 %, test-t, $p=0.0015$, **Figure 35A**), sans toutefois entraîner de changements significatifs des taux circulants d'irisine mesurés 24 h après le protocole de STIM (**Figure 35B**). De plus, aucune variation significative de l'expression de FNDC5/Irisine n'a été observée dans l'hippocampe entre les groupes d'animaux SHAM et STIM (**Figure 35C**). Par ailleurs, il a été montré que l'irisine pouvait se lier au complexe intégrines $\alpha\beta5$, induisant une signalisation dépendante de FAK (**Figure 35D**). En accord avec nos résultats précédents ne montrant pas de changement de FNDC5/Irisine dans l'hippocampe, le protocole de STIM n'a pas engendré de variation significative de l'activation de FAK (pFAK) dans l'hippocampe (**Figure 35E**).

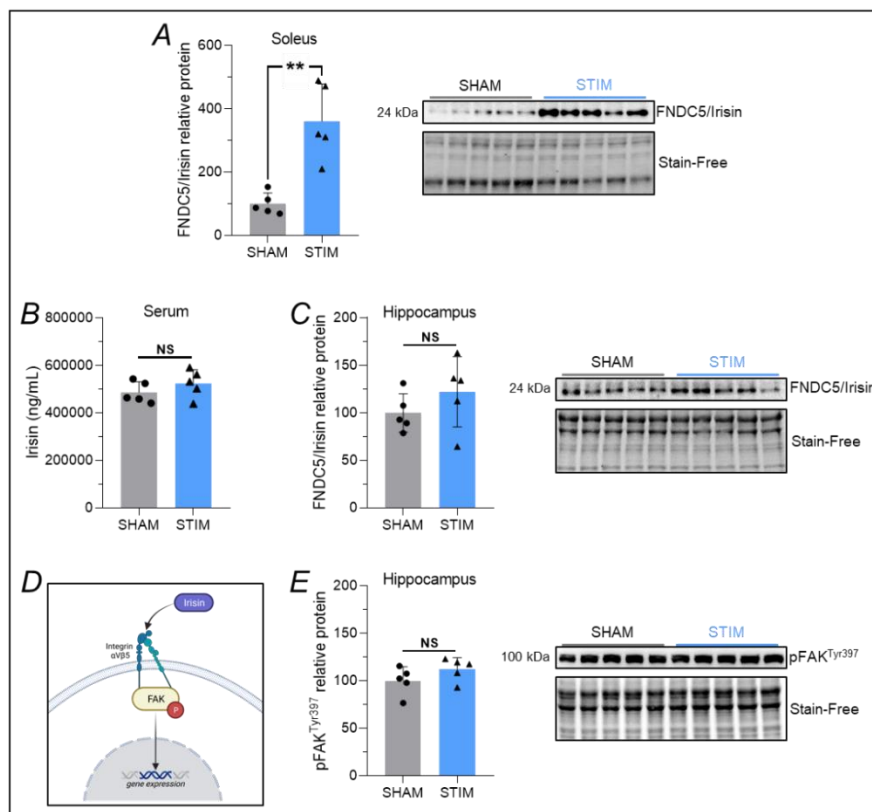


Figure 35 : Effet de la stimulation des racines nerveuses lombaires sur le système FNDC5/Irisine

A. Expression de FNDC5/Irisine dans le soléaire 24 h après la stimulation chronique des racines nerveuses lombaires. **B.** Taux circulants d'irisine 24 h après la stimulation chronique des racines nerveuses lombaires. **C.** Expression de FNDC5/Irisine dans l'hippocampe 24 h après la stimulation chronique des racines nerveuses lombaires. **D.** Illustration schématique du mécanisme de signalisation de l'irisine via l'intégrine $\alpha\beta5$. **E.** Expression de pFAK dans l'hippocampe 24 h après la stimulation chronique des racines nerveuses lombaires.

ÉTUDE DE L'EFFET AIGU DE LA STIMULATION DU QUADRICEPS SUR LA FONCTION COGNITIVE CHEZ L'HOMME ET LE BDNF CHEZ LE RAT

Rémi Chaney, Clémence Léger, Julien Wirtz, Alexandre Méloux, Estelle Fontanier, Aurore Quirié, Alain Martin, Anne Prigent-Tessier, Garnier Philippe

Introduction. Bien que l'EX aigu ait démontré de nombreux effets positifs sur la fonction exécutive, la mémoire et l'humeur, de nombreuses personnes ne peuvent pas suivre un programme d'EX actif. Par conséquent, nous avons entrepris d'évaluer les effets de l'EMS aiguë sur ces paramètres afin de déterminer si elle pourrait constituer une alternative viable à l'EX. Nos recherches antérieures ont démontré que des protocoles de STIM induisant des lésions musculaires substantielles avaient des effets négatifs sur la plasticité synaptique. Par conséquent, dans le cadre de la présente étude, nous avons adapté notre protocole d'EMS en réduisant la masse musculaire sollicitée, l'intensité de la stimulation, le rapport ON/OFF ainsi qu'en ajoutant une session de familiarisation à l'EMS. Ces modifications visaient à minimiser les dommages musculaires potentiels induits par l'EMS.

Méthodes. L'EMS a été appliquée au muscle quadriceps avec une fréquence de 100 Hz, une largeur d'impulsion de 0,4 ms et un rapport ON/OFF de 7 s / 14 s, à la fois chez le rat et chez l'Homme. L'intensité a été progressivement augmentée jusqu'à atteindre 20 mA chez le rat et le seuil maximal supportable chez l'Homme. Une première session de familiarisation à l'EMS a été suivie, 7 jours plus tard, d'une seconde session d'EMS. Chez l'Homme, la cognition et l'humeur ont été évaluées à l'aide de la tâche de Stroop, de la figure de Rey, d'une liste de 15 mots, ainsi que du questionnaire POMS. Chez le rat, le cortex préfrontal, l'hippocampe et le quadriceps ont été prélevés 4 h ou 24 h après l'EMS en vue de réaliser des analyses histologiques et biochimiques par western blot et RT-qPCR. Les taux circulants d'irisine et de BDNF ont été mesurés par dosage ELISA. Enfin, la lactatémie a été mesurée chez l'Homme et le rat immédiatement après la fin de la séance d'EMS à l'aide de bandelettes réactives.

Résultats. Chez l'Homme, l'EMS a amélioré les performances à la tâche de Stroop à la fois dans la condition congruente et incongruente sans aucun effet de l'EMS sur les tâches mnésiques. Cependant, l'EMS a entraîné une réduction des scores d'anxiété, sans affecter les autres aspects de l'humeur. Chez le rat, nous avons observé une augmentation de l'expression des ARNm de BDNF 4 h après l'EMS dans l'hippocampe, suivie d'une augmentation de l'expression protéique de BDNF dans cette même région 24 h après l'EMS. En revanche, aucune modification de l'expression de BDNF n'a été détectée dans le cortex préfrontal en réponse à l'EMS. De plus, le protocole d'EMS n'a eu aucun effet sur l'expression musculaire et les taux circulants de BDNF. Bien qu'une augmentation de l'expression musculaire de FNDC5/Irisine ait été observée, il n'y a eu ni changement des taux circulants d'irisine (0 h, 4 h et 24 h) ni variation de la signalisation de l'irisine (pFAK) dans l'hippocampe. Nous avons cependant constaté que l'EMS a augmenté l'expression de SIRT1 dans l'hippocampe, une enzyme dépendante du NAD⁺ qui peut être induite par le lactate. Il est important de noter que l'augmentation de l'expression de BDNF dans l'hippocampe chez le rat, ainsi que la réduction des scores d'anxiété chez l'Homme, étaient positivement corrélées à la lactatémie mesurée immédiatement après l'EMS.

Conclusion. L'EMS aiguë pourrait être une alternative à l'EX pour améliorer la fonction exécutive et l'humeur ainsi que les mécanismes neuroplastiques dépendants du BDNF. En dépit d'une augmentation de FNDC5/Irisine musculaire, nos résultats ne mettent pas en évidence l'implication de l'irisine circulante. En revanche, nos données suggèrent cependant l'implication du lactate dans le dialogue s'établissant entre le muscle squelettique et le cerveau.

Caractérisation du protocole d'EMS *in vivo* chez le rat.

Nous avons initialement entrepris de développer et caractériser un protocole d'EMS chez le rat. L'EMS est régulièrement appliquée au muscle quadriceps avec des hautes fréquences dans le but d'améliorer la force musculaire chez les humains. Ainsi, chez des rats préalablement anesthésiés à l'isoflurane, les pattes postérieures ont été rasées afin de positionner deux électrodes sur la peau en regard du muscle quadriceps (Figure 36A). Nous avons utilisé un courant électrique à haute fréquence (100 Hz) avec une durée de contraction de 7 s alternant avec une

période de repos de 14 s, le tout pendant un total de 30 min (Figure 36B). Après la procédure, les animaux ont été réveillés et remis dans leurs cages respectives. Il est intéressant de noter que le temps de réveil des animaux électro-stimulés était nettement réduit par rapport aux animaux SHAM (-224 s, t-test, $p < 0,0001$, Figure 36C). Pour familiariser les animaux avec le protocole expérimental et l'EMS, une première session de familiarisation à l'EMS a été réalisée 7 jours après leur arrivée au laboratoire. Par la suite, 7 jours plus tard, les animaux ont reçu une deuxième session d'EMS et ont été sacrifiés soit 4 ou 24 h après la séance (Figure 36D).

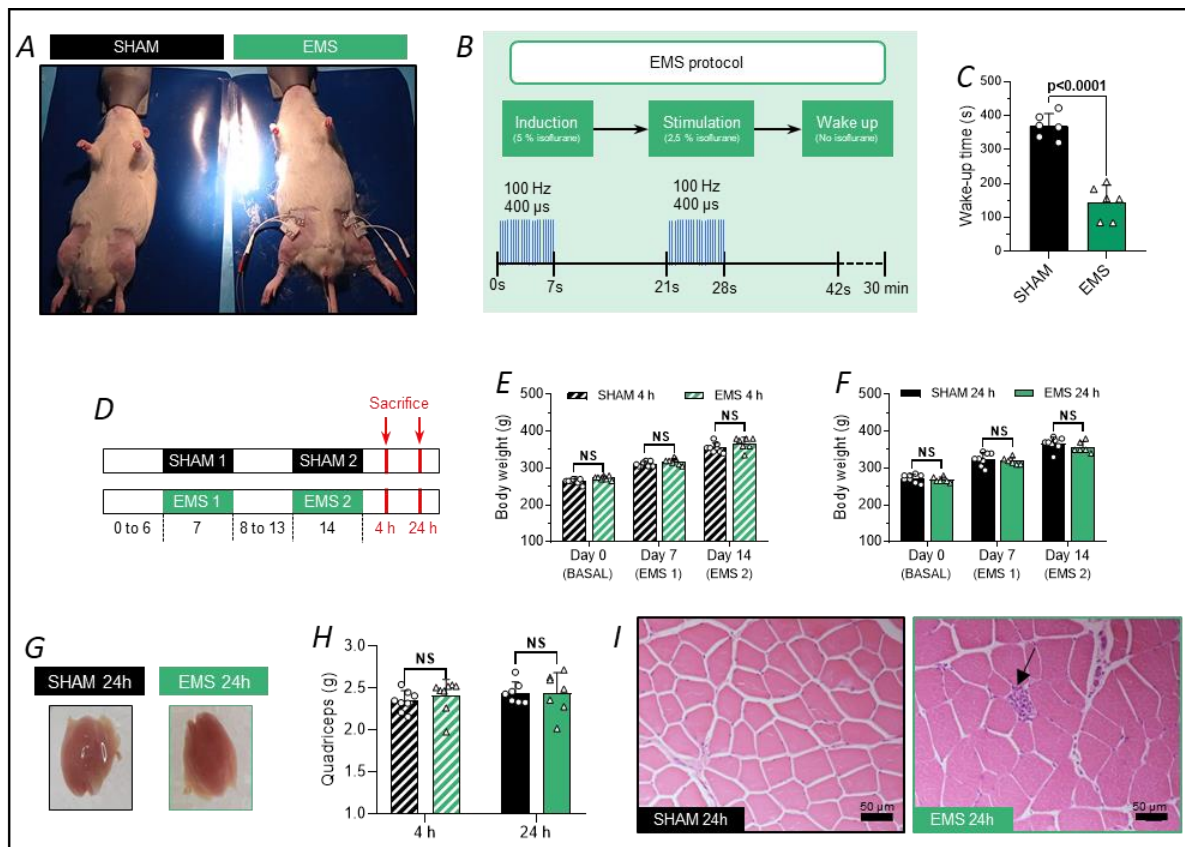


Figure 36 : Caractérisation du protocole d'EMS appliquée au quadriceps chez le rat

A. Illustration du positionnement des électrodes sur le muscle quadriceps des animaux. **B.** Illustration du protocole et des paramètres d'EMS sous anesthésie générale. **C.** Mesure de la durée de réveil des rats SHAM (barre noire) et EMS (barre verte) calculée entre le moment où l'animal est retiré du masque à isoflurane et le moment où il réalise ses premiers mouvements. **D.** Illustration du design expérimental utilisée dans cette étude. **E.** Poids corporel des rats SHAM (barre noire) et EMS (barre verte) sacrifiés 4 h (barre hachurée) après le protocole expérimental. **F.** Poids corporel des rats SHAM (barre noire) et EMS (barre verte) sacrifiés 24 h (barre pleine) après le protocole expérimental. **G.** Apparence visuelle des muscles quadriceps d'un rat SHAM et d'un rat EMS. **H.** Poids du muscle quadriceps des rats SHAM (barre noire) et EMS (barre verte) sacrifiés 4 h (barre hachurée) et 24 h (barre pleine) après le protocole expérimental. **I.** Photomicrographie de coloration H&E représentative de l'histologie des muscles quadriceps des animaux SHAM (noir) et EMS (vert) 24 h après le protocole expérimental. La flèche pointe une rare infiltration de cellules inflammatoires chez les animaux EMS. x20.

Nous avons contrôlé le poids corporel des animaux durant toute la procédure expérimentale et n'avons pas observé de différence significative entre les groupes SHAM et EMS à la fois pour les séries sacrifiées à 4 h (**Figure 36E**) et à 24 h (**Figure 36F**), ce qui suggère que notre protocole expérimental n'a pas induit de stress, n'a pas affecté la locomotion en cage, ni altéré l'apport alimentaire. De même, il n'y avait pas de différence de poids ou d'apparence visuelle du muscle quadriceps entre les deux groupes (**Figure 36G-H**). Après réalisation des colorations H&E des muscles quadriceps, nous avons observé une rare infiltration de cellules

inflammatoires, comme cela a déjà été décrit chez l'Homme à la suite d'un protocole d'EMS (**Figure 36I**).

Caractérisation du protocole d'EMS chez l'Homme.

Dans le but d'explorer la possibilité que les changements moléculaires constatés chez le rat puissent se traduire par des améliorations comportementales chez l'Homme, nous avons répliqué le même protocole d'EMS appliqué au muscle quadriceps (**Figure 37A**) auprès d'une cohorte de 40 sujets en bonne santé. Ces sujets ont été répartis de manière aléatoire

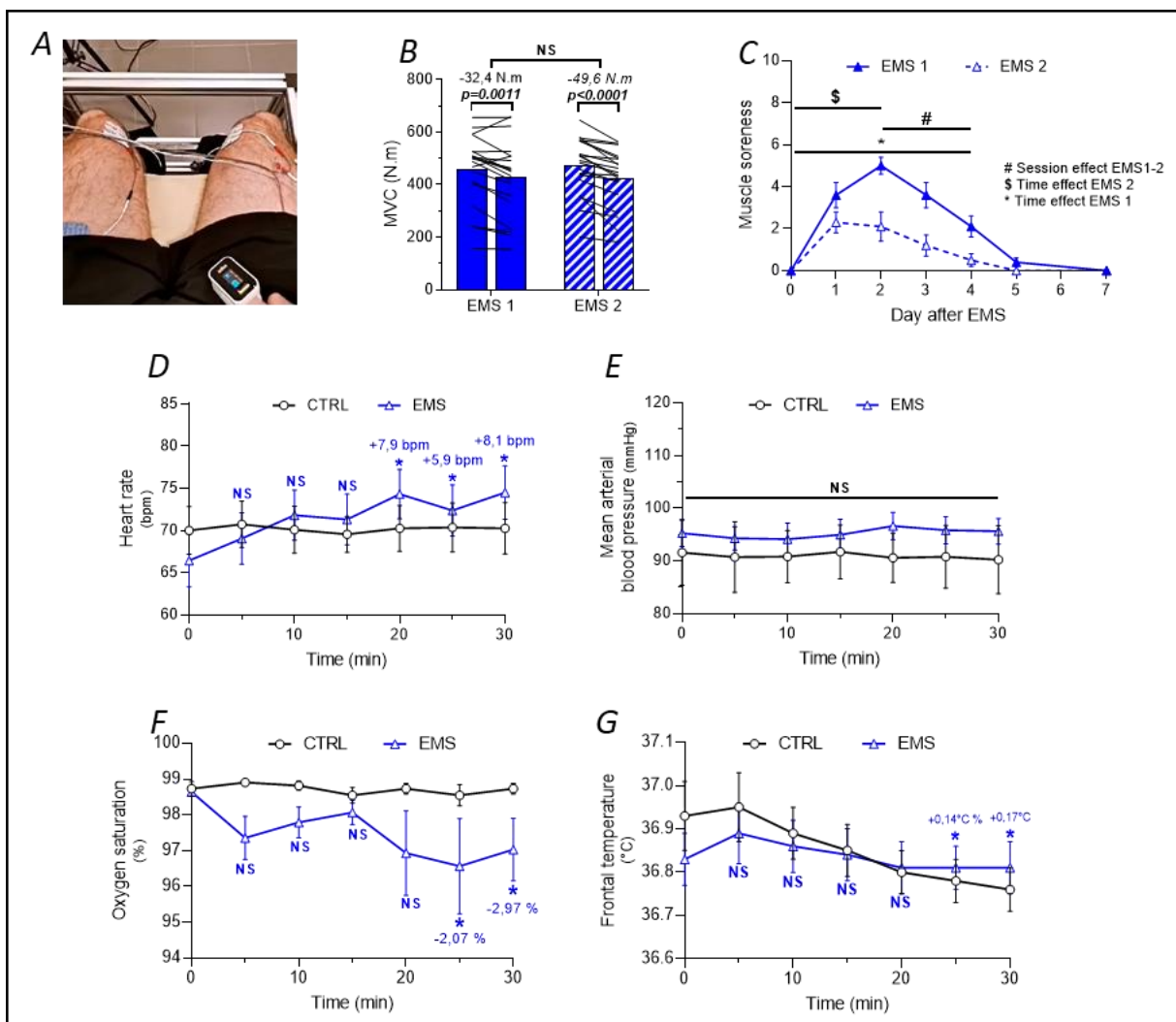


Figure 37 : Réponse physiologique induite par l'EMS chez l'Homme

A. Photographie du placement des électrodes et du positionnement des jambes durant le protocole d'EMS chez l'Homme. **B.** Force maximale volontaire avant et après la session d'EMS de familiarisation (EMS 1, barre pleine) et d'évaluation (EMS 2, barre hachée). **C.** Douleurs musculaires retardées induites par la session d'EMS 1 (trait plein) et d'EMS 2 (trait haché). **D-G.** Réponse de la FC, la PA, la SaO2 et la T° frontale lors de la situation contrôlée (trait noir) et de l'EMS (trait bleu). NS : non significatif. *,\$,# $p<0.05$.

en deux groupes : un groupe témoin (CTRL, n=20) et un groupe EMS (n=20). Le protocole d'EMS a eu pour effet une diminution de la force maximale volontaire, mesurée immédiatement après la fin de la session de familiarisation (EMS 1, -32,4 N.m, test-t, $p=0.0011$, **Figure 37B**), ainsi que lors de la session d'évaluation (EMS 2, -49,6 N.m, test-t, $p<0.0001$, **Figure 37B**). Il est important de noter que la perte de force maximale volontaire entre l'EMS 1 et l'EMS 2 n'est pas statistiquement différente. En outre, le protocole d'EMS a engendré des douleurs musculaires significatives lors de chaque session, mesurées à l'aide d'une échelle de douleur allant de 0 à 10 (ANOVA, facteur temps : $F(6, 168)=356.8$, $p<0.0001$, facteur session : $F(1, 168)=427.3$, $p<0.0001$, interaction : $F(6, 168)=54.02$, $p<0.0001$, **Figure 37C**). Plus précisément, le pic de douleur musculaire a été observé deux jours après l'EMS pour la session de familiarisation, tandis qu'il a été constaté un jour après l'EMS pour la deuxième session. En outre, bien que les douleurs musculaires soient présentes cinq jours après la séance d'EMS 1, elles ont disparu au bout de quatre jours après l'EMS 2. Finalement, il est à noter que les douleurs musculaires étaient moins prononcées lors de la session EMS 2 par rapport à la session EMS 1.

Tout au long du protocole d'EMS de 30 min, nous avons mesuré la FC, la PA, la SaO₂ et la T° (**Figure 37D-G**). Dans le groupe CTRL, aucune modification significative de la FC, de la PA et de la SaO₂ n'a été observée au cours des 30 min de l'expérience. Cependant, au cours des 10 dernières minutes de la session d'EMS, nous avons observé une augmentation significative de la FC de 5,9 bpm à 8,1 bpm par rapport aux valeurs basales (ANOVA, Facteur temps : $F(6, 266)=10.06$, $p<0.0001$, Facteur groupe : $F(1, 266)=12.57$, $p=0.0005$, Interaction : $F(6, 266)=9.802$, $p<0.0001$, **Figure 37D**), sans variation notable de la PA (**Figure 37E**) et une légère diminution de la SaO₂ allant de -0,57 % à -2,07 % (ANOVA, Facteur

temps : $F(6, 266)=16.13$, $p<0.0001$, Facteur groupe : $F(1, 266)=305.5$, $p<0.0001$, Interaction : $F(6, 266)=14.90$, $p<0.0001$, **Figure 37F**). En ce qui concerne la T°, le groupe EMS a maintenu une température stable tout au long de la session de 30 min, tandis que le groupe CTRL a présenté une diminution significative d'environ -0,15 °C (ANOVA, Facteur temps : $F(6, 266)=27.23$, $p<0.0001$, Facteur groupe : $F(1, 266)=4.575$, $p=0.0334$, Interaction : $F(6, 266)=7.221$, $p<0.0001$, **Figure 37G**).

Effet du protocole d'EMS sur l'expression cérébrale de BDNF chez le rat.

Par la suite, nous avons examiné l'impact du protocole d'EMS sur l'expression du BDNF dans le cortex préfrontal et l'hippocampe. Nous n'avons pas observé de changement de l'expression des ARNm de BDNF dans le cortex préfrontal 4 h après l'EMS, évaluée par RTqPCR (**Figure 38A**). Conformément à ces résultats, l'analyse par immunoblot n'a révélé aucun changement dans l'expression de la protéine BDNF dans le cortex préfrontal à 4 et 24 h après la séance d'EMS (**Figure 38B**). En revanche, nous avons trouvé une élévation significative des ARNm de BDNF dans l'hippocampe 4 h après l'EMS (+116 %, $p=0.0079$, test-t, **Figure 38C**). Pour confirmer que l'élévation des ARNm de BDNF est associée à une augmentation des taux protéiques de BDNF, nous avons réalisé des immunoblots. Les résultats ont montré que 24 h après la séance d'EMS, l'expression protéique de BDNF était significativement augmentée (+240 %, test-t $p<0.0001$, **Figure 38D**), sans aucun changement observé à 4 h.

Le BDNF joue un rôle crucial dans la physiologie synaptique en améliorant la transmission synaptique de base, en favorisant la potentialisation à long terme et en facilitant la synaptogenèse. Ainsi, nous nous sommes intéressés à l'expression de plusieurs protéines synaptiques,

notamment PSD-95, GAP-43 et SYN dans l'hippocampe des rats SHAM et EMS au temps 24 h, temps coïncidant avec l'élévation protéique de BDNF. Nous avons constaté une augmentation de l'expression hippocampique de PSD-95 (+27 %, test-t, $p=0.0414$) et de GAP-43 (+47 %, test-t, $p=0.0067$) sans modification de l'expression de SYP (**Figure 38E**).

Effet du protocole d'EMS sur la cognition et l'humeur chez l'Homme.

Pour évaluer les effets de l'EMS sur la fonction cognitive et l'humeur, chaque sujet a réalisé deux sessions au laboratoire entre 17:00 et 18:00. (**Figure 39A**). Lors de la première session, les participants ont complété un test cognitif (tâche de Stroop) et un questionnaire d'humeur (POMS) avant la session d'EMS dans le but de familiariser les sujets avec la procédure

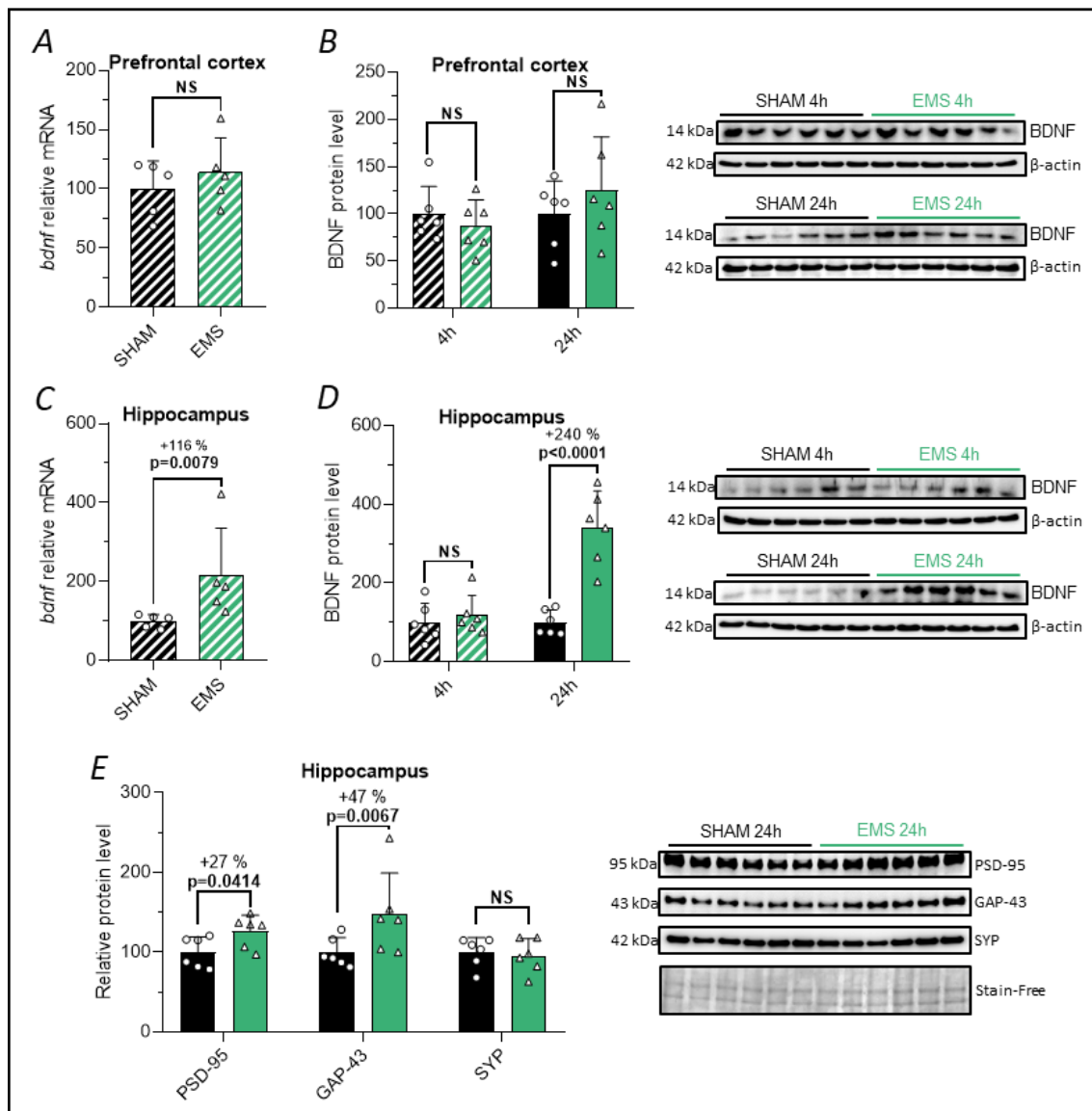


Figure 38 : Effet de l'EMS sur l'expression cérébrale de BDNF et des protéines synaptiques

A. Expression des ARNm de BDNF dans le cortex préfrontal 4 h après l'EMS. **B.** Expression protéique de BDNF dans le cortex préfrontal 4 h (barre hachurée) et 24 h (barre pleine) après l'EMS ainsi que les immunoblots correspondants. **C.** Expression des ARNm de BDNF dans l'hippocampe 4 h après l'EMS. **D.** Expression protéique de BDNF dans l'hippocampe 4 h (barre hachurée) et 24 h (barre pleine) après l'EMS ainsi que les immunoblots correspondants. **E.** Expression des protéines synaptiques PSD-95, GAP-43 et SYP dans l'hippocampe 24 h après l'EMS ainsi que les immunoblots correspondants.

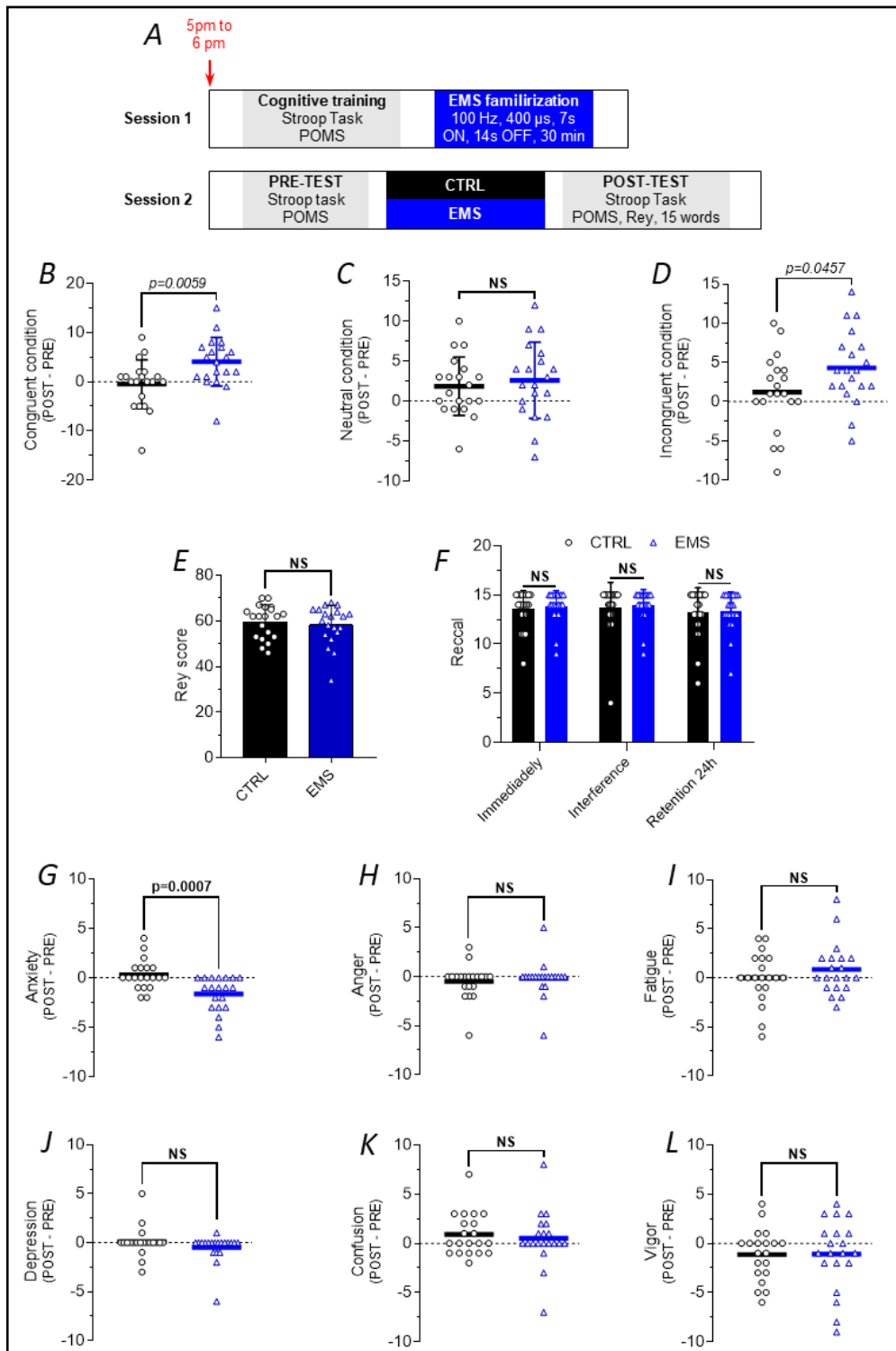


Figure 39 : Effet de l'EMS sur la cognition et l'humeur chez l'Homme

A. Illustration du design expérimental mis en place dans cette étude. **B-D.** Effet de l'EMS sur la tâche de Stroop dans les conditions congruente (B), neutre (C), et incongruente (D). Les valeurs indiquent le delta de performance entre avant (PRE) et après l'EMS (POST). **E.** Effet de l'EMS sur le score à la figure de Rey. **F.** Effet de l'EMS sur la capacité de rappel d'une liste de 15 mots immédiatement après l'apprentissage, après une liste d'interférence ou 24 h après l'EMS. **G-L.** Effet de l'EMS sur les scores d'anxiété (G), de colère (H), de fatigue (I), de dépression (J), de confusion (K) et de vigueur (L). Les valeurs indiquent le delta du score entre avant (PRE) et après l'EMS (POST). NS : non significatif.

d'EMS et le test cognitif. Après une période de 7 jours, les sujets ont subi un PRE-TEST

(Tâche de Stroop, POMS), suivi d'une session d'EMS, et conclu par un POST-

TEST (Tâche de Stroop, POMS, liste de 15 mots, figure de Rey).

Nous avons observé que l'EMS a entraîné des améliorations des performances à la tâche de Stroop tant dans la condition congruente (+4,55 mots, test-t, $p=0,0059$, **Figure 39B**) que dans la condition incongruente (+3,1 mots, test-t, $p=0,0457$, **Figure 39D**), ce qui n'a pas été observé dans le groupe témoin. Cependant, il n'y avait pas de différence significative entre les groupes EMS et CTRL dans la condition neutre (**Figure 39C**). Le nombre d'erreurs n'était pas différent entre les groupes (données non présentées). En ce qui concerne les tâches de mémoire, il n'y avait pas de changement dans la capacité à reproduire la figure de Rey (**Figure 39E**) ou à rappeler une liste de mots entre les deux groupes (**Figure 39F**).

Concernant le POMS, alors qu'il n'y avait aucun changement dans les scores d'anxiété observé dans le groupe témoin, une diminution de l'anxiété a été observée dans le groupe EMS (test-t, $p=0,0007$, **Figure 39G**). De manière intéressante, l'effet de l'EMS sur les scores d'anxiété a également été observée lors de la session de familiarisation (données non présentées). Quant aux autres états d'humeur tels que la dépression, l'hostilité, la confusion, la vigueur et la fatigue, aucune modification significative n'a été observée dans aucun des deux groupes (**Figure 39H-L**). Dans l'ensemble, ces résultats montrent que l'EMS aiguë a le potentiel d'améliorer la fonction exécutive et de réduire l'anxiété chez l'Homme.

Effet du protocole d'EMS sur les voies neuronale et hémodynamique chez le rat.

Après avoir observé que l'EMS induisait une élévation du BDNF spécifiquement dans l'hippocampe du rat ainsi que des améliorations comportementales chez l'Homme, nous avons cherché à mieux comprendre les mécanismes sous-jacents à ces effets. Pour cela, nous avons évalué

l'expression de c-fos et de p-eNOS comme marqueurs respectifs de la voie neuronale et de la voie hémodynamique dans l'hippocampe de rat SHAM et EMS. Cependant, nous n'avons pas trouvé de

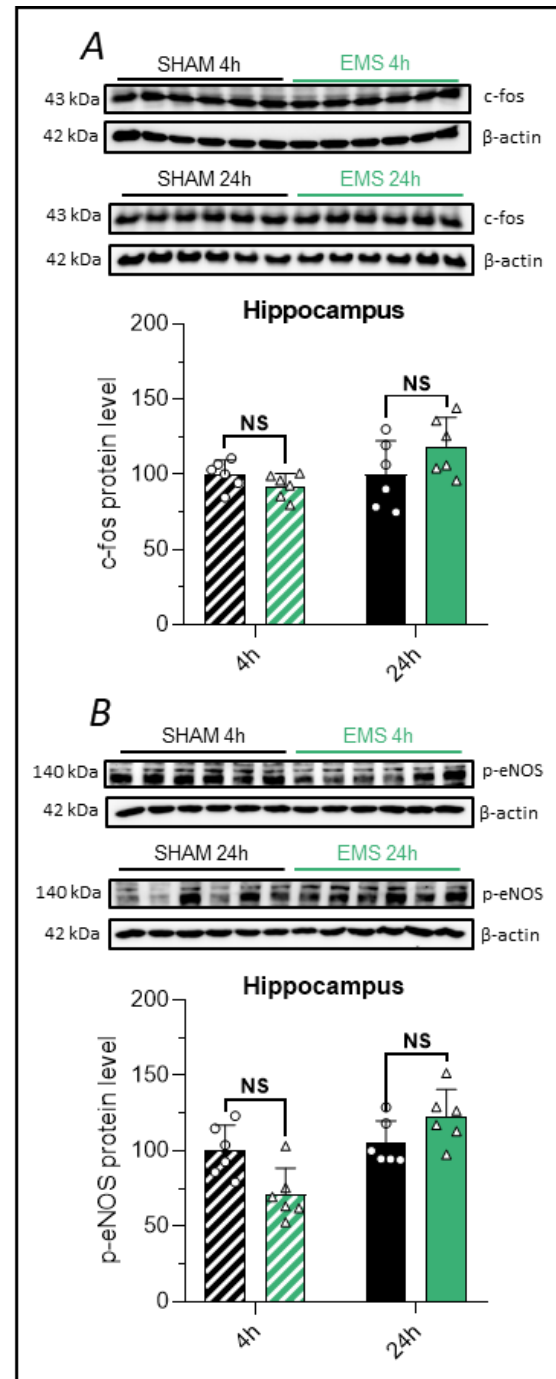


Figure 40 : Effet de l'EMS sur les voies neuronale et hémodynamique

A. Expression protéique de c-fos dans l'hippocampe 4 h (barre hachurée) et 24 h (barre pleine) après l'EMS ainsi que les immunoblots correspondants. **B.** Expression protéique de p-eNOS dans l'hippocampe 4 h (barre hachurée) et 24 h (barre pleine) après l'EMS ainsi que les immunoblots correspondants.

variation de l'expression hippocampique de c-fos et de p-eNOS 4 h et 24 h après l'EMS (**Figure 40A-B**). Ces résultats suggèrent que l'augmentation du BDNF est induite par d'autres mécanismes tel que le dialogue muscle-cerveau en réponse à l'EMS.

Effet du protocole d'EMS sur les taux musculaires et circulants de BDNF.

Pour explorer la voie endocrine, nous avons d'abord cherché à savoir si le BDNF musculaire lui-même pouvait être sécrété dans la circulation et concourir à l'élévation des taux hippocampiques de BDNF en réponse à l'EMS. Cependant, nos observations ne révèlent aucun changement significatif dans l'expression protéique du BDNF dans le muscle quadriceps, que ce soit à 4 h ou 24 h après la mise en œuvre du protocole d'EMS (**Figure 41A**). De plus, aucune modification des taux sériques (prélèvement sanguin à la queue) de BDNF n'a été constatée immédiatement après la session d'EMS, mesuré par ELISA (**Figure 41B**). De même, les taux sériques de BDNF étaient inchangés 4 et 24 h (prélèvement sanguin intracardiaque) après le protocole d'EMS de nouveau mesurés par ELISA (**Figure 41C**). Pris ensemble, ces données montrent que le BDNF musculaire ne semble pas agir comme une myokine avec un effet endocrine.

Effet du protocole d'EMS sur le système FNDC5/Irisine.

Nous nous sommes, par la suite, intéressés à l'irisine, l'une des myokines les plus étudiées dans le contexte du dialogue muscle-cerveau. Dans cette étude, nous démontrons que l'EMS a entraîné une augmentation significative de l'expression de FNDC5/Irisine dans le muscle quadriceps 24 h après l'EMS (+110 %, test-t, $p=0.0466$, **Figure 42A**), sans changement observé à 4 h. Cependant, l'expression de FNDC5/Irisine dans le muscle squelettique n'était pas corrélée à l'expression du BDNF hippocampique 24 h après les sessions d'EMS (**Figure 42B**). De manière surprenante, malgré une élévation

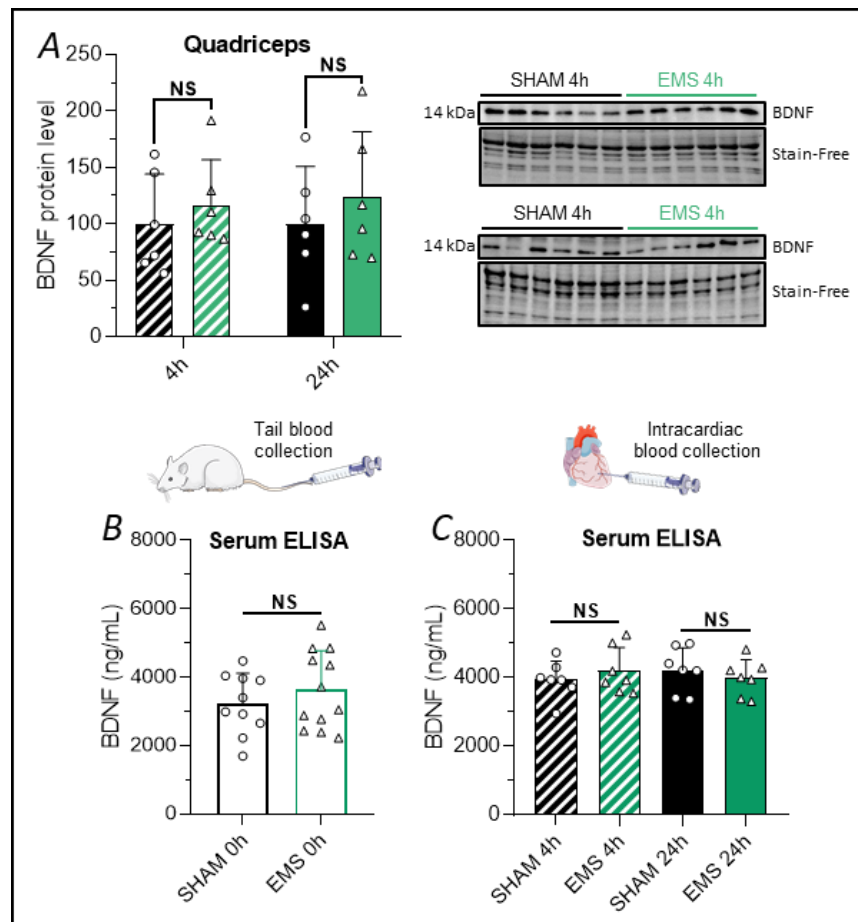


Figure 41 : Effet de l'EMS sur les taux musculaires et circulants de BDNF chez le rat
A. Expression protéique de BDNF dans les muscles quadriceps 4 h (barre hachurée) et 24 h (barre pleine) après l'EMS et les immunoblots correspondants. **B.** Le sang a été prélevé au niveau de la queue immédiatement à la fin de l'EMS dans le but de collecter le sérum et de réaliser une analyse ELISA des taux circulants de BDNF chez les rats SHAM (barre blanche, bordure noire) et les rats EMS (barre blanche, bordure verte). **C.** Le sang a été collecté directement par voie intracardiaque au moment de l'euthanasie des animaux, soit 4 h (barre hachurée) et 24 h (barre pleine) après le protocole d'EMS.

de l'expression musculaire de FNDC5/Irisine, nous n'avons pas observé d'augmentation des taux circulants d'irisine à 0, 4 ou 24 h après la session d'EMS en

utilisant une approche ELISA avec l'un des kits le plus couramment utilisé dans la littérature (EK-067-29, Phoenix Pharmaceuticals, **Figure 42C-D**). Les kits

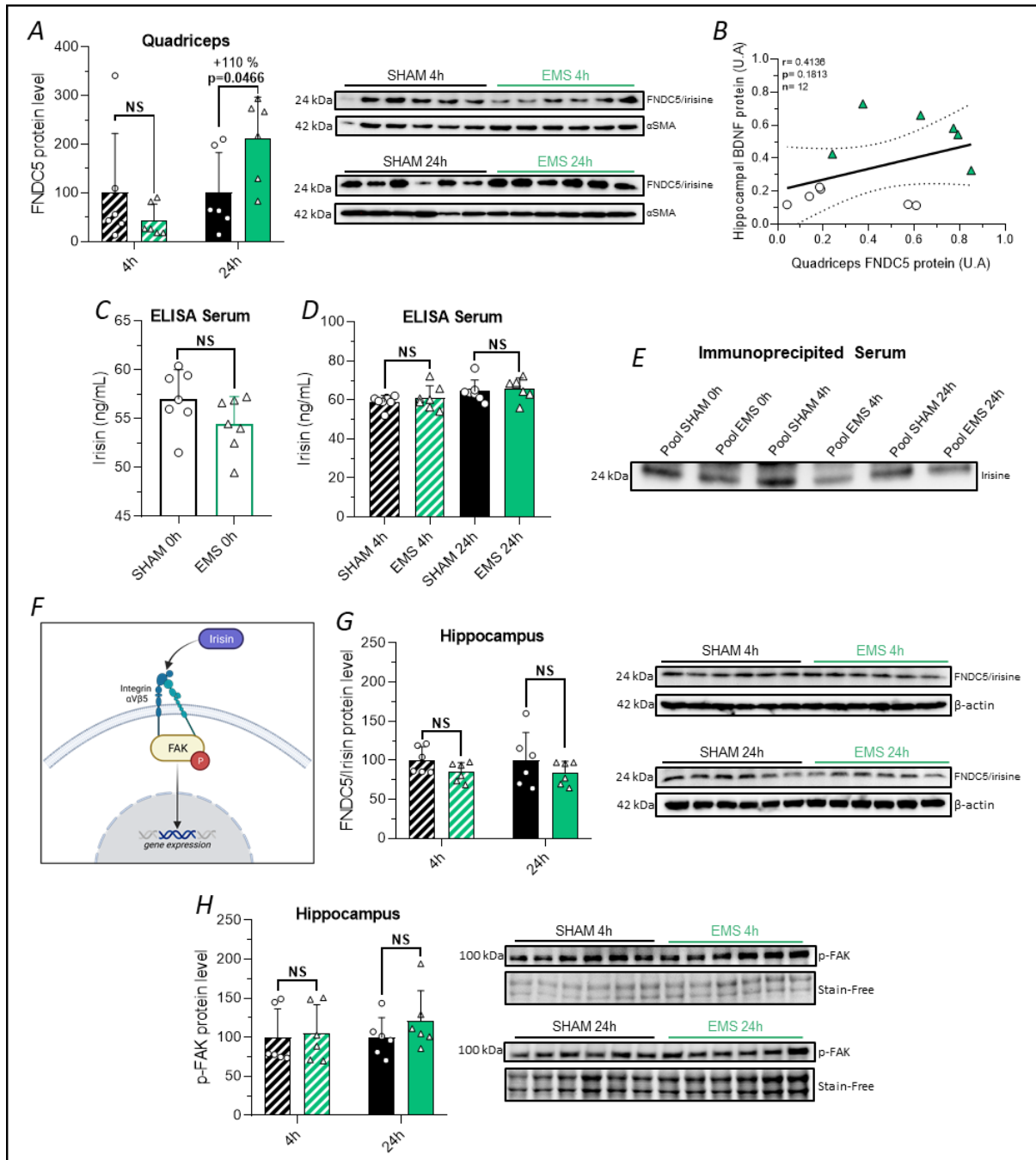


Figure 42 : Effet de l'EMS sur le système FNDC5/Irisine

A. Expression protéique de FNDC5/Irisine dans les muscles quadriceps 4 h (barre hachurée) et 24 h (barre pleine) après l'EMS et les immunoblots correspondants. **B.** Corrélation entre l'expression musculaire de FNDC5/Irisine et l'expression protéique de BDNF dans l'hippocampe 24 h après l'EMS chez le rat. **C.** Taux d'irisine mesurés par ELISA sur le sérum collecté au niveau de la queue immédiatement à la fin du protocole chez des rats SHAM (barre blanche, bordure noire) et EMS (barre blanche, bordure verte). **D.** Taux d'irisine mesurés par ELISA sur le sérum collecté par voie intracardiaque 4 h (barre hachurée) et 24 h (barre pleine) après l'EMS. **E.** Immunoblot réalisé à partir de sérum immunoprécipité avec des anticorps anti-FNDC5. **G.** Illustration schématique du mécanisme de signalisation de l'irisine via l'intégrine $\alpha V \beta 5$. **F.** Expression protéique de FNDC5/Irisine dans l'hippocampe 4 h (barre hachurée) et 24 h (barre pleine) après l'EMS et les immunoblots correspondants. **H.** Expression protéique de pFAK dans l'hippocampe 4 h (barre hachurée) et 24 h (barre pleine) après l'EMS et les immunoblots correspondants.

ELISA utilisés pour détecter l'irisine circulante ont été critiqués pour leur forte réactivité croisée avec d'autres protéines sériques. En conséquence, nous avons réalisé une immunoprécipitation suivie d'un western blot sur des pools de sérum de rats SHAM et EMS. Nous avons identifié une bande à environ 25 kDa dans le sérum immunoprécipité, correspondant possiblement à un dimère d'irisine glycosylée (**Figure 42E**). Cependant, il est important de noter que nous n'avons pas observé de variation significative de l'intensité de cette bande entre les groupes EMS et SHAM. Nous avons même remarqué une tendance à la diminution des taux sériques d'irisine collectés 4 h après l'EMS. Enfin, il a été démontré que l'irisine peut traverser la BHE et se lier au récepteur intégrines $\alpha V\beta 5$, déclenchant ainsi des cascades de signalisation dépendantes de FAK (**Figure 42F**). Cependant, il est à noter qu'aucun changement dans l'expression hippocampique de FNDC5/Irisine (**Figure 42G**) et p-FAK (**Figure 42H**) n'a été observé entre les groupes SHAM et EMS à la fois à 4 h et à 24 h. En résumé, nos résultats suggèrent que les modifications de l'expression cérébrale de BDNF en réponse à l'EMS sont indépendantes des productions périphérique et centrale de FNDC5/Irisine.

Effet du protocole d'EMS sur la production de lactate.

De manière importante, nous avons observé que notre protocole d'EMS appliquée au quadriceps augmentait la

lactatémie d'une manière similaire chez le rat (+323 %, test-t, $p < 0.0001$, **Figure 43A**) et chez l'Homme (+339 %, test-t, $p = 0.0108$, **Figure 43B**). Il a été rapporté que le lactate sécrété par les muscles squelettiques lors de l'EX peut contribuer à augmenter le BDNF hippocampique de manière dépendante de SIRT1, une protéine désacétylase dépendante du NAD^+ capable de moduler l'activité de plusieurs facteurs de transcription (El Hayek *et al*, 2019). Ici, nous montrons que l'EMS a entraîné une élévation de l'expression de SIRT1 uniquement 4 h après la stimulation (+42 %, test-t, $p = 0.0410$, **Figure 43C**), suggérant l'implication de la voie lactate/SIRT1 dans l'élévation des taux cérébraux de BDNF en réponse à l'EMS. Conformément à cette hypothèse, nous avons trouvé une corrélation positive entre la production de lactate chez le rat en réponse à l'EMS et l'expression protéique de BDNF dans l'hippocampe des rats sacrifiés 24 h après le protocole expérimental (corrélation de Pearson, $r = 0.8891$, $p < 0.0001$, **Figure 43D**). De plus, chez l'Homme, la production de lactate était inversement corrélée à la diminution des scores d'anxiété induite par l'EMS (corrélation de Pearson, $r = 0.8815$, $p < 0.0038$, **Figure 43E**). Même si nos résultats ne mettent pas en évidence une corrélation significative, une association positive est observée entre la lactatémie et l'amélioration à la tâche de Stroop en conditions congruente (corrélation de Pearson, $r = 0.6398$, $p < 0.0875$, **Figure 43F**) et incongruente (corrélation de Pearson, $r = 0.6468$, $p < 0.0830$, **Figure 43G**).

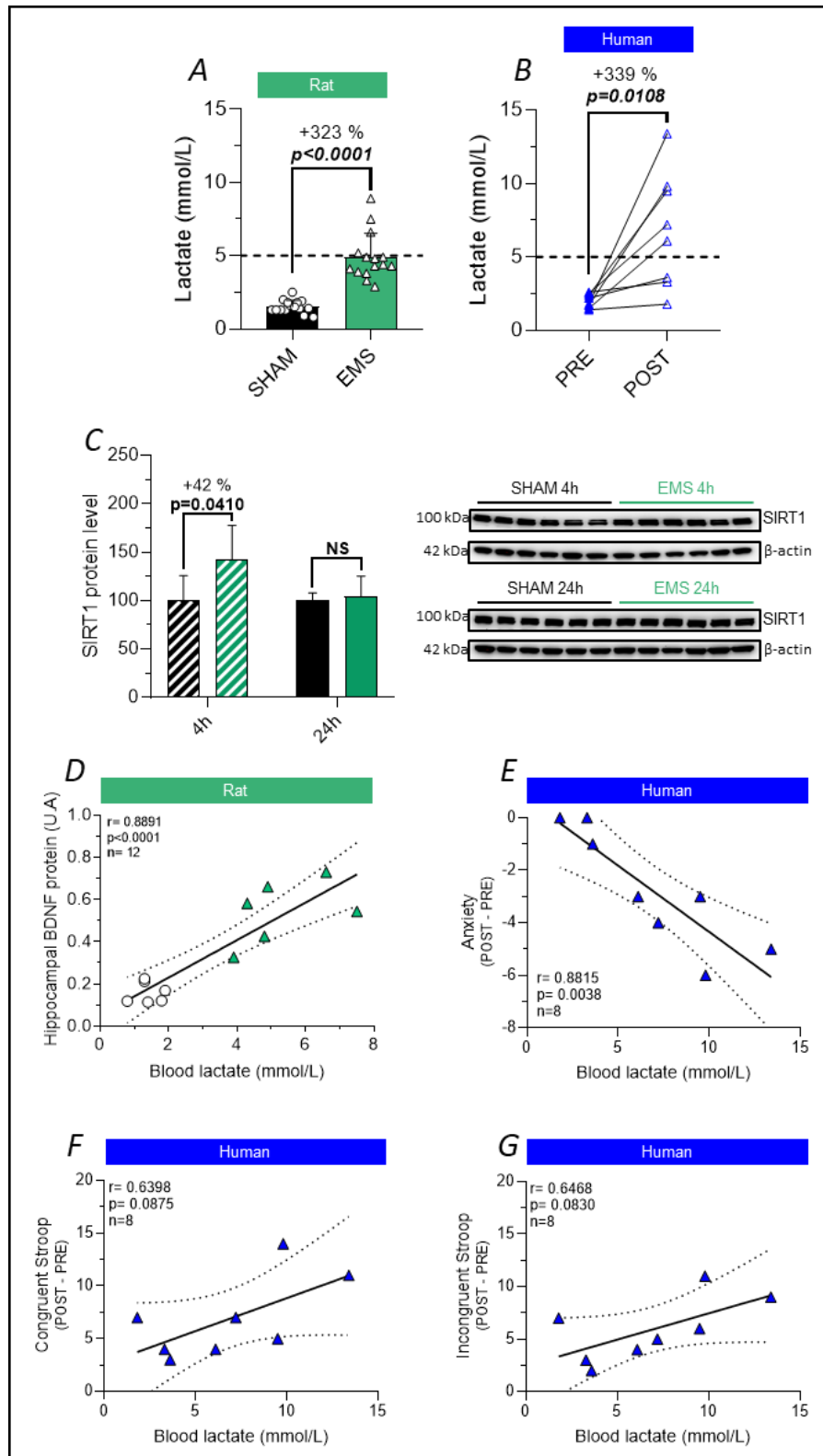


Figure 43 : Lien entre lactatémie et bénéfices cérébraux induits par l'EMS

A. Lactatémie mesurée immédiatement après l'EMS chez les rats SHAM (barre noire) et EMS (barre verte). **B.** Lactatémie mesurée avant (PRE) et immédiatement après (POST) l'EMS chez l'Homme. **C.** Expression protéique de SIRT1 dans l'hippocampe 4 h (barre hachurée) et 24 h (barre pleine) après l'EMS ainsi que les immunoblots correspondants. **D.** Corrélation entre la lactatémie immédiatement après l'EMS et l'expression protéique de BDNF dans l'hippocampe 24 h après l'EMS chez le rat. **E.** Corrélation entre la lactatémie immédiatement après l'EMS et les changements d'anxiété observé après l'EMS chez l'Homme. **F-G.** Corrélation entre la lactatémie immédiatement après l'EMS et les changements de performance à la tâche de Stroop dans les conditions congruente (F) et incongruente (G) après l'EMS chez l'Homme.

ÉTUDE DES MÉCANISMES DE SÉCRÉTION DE L'IRISINE PAR LES CELLULES MUSCULAIRES

Rémi Chaney, Clémence Léger, Erik Niemi, Estelle Fontanier, Mariit Lehti, Riikka Kivela, Anne Prigent-Tessier, Garnier Philippe

Introduction. L'irisine est une myokine sécrétée dans le sang par les muscles squelettiques en réponse à leur contraction. Il a été montré que l'irisine d'origine musculaire favorise les interactions entre le muscle et le cerveau, le muscle et le tissu adipeux, ainsi que le muscle et le tissu osseux après un EX, conduisant à des effets bénéfiques sur ces tissus. Néanmoins, les mécanismes de sécrétion de l'irisine par les cellules musculaires ne sont pas pleinement compris. Ainsi, l'objectif de cette étude était d'apporter de nouvelles connaissances sur les facteurs influençant la sécrétion de l'irisine et l'enzyme responsable du clivage de FNDC5 pour produire l'irisine au niveau des cellules musculaires en culture.

Méthodes. Dans le but d'investiguer la sécrétion d'irisine par les myoblastes et les myotubes en culture, nous avons collecté du milieu de culture lors des phases de prolifération et de différenciation des myoblastes L6 et hSkM. De plus, les myotubes L6 ont été soumis à un protocole d'EPS à haute fréquence (100 Hz, 0,4 ms, 20 V, 7 s ON, 14 s OFF, 2 h) ou à basse fréquence (1 Hz, 2 ms, 12 V, 24 h). Nous avons également incubé les cellules musculaires L6 avec un inhibiteur des sécrétases ADAM (TAPI-2) et un chélateur de calcium (EGTA) pendant 2h30 dans le but d'étudier les mécanismes de clivage de FNDC5. De plus, les niveaux de glucose dans le milieu de culture ont été modifiés (HG : 4 g/L, LG : 1 g/L) afin d'évaluer l'impact du métabolisme glucidique sur la sécrétion d'irisine dans le milieu. L'expression cellulaire de FNDC5/Irisine a été évaluée par western blot, tandis que l'expression d'irisine dans le milieu a été évaluée par cette même technique sur des échantillons préalablement soumis à une immunoprécipitation ou à une ultrafiltration.

Résultats. Nous avons préalablement montré que l'irisine était présente dans le milieu de culture des myoblastes et des myotubes L6, ainsi que dans les myotubes hSkM. L'EPS à basse fréquence a favorisé la sécrétion d'irisine dans le milieu, sans impact du protocole d'EPS à haute fréquence. En parallèle, nous avons observé que l'inhibition des sécrétases ADAM et la chélation du calcium n'ont pas affecté la sécrétion d'irisine dans le milieu. Enfin, nous avons montré la réduction du taux de glucose dans le milieu de différenciation n'affecte pas la sécrétion d'irisine dans le milieu.

Conclusion. En résumé, cette étude a mis en évidence la présence d'irisine dans les cellules musculaires et son augmentation en réponse à l'EPS à basse fréquence, tandis que l'inhibition des sécrétases ADAM, la chélation du calcium, et des niveaux réduits de glucose n'ont pas affecté sa sécrétion.

Sécrétion d'irisine dans le milieu à travers les stades de prolifération et de différenciation des cellules musculaires en culture.

Dans un premier temps, nous avons cherché à déterminer si l'irisine était sécrétée à la fois par les myoblastes (non différenciés) et les myotubes en culture (différenciés). Pour ce faire, nous avons prélevé du milieu de culture des myoblastes L6 après 3 jours et 6 jours de prolifération, ainsi que du milieu de culture des myotubes L6 et des myotubes humains

(hSkM) après 6 jours de différenciation (**Figure 44A**). Les milieux de culture ont ensuite été soumis à une immunoprécipitation dans le but de purifier et de concentrer l'irisine dans nos échantillons (**Figure 44A**). Par la suite, nous avons réalisé une analyse par western blot en utilisant un anticorps anti-FNDC5 (**Figure 44A**). Nos résultats ont révélé la présence d'une bande caractéristique à 24 kDa, aussi bien dans le milieu de culture des cellules myoblastiques que dans celui des myotubes (**Figure 44B**). De manière

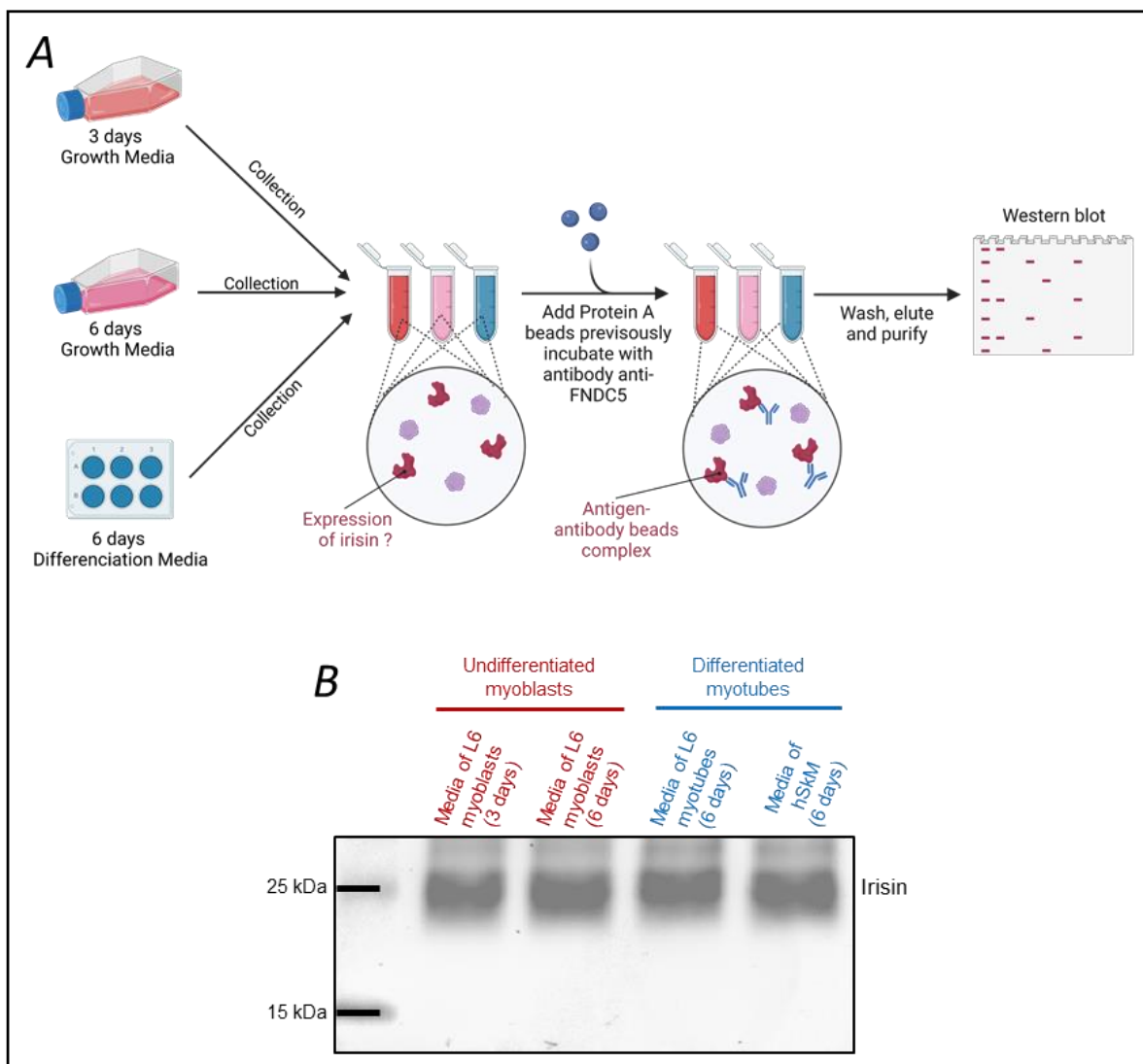


Figure 44 : Effet des stades de prolifération et de différenciation sur la sécrétion d'irisine

A. Illustration schématique du design expérimental. Du milieu de culture a été prélevé à différents moments durant la phase de prolifération et de différenciation des cellules musculaires. Le milieu de culture a ensuite été soumis à une immunoprécipitation, consistant à incuber l'échantillon avec un complexe de billes magnétiques exprimant la protéine A couplée à un anticorps anti-FNDC5 dans le but de purifier l'échantillon en irisine. Créée avec Biorender. **B.** Expression de l'irisine détectée par western blot dans le milieu de culture des myoblastes (rouge) et des myotubes (bleu) L6 et hSkM.

importante, nous n'avons pas constaté de différence notable dans l'intensité des bandes entre les cellules myoblastiques et les myotubes. Ces observations indiquent que l'irisine est sécrétée de manière similaire dans le milieu de culture, que ce soit lors de la phase de prolifération ou de différenciation des cellules musculaires. Ce résultat est en accord avec une étude montrant que l'irisine est nécessaire à la prolifération et la différenciation des

myoblastes C2C12 (Reza *et al*, 2017). Par ailleurs, il convient de noter que la question de la sécrétion d'irisine chez l'Homme a suscité des interrogations (Raschke *et al*, 2013). Toutefois, nos résultats ont permis révéler, par western blotting effectué à partir du milieu de culture des cellules hSkM, une bande présentant un poids moléculaire similaire à celui observé dans le milieu de culture des cellules L6 (**Figure 44B**). Cette observation montre que l'irisine

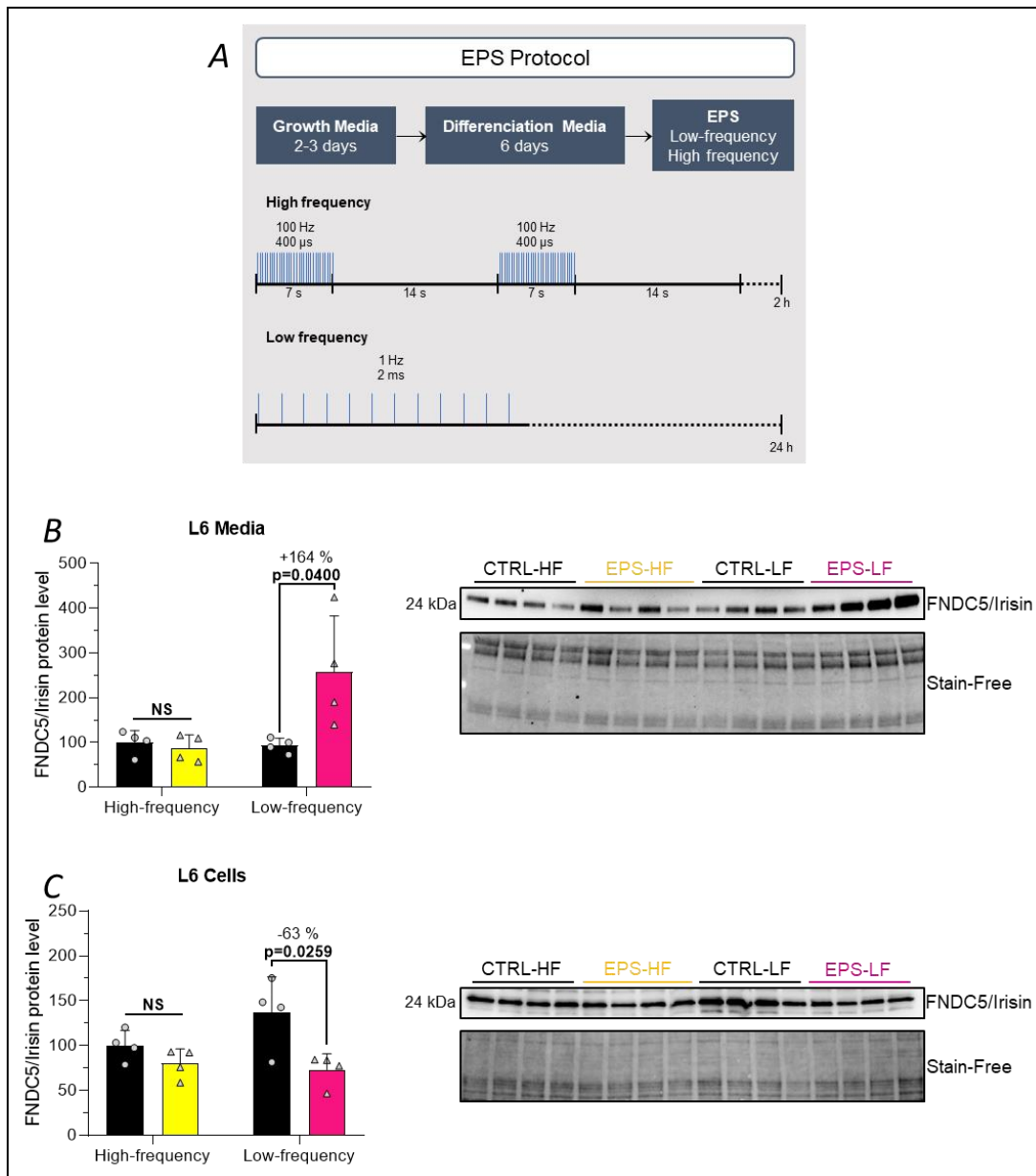


Figure 45 : Effet des protocoles d'EPS à basse et haute fréquence sur la sécrétion d'irisine

A. Illustration schématique du protocole d'EPS. Les cellules ont été cultivées durant 2-3 jours dans des plaques à 6 puits en présence de milieu de culture de croissance, puis durant 6 jours dans un milieu de différenciation pour induire la fusion des myoblastes. Après cela, les cellules ont été soumises à soit un protocole d'EPS à basse fréquence (1 Hz, 2 ms) ou à haute fréquence (100 Hz, 0,4 ms). **B.** Expression de FNDC5/Irisine dans le milieu de culture des cellules L6 en réponse aux protocoles d'EPS. **C.** Expression de FNDC5/Irisine dans les cellules L6 en réponse aux protocoles d'EPS.

est également sécrétée par les cellules musculaires humaines dans des conditions de culture basales.

Effet des protocoles d'EPS à haute et basse fréquences sur la sécrétion d'irisine par les cellules musculaires.

Les protocoles d'EPS appliqués *in vitro* à des hautes ou des basses fréquences conduisent à l'activation de différentes voies de signalisation (Nikolić *et al*, 2017a). Par exemple, l'EPS à basse fréquence (EPS-LF), conduit à l'activation de l'AMPK et la synthèse de PGC-1 α tandis que l'EPS à haute fréquence (EPS-HF) active la voie Akt – mTOR. Par ailleurs, alors que l'EPS-LF est habituellement appliquée sur de longue durée (24h), l'EPS-HF est généralement réalisée sur une période plus courte (< 8h). Ici, nous avons utilisé un modèle d'EPS-LF à 1 Hz, avec une durée d'impulsion de 2 ms et une intensité de 12 V pendant 24 h ainsi qu'un modèle d'EPS-HF à 100 Hz, avec une durée d'impulsion de 0,4 ms et une intensité de 20 V durant 2 h (**Figure 45A**). Nous avons comparé par western blot l'effet de ces deux types de protocoles sur la sécrétion d'irisine dans le milieu des myotubes L6 après l'avoir concentré par ultrafiltration, ainsi que sur l'expression cellulaire de FNDC5/Irisine. Nous avons observé une élévation significative de la sécrétion d'irisine avec le protocole d'EPS-LF (+164

%, test-t, $p=0.0400$, **Figure 45B**), sans impact du protocole d'EPS-HF. De manière intéressante, l'élévation de la sécrétion d'irisine, induite par l'EPS-LF, était associée à une réduction de l'expression de FNDC5/Irisine dans les cellules L6 (-63 %, test-t, $p=0.0259$, **Figure 45C**), sans changement dans la condition d'EPS-HF. Ces résultats indiquent que la sécrétion d'irisine dans le milieu est associée à une réduction de son expression dans la cellule.

Effet de l'inhibition des sécrétases ADAM et de la chélation du calcium sur la sécrétion d'irisine par les cellules musculaires en condition basale.

Pour identifier la sécrétase responsable du clivage de FNDC5 en irisine, nous avons initialement adopté une stratégie visant à

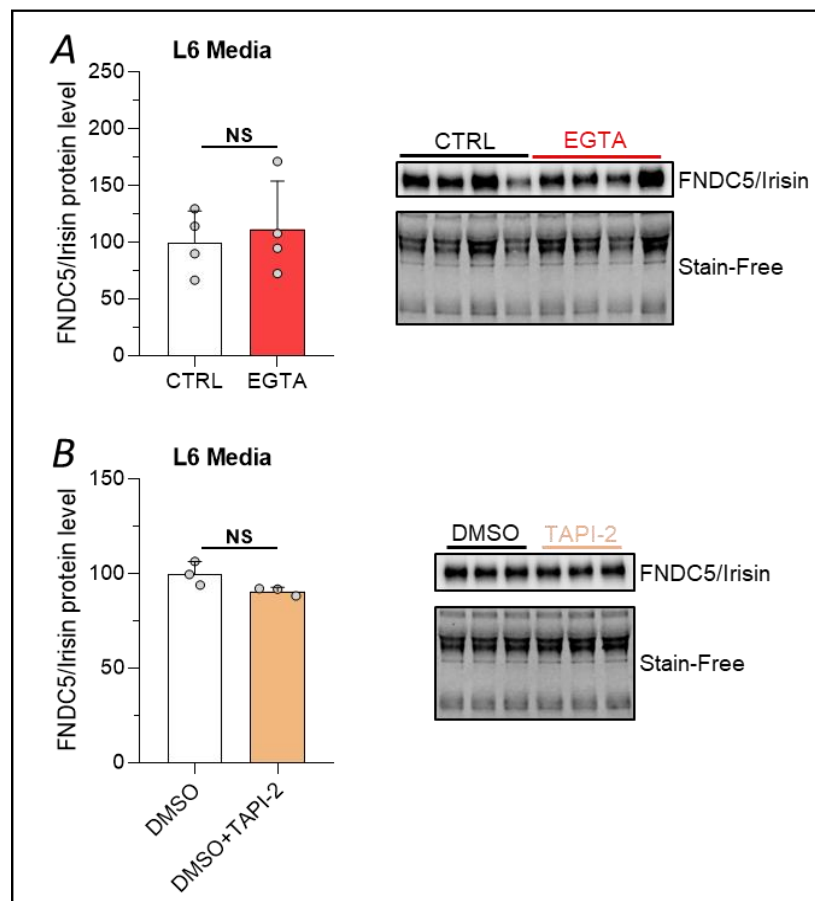


Figure 46 : Effet de la chélation de calcium et de l'inhibition des ADAM sur la sécrétion d'irisine

A. Expression de FNDC5/Irisine dans le milieu de culture des L6 après 2h30 de traitement avec de l'EGTA. B. Expression de FNDC5/Irisine dans le milieu de culture après 2h30 de traitement avec l'inhibiteur TAPI-2.

perturber les flux de calcium et la signalisation calcique. De nombreuses protéases sont, en effet, dépendantes du calcium. Pour ce faire, nous avons exposé les cellules à une concentration de 10 mM d'EGTA, un chélateur de calcium, pendant une période de 2 heures et 30 minutes. Malheureusement, cette approche n'a pas révélé de différence significative de l'expression d'irisine dans le milieu extracellulaire entre les cellules traitées à l'EGTA et celles non traitées (**Figure 46A**).

Dans un second temps, nous avons opté pour l'incubation des cellules avec un inhibiteur des sécrétases ADAM. Une étude précédente avait, en effet, montré qu'une inhibition des ADAM par le TAPI-2 avait pour effet d'entraver la sécrétion d'irisine en réponse à l'angiotensine II, dans des cellules C2C12 (Yu *et al*, 2019). Dans cette perspective, nous avons exposé les cellules à l'inhibiteur TAPI-2 pendant 2 heures et 30 minutes dans nos conditions expérimentales. Aucun effet observable n'a été constaté en termes d'inhibition des ADAM sur la sécrétion d'irisine dans notre expérience (**Figure 46B**).

Pour de futures investigations, il serait pertinent d'examiner l'impact de l'inhibition des ADAM en réponse au protocole d'EPS-LF, ainsi que de prolonger les temps de traitement afin d'explorer plus en

profondeur cette voie potentielle de régulation de la sécrétion d'irisine.

Effet du taux de glucose sur la sécrétion d'irisine dans le milieu de culture des cellules musculaires.

Il a été montré que l'irisine est augmentée chez les patients diabétiques et atteints d'obésité, suggérant que le métabolisme glucidique puisse influencer la synthèse et la sécrétion d'irisine (Perakakis *et al*, 2017). De plus, les cellules musculaires sont habituellement cultivées avec du DMEM riche en glucose (DMEM-HG), généralement concentré à 4 g/L de glucose (25 mM). Cependant, le plasma humain ne contient qu'environ 1 g/L de glucose (4,9 nM). Ainsi, nous avons utilisé un milieu de culture DMEM avec une teneur en glucose de 1 g/L (DMEM-LG) afin d'améliorer la pertinence de nos études *in vitro* (Lagziel *et al*, 2020). Plus précisément, les myotubes L6 ont été différenciés dans un milieu de culture contenant du DMEM-HG pendant 4 jours, puis transférés dans un milieu de culture DMEM-LG ou DMEM-HG pendant 2 jours. Nous n'avons pas observé de changement significatif de la sécrétion d'irisine dans le milieu de culture entre les deux conditions (**Figure 47**). Il sera intéressant à l'avenir d'étudier l'expression cellulaire de FNDC5/Irisine dans des conditions appauvries en glucose.

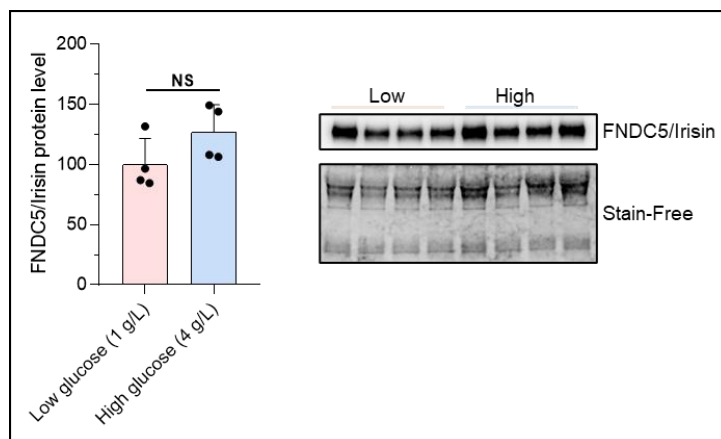


Figure 47 : Effet du taux de glucose sur la sécrétion d'irisine

A. Expression de FNDC5/Irisine dans le milieu de culture des L6 après avoir été cultivées dans un milieu appauvri (low, 1 g/L) ou riche (high, 4 g/L) en glucose.

ÉTUDE DE LA LOCALISATION CELLULAIRE DU BDNF DANS LES MUSCLES SQUELETTIQUES

Marina Cefis[#], Remi Chaney[#], Aurore Quirié, Clélia Santini, Christine Marie, Philippe Garnier, Anne Prigent-Tessier

Introduction. Le BDNF est présent dans le muscle squelettique, régulant le métabolisme et le processus de régénération musculaire. Cependant, il n'y a pas de consensus sur la source cellulaire du BDNF dans les muscles squelettiques. De plus, bien que les tissus endothéliaux expriment une grande quantité de BDNF, il n'a jamais été exploré si les cellules endothéliales à l'intérieur du muscle expriment également du BDNF. Ainsi, l'objectif de la présente étude était de fournir une analyse complète de la localisation du BDNF dans le muscle squelettique du rat.

Méthodes. Des rats mâles âgés de 10 semaines ont été utilisés dans cette étude. Les localisations cellulaires du BDNF et des récepteurs activés TrkB ont été étudiées par analyse immunohistochimique sur les muscles soléaire (SOL) et gastrocnémien (GAS) qui présentent des phénotypes oxydatifs et glycolytiques distincts. Les taux de BDNF et de TrkB activés ont également été mesurés dans les homogénats musculaires en utilisant des analyses de western blot et/ou des tests ELISA.

Résultats. Les expressions de BDNF et son récepteur TrkB activée était plus importante dans le muscle SOL par rapport au muscle GAS. Les analyses par immunomarquage ont révélé la présence de BDNF dans tous les types de cellules examinées, avec une coloration prédominante dans les cellules endothéliales et une coloration plus intense dans les fibres musculaires de type II que dans celles de type I. Les cellules endothéliales, mais pas les autres cellules, présentaient une expression facilement détectable des récepteurs de TrkB activés.

Conclusion. Les cellules endothéliales constituent une source importante et encore peu explorée de BDNF présent dans le muscle squelettique. L'expression du BDNF par les cellules endothéliales explique probablement pourquoi le muscle oxydatif présente des niveaux plus élevés de BDNF que le muscle glycolytique, malgré une expression plus élevée de BDNF par les fibres de type II.

Les résultats de cette étude ont été publiés dans le journal « Scientific Reports » après révision par les pairs (IF : 4,6)



OPEN

Endothelial cells are an important source of BDNF in rat skeletal muscle

Marina Cefis^{1,4}, Remi Chaney^{1,4}, Aurore Quirié¹, Clélia Santini¹, Christine Marie¹, Philippe Garnier^{1,2} & Anne Prigent-Tessier^{1,3}✉

BDNF (brain-derived neurotrophic factor) is present in skeletal muscle, controlling muscular metabolism, strength and regeneration processes. However, there is no consensus on BDNF cellular source. Furthermore, while endothelial tissue expresses BDNF in large amount, whether endothelial cells inside muscle expressed BDNF has never been explored. The aim of the present study was to provide a comprehensive analysis of BDNF localization in rat skeletal muscle. Cellular localization of BDNF and activated Tropomyosin-related kinase B (TrkB) receptors was studied by immunohistochemical analysis on soleus (SOL) and gastrocnemius (GAS). BDNF and activated TrkB levels were also measured in muscle homogenates using Western blot analysis and/or Elisa tests. The results revealed BDNF immunostaining in all cell types examined with a prominent staining in endothelial cells and a stronger staining in type II than type I muscular fibers. Endothelial cells but not other cells displayed easily detectable activated TrkB receptor expression. Levels of BDNF and activated TrkB receptors were higher in SOL than GAS. In conclusion, endothelial cells are an important and still unexplored source of BDNF present in skeletal muscle. Endothelial BDNF expression likely explains why oxidative muscle exhibits higher BDNF levels than glycolytic muscle despite higher the BDNF expression by type II fibers.

Since its first identification in the brain in 1982¹, neuronal BDNF (brain-derived neurotrophic factor) was the subject of a plethora of studies that have led to the consensus that neuronal-derived BDNF is crucial for neurogenesis, synaptogenesis, neuroplasticity and cognition^{2,3} through phosphorylation at tyrosine 816 of full-length (FL) tropomyosin-related kinase B (p-TrkB^{Tyr816})^{4,5}. However, we know now that BDNF is expressed in other cells than in neurons and therefore plays a more widespread role than initially thought. Skeletal muscle, which is the most abundant tissue in the body, was shown to synthesize BDNF in 1993⁶. The demonstration that physical exercise leads to an elevation of BDNF in active muscle⁷ and the idea that BDNF originating from muscle might be involved in the beneficial effect of EX not only on muscles but also on distant organs explains the regain of interest for muscular BDNF.

Surprisingly, little is known about the cellular localization of BDNF. Available studies focused mainly on muscular fibers, satellite cells and neuromuscular junctions and led to controversial results. For certain authors, BDNF expression is restricted to the former^{8,9}, while it is confined to the latter for others¹⁰. There is also no consensus concerning BDNF localization on the neuromuscular junction^{11–13}. Although never explored, BDNF might be also expressed by endothelial cells present in muscle. Indeed, the cerebral and peripheral vasculatures including capillaries contain BDNF with a prominent expression by the endothelium^{14–16}. To explore whether endothelial cells present in muscle express BDNF is of great interest as density of capillary network differs between oxidative and glycolytic muscles. In addition, if BDNF is present in endothelial cells, the elevation of circulating BDNF observed during or after exercise might possibly reflect the secretion of BDNF by endothelium and not by that of myofibers as generally thought according to the concept of myokines.

The present study tests the hypothesis that BDNF is expressed by endothelial cells in skeletal muscle and that this expression largely contributes to BDNF levels present within the muscle. For this purpose, we first provide a comprehensive analysis of BDNF localization in skeletal muscle in rats. Then, we compared BDNF content of oxidative muscle soleus (SOL) versus glycolytic muscle gastrocnemius (GAS) since capillary network was denser for the former.

¹INSERM UMR1093-CAPS, Université Bourgogne Franche-Comté, UFR Des Sciences de Santé, 21000 Dijon, France. ²Département Génie Biologique, IUT, 21000 Dijon, France. ³UFR Des Sciences de Santé, 7 boulevard Jeanne d'Arc, 21078 Dijon, France. ⁴These authors contributed equally: Marina Cefis and Remi Chaney. ✉email: anne.tessier@u-bourgogne.fr

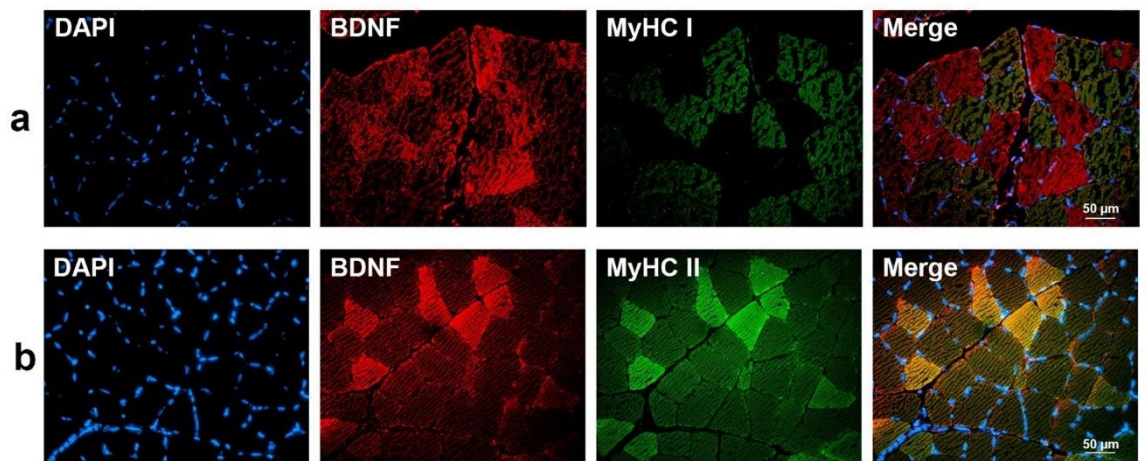


Figure 1. Colocalization of BDNF with slow-type (MyHC I, **a**) and fast-type fibers (MyHC II, **b**) in soleus (SOL) muscle. DAPI (blue) and MyHC I/II (Myosin Heavy chain I/II, green) were used as nuclear and slow I (MyHC I)/fast II (MyHC II) myosin isoform markers, respectively. Red-labelled immunofluorescence represents BDNF. A great BDNF staining in fast-type fibers was visualized in SOL muscle. Similar results were observed in all examinations ($n=4$). Scale bar 50 μm .

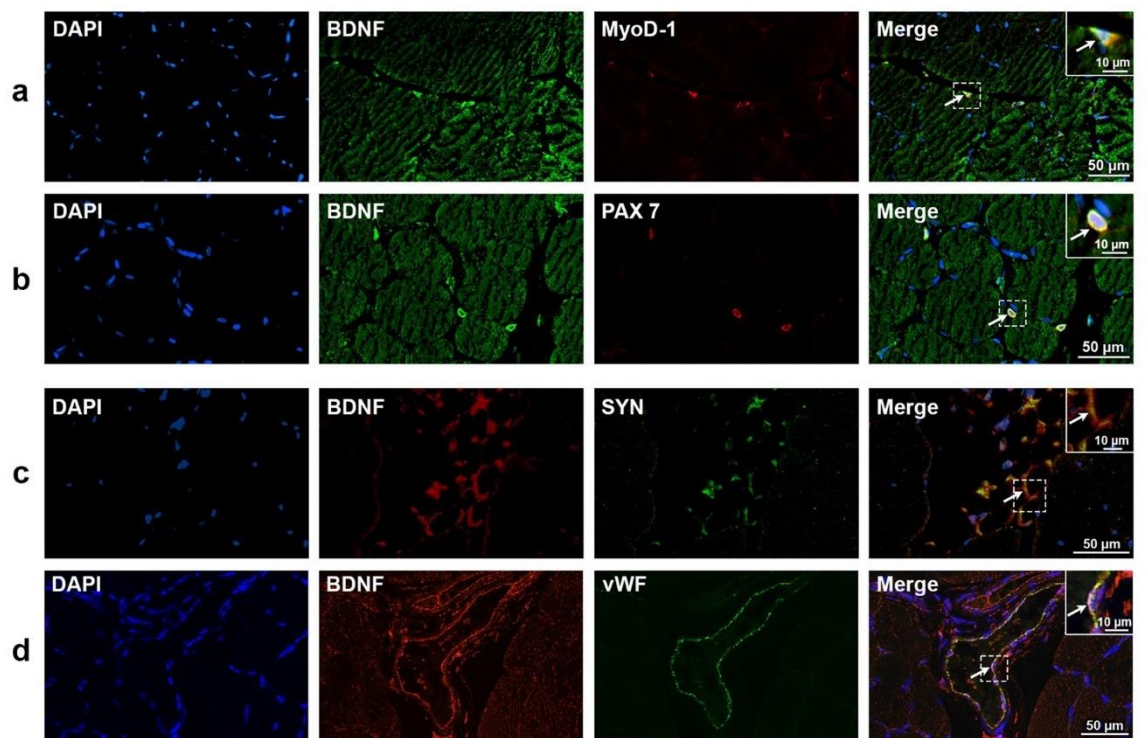


Figure 2. Colocalization of BDNF with specific markers of satellite (MyoD-1, myoblast determination protein 1/PAX 7, Paired box 7) cells, axonal processes of motor neurons (SYN, synaptophysin) and endothelial (vWF, von Willebrand factor) cells in soleus (SOL) muscle. DAPI (blue) was used as nuclear marker. BDNF was stained either in green (**a, b**) or in red (**c, d**), MyoD-1 and PAX 7 were marked in red (**a, b**) and, SYN and vWF in green (**c, d**). Similar results were observed in all examinations ($n=4$). The inserts show with higher magnification the colocalization of BDNF with each specific marker in presence of DAPI. Scale bar 50 μm (10 μm , for the insert).

Results

Cellular BDNF localization in muscle. Experiments were first conducted on SOL. As shown in Fig. 1, BDNF staining was very weak in type I fibers (Fig. 1a) and by contrast strong in type II fibers (Fig. 1b). BDNF was also present (Fig. 2) in satellite cells as evidenced from a BDNF labelling by cells positive for MyoD-1 (Fig. 2a) and PAX7 (Fig. 2b). Axonal processes of motor neurons also expressed BDNF. Indeed, BDNF colocalized with synaptophysin (Fig. 2c). Finally, cells positive for the specific endothelial marker von Willebrand factor (vWF) exhibited a strong labelling for BDNF (Fig. 2d).

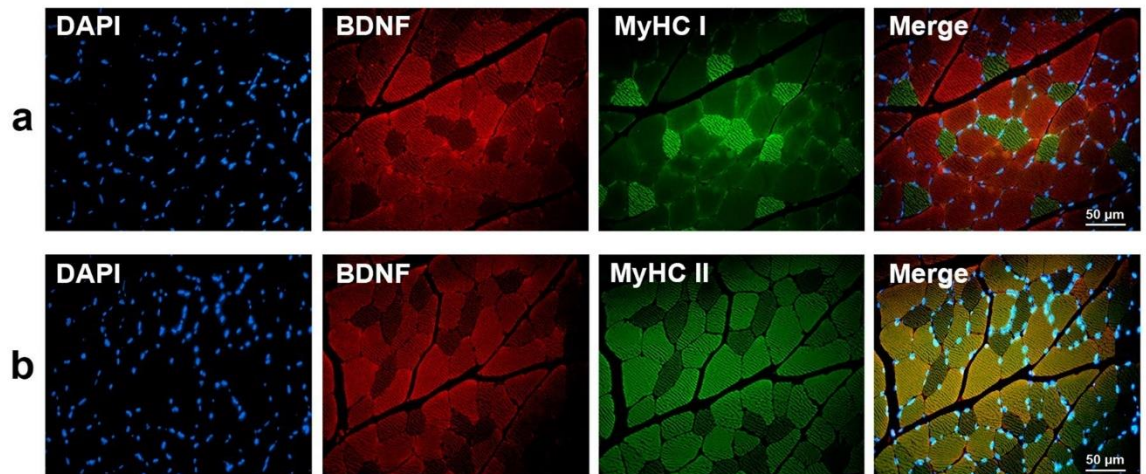


Figure 3. Colocalization of BDNF with slow-type (MyHC I, a) and fast-type fibers (MyHC II, b) in gastrocnemius (GAS) muscle. DAPI (blue) and MyHC I/II (Myosin Heavy chain I/II, green) were used as nuclear and slow I (MyHC I)/fast II (MyHC II) myosin isoform markers, respectively. Red-labelled immunofluorescence represents BDNF. A great BDNF staining in fast-type fibers was visualized in GAS muscle. Similar results were observed in all examinations ($n=4$). Scale bar 50 μ m.

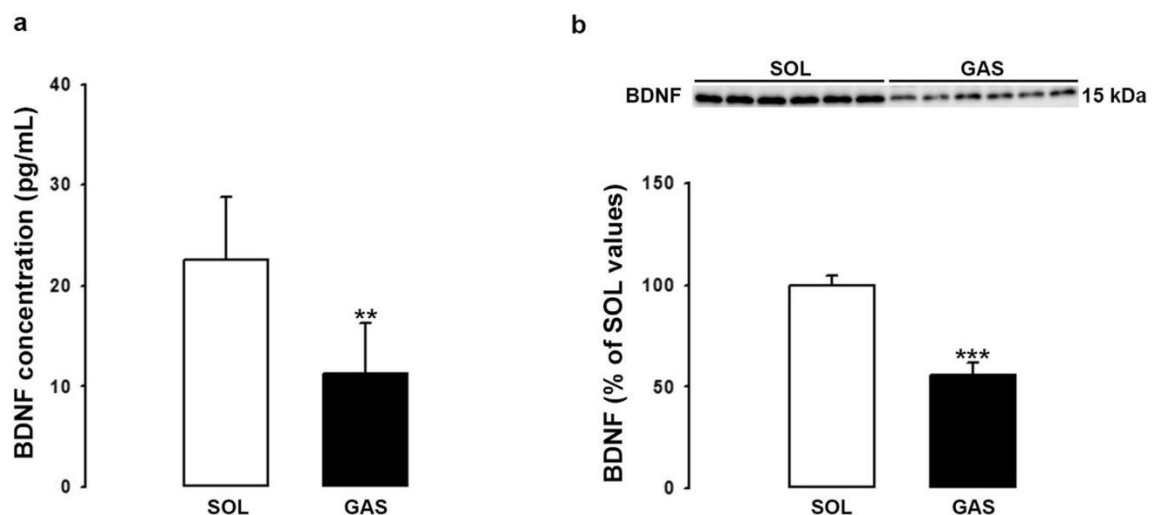


Figure 4. BDNF levels in the soleus (SOL) and gastrocnemius (GAS) muscles. BDNF protein levels in SOL and GAS muscles of control rats ($n=6$ per group) were determined by both ELISA (a) and Western blotting (b) methods. BDNF results (mean \pm SD) are expressed in pg/ml (for ELISA) or as percentage of SOL muscle values (for Western blotting). ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ versus SOL muscles.

Experiments were then conducted on GAS. Figure 3 confirmed the high BDNF expression by type II fibers (Fig. 3a) as compared to type I fibers (Fig. 3b). As reported for SOL, BDNF staining was also detected in satellite cells, neurons and endothelial cells (data not shown).

BDNF levels in SOL versus GAS. The differential expression of BDNF in type II versus type I fibers combined with the strong expression of BDNF by endothelial cells led us to compare BDNF levels in SOL versus GAS muscle. Our hypothesis was that BDNF levels will be higher in SOL than GAS because capillaries and by extension endothelial cells are more abundant in SOL than GAS. BDNF levels were measured using ELISA test and Western blotting method (Fig. 4). As shown in Fig. 4a and b, BDNF levels were significantly higher (X2) in SOL than GAS irrespective of the method used. The cellular density of endothelial cells and of other cells were compared in SOL versus GAS (Fig. 5). The results showed that levels of vWF are threefold higher in SOL than GAS (Fig. 5a). Markers of satellite cells MyoD-1 (Fig. 5b) and PAX 7 (Fig. 5c) were also more abundant in SOL than GAS. In contrast, synaptophysin (SYN) levels (Fig. 5d) did not differ between both muscles. Finally, as expected, marker of type I fibers was higher in SOL than GAS (Fig. 6a) while marker of type II fibers was higher in GAS than SOL (Fig. 6b).

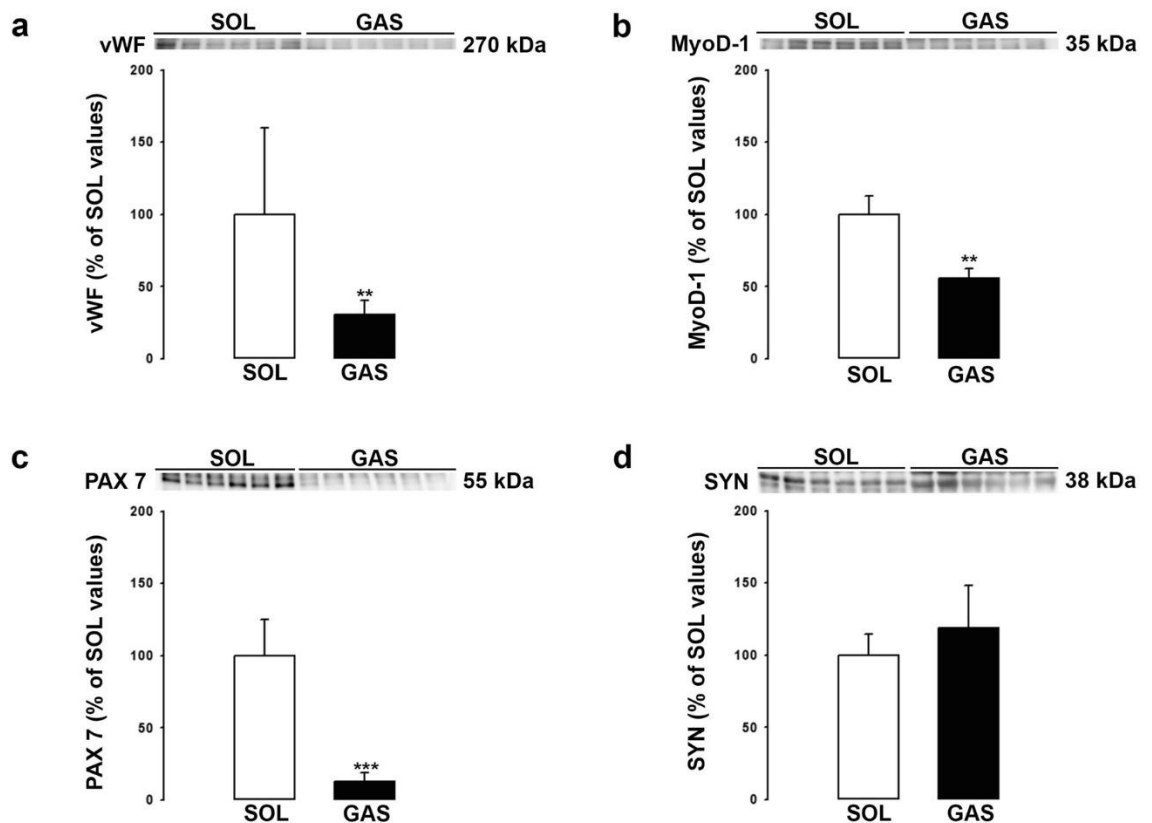


Figure 5. Cellular density of specific markers of endothelial (vWF), satellite (MyoD-1/PAX 7) cells and axonal processes of motor neurons (SYN). Expression of vWF (270 kDa, **a**), MyoD-1 (35 kDa, **b**), PAX 7 (55 kDa, **c**) and SYN (38 kDa, **d**) were determined in SOL and GAS muscles of control rats ($n=6$ per group) by Western blotting method. Results are expressed as percentage of SOL muscle values (means \pm SD). ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ versus SOL muscle. Representative immunoblots of each marker are shown above bar chart.

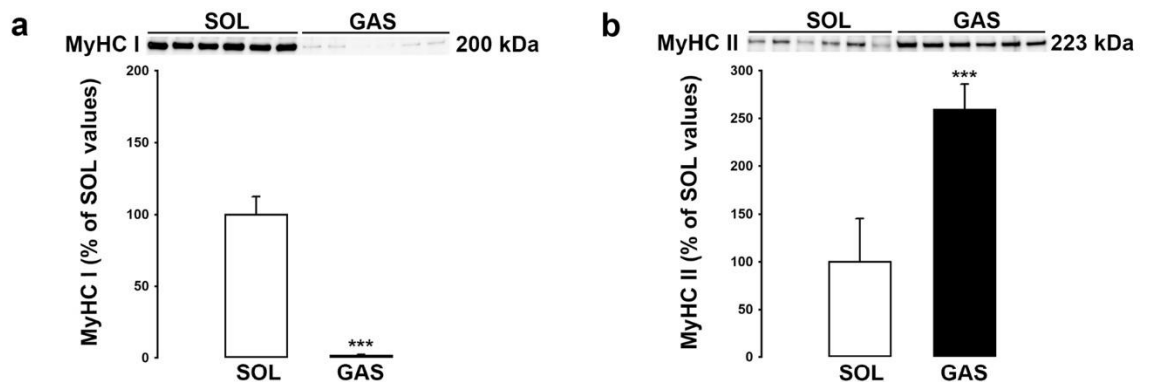


Figure 6. Expressions of slow-type (MyHC I) and fast-type fibers (MyHC II) in soleus (SOL) and gastrocnemius (GAS) muscles. Expression of MyHC I (200 kDa, **a**) and MyHC II (223 kDa, **b**) were determined in SOL and GAS muscles of control rats ($n=6$ per group) by Western blotting method. Results are expressed as percentage of SOL muscle values (means \pm SD). *** $p < 0.001$ versus SOL muscle. Representative immunoblots of each marker are shown above bar chart.

Activated TrkB levels in muscles. As shown in Fig. 7, levels of activated TrkB receptors (p-TrkB^{Tyr816}) were higher in SOL than GAS and a correlation was found between BDNF and p-TrkB^{Tyr816} indicating that cellular BDNF secretion was in proportion with BDNF levels. We then explored localization of p-TrkB^{Tyr816} receptors. Immunohistochemical experiments were conducted using antibodies directed against activated TrkB receptors (i.e. FL TrkB receptors activated by BDNF) since antibodies directed against TrkB receptors detect both truncated (incomplete receptor devoid of tyrosine kinase activity) and FL TrkB receptors. As shown in Fig. 7c, these

receptors were easily detectable in endothelial cells. By contrast, it was rather difficult to detect their presence in other cell types thus making of endothelial cells a major recipient cell of secreted BDNF.

Discussion

The present study is the first to provide a comprehensive analysis of BDNF localization in skeletal muscle. The main results are that (i) muscular fibers, satellite cells, motor neurons (axonal processes) and endothelial cells simultaneously express BDNF, yet with a prominent expression by endothelial cells and a more pronounced BDNF expression by type II than type I muscular fibers, (ii) that the muscular expression of activated TrkB receptor is preponderantly attributable to endothelial cells as compared to other cells.

BDNF localization in the skeletal muscle has not been extensively studied. This is surprising as the first detection of BDNF mRNA in skeletal muscle was reported in 1993⁶. In fact, we had to wait for the availability of anti-BDNF antibodies to advance research in this field. However, available studies on the localization of BDNF protein led to controversial data. The present study showed that myofibers, satellite cells and axonal processes constitutively expressed BDNF irrespective of the muscle type and that BDNF expression was higher in type II than type I fibers^{17,18}. The new finding provided by the present study is the identification of endothelial cells as an important and still unidentified source of BDNF in muscles. Such endothelial BDNF expression in basal conditions likely explains why oxidative muscle exhibits higher BDNF levels than glycolytic muscles despite the higher expression of BDNF by type II fibers¹⁹. It is noteworthy that BDNF staining in endothelial cells contrasts with a previous study that fails to detect BDNF mRNA in endothelial cells within muscle⁸. In the same way, differential BDNF staining between type I versus type II myofibers contrast with the detection of a higher mRNA BDNF expression in the former. Such discrepancies between mRNA and proteins were previously reported in muscle^{18,19}.

TrkB receptors including FL receptors that are equipped with kinase activity and truncated receptors that are devoid of kinase activity are both present in skeletal muscle. The binding of BDNF to FL TrkB receptors and their subsequent phosphorylation has been recently involved in the local effect of muscular BDNF^{20–22}. The present study reported the presence of activated TrkB receptors in basal conditions, indicating that there is constitutive secretion of active BDNF by cells. Furthermore, the positive correlation that was identified between muscular BDNF levels and muscular activated TrkB receptors supports the notion that cellular BDNF secretion proportionate with cellular BDNF expression as previously reported for the brain²³. The localization of activated TrkB receptors on muscular fibers, axonal processes and satellite cells are in line with reports on the role of BDNF on beta oxidation of fatty acids⁷ and the switch from type I to type II fibers¹⁷, the stability of neuromuscular junction^{11,24} and regulation of satellite cell differentiation^{9,25}, respectively. However, the present study showed a prominent endothelial expression of activated TrkB receptors in basal conditions. The cellular source of BDNF involved in the activation of endothelial TrkB receptors might be endothelial cells themselves or neighboring cells including myofibers and satellite cells. The potential impact of activation of endothelial TrkB receptor activation is probably related to the production of nitric oxide (NO), identifying NO as an intermediate between BDNF and muscular function among which muscular metabolism and myogenic differentiation (for review^{26–28}).

Endothelial derived BDNF may also account for the elevation of blood BDNF levels in response to physical exercise. Indeed, we previously provide convincing arguments for a positive control of endothelial BDNF by shear stress and subsequent NO overproduction^{14–16,29}. Supporting this hypothesis, studies reported lower blood BDNF levels in sedentary than in physically active people³⁰ and lower levels in patients at vascular risk, i.e. suffering from endothelial dysfunction^{31–33}.

For authors that adhere to the notion that BDNF is a myokine considering that BDNF level elevation during or just after exercise corresponds to BDNF secreted by myofibers, the data presented in our study may lead to reinterpretation of changes in circulating BDNF observed in response to exercise.

In conclusion, our results identified for the first time endothelial cells as a main source of BDNF present in skeleton muscle. Further studies are needed to investigate whether BDNF derived from endothelial cells exerts autocrine, paracrine and/or endocrine role.

Methods

Animals. Experiments were carried out on 10 week-old Wistar rats (n = 14) according to the French Department of Agriculture guidelines (License 21-CAE-099) and approved by the local ethic committee (Ethics committee in animal experimentation, Grand campus Dijon, agreement number 105) and conform to ARRIVE guidelines. They conformed to the European convention for protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. The animals were housed five per cage, kept under a 12-h/12-h light/dark cycle and allowed ad libitum access to food and water. Rats were purchased from Janvier (Le Genest Saint Isle, France).

Collection of muscle samples. Thirty minutes before anesthesia [ketamine (75 mg/kg, Virbac, Carros, France)/xylazine (8 mg/kg Bayer, Leverkusen, Germany), i.p.], rats received a subcutaneous premedication [buprenorphine (0.05 mg/kg, Axiace, Pantin, France)]. Anesthetized animals were then transcardially perfused with saline during 5 min to flush out blood from all vasculature. Gastrocnemius (medial head of gastrocnemius, GAS) and Soleus (SOL) muscles were removed from the same paw of rats and quickly dissected on ice-cold glass slide, weighted and frozen at –80 °C until biochemistry analysis or fixed in 4% paraformaldehyde solution (4% PFA, 9713, VWR) for 48 h and embedded in paraffin until immunofluorescence analysis.

Biochemistry. Muscles were homogenized in 10 volumes of ice-cold lysis buffer [100 mmol/L Tris-HCl (pH 7.4), 150 mmol/L NaCl, 1 mmol/L EGTA, 1% triton X-100, 1% protease inhibitor cocktail (P8340, Sigma-Aldrich), 1% phosphatase inhibitor cocktail (P1066-8304, Fisher Scientific, only for the study of phosphorylated

Figure 7. Expression and localisation of p-TrkB^{Tyr816} in SOL and GAS muscles. Correlation with muscular BDNF expression. Expression of p-TrkB^{Tyr816} (140 kDa) was determined in SOL and GAS muscles of control rats (n = 6 per group) by Western blotting method. Results are expressed as percentage of SOL muscle values (means ± SD). *p < 0.05 versus SOL muscle. Representative immunoblot is shown above bar chart (a). The correlation (scatter plot) between muscular BDNF and p-TrkB^{Tyr816} was evaluated in SOL and GAS muscles. Values are expressed as arbitrary units (A.U.) and the correlation coefficient (r) as well as the probability (p) are displayed on graph (n = 12) (b). Immunostainings of p-TrkB^{Tyr816} and vWF were shown in SOL muscle. DAPI (blue) was used as nuclear marker, red-labelled immunofluorescence represented p-TrkB^{Tyr816} (first line) and green-labelled immunofluorescence, vWF (second line). Similar results were observed in all examinations (n = 4), (c). The insert shows with higher magnification the colocalization of p-TrkB^{Tyr816} with vWF in presence of DAPI. Scale bar 50 μm (10 μm, for the insert).

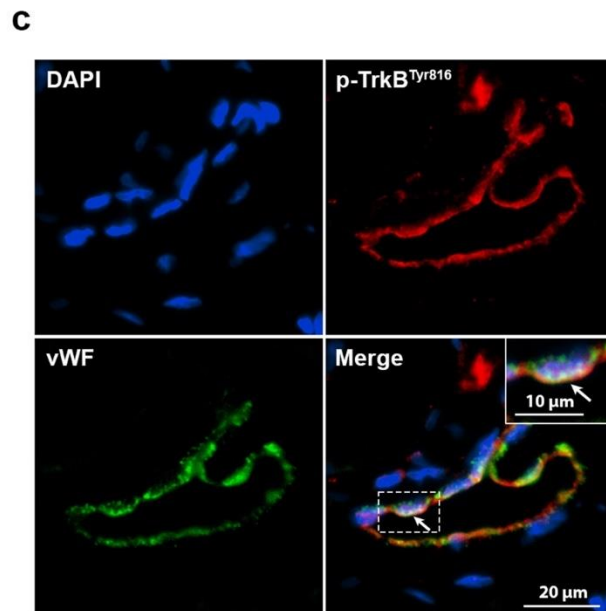
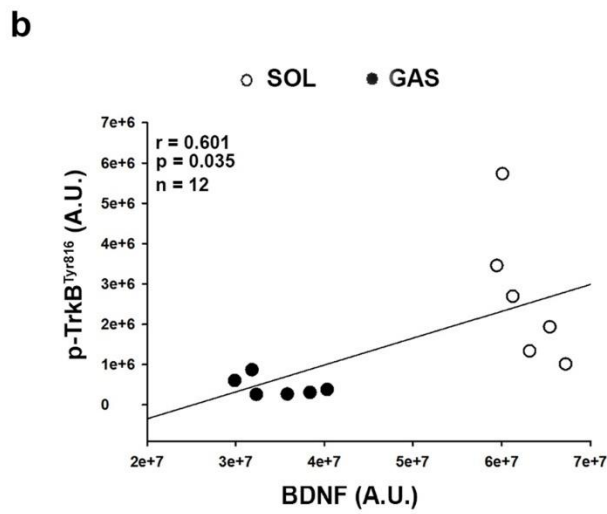
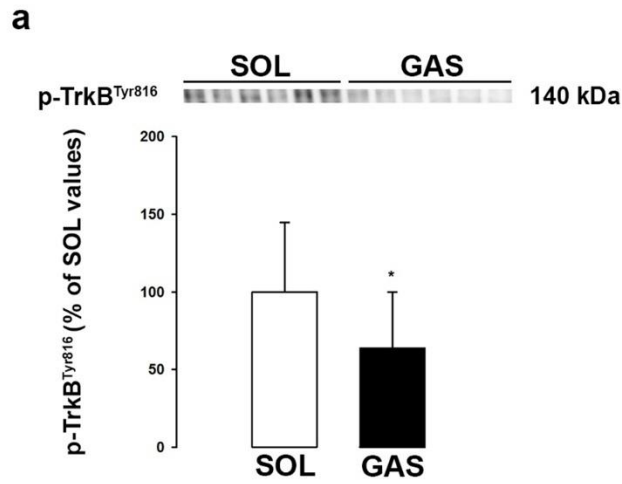
protein)] with ultraturrax (2 min) and ultrasonic sound (15 s). After homogenization, the protein concentration was measured using the Lowry method.

Elisa test. BDNF protein levels were determined with a commercial ELISA kit (BEK-2211-2P, Biosensis). According to the manufacturer, BDNF antibodies do not cross react with nerve growth factor (NGF), neurotrophin-3 (NT-3), NT-4/5. The limit of sensitivity was fixed at 2 pg/ml. The measurements were performed according to the manufacturer's instructions. Supernatants of muscles homogenates were directly dropped on the plate without dilution. All assays were performed in duplicate.

Western blot. Equal amounts of protein were loaded on sodium dodecyl sulfate–polyacrylamide (SDS-PAGE) TGX Stain-Free FastCast gel electrophoresis (TGX Stain-Free FastCast Acrylamide Kit, 7.5%, 161-0181 and 12%, 161-0185, Bio-Rad). According to BioRad protocol, after electrophoresis (30 min, 300 V), gels containing proteins were activated to UV light with Chemidoc imaging systems (12003153, Bio-Rad) using “Stain free gel activation (45 s)” program. Then, gels were electrophoretically transferred to polyvinylidene difluoride (PVDF) membranes at 1.3 A constant, up to 25 V using Turbo Transblot technology (1704150, Biorad). After blocking non-specific binding sites for 45 min, with a 5% solution of non-fat dry milk or 7.5% BSA in Tris Buffered Saline TBS (20 mM Tris/HCl, 137 mM NaCl, pH 7.4) containing 0.1% Tween 20 (TBST), membranes were probed with an anti-BDNF (1/3000, rabbit monoclonal, ab108319, Abcam), anti-vWF (1/2000, rabbit monoclonal, F3520, Sigma-Aldrich), anti-MyoD-1 (1/500, mouse monoclonal, ab16148, Abcam), anti-PAX 7 (1/2000, mouse monoclonal, ab218472, Abcam), anti-SYN (1/3000, rabbit polyclonal, RB-1461-P1, Interchim), anti-p-TrkB^{Tyr816} (1/1000, rabbit polyclonal, ABN1381, Millipore), anti-p-eNOS^{Ser1177} (1/1000, mouse monoclonal, 612,383, BD Biosciences) antibody for 1h30 at room temperature. Membranes were then incubated at room temperature (1 h) with horseradish peroxidase antibody [111-035-144 (anti-rabbit) or 115-035-166 (anti-mouse), 1/10000 to 1/50000 according to the protein, Jackson ImmunoResearch]. After antibody incubation, membranes were placed in Chemidoc imaging systems and a stain free image of the blot was captured to control the total protein loading and normalize data. Protein-antibody complexes were visualized using the enhanced chemiluminescence western blotting detection system (ECL 2, 1151-7371, Fisher Scientific) and Chemidoc imaging systems. Band densities were finally analyzed with ImageLab software (Bio-Rad) and standardized on total protein. The appropriate amounts of total proteins to be analyzed were previously determined from concentration (increasing amounts of proteins)/response (optical density of the band) curves from two rats both belonging to a particular group (on the same gel). All gels were run in triplicate.

Histology. Experiments were carried out in CellimaP corefacility, INSERM LNC-UMR1231, Dijon, France. Briefly, muscles collected in anaesthetized rats were fixed during 48 h in 4% PFA solution (9713, VWR) and dehydrated in alcohol baths according to this order: Ethanol 70° (1 bath of 30 min), Ethanol 95° (3 baths of 60 min) and finally, Ethanol 100° (3 baths of 60 min). Samples were then incubated in Methylcyclohexane (3 baths of 60 min) and embedded in paraffine (3 baths of 2 h). Every step was realized in a dehydration automaton (ASP300, Leica). Muscles sections (5-μm) were cut with a microtome (RM2245, Leica), collected on SuperFrost Plus slides (Thermo Fisher) and dried overnight at 45 °C.

Immunofluorescence. Slices were deparaffinized and rehydrated in different successive baths of xylene and ethanol, then washed in TBS. Heat-induced epitope retrieval was then realized in Sodium Citrate Buffer (Trisodium citrate, 10 mmol.L⁻¹, 0.1% Tween 20, pH 6.0) or Tris–EDTA Buffer (Tris 10 mmol.L⁻¹, EDTA 1 mmol.L⁻¹, 0.1% Tween 20, pH 9.0) in water bath during 20 min at 95 °C. After blockade of non-specific binding sites with TBST solution containing 3% of goat serum (GS) for 30 min at room temperature (RT), slides were first incubated overnight at 4 °C with TBST solution containing 1% of GS and specific antibody : anti-BDNF (1/200, rabbit, monoclonal, ab108319, Abcam), anti-Slow Skeletal Myosin Heavy Chain (1/200, mouse, monoclonal, ab11083, Abcam), anti-Fast Skeletal Myosin Heavy Chain (1/300, mouse, monoclonal, ab51263, Abcam), anti-Pax7 (1/50, mouse, monoclonal ab199010, Abcam), anti-Myo-D1 (1/50, mouse, monoclonal, ab16148, Abcam), anti-synaptophysin (1/200, mouse, monoclonal, MA1-213, Invitrogen, Carlsbad, CA, USA), anti-p-TrkB^{Tyr816} (1/200, rabbit, polyclonal, ABN1381, Millipore) or anti-vWF (1/200, mouse, monoclonal, US Biological, 142,828). Every immunofluorescence was realized with a negative control, i.e. slice without primary antibody, to visualize eventual nonspecific background staining and tissue autofluorescence. Muscle slices were then exposed to a couple of fluorescent secondary antibodies: Alexa Fluor 488 and 568 [A11029 (488 anti-mouse) and A11036 (568 anti-rabbit), or A11034 (488 anti-rabbit) and A11031 (568 anti-mouse), Molecular



Probes, Invitrogen], 1/1000 in TBST with 1% of GS, for 60 min at RT. Finally, slides were mounted with DAPI (a nuclear marker)-containing mounting medium (Fluoro-gel with DAPI, FP-DT094A, Interchim, Montluçon, France). For vWF + BDNF and Pax7 + BDNF co-staining, slides were treated with an autofluorescence quenching kit (Vector® TrueVIEW®, SP-8500, Vector Labs, Burlingame, CA, USA) prior to mounting with the DAPI-containing mounting medium of the kit. Slides were analyzed by using an epifluorescent microscope (Axioscop 40FL, Carl Zeiss, Oberkochen, Germany) and ProView v4.1 (Optika, Ponteranica, Italy).

Concerning immunostaining directed against BDNF, it is also important to notice that regarding some unspecific bands obtained in WB assessment, the fluorescent signal may represent some unspecific labelling. However, data obtained in mice with tie-2 conditional deletion of BDNF showing that BDNF staining totally disappears in the endothelium of these animals (see Fig. 4 of supplemental data files) comfort us in the reliability of the antibody used in our study.

Data and statistical analysis. SigmaPlot 14.0 was used for statistical analysis and all graphs. Data were expressed as means ± standard deviations (SD) for protein expression. Differences between two groups were assessed using parametric t-test or non-parametric Mann–Whitney test, depending on the normality and equal variance tests. T-test for Pearson's correlations were used to measure the strength of the relationship between paired data. A value of $p < 0.05$ was considered statistically significant.

Data availability

The data support the findings of this study are available from the corresponding author upon reasonable request.

Received: 16 July 2021; Accepted: 9 December 2021

Published online: 10 January 2022

References

1. Barde, Y. A., Edgar, D. & Thoenen, H. Purification of a new neurotrophic factor from mammalian brain. *EMBO J.* **1**, 549–553 (1982).
2. Begni, V., Riva, M. A. & Cattaneo, A. Cellular and molecular mechanisms of the brain-derived neurotrophic factor in physiological and pathological conditions. *Clin. Sci. (Lond.)* **131**, 123–138 (2017).
3. Kumar, A. *et al.* Regulatory role of NGFs in neurocognitive functions. *Rev. Neurosci.* **28**, 649–673 (2017).
4. Mowla, S. J. *et al.* Biosynthesis and post-translational processing of the precursor to brain-derived neurotrophic factor. *J. Biol. Chem.* **276**, 12660–12666 (2001).
5. Sasi, M., Vignoli, B., Canossa, M. & Blum, R. Neurobiology of local and intercellular BDNF signaling. *Pflugers Arch.* **469**, 593–610 (2017).
6. Koliatsos, V. E., Clatterbuck, R. E., Winslow, J. W., Cayouette, M. H. & Pines, D. L. Evidence that brain-derived neurotrophic factor is a trophic factor for motor neurons in vivo. *Neuron* **10**, 359–367 (1993).
7. Matthews, V. B. *et al.* Brain-derived neurotrophic factor is produced by skeletal muscle cells in response to contraction and enhances fat oxidation via activation of AMP-activated protein kinase. *Diabetologia* **52**, 1409–1418 (2009).
8. Liem, R. S., Brouwer, N. & Copray, J. C. Ultrastructural localisation of intramuscular expression of BDNF mRNA by silver-gold intensified non-radioactive in situ hybridisation. *Histochem. Cell Biol.* **116**, 545–551 (2001).
9. Colombo, E. *et al.* Autocrine and immune cell-derived BDNF in human skeletal muscle: Implications for myogenesis and tissue regeneration. *J. Pathol.* **231**, 190–198 (2013).
10. Mousavi, K. & Jasmin, B. J. BDNF is expressed in skeletal muscle satellite cells and inhibits myogenic differentiation. *J. Neurosci.* **26**, 5739–5749 (2006).
11. Hurtado, E. *et al.* Muscle contraction regulates BDNF/TrkB signaling to modulate synaptic function through presynaptic cPKC α and cPKC β I. *Front. Mol. Neurosci.* **10**, 147 (2017).
12. Halievski, K. *et al.* Muscle BDNF improves synaptic and contractile muscle strength in Kennedy's disease mice in a muscle-type specific manner. *J. Physiol.* **598**, 2719–2739 (2020).
13. Garcia, N. *et al.* Localization of brain-derived neurotrophic factor, neurotrophin-4, tropomyosin-related kinase b receptor, and p75 NTR receptor by high-resolution immunohistochemistry on the adult mouse neuromuscular junction. *J. Peripher. Nerv. Syst.* **15**, 40–49 (2010).
14. Monnier, A. *et al.* Brain-derived neurotrophic factor of the cerebral microvasculature: A forgotten and nitric oxide-dependent contributor of brain-derived neurotrophic factor in the brain. *Acta Physiol. (Oxf.)* **219**, 790–802 (2017).
15. Cefis, M. *et al.* Brain-derived neurotrophic factor is a full endothelium-derived factor in rats. *Vascul. Pharmacol.* **128–129**, 106674 (2020).
16. Marie, C. *et al.* Brain-derived neurotrophic factor secreted by the cerebral endothelium: A new actor of brain function?. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* **38**, 935–949 (2018).
17. Delezie, J. *et al.* BDNF is a mediator of glycolytic fiber-type specification in mouse skeletal muscle. *PNAS* **116**, 16111–16120 (2019).
18. Just-Borràs, L. *et al.* Overview of impaired BDNF signaling, their coupled downstream serine-threonine kinases and SNARE/SM complex in the neuromuscular junction of the amyotrophic lateral sclerosis model SOD1-G93A mice. *Mol. Neurobiol.* **56**, 6856–6872 (2019).
19. Ogborn, D. I. & Gardiner, P. F. Effects of exercise and muscle type on BDNF, NT-4/5, and TrkB expression in skeletal muscle. *Muscle Nerve* **41**, 385–391 (2010).
20. Gonzalez, M. *et al.* Disruption of Trkb-mediated signaling induces disassembly of postsynaptic receptor clusters at neuromuscular junctions. *Neuron* **24**, 567–583 (1999).
21. Kulakowski, S. A., Parker, S. D. & Personius, K. E. Reduced TrkB expression results in precocious age-like changes in neuromuscular structure, neurotransmission, and muscle function. *J. Appl. Physiol. (1985)* **111**, 844–852 (2011).
22. Dorsey, S. G. *et al.* Genetic deletion of trkB.T1 increases neuromuscular function. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* **302**, C141–C153 (2012).
23. Banoujaafar, H. *et al.* Brain BDNF levels are dependent on cerebrovascular endothelium-derived nitric oxide. *Eur. J. Neurosci.* **44**, 2226–2235 (2016).
24. Mantilla, C. B., Greising, S. M., Stowe, J. M., Zhan, W.-Z. & Sieck, G. C. TrkB kinase activity is critical for recovery of respiratory function after cervical spinal cord hemisection. *Exp. Neurol.* **261**, 190–195 (2014).
25. Clow, C. & Jasmin, B. J. Brain-derived neurotrophic factor regulates satellite cell differentiation and skeletal muscle regeneration. *Mol. Biol. Cell* **21**, 2182–2190 (2010).

26. Kobayashi, J. *et al.* Molecular regulation of skeletal muscle mass and the contribution of nitric oxide: A review. *FASEB BioAdvances* **1**, 364–374 (2019).
27. Tengan, C. H., Rodrigues, G. S. & Godinho, R. O. Nitric oxide in skeletal muscle: Role on mitochondrial biogenesis and function. *Int. J. Mol. Sci.* **13**, 17160–17184 (2012).
28. Stamler, J. S. & Meissner, G. Physiology of nitric oxide in skeletal muscle. *Physiol. Rev.* **81**, 209–237 (2001).
29. Prigent-Tessier, A. *et al.* Physical training and hypertension have opposite effects on endothelial brain-derived neurotrophic factor expression. *Cardiovasc. Res.* **100**, 374–382 (2013).
30. Szuhany, K. L., Bugatti, M. & Otto, M. W. A meta-analytic review of the effects of exercise on brain-derived neurotrophic factor. *J. Psychiatr. Res.* **60**, 56–64 (2015).
31. Sustar, A., Perkovic, M. N., Erjavec, G. N., Strac, D. S. & Pivac, N. Association between reduced brain-derived neurotrophic factor concentration & coronary heart disease. *Indian J. Med. Res.* **150**, 43–49 (2019).
32. Lee, I.-T. *et al.* Assessment of glomerular filtration rate based on alterations of serum brain-derived neurotrophic factor in type 2 diabetic subjects treated with amlodipine/benazepril or valsartan/hydrochlorothiazide. *Dis. Mark.* **2015**, 780743 (2015).
33. Chen, K., Zhou, M., Wang, X., Li, S. & Yang, D. The role of myokines and adipokines in hypertension and hypertension-related complications. *Hypertens Res.* **42**, 1544–1551 (2019).

Author contributions

A.T., P.G., C.M. initialized the project. M.C., R.C., C.S. and A.Q. performed the research and conducted the statistical analysis. All authors prepared the manuscript and contributed to the critical revision of the manuscript.

Competing interests

The authors declare no competing interests.

Additional information

Supplementary Information The online version contains supplementary material available at <https://doi.org/10.1038/s41598-021-03740-8>.

Correspondence and requests for materials should be addressed to A.P.-T.

Reprints and permissions information is available at www.nature.com/reprints.

Publisher's note Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Open Access This article is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License, which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons licence, and indicate if changes were made. The images or other third party material in this article are included in the article's Creative Commons licence, unless indicated otherwise in a credit line to the material. If material is not included in the article's Creative Commons licence and your intended use is not permitted by statutory regulation or exceeds the permitted use, you will need to obtain permission directly from the copyright holder. To view a copy of this licence, visit <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>.

© The Author(s) 2022

PARTIE IV : DISCUSSION ET PERSPECTIVES

Nos travaux portant sur l'impact de l'EMS sur la cognition **1)** montrent que l'application chronique d'un protocole de STIM impliquant une grande masse musculaire, conduisant à des lésions musculaires substantielles, a été associée à un effet délétère sur la signalisation du BDNF et l'expression des protéines synaptiques dans l'hippocampe du rat, **2)** révèlent que l'EMS aiguë appliquée au quadriceps peut stimuler les expressions de BDNF et des protéines synaptiques dans l'hippocampe chez le rat, vraisemblablement de manière dépendante du lactate et indépendamment de l'irisine, de la voie neuronale et hémodynamique, **3)** dévoilent un impact bénéfique de l'EMS aiguë appliquée au quadriceps sur la fonction exécutive et l'humeur sans affecter la fonction mnésique chez des individus sains.

1. EFFETS NÉFASTES DU PROTOCOLE DE STIM

Notre étude a révélé un effet néfaste du protocole chronique de STIM appliquée au niveau des racines nerveuses lombaires sur la signalisation du BDNF (p-TrkB, p-Erk) et l'expression des protéines synaptiques (PSD-95, GAP-43, SYP) sans induire d'élévation des marqueurs d'apoptose (CytC, Cas3, BCL-xl) et de la réactivité astrocytaire (GFAP). La réduction de l'activation de TrkB sans modification de l'expression de BDNF pourrait s'expliquer par une élévation de l'expression de p75^{NTR}. En effet, bien que le BDNF est connu pour se lier avec une haute affinité au récepteur TrkB ($K_d = 10^{-11}$), il peut également se lier avec une faible affinité au récepteur p75^{NTR} ($K_d = 10^{-9}$ M) (Rodriguez-Tébar *et al*, 1990). Ainsi, une élévation substantielle de l'expression de p75^{NTR} pourrait alors induire un effet de concurrence avec le récepteur TrkB pour la liaison du BDNF. Alors que la signalisation de TrkB conduit à des signaux pro-neurotrophiques via l'activation d'Erk et de la PLC γ 1, la signalisation de p75^{NTR} peut conduire à des signaux anti-neurotrophiques par une voie de signalisation encore inconnu (Lu *et al*, 2005). Ainsi, il sera important d'évaluer à l'avenir l'expression de p75^{NTR} et l'activation de la PLC γ 1 en réponse au protocole de STIM.

L'effet négatif du protocole de STIM sur la signalisation du couple BDNF/TrkB était associé à d'importantes lésions musculaires évaluée dans le muscle soléaire par des colorations H&E et par l'expression de la Cas3. Ainsi, nous avons émis l'hypothèse qu'une perturbation de l'homéostasie musculaire induite par la STIM pourrait s'accompagner d'un effet néfaste sur la santé cérébrale. À l'appui de cette hypothèse, il a été montré que les lésions musculaires induites par le gel au muscle tibial antérieur sous anesthésie isoflurane ont

entraîné une altération de la mémoire spatiale évaluée par le Y-maze et de la mémoire épisodique mesurée par un test de reconnaissance d'objet sans changement de comportement dans le test de l'open field (Guéniot *et al*, 2020). Par ailleurs, il a été montré que les athlètes souffrants de troubles musculosquelettiques présentent de moins bonnes performances au test Match-to-Sample consistant à évaluer l'apprentissage et la mémoire de travail (Hutchison *et al*, 2011). De même, d'autres études cliniques et pré-cliniques ont rapporté que les dystrophies musculaires et l'atrophie musculaire peuvent être associées à des déficits cognitifs, une moindre neurogenèse hippocampique, une réduction de la complexité dendritique ou encore une baisse de l'expression du BDNF dans l'hippocampe (Seznec *et al*, 2001; Anderson *et al*, 2002; Nagase & Tohda, 2021; Berezovskaya *et al*, 2021; Hayward *et al*, 2022; Nemoto *et al*, 2022; Tessier *et al*, 2022). Dans l'ensemble, ces données, combinées aux résultats de notre recherche, suggèrent fortement que la perte d'intégrité musculaire résultant d'une lésion, d'une dystrophie ou d'une atrophie pourrait entraîner des répercussions néfastes sur la santé cérébrale.

De manière intrigante, il a été montré qu'une lésion musculaire induite par le gel au muscle tibial antérieur entraîne une élévation de la réactivité microgliale et une réduction de la complexité microgliale dans le cortex frontal et les noyaux gris centraux à la suite des lésions musculaires induites par le gel (Guéniot *et al*, 2020). Bien que microglies sont habituellement décrites comme de simples cellules immunitaires du cerveau, les données récentes indiquent qu'elles sont nécessaires à la formation et à la plasticité synaptique (Chung *et al*, 2015). De plus, la perte de BDNF microgliale chez la souris induit des altérations de l'apprentissage moteur (Parkhurst *et al*, 2013). Par conséquent, il sera crucial à l'avenir d'évaluer l'expression d'IBA1, un marqueur de la réactivité microgliale, en réponse au protocole de STIM. Il est plausible que les lésions musculaires entraînent une inflammation systémique induisant une neuroinflammation. Par exemple, une inflammation périphérique induite chez l'animal par l'injection systémique de lipopolysaccharides (LPS), d'entoxine ou par la sepsis altère la cognition, la fonction synaptique et l'expression du BDNF (Semmler *et al*, 2007; Schnydrig *et al*, 2007; Bossù *et al*, 2012; Dhanda *et al*, 2018). Cette inflammation systémique peut se traduire par une augmentation des taux circulants de cytokines pro-inflammatoires, observée également après un EX intense, mais non modéré, ou chez les patients atteints de dystrophie musculaire (Nieman *et al*, 2001; Cerqueira *et al*, 2020; Riddell *et al*, 2022). En plus de traverser la BHE, ces cytokines peuvent altérer sa perméabilité en induisant des lésions au niveau des jonctions serrées de l'endothélium cérébral (Banks *et al*, 1995; Yarlagadda *et al*, 2009), favorisant potentiellement la pénétration de cellules inflammatoires telles que les lymphocytes T et les macrophages (Marchetti & Engelhardt, 2020). Ceci pourrait contribuer au processus de neuroinflammation et à l'altération de la fonction synaptique. Ainsi, il serait pertinent dans

le futur d'évaluer les taux de cytokines pro-inflammatoires au niveau musculaire, sérique et hippocampique, en utilisant une approche multiplex.

L'altération de l'intégrité musculaire, engendrée par la STIM, a potentiellement induit des perturbations au niveau de la voie endocrine en favorisant la sécrétion de facteurs néfastes par le muscle squelettique, pouvant exercer des effets sur le cerveau. En effet, la perméabilisation du sarcolemme et des membranes mitochondriales en réponse aux lésions musculaires induites par la STIM peut entraîner la libération de protéines intracellulaires dans la circulation sanguine, dont la plus connue est la créatine kinase (CK) (Baird *et al*, 2012). Parmi ces protéines, certaines pourraient franchir la BHE, favorisant ainsi la neuroinflammation et altérant la fonction synaptique. La réalisation d'une analyse protéomique et métabolomique aurait été particulièrement intéressante pour identifier une molécule candidate. Par ailleurs, les lésions musculaires peuvent induire la dégradation de protéines et d'enzymes essentielles au fonctionnement de certaines voies métaboliques. Par exemple, des études sur des modèles animaux de dystrophie musculaire de Duchenne ont mis en évidence des altérations dans le métabolisme de la kynurénine, caractérisées par une réduction des niveaux d'acide kynurénique circulant et un rapport acide kynurénique/kynurénine diminué (Copeland *et al*, 2022). L'acide kynurénique, possédant des propriétés neuroprotectrices, se révèle incapable de franchir la BHE, tandis que la kynurénine, dotée de propriétés neurotoxiques, peut la traverser, entraînant ainsi une diminution de l'expression des protéines synaptiques (Cervenka *et al*, 2017). Ainsi, il serait pertinent dans le futur d'évaluer le métabolisme de la kynurénine à travers le dosage du rapport acide kynurénique/kynurénine en réponse au protocole de STIM.

Alors que certains auteurs ont formulé l'hypothèse que les lésions musculaires pourraient constituer un mécanisme de sécrétion de myokines (Bao *et al*, 2022), il est également possible qu'à l'inverse, les lésions musculaires induites par le protocole de STIM pourraient potentiellement compromettre la sécrétion de myokines. Cependant, nos recherches ont révélé une augmentation significative de l'expression de FNDC5/Irisine dans le muscle soléaire, malgré la présence d'importantes lésions induites par le protocole de STIM. De manière intéressante, les niveaux circulants d'irisine n'ont pas montré de diminution en réponse au protocole de STIM. Dans le cadre du protocole d'EMS qui a provoqué moins de lésions musculaires que la STIM, nous avons également observé une augmentation de l'expression musculaire de FNDC5/Irisine sans altération des taux circulants d'irisine. Ainsi, il semble que les lésions musculaires induites par la STIM n'aient pas exercé d'effet discernable sur la sécrétion d'irisine par le muscle squelettique. Il serait particulièrement instructif à l'avenir d'explorer l'impact de ce protocole de STIM sur la sécrétion d'autres myokines, telles que la

CTSB et l'IGF-1, afin de déterminer si les lésions musculaires induites par le protocole sont associées à des perturbations dans la sécrétion globale de myokines.

Les douleurs musculaires résultant des lésions musculaires provoquées par la STIM peuvent également contribuer aux effets indésirables de celle-ci. En effet, les terminaisons nerveuses nociceptives des muscles squelettiques réagissent à la libération d'ATP due à la perméabilisation du sarcolemme, à l'inflammation musculaire, aux variations de pH et de température musculaire (Mense, 2003). Diverses études cliniques et précliniques ont mis en lumière le lien entre les douleurs chroniques, l'émergence de comportements anxieux, et une altération de la fonction cognitive (Mense, 2008). L'amygdale se positionne comme une région cérébrale clé dans la dimension émotionnelle-affective de la douleur (Neugebauer, 2015). Plus spécifiquement, les douleurs chroniques entraînent une perturbation des neurotransmissions inhibitrices GABAergiques, induisant une hyperactivité de l'amygdale due à un déséquilibre entre les circuits inhibiteurs et excitateurs (Neugebauer, 2015). L'amygdale est étroitement interconnectée avec d'autres régions cérébrales, telles que le cortex préfrontal et l'hippocampe (Marek *et al*, 2013; Yang & Wang, 2017). Dans le contexte des douleurs chroniques, il a été démontré que la suractivation de l'amygdale conduit à une inhibition du cortex préfrontal, entraînant ainsi une diminution du contrôle inhibiteur (Neugebauer, 2015). Pris dans leur ensemble, il est plausible que les douleurs musculaires induites par la STIM aient pu engendrer une suractivation de l'amygdale, avec des conséquences néfastes sur d'autres structures cérébrales, telles que l'hippocampe, via leurs connexions. Par conséquent, il aurait été pertinent d'évaluer l'expression de c-fos, un marqueur de l'activité neuronale, dans l'amygdale en réponse à la STIM.

Par ailleurs, le protocole de STIM induisant des douleurs musculaires peut être interprété comme une menace par les animaux, suscitant une réaction physiologique de stress caractérisée par la production de corticostérone (Hannibal & Bishop, 2014). En conditions normales, la corticostérone favorise la consolidation des souvenirs liés à la peur, essentiels à l'évitement des dangers et à la survie (Lesuis *et al*, 2018). De plus, la corticostérone agit comme un puissant anti-inflammatoire (Coutinho & Chapman, 2011). Cependant, dans des situations de stress prolongé et excessif, la sécrétion de corticostérone par les glandes surrénales devient excessive. La corticostérone peut traverser la BHE et, une fois dans le cytoplasme, se lie à deux types de récepteurs différents : le récepteur minéralocorticoïde (MR) ou le récepteur glucocorticoïde (GR) (Sorrells *et al*, 2009). Lorsqu'ils ne sont pas activés, ces récepteurs sont associés à des protéines de choc thermique (HSP). Lors de la liaison à la corticostérone, ils subissent une homodimérisation, se libèrent de leurs chaperons HSP, et migrent vers le noyau cellulaire où ils régulent la transcription génique. L'affinité de la

corticostérone pour le MR est environ dix fois supérieure à celle pour le GR. En situation normale, le MR est principalement occupé par les niveaux basaux de corticostérone, tandis que le GR est fortement sollicité uniquement en cas de stress modéré à sévère. Étant donné que les signaux du MR et du GR peuvent entraîner des effets transcriptionnels différents, les niveaux de corticostérone, tant basaux qu'en réponse à un stress excessif, peuvent entraîner des effets divergents, voire opposés (Sorrells *et al*, 2009). Par exemple, tandis que des niveaux basaux à faibles de corticostérone améliorent des aspects tels que le taux de perfusion cérébrale, l'utilisation du glucose, l'excitabilité synaptique de l'hippocampe et l'apprentissage dépendant de l'hippocampe, des niveaux physiologiques plus élevés de corticostérone ont des effets inverses dans ces domaines (Sorrells *et al*, 2009). Dans ce contexte, il serait pertinent d'évaluer les taux circulants de corticostérone en réponse au protocole de STIM, ainsi que l'expression des récepteurs MR et GR dans l'hippocampe.

2. EFFETS POSITIFS DU PROTOCOLE D'EMS

Après avoir constaté les effets indésirables du protocole chronique de STIM, nous avons entrepris le développement d'un modèle d'EMS visant à atténuer les altérations musculaires. Pour ce faire, plusieurs stratégies ont été mises en œuvre. Tout d'abord, nous avons introduit une séance de familiarisation à l'EMS. En effet, des études chez l'Homme ont démontré que les douleurs musculaires sont moins prononcées lors d'une séance d'EMS précédée d'une session de familiarisation ou précédée par un pré-conditionnement avec des contractions volontaires excentriques (Nosaka *et al*, 2011). Ce phénomène, connu sous le nom de « repeated bout effect (RBE) » dans la littérature, pourrait être attribué à des adaptations neuronales, notamment une amélioration du turnover des unités motrices facilitant une répartition plus efficace de la contrainte mécanique sur un plus grand nombre d'unités motrices lors de la contraction, des modifications dans le comportement mécanique de la jonction myotendineuse, réduisant la transmission des contraintes mécaniques aux faisceaux musculaires, et un remodelage rapide de la matrice extracellulaire, améliorant la protection des fibres musculaires contre les contraintes mécaniques (Hyldahl *et al*, 2017).

En deuxième lieu, nous avons réduit la charge de travail imposée au muscle squelettique. Les lésions musculaires résultant des contractions proviennent des contraintes mécaniques exercées sur le muscle, de la perturbation de l'homéostasie calcique, et de l'ischémie due à la compression des vaisseaux sanguins pendant les contractions musculaires tétaniques (Proske & Morgan, 2001; Gissel, 2005; STOŽER *et al*, 2020). Ceci entraîne le déchirement des sarcomères, l'activation des calpaines, des phospholipases, et la production

de radicaux libres conduisant à la perméabilisation du sarcolemme et des membranes mitochondriales, ainsi qu'à l'activation des processus d'apoptose. Par conséquent, nous avons ajusté l'intensité de stimulation (STIM : 70-80 mA, EMS : 20 mA en fin de session) pour réduire les contraintes mécaniques appliquées au muscle. Nous avons également modifié le rapport ON/OFF (STIM : 6 s ON / 3 s OFF, EMS : 7 s ON / 14 s OFF) afin de réduire le volume de travail (STIM : 200 contractions, EMS : 80 contractions) et diminuer le temps total d'ischémie lié à la contraction tétanique (STIM : 1200 s de contraction, EMS : 560 s de contraction).

En troisième lieu, nous avons réduit la masse musculaire engagée (STIM : ensemble des pattes postérieures de l'animal, EMS : uniquement le muscle quadriceps) pour éviter d'induire des lésions sur une quantité excessive de masse musculaire. Pour cela, nous avons transitionné de la stimulation des racines nerveuses lombaires (neurostimulation) à la stimulation du muscle quadriceps (myostimulation). Ce choix, pertinent d'un point de vue translationnel, s'explique par la difficulté de reproduire chez l'Homme la neurostimulation transcutanée des racines nerveuses, contrairement à la myostimulation du quadriceps, fréquemment utilisée en recherche et en clinique. Cependant, ce changement engendre différentes répercussions physiologiques. Par exemple, une moindre masse musculaire engagée peut entraîner une réduction des afférences musculaires. De plus, des études ont démontré que l'élévation du DSC en réponse à l'EX dépend de la masse musculaire engagée ([Montalvo et al, 2022](#)). De manière similaire, il a été rapporté que l'élévation du BDNF circulant en réponse à l'EMS chez l'Homme est dépendante de la masse musculaire engagée ([Nishikawa et al, 2023](#)). Par extension, on peut envisager que la sécrétion de myokines telles que l'irisine pourrait également dépendre de la masse musculaire engagée. Ainsi, la réduction de la masse musculaire engagée pourrait influencer sur l'activation des voies neuronales, hémodynamiques et endocrines.

Les modifications apportées entre le protocole de STIM et le protocole d'EMS se sont avérées efficaces pour réduire les dommages musculaires. En effet, les analyses de coloration H&E ont révélé une infiltration minimale de cellules inflammatoires, et l'expression de Cas3 n'a pas augmenté en réponse à l'EMS, contrairement au protocole de STIM. La diminution des lésions musculaires provoquées par l'EMS a également été associée à une augmentation de l'expression de BDNF dans l'hippocampe. Des études antérieures avaient déjà signalé des résultats similaires en utilisant des protocoles de stimulation, à la fois aigus et chroniques, tels que la FES, appliquée au nerf sciatique (neurostimulation) ou aux muscles biceps et triceps brachial (myostimulation) ([Ke et al, 2011a](#); [Lin et al, 2015c](#); [Dalise et al, 2017](#); [Maekawa et al, 2018](#)). De plus, d'autres recherches ont rapporté une augmentation de l'expression génique du BDNF dans l'hippocampe chez des animaux sains 2 à 6 h après un EX aigu sur tapis roulant

(Rasmussen *et al*, 2009), ce qui coïncide avec nos résultats obtenus à la suite du protocole d'EMS.

Il est important de souligner que l'élévation de l'expression de BDNF induite par l'EMS dans l'hippocampe était associée à une augmentation de l'expression de plusieurs protéines synaptiques telles que PSD-95 et GAP-43, sans modifier l'expression de SYP. Ces données suggèrent que l'EMS améliore principalement la structure postsynaptique ainsi que le développement des synapses immatures. En complément de l'analyse de l'expression des protéines synaptiques, il aurait été pertinent d'évaluer l'impact de notre protocole d'EMS sur la plasticité synaptique (LTP) et la complexité dendritique dans le gyrus denté à l'aide de techniques électrophysiologiques et de microscopie. De plus, des rapports antérieurs indiquent que des améliorations de la fonction synaptique dans l'hippocampe en réponse à l'EX peuvent être associées à des améliorations de la mémoire (Fernandes *et al*, 2016). L'utilisation de tests comportementaux tels que la piscine de Morris aurait été pertinente pour évaluer si l'augmentation du BDNF et des protéines synaptiques en réponse à l'EMS s'accompagne de modifications comportementales chez le rat.

Par ailleurs, le BDNF joue un rôle crucial en tant que régulateur de la neurogenèse hippocampique induite par l'EX. Bien que la formation de nouveaux neurones nécessite 4 à 5 semaines, seulement 3 jours d'EX volontaire suffisent pour stimuler la prolifération des NSPCs (Kronenberg *et al*, 2006; Van der Borght *et al*, 2009; Brandt *et al*, 2010). Ainsi, il est plausible que notre protocole d'EMS puisse également stimuler la prolifération cellulaire, généralement évaluée par le nombre de cellules positives pour Ki67. Cependant, des recherches antérieures ont indiqué que la neurostimulation chronique du nerf sciatique (8 semaines, 2 sessions par semaine) ne stimule pas la neurogenèse hippocampique chez la souris, mais favorise la formation d'astrocytes (Gardner *et al*, 2020). Ainsi, il pourrait être intéressant à l'avenir d'évaluer l'effet chronique de notre protocole d'EMS sur la neurogenèse et la gliogenèse dans l'hippocampe.

La source cellulaire surexprimant le BDNF n'a pas été investiguée au cours de cette thèse. Les résultats indiquent une absence d'élévation de l'activité neuronale dans l'hippocampe, évaluée par l'expression de c-fos, ainsi que l'absence de modifications du shear stress, étudié par l'expression de p-eNOS^{Ser1177}, suggérant que ni les neurones ni les cellules endothéliales cérébrales ne surexpriment le BDNF en réponse à l'EMS. Néanmoins, les neurones et les cellules endothéliales expriment les isoformes de haute affinité au lactate, MCT2 et MCT1, respectivement (Kitaoka *et al*, 2012). De manière intéressante, nous avons observé que l'élévation de BDNF était positivement corrélée à l'élévation de la lactatémie en réponse à l'EMS. Ainsi, il est possible que les neurones et les cellules endothéliales

surexpriment le BDNF de manière dépendante du lactate. En outre, comme mentionné précédemment, la neurostimulation du nerf sciatique favorise la formation d'astrocytes (Gardner *et al*, 2020). Par conséquent, il est pertinent de se demander si les astrocytes pourraient surexprimer le BDNF en réponse à l'EMS. En effet, ces cellules ont la capacité d'internaliser le proBDNF et de le convertir en BDNF (Vignoli *et al*, 2021), ce qui pourrait expliquer l'élévation drastique des taux protéiques de BDNF (+240 %), tandis qu'une augmentation plus modeste des ARNm de BDNF a été constatée (+110 %). En outre, des observations antérieures ont montré que l'EX entraîne une élévation de l'immunoréactivité du BDNF dans les cellules positives pour GFAP, un marqueur des astrocytes, démontrant la capacité de ces cellules à surexprimer le BDNF à la suite d'expériences comportementales. Bien que le rôle des astrocytes dans la fonction synaptique fasse encore l'objet de débats, de nombreuses preuves suggèrent qu'ils jouent un rôle direct dans la plasticité synaptique et le comportement (Santello *et al*, 2019). Par exemple, la greffe d'astrocytes humains chez des souris immunodéficientes a amélioré la LTP et la mémoire (Han *et al*, 2013). De plus, l'analyse du cerveau d'Albert Einstein, considéré comme un génie, a révélé que ses astrocytes étaient plus grands et plus complexes par rapport à des témoins (Colombo *et al*, 2006). Dans ce contexte, des analyses approfondies sont nécessaires pour déterminer quelles cellules hippocampiques surexpriment le BDNF en réponse à l'EMS et comprendre la signification cellulaire et comportementale de cette surexpression.

Après avoir constaté les effets bénéfiques de l'EMS sur la production de BDNF et de protéines synaptiques chez le rat, nous avons reproduits nos expériences chez des individus sains en bonne santé en utilisant le même matériel de stimulation, les mêmes paramètres de courants ainsi que le même design expérimental incluant une session de familiarisation et une session d'évaluation. Nous avons montré que l'EMS aiguë, appliquée au muscle quadriceps (intensité maximale supportable, 100 Hz, 0,4 ms, 7 s ON, 14 s OFF) entraînait une amélioration des performances à la tâche de Stroop. Cependant, il est important de noter que tandis que l'EX de type HIIT améliore les performances dans toutes les conditions de la tâche de Stroop (Ballester-Ferrer *et al*, 2022a), le protocole d'EMS que nous avons utilisé a montré des améliorations uniquement dans les conditions congruentes et incongruentes. De plus, l'EX aigu a un impact positif sur l'humeur, se traduisant par une réduction des scores d'anxiété, de dépression, de confusion et de colère (Yeung, 1996; Kennedy & Newton, 1997; Arent *et al*, 2000; Reed & Ones, 2006; Basso & Suzuki, 2017). En revanche, notre étude a révélé que l'EMS avait principalement un effet bénéfique sur le score d'anxiété, sans avoir d'incidence significative sur les autres aspects de l'humeur. Par ailleurs, bien que de nombreuses études aient rapporté que l'EX améliore la capacité de rappel de listes de mots et la performance à la figure de Rey (Brown *et al*, 2012; Aghjayan *et al*, 2022), l'EMS n'a pas démontré la même

capacité à améliorer ces fonctions mnésiques. Ainsi, nos résultats suggèrent que l'EMS aiguë reproduit que partiellement les bienfaits cérébraux de l'EX aigu. Des recherches futures devront être menées pour évaluer l'impact d'un protocole d'EMS chronique sur la fonction cérébrale chez l'Homme, en comparaison avec un protocole d'EX chronique.

De façon intéressante, nous sommes à notre connaissance, les premiers auteurs à montrer un effet positif de l'EMS sur le contrôle exécutif. En effet, d'autres études antérieures avaient conclu à l'absence d'impact de l'EMS sur divers tests évaluant la fonction exécutive, tels que la tâche de Stroop, la tâche Go/No Go et le test des cartes de Wisconsin ([Miyamoto et al, 2018b](#); [Ando, 2022](#)). Ces différences observées pourraient être attribuées au choix des protocoles expérimentaux utilisés. Ces études avaient employé des protocoles d'EMS à basse fréquence (4 Hz), provoquant des contractions musculaires ressenties comme de légères sensations de picotement cutané. Nous avons pour notre part opté pour un protocole de stimulation à haute fréquence (100 Hz) induisant des contractions musculaires tétaniques. Bien que nous ne l'ayons pas mesuré dans nos études, il est plausible que la différence de perception sensorielle des protocoles d'EMS à basse et haute fréquence conduise à de modifications différentes de l'éveil, avec un effet « relaxant » des secousses musculaires induites par les basses fréquences, et un effet « stimulant » des contractions tétaniques induites par les hautes fréquences. En accord avec cette hypothèse, il a été suggéré que l'EX aigu pourrait favoriser des améliorations cognitives en influençant le système d'éveil de manière dépendante de l'intensité ([Kuwamizu et al, 2022](#); [Yamazaki et al, 2023](#)). Par conséquent, pour approfondir notre compréhension de ces mécanismes, il serait pertinent à l'avenir d'évaluer l'excitation psychologique au moyen de questionnaires standardisés et de données pupillométriques en réponse à des protocoles d'EMS à basse et haute fréquence.

Également, la divergence potentielle entre nos résultats, mettant en évidence un effet positif lors de la tâche de Stroop, et ceux ne démontrant aucun effet pourrait résider dans le moment de la journée auquel la session d'EMS a été menée. Dans toutes nos expériences, les sessions ont été programmées en fin de journée (17-18 heures) afin d'assurer la reproductibilité du protocole. Toutefois, dans les études ne faisant état d'aucun impact de l'EMS sur la cognition, l'heure de réalisation des sessions n'a pas été précisée. Il est intrigant de constater que, bien que les effets des rythmes circadiens sur les adaptations musculaires à l'EX aient été examinés de manière approfondie ces dernières années ([Martin et al, 2023](#)), peu d'études se sont penchées sur l'influence de l'heure de la journée sur l'efficacité de l'exercice sur la cognition, et les résultats sont discordants ([Wheeler et al, 2020](#); [Pahwa et al, 2020](#); [Takahashi et al, 2020](#); [Maeneja et al, 2022](#)). Il serait opportun à l'avenir d'explorer

l'impact d'une session d'EX ou d'EMS aiguë réalisée à différentes heures de la journée sur la cognition et le bien-être.

Nos études ont été menées chez des individus en bonne santé, ce qui était essentiel pour établir la preuve de concept de l'impact bénéfique de l'EMS sur la santé cérébrale. Or, il a été montré que les preuves les plus solides en faveur des bienfaits cognitifs de l'EX concernent principalement les enfants, les personnes âgées et les patients souffrant de déficits cognitifs (Erickson *et al*, 2019). Par conséquent, il est plausible que l'EMS appliquée à ces groupes de personnes puisse avoir un impact pro-cognitif plus prononcé que chez des individus sains. De plus, il est important de noter que dans le milieu clinique, l'EMS est principalement utilisée comme une alternative à l'EX volontaire pour les patients incapables de réaliser un EX actif. Ainsi, il sera important d'évaluer à l'avenir les effets de l'EMS sur la santé cérébrale de ce type de patient. Cependant, notre protocole d'EMS à haute fréquence et à intensité maximale supportable conduisant à des contractions tétaniques est difficilement réalisable chez des patients fragiles qui rencontrent déjà des difficultés à s'engager dans un EX volontaire. En effet, ce type de protocole a tendance à induire une fatigue musculaire et une sollicitation métabolique plus importante (Shenton *et al*, 1986; Black & McCully, 2008; Gorgey *et al*, 2009; Dreibati *et al*, 2010). De plus, bien que légères, les lésions musculaires provoquées par ce protocole limitent la possibilité de le répéter quotidiennement, alors que les recommandations actuelles en matière d'EX préconisent environ 30 min par jour. Dans ce contexte, il sera nécessaire de tester l'impact d'autres protocoles d'EMS sur la cognition et l'humeur. À titre d'exemple, l'EMS séquentiel, l'EMS en position raccourci, ou encore l'EMS à basse fréquence et à faible intensité peuvent être des alternatives à tester puisque ces modalités peuvent induire moins de fatigue et de douleurs musculaires.

3. SOLLICITATIONS NEURONALES, HÉMODYNAMIQUES ET ENDOCRINES

Concernant la voie neuronale, nos investigations ont démontré que notre protocole chronique de STIM, ainsi que notre protocole aigu d'EMS (données non présentées) induisait une élévation de l'expression de c-fos dans le cortex sensorimoteur. Bien que l'évaluation de l'activation cérébrale n'ait pas été incluse dans notre étude chez l'Homme, nos résultats obtenus chez les rongeurs sont concordants avec les données de la littérature issues de la neuroimagerie, indiquant que l'EMS conduit à une activation des régions sensorimotrices chez l'Homme (Smith *et al*, 2003; Wegrzyk *et al*, 2017). De plus, plusieurs études ont démontré que l'EMS pouvait accroître l'excitabilité corticale du cortex moteur chez l'Homme (Chipchase *et al*, 2011). L'augmentation de l'activité et de l'excitabilité neuronale dans les zones

sensorimotrices induites par l'EMS semble être liée aux afférences musculaires, articulaires et cutanées (Carson & Buick, 2021b). Ces constatations suggèrent que l'EMS pourrait être efficace pour induire une plasticité dans le cortex moteur, avec des implications potentielles pour l'amélioration de la fonction motrice. Par exemple, chez des patients ayant subi un AVC, une récente méta-analyse a signalé les effets bénéfiques de l'EMS sur l'amélioration des scores dans divers tests cliniques standardisés évaluant l'activité quotidienne, la performance dans des tâches telles que la manipulation d'objets, la préhension, et la coordination (Yang et al, 2019). De plus, il a été suggéré que les modifications de l'excitabilité corticale sont impliquées dans l'amélioration de la force musculaire induite par l'EMS, ce qui expliquerait en partie pourquoi quelques sessions d'EMS sont efficaces pour améliorer la force musculaire sans provoquer d'hypertrophie musculaire (Hortobágyi & Maffiuletti, 2011). Néanmoins, l'effet de l'EMS sur la mémoire procédurale n'a jamais été évaluée en ma connaissance. Bien que les améliorations de la fonction motrice induites par l'EMS soient probablement liées à des modifications plastiques dans le cortex moteur, il est important de noter que l'EMS peut également induire des changements dans l'excitabilité spinale. Ainsi, une répétition de notre étude d'EMS chez l'Homme, en mesurant la fonction motrice et évaluant la contribution corticale et spinale à l'aide d'outils spécifiques tels que la mesure des potentiels évoqués moteurs cervico-médullaires (CMEP), serait instructive. De plus, nous aurions pu enrichir notre étude chez l'Homme avec des données moléculaires, notamment en analysant le BDNF au niveau de la moelle épinière et du cortex sensorimoteur, en suivant le protocole utilisé chez le rat. En effet, le polymorphisme *Val66Met* a été associé à une réduction de l'excitabilité corticospinale chez l'Homme, et des études sur la souris ont souligné l'importance de l'induction du BDNF dans les couches II et III du cortex sensorimoteur pour l'amélioration de la fonction motrice suite à un EX volontaire (Andreska et al, 2020). Dans cette perspective, une seconde thèse de trois ans, intitulée « *Électromyostimulation et fonction motrice* », pourrait être envisagée pour approfondir ces aspects et contribuer à la compréhension des mécanismes moléculaires et des adaptations neurophysiologiques induites par l'EMS sur la motricité.

Malgré l'augmentation de l'activité neuronale dans le cortex sensorimoteur, aucune modification de l'expression de *c-fos* dans le cortex préfrontal n'a été mise en évidence en réponse à notre protocole de STIM ou au protocole d'EMS. Ces observations ne concordent pas avec les résultats de la littérature chez l'Homme, qui indique que l'EMS appliquée au muscle de l'avant-bras entraîne une augmentation plus importante de l'oxygénation du cortex préfrontal mesurée par la NIRS, comparativement à un EX volontaire sollicitant la même masse musculaire (Muthalib et al, 2012, 2015). Il est intéressant de noter que l'activation du cortex préfrontal observée dans ces études précédentes était à la fois controlatérale et

ipsilatérale, et plus prononcée en réponse à l'EMS appliquée à des intensités douloureuses ou inconfortables (Muthalib *et al*, 2012, 2015). Ces résultats suggèrent que l'activation du cortex préfrontal est attribuable au traitement de la douleur. En effet, le cortex préfrontal, ainsi que les zones S1 et S2, font partie des régions qui réagissent de manière systématique aux stimuli douloureux ou inconfortables (Lorenz *et al*, 2003; Tracey & Mantyh, 2007). Cette interprétation pourrait expliquer l'absence d'effet de l'EMS sur c-fos et le BDNF dans le cortex préfrontal de nos études chez les rongeurs, qui ont été réalisées sous anesthésie générale. En effet, l'anesthésie générale, y compris à l'isoflurane, vise à bloquer la transmission des signaux nociceptifs. De manière intrigante, des propositions ont été avancées suggérant que les entrées nociceptives induites par l'EMS chez l'Homme pourraient participer à l'élévation de l'activité et de l'excitabilité corticale du cortex sensorimoteur, étant donné que ces deux régions sont interconnectées (Rozzi *et al.*, 2006 ; Hortobágyi & Maffiuletti, 2011). Nous pourrions également avancer l'hypothèse que l'amélioration de la performance à la tâche de Stroop, qui dépend principalement du cortex préfrontal, pourrait être médiée par les entrées nociceptives induites par l'EMS. De plus, le traitement de la douleur peut induire la libération de β -endorphines, principalement connu pour ses puissantes actions analgésiques. En effet, les β -endorphines sont généralement libérées en réponse à un événement douloureux ou stressant afin d'inhiber la transmission des nocicepteurs (Hartwig, 1991). Les β -endorphines exercent ses effets biologiques en se liant à son récepteur de haute affinité, le récepteur aux opioïdes mu, exprimé dans la majorité des tissus, entraînant une réduction globale du stress, de l'anxiété et une sensation de plaisir (Pilozzi *et al*, 2020). Ainsi, on peut également supposer que le traitement de la douleur pourrait être impliqué dans la réduction de l'anxiété induite par l'EMS via la libération de β -endorphines. Pour confirmer cette hypothèse, des études supplémentaires évaluant l'impact d'un protocole d'EMS non douloureux ou inconfortable devraient être menées.

Nos études sur la STIM chronique et l'EMS aigu ont également rapporté aucune différence dans l'expression de c-fos dans l'hippocampe. Ces données sont en lignes avec ceux de la neuroimagerie réalisée chez l'Homme ne faisant pas allusion à une activation de l'hippocampe en réponse à l'EMS. De plus, Gardner et son équipe ont également démontré que la stimulation aigu du nerf sciatique n'induisait pas de variation de l'expression hippocampique de c-fos (Gardner *et al*, 2020). L'hippocampe est une structure clé dans le traitement des informations visuo-spatiales (Saleem & Busse, 2023). Contrairement à l'EX, le caractère passif de l'EMS induit une faible stimulation spatiale et visuelle ce qui pourrait expliquer l'absence d'élévation neuronale dans cette région en réponse à l'EMS. Il pourrait être intéressant de comparer l'impact cognitif d'un EX conventionnel sur tapis roulant par rapport à un EX de type course d'orientation qui nécessite la formation de carte mentale et la

localisation, et donc par extension l'activation des cellules de lieu de l'hippocampe (Saleem & Busse, 2023).

En ce qui concerne la voie hémodynamique, nos résultats obtenus à travers la débitmétrie Doppler laser et l'analyse de l'expression de la p-eNOS^{Ser1177} démontrent de manière concordante que le protocole de STIM entraîne une augmentation du DSC dans le cortex sensorimoteur. Ces constatations s'alignent avec des études humaines qui ont établi que l'EMS sollicitant une large masse musculaire peut accroître le DSC dans l'ACI (Ando *et al*, 2021), de même que l'EMS appliquée au quadriceps peut augmenter le DSC dans l'ACM (Descollonges *et al*, données non publiées). Il est important de noter que l'ACI et l'ACM contribuent toutes deux à la vascularisation du cortex sensorimoteur. À ma connaissance, il n'existe pas d'études chez les rongeurs ayant exploré l'effet de l'EX sur le DSC au niveau du cortex sensorimoteur par la technologie Doppler laser. Cependant, des augmentations significatives de l'ordre de 45 % et 30 % ont été observées chez le rat dans le cortex frontal et l'hippocampe, respectivement, par la technique du Doppler laser (Kimura *et al*, 1994; Nishijima & Soya, 2006). Chez l'Homme, l'EX peut induire des augmentations du DSC de l'ordre de 17 à 23 % dans l'ACI et de 14 à 24 % dans l'ACM (Hellström *et al*, 1996, 1996; Sato *et al*, 2011). En revanche, l'EMS appliquée sur l'ensemble des membres inférieurs semble augmenter les valeurs de DSC de seulement 12 % dans l'ACI (Ando *et al*, 2021), tandis que l'EMS appliquée sur le quadriceps entraîne une élévation de seulement 6 % dans l'ACM (Descollonges *et al*, données non publiées). De plus, les valeurs de DSC dans l'AV et l'ACP restent inchangées en réponse à l'EMS, alors que l'EX est connu pour provoquer des augmentations du flux dans ces artères. L'AV et l'ACP alimentent la partie postérieure du cerveau, comprenant notamment le cortex occipital impliqué dans le traitement de la vision, ainsi que le tronc cérébral. Par ailleurs, nous n'avons pas montré de changement de l'expression de la p-eNOS^{Ser1177} dans le cortex préfrontal et l'hippocampe que ce soit en réponse à la STIM ou à l'EMS chez le rat, alors que nous avons démontré que l'EX augmente l'activation de cette enzyme dans ces deux régions cérébrales (Cefis *et al*, 2019). Ainsi, toutes ces observations convergent vers la conclusion que l'EMS ne parvient à reproduire qu'une fraction des effets de l'EX sur le DSC, à la fois en ce qui concerne les zones cérébrales réagissant à ces stimulations et l'amplitude quantitative de l'augmentation du flux.

L'augmentation du DSC en réponse à l'EX découle d'une élévation de l'activité neuronale, du débit cardiaque (DC) et de la PET-CO₂ (Smith & Ainslie, 2017). Comme nous l'avons précédemment discuté, l'EMS induit préférentiellement une activation neuronale dans les zones sensorimotrices, tandis que l'EX peut stimuler diverses régions cérébrales impliquées dans le contrôle sensorimoteur, le traitement visuo-spatial, la proprioception, entre

autres. Il semble donc logique que les besoins métaboliques cérébraux lors de l'EMS soient moindres par rapport à l'EX, expliquant ainsi la moindre augmentation du DSC observée avec l'EMS. De plus, alors que l'EX entraîne des changements spectaculaires du DC, atteignant jusqu'à une augmentation de 600 % en fonction de l'intensité, nos études ont révélé des variations très légères de la FC chez l'Homme (+9 bpm). Les travaux d'Ando et son équipe ont démontré des augmentations plus significatives de la FC (+20 bpm) en stimulant une masse musculaire plus importante, ce qui concorde avec nos données chez le rat en réponse au protocole de STIM (+20-25 %), bien que ces élévations restent éloignées de celles observées pendant l'EX. L'ajout de β -bloquant chez le rat avant la STIM a mis en évidence la contribution substantielle du DC à l'élévation du DSC lors de la STIM. Bien que la contribution de la PA à l'augmentation du DSC soit parfois discutée, il est intéressant de noter que l'EX aérobique classique progressif jusqu'à l'intensité maximale peut entraîner des élévations progressives de la PA jusqu'à 20 à 30 % (Smith & Ainslie, 2017). En revanche, ni l'EMS chez l'Homme ni la STIM chez le rat n'ont affecté les valeurs de la PA, suggérant que l'absence de variation de la PA pourrait également expliquer l'effet partiel de l'EMS sur le DSC. Néanmoins, nos études présentent la limite d'avoir recueilli les valeurs de la PA toutes les 5 minutes. Des rapports antérieurs indiquent que lors d'un EX en résistance nécessitant des forces élevées et des contractions téaniques, la vitesse du flux dans l'ACM fluctue de manière similaire à la PA, avec des élévations brusques lors de la poussée (Edwards *et al*, 2002). De manière intéressante, les valeurs moyennes de flux dans l'ACM et de la PA n'étaient pas modifiées dans cette étude. Ainsi, il serait pertinent de reproduire nos études chez l'Homme et le rat à l'aide d'un système permettant de mesurer en temps réel les variations de la FC, de la PA et du DSC afin de comparer leur cinétique. En ce qui concerne la PET-CO₂, nous l'avons maintenue à 35 mmHg lors de nos études sur la STIM chez le rat pour étudier spécifiquement l'impact du DC sur le DSC. Cependant, il a été démontré que l'EMS appliquée à l'ensemble des membres inférieurs entraîne une légère hypercapnie (+1,6 mmHg) (Ando *et al*, 2021), tandis que l'EX aérobique conduit à des augmentations plus prononcées de la PET-CO₂ (+2 à 3 mmHg) (Smith *et al*, 2016). En conclusion, sur la voie hémodynamique, l'effet moindre de l'EMS sur le DSC par rapport à l'EX peut être attribué à une activité neuronale réduite, à une élévation moindre du DC et de la PA.

Pour la voie endocrine, notre première démarche a été d'explorer la possibilité que le BDNF d'origine musculaire soit sécrété dans la circulation en réponse à l'EMS et agisse comme une myokine exerçant une action endocrine sur le cerveau. En effet, des études antérieures ont indiqué qu'une injection de BDNF dans la circulation chez le rat réduisait les comportements anxieux, favorisait la neurogenèse hippocampique et augmentait l'expression de BDNF dans le striatum (Schmidt & Duman, 2010). En outre, les muscles squelettiques

dépourvus de BDNF (souris muscle $Bdnf^{flox/flox} - Myh1^{Cre}$) présentaient des taux réduits de BDNF circulant (Fulgenzi *et al*, 2020). De plus, il a également rapporté que le BDNF pourrait être libéré par les muscles squelettiques dans la circulation pour agir sur le pancréas et réguler le métabolisme glucidique (Fulgenzi *et al*, 2020). Ainsi, nous avons d'abord cherché à identifier quels types cellulaires expriment le BDNF dans le muscle squelettique, car les données de la littérature étaient discordantes (Liem *et al*, 2001; Mousavi & Jasmin, 2006; Garcia *et al*, 2010; Colombo *et al*, 2013). Nous avons constaté que le BDNF était exprimé par les fibres musculaires de type II, mais pas par celles de type I. Une observation intéressante était que le muscle soléaire, riche en fibres de type I, présentait une expression plus élevée de BDNF par rapport au muscle gastrocnémien, riche en fibres de type II. Cette disparité d'expression a été attribuée à une forte expression de BDNF par les cellules endothéliales musculaires, expliquant la différence entre les muscles soléaires et gastrocnémiens, le premier étant plus vascularisé que le second. Cependant, nos expériences ont révélé que ni un protocole chronique d'EX sur tapis roulant chez le rat (Léger *et al*, données non publiées) ni un protocole d'EMS aigu n'augmentait l'expression du BDNF dans les muscles soléaire, gastrocnémien et quadriceps, respectivement. Ces observations s'ajoutent aux résultats contradictoires de la littérature, où certaines études indiquent une augmentation du BDNF musculaire après l'EX, tandis que d'autres ne montrent aucun impact (Gómez-Pinilla *et al*, 2001; Cuppini *et al*, 2007; Ogborn & Gardiner, 2010; Jiménez-Maldonado *et al*, 2016). En outre, aucune variation des taux circulants de BDNF n'a été observée en réponse à nos protocoles d'EX et d'EMS. Nos investigations *in vitro* ont révélé que les myoblastes L6 ne sécrètent ni le proBDNF ni le BDNF, tandis que les myotubes L6 ne sécrètent uniquement du proBDNF. Ces constatations suggèrent que la présence de BDNF dans le muscle squelettique n'est pas dû aux fibres musculaires. De plus, ces données concordent avec les études *in vivo* qui indiquent une faible expression de TrkB dans les muscles squelettiques (Mousavi & Jasmin, 2006). Cependant, des études avec des myotubes C2C12 ont montré une expression accrue de BDNF par rapport aux homogénats hippocampiques de souris (Fulgenzi *et al*, 2020). De plus, des données indiquent que les myotubes humains sécrètent du BDNF dans le milieu de culture (Fulgenzi *et al*, 2020). En résumé, l'interprétation de ces résultats demeure complexe en raison des données contradictoires obtenues. Des investigations supplémentaires s'avèrent indispensables pour confirmer la capacité du BDNF dérivé du muscle squelettique à agir en tant que myokine endocrine. Cependant, dans le cadre de nos conditions expérimentales, il semble que le BDNF provenant du muscle ne contribue pas aux bienfaits cérébraux observés à la suite de l'EX et à l'EMS.

Nous avons ensuite dirigé notre attention vers l'irisine, l'une des myokines les plus étudiées récemment. Notre étude a mis en évidence une augmentation de l'expression de

FNDC5/Irisine dans le muscle stimulé, bien que cela n'ait pas entraîné de variations significatives de l'irisine circulante. Ces résultats concordent avec d'autres travaux de recherche qui ont également observé des résultats similaires après l'application de protocoles d'exercice (Kurdiova *et al*, 2014; Norheim *et al*, 2014; Maekawa *et al*, 2018; Szabó *et al*, 2023). Des études antérieures ont établi que la sécrétion d'irisine à la suite de l'EX survient généralement au cours de la première heure suivant l'effort physique (Nygaard *et al*, 2015; Zügel *et al*, 2016; Cosio *et al*, 2021). Dans le cadre de notre étude, des prélèvements sanguins ont été effectués à différents moments (0 h, 4 h, 24 h), excluant ainsi toute hypothèse liée à la temporalité des mesures. Pour mieux comprendre la divergence des variations entre l'expression musculaire de FNDC5/Irisine et l'irisine circulante, il est crucial de ne pas confondre les mécanismes de synthèse de FNDC5/Irisine avec les mécanismes de clivage de FNDC5 pour produire l'irisine soluble. Il est plausible que notre protocole d'EMS ait stimulé les mécanismes de synthèse de FNDC5/Irisine dépendants de PGC1- α , mais n'ait pas stimulé l'enzyme de clivage responsable de la sécrétion de l'irisine. En accord avec cette hypothèse, nos études *in vitro* sur des myotubes L6 ont montré que seul le protocole d'EPS à basse fréquence stimule la sécrétion d'irisine dans le milieu, contrairement au protocole d'EPS à haute fréquence. Ces deux protocoles activent des voies de signalisation intracellulaire différentes (Nikolić *et al*, 2017b), ce qui pourrait expliquer l'impact différentiel de ces protocoles sur la sécrétion d'irisine. Cependant, l'enzyme de clivage de FNDC5 reste incertaine. Une étude a montré que le blocage des ADAM par le TAPI-2 empêche la sécrétion d'irisine par les myotubes C2C12 en réponse au traitement à l'angiotensine II (Yu *et al*, 2019). Néanmoins, d'autres études *in vivo* et *in vitro* indiquent que l'angiotensine II diminue ou n'a aucun effet sur l'expression de FNDC5/Irisine (Li *et al*, 2019; Matsuo *et al*, 2015). De plus, nos investigations *in vitro* sur des myotubes L6 n'ont pas montré que, dans des conditions basales, l'inhibition des ADAM par le TAPI-2 réduise la sécrétion d'irisine dans le milieu. Plus de 100 substrats ont été identifiés pour les ADAM10 et 17 dans différents tissus et cellules (Lichtenthaler *et al*, 2018). Le clivage du substrat par ADAM10 se produit souvent de manière constitutive dans des conditions non stimulées, tandis que l'excrétion du substrat par ADAM17 est principalement observée lorsque les cellules sont stimulées en réponse à l'activation de PKC (Lichtenthaler *et al*, 2018). Ainsi, il sera intéressant d'étudier l'impact de l'inhibition des ADAM sur la sécrétion d'irisine en réponse au protocole d'EPS à basse fréquence. L'inhibition pharmacologique des ADAM présente l'avantage d'une induction rapide, mais elle est réversible et peu spécifique, car le TAPI-2 inhibe également d'autres protéases (MMP). Par conséquent, en complément de cette approche, l'inhibition génétique pourrait être utile pour gagner en spécificité et en durabilité. En outre, ces résultats soulèvent également la question de savoir si les muscles squelettiques constituent la principale source d'irisine circulante. Par exemple, des analyses *ex-vivo* du sécrétome du tissu adipeux blanc ont démontré que ce

dernier secrète de l'irisine, et que cette sécrétion est augmentée par l'EX ([Roca-Rivada et al, 2013](#)). De futures études utilisant des souris transgéniques n'exprimant pas l'irisine dans les cellules musculaires pourraient apporter des informations précieuses sur l'origine tissulaire de l'irisine circulante et la véritable implication de l'irisine musculaire dans les bienfaits cérébraux de l'EX.

Après avoir écarté l'implication de l'irisine dans les bénéfices cérébraux de l'EMS, nous nous sommes tournés vers le lactate. Sans surprise, nous avons observé une augmentation de la lactatémie immédiatement après l'EMS, ce qui a déjà été rapporté ailleurs ([Jubeau et al, 2008](#)). De manière importante, les avantages de l'EMS sur l'expression du BDNF chez le rat et le comportement chez l'Homme étaient positivement corrélés à la production de lactate induite par l'EMS. Il a déjà été rapporté que les bénéfices de l'EX sur la fonction exécutive étaient liés à la différence artéro-veineuse cérébrale en lactate ([Hashimoto et al, 2018](#)). Cependant, il est important de noter que les analyses de corrélation ne peuvent pas toujours être interprétées comme des preuves causales ([Janse et al, 2021](#)). Ainsi, il aurait été intéressant de reproduire nos expériences d'EMS en ajoutant un inhibiteur des transporteurs MCT pour confirmer l'implication réelle du lactate dans l'induction du BDNF en réponse à l'EMS. De plus, il aurait été pertinent de procéder à des injections intraveineuses de lactate afin de mimer l'effet de l'EMS sur la sécrétion de lactate. Mécaniquement, des études ont montré que le lactate pouvait augmenter l'expression du BDNF de manière dépendante de l'activation de SIRT1 / PGC-1 α / FNDC5 dans l'hippocampe ([El Hayek et al, 2019](#)). Bien que nous ayons observé un changement d'expression de SIRT1 dans l'hippocampe en réponse à l'EMS, nous n'avons pas observé de variation d'expression de FNDC5, suggérant que SIRT1 peut induire le BDNF indépendamment de FNDC5. À titre d'exemple, il a été rapporté que l'EX pouvait augmenter l'expression hippocampique de PGC-1 α et de SIRT1 dans un modèle de diabète de type 2, sans affecter significativement l'expression de FNDC5 ([Lang et al, 2020](#)). L'analyse de l'expression hippocampique de PGC-1 α en réponse à notre protocole d'EMS sera réalisée prochainement. En outre, une élévation de l'expression de SIRT1 ne doit pas être confondue avec une élévation de son activité enzymatique, par conséquent, il sera crucial d'analyser l'activité enzymatique de SIRT1 à l'aide de tests spécifiques. Si des résultats positifs sont observés, il serait particulièrement intéressant d'étudier l'impact de l'inhibition de SIRT1 par des moyens pharmacologiques (exemple, sirtinol) ou génétique (shRNA SIRT1) sur l'élévation des taux hippocampiques de BDNF en réponse à l'EMS. Enfin, nous pouvons garder à l'esprit que le lactate peut également agir de façon indépendante de SIRT1. Par exemple, il peut être converti en pyruvate dans les neurones par l'isoforme LDH1, augmentant le pool de NADH dans le cytosol, ce dernier peut stimuler la signalisation des récepteurs NMDA, favorisant l'entrée de flux calcique dans les neurones ([Yang et al, 2014b](#)). Le lactate

peut favoriser la lactylation des histones, un mécanisme épigénétique impliquant la conversion du L-lactate en L-lactyl-CoA, qui transfère des groupes lactyles ($C_3H_3O_2$) aux résidus de lysine des histones, favorisant ainsi la transcription des gènes (Zhang *et al*, 2019a). Toutefois, il reste encore à déterminer si ce processus joue un rôle dans la transcription génique dépendante du gène *bdnf*. Également, le lactate peut opérer en tant que molécule de signalisation en interagissant avec des récepteurs spécifiques, comme le récepteur couplé à la protéine G de l'acide hydrocarboxylique 1 (HCAR1, hydroxycarboxylic acid receptor 1) (Morland *et al*, 2015). Par exemple, il a été observé que l'injection de lactate augmente l'expression cérébrale de VEGF, la densité capillaire et la neurogenèse hippocampique chez les souris témoins, mais pas chez les souris KO HCAR1 (Morland *et al*, 2017; Kennedy *et al*, 2022).

4. CONSIDÉRATIONS MÉTHODOLOGIQUES

D'un point de vue méthodologique, nos études, qu'elles aient été menées sur des sujets humains ou des rats, présentent une limitation majeure : l'absence de mesure de la force évoquée. Il aurait été judicieux de normaliser l'intensité de la stimulation afin d'obtenir une force évoquée similaire chez les rats et les humains. De plus, dans un but de reproductibilité de nos études et de prescription de l'EMS à des patients, la force évoquée aurait été une donnée importante. Cependant, il convient de noter que nos protocoles d'EMS, appliqués au quadriceps de sujets humains ou de rats, ont engendré des élévations similaires de la lactatémie, suggérant ainsi une sollicitation métabolique comparable. La mesure de la force évoquée dans un contexte de contraction bilatérale chez le rat s'avère méthodologiquement complexe. D'autres outils d'investigation, applicables à la fois aux sujets humains et aux rats, auraient pu être employés pour mieux caractériser les similitudes et les différences de réaction à l'EMS entre les deux espèces. À titre d'exemple, l'échographie musculaire aurait pu fournir un indicateur de l'évolution des lésions musculaires dans les deux modèles, car les tissus musculaires endommagés deviennent hyperéchogènes en raison de l'inflammation et de l'œdème intramusculaire (Nosaka & Clarkson, 1996; Fujikake *et al*, 2009). La mesure des biomarqueurs circulants des lésions musculaires, tels que la CK et la LDH, couramment utilisée dans les études sur les sujets humains (Mackey *et al*, 2008; Nosaka *et al*, 2011), auraient également apporté des informations précieuses pour mieux comprendre les effets de l'EMS chez l'Homme et l'animal.

Il est important de noter que pour des raisons évidentes, les protocoles de stimulation ont été réalisés sous anesthésie générale chez le rat. Or, l'hippocampe est une structure particulièrement sensible aux agents anesthésiques, notamment à l'isoflurane que nous avons

utilisé au cours de cette thèse (Cascella & Bimonte, 2017). Les mécanismes d'action de l'isoflurane comprennent la potentialisation de l'action inhibitrice du GABA et le blocage de l'activation des récepteurs NMDA (Hawkey et al, 2023). Ainsi, il a été montré que l'anesthésie à l'isoflurane d'une durée de 2 h pouvait réduire l'expression hippocampique de BDNF chez des rats adultes (Cho et al, 2013). De manière intéressante, nous avons noté que les animaux soumis à l'EMS présentaient un temps de réveil plus court après l'anesthésie à l'isoflurane que les animaux témoins, suggérant ainsi que l'EMS pourrait atténuer les effets de l'anesthésie à l'isoflurane. En outre, il a été montré que le pré-conditionnement à l'EX atténue le dysfonctionnement cognitif et la neuroinflammation post-opératoire sous anesthésie (Lai et al, 2021). Ce phénomène a même été reproduit par la transplantation fécale d'animaux exercés vers des animaux sédentaires, mettant ainsi en évidence le rôle du microbiote intestinal dans ce contexte (Lai et al, 2021). Par conséquent, il aurait été pertinent d'inclure un groupe d'animaux sédentaires non soumis à l'anesthésie afin d'évaluer l'impact spécifique de notre protocole d'anesthésie à l'isoflurane sur l'hippocampe.

Notre protocole de stimulation a ciblé spécifiquement le muscle soléaire, tandis que nos analyses liées à l'EMS ont été menées sur le muscle quadriceps. Chez le rat, le muscle soléaire se compose principalement de fibres lentes (>90 %), tandis que le muscle quadriceps présente une proportion équivalente de fibres lentes et rapides (Staron et al, 1999). Ces deux types de fibres se distinguent par leurs propriétés métaboliques, leur force et vitesse de contraction, leur résistance à la fatigue, ainsi que leur vascularisation. Il est donc légitime de se questionner sur l'impact potentiel de ces différences phénotypiques entre le muscle soléaire et le quadriceps sur nos résultats (Schiaffino & Reggiani, 2011). À titre d'exemple, des études antérieures ont souligné que la sécrétion d'IL-6, actuellement la myokine la plus caractérisée, est liée au type de muscle, les muscles lents (soléaire) montrant une sécrétion accrue d'IL-6 par rapport aux muscles rapides (EDL) (Liang et al, 2018). En outre, il semble que l'IL-6 soit principalement exprimé par les fibres musculaires de type lent (Liang et al, 2018). Dans nos travaux de laboratoire, nous avons démontré que FNDC5/Irisine était principalement localisé dans les fibres de type II, ce constat étant en accord avec la concentration plus élevée de PGC-1 α observée dans les fibres de type I (Gouspillou et al, 2014). Il serait donc pertinent d'évaluer l'impact de l'EMS appliquée à des muscles présentant des métabolismes différents sur la sécrétion d'irisine.

5. CONCLUSION DE LA THÈSE

En conclusion, l'objectif de la thèse était d'étudier si l'EMS pouvait constituer une alternative à l'EX pour la santé cérébrale. L'ensemble des travaux réalisés au cours de ma thèse met en évidence des effets divergents de l'EMS sur la cognition et la plasticité dépendante du BDNF. D'une part, nos recherches ont démontré que l'utilisation d'un protocole chronique de STIM sollicitant une large masse musculaire et provoquant d'importantes lésions musculaires entraînait des conséquences néfastes sur la signalisation du BDNF dans l'hippocampe de rats. Ces résultats ont soulevé, entre autres, des questions cruciales quant à l'impact des muscles lésés et dystrophiques sur le dialogue muscle-cerveau. D'autre part, nos travaux ont montré qu'un protocole aigu d'EMS, appliqué au muscle quadriceps et induisant moins de lésions musculaires, favorisait la plasticité neuronale dépendante du BDNF dans l'hippocampe des rats. De plus, ce protocole d'EMS a amélioré la cognition et l'humeur chez de jeunes individus en bonne santé. Ainsi, il est envisageable que l'EMS puisse servir d'alternative viable à l'EX, en fonction du choix du protocole utilisé, en prenant soin de minimiser les lésions musculaires. Pour confirmer ces données, des études futures devraient être menées sur des sujets incapables de pratiquer un EX.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- A M, Wales TE, Zhou H, Draga-Coletă S-V, Gorgulla C, Blackmore KA, Mittenbühler MJ, Kim CR, Bogoslavski D, Zhang Q, *et al* (2023) Irisin acts through its integrin receptor in a two-step process involving extracellular Hsp90 α . *Mol Cell* 83: 1903-1920.e12
- Abel T, Havekes R, Saletin JM & Walker MP (2013) Sleep, Plasticity and Memory from Molecules to Whole-Brain Networks. *Current Biology* 23: R774–R788
- Abu-Khaber HA, Abouelela AMZ & Abdelkarim EM (2013) Effect of electrical muscle stimulation on prevention of ICU acquired muscle weakness and facilitating weaning from mechanical ventilation. *Alexandria Journal of Medicine* 49: 309–315
- Adams GR, Harris RT, Woodard D & Dudley GA (1993) Mapping of electrical muscle stimulation using MRI. *J Appl Physiol* (1985) 74: 532–537
- Aghjayan SL, Bournias T, Kang C, Zhou X, Stillman CM, Donofry SD, Kamarck TW, Marsland AL, Voss MW, Fraundorf SH, *et al* (2022) Aerobic exercise improves episodic memory in late adulthood: a systematic review and meta-analysis. *Commun Med* 2: 1–11
- Aguado F, Carmona MA, Pozas E, Aguiló A, Martínez-Guijarro FJ, Alcantara S, Borrell V, Yuste R, Ibañez CF & Soriano E (2003) BDNF regulates spontaneous correlated activity at early developmental stages by increasing synaptogenesis and expression of the K⁺/Cl⁻-transporter KCC2. *Development* 130: 1267–1280
- Agudelo LZ, Femenía T, Orhan F, Porsmyr-Palmertz M, Goiny M, Martinez-Redondo V, Correia JC, Izadi M, Bhat M, Schuppe-Koistinen I, *et al* (2014) Skeletal muscle PGC-1 α 1 modulates kynurenine metabolism and mediates resilience to stress-induced depression. *Cell* 159: 33–45
- Aid T, Kazantseva A, Piirsoo M, Palm K & Timmusk T (2007) Mouse and rat BDNF gene structure and expression revisited. *J Neurosci Res* 85: 525–535
- Ainslie PN, Cotter JD, George KP, Lucas S, Murrell C, Shave R, Thomas KN, Williams MJA & Atkinson G (2008) Elevation in cerebral blood flow velocity with aerobic fitness throughout healthy human ageing. *J Physiol* 586: 4005–4010
- Aldayel A, Jubeau M, McGuigan M & Nosaka K (2010) Comparison between alternating and pulsed current electrical muscle stimulation for muscle and systemic acute responses. *J Appl Physiol* (1985) 109: 735–744
- Al-Jarrah M, Jamous M, Al Zailaey K & Bweir SO (2010) Endurance exercise training promotes angiogenesis in the brain of chronic/progressive mouse model of Parkinson's Disease. *NeuroRehabilitation* 26: 369–373
- Allison T, McCarthy G, Wood CC & Jones SJ (1991) Potentials evoked in human and monkey cerebral cortex by stimulation of the median nerve. A review of scalp and intracranial recordings. *Brain* 114 (Pt 6): 2465–2503
- Alomari MA, Khabour OF, Alzoubi KH & Alzubi MA (2013) Forced and voluntary exercises equally improve spatial learning and memory and hippocampal BDNF levels. *Behavioural Brain Research* 247: 34–39
- Alonso M, Vianna MRM, Izquierdo I & Medina JH (2002) Signaling mechanisms mediating BDNF modulation of memory formation in vivo in the hippocampus. *Cell Mol Neurobiol* 22: 663–674
- Altar CA, Cai N, Bliven T, Juhasz M, Conner JM, Acheson AL, Lindsay RM & Wiegand SJ (1997) Anterograde transport of brain-derived neurotrophic factor and its role in the brain. *Nature* 389: 856–860
- An JJ, Liao G-Y, Kinney CE, Sahibzada N & Xu B (2015) Discrete BDNF Neurons in the Paraventricular Hypothalamus Control Feeding and Energy Expenditure. *Cell Metab* 22: 175–188
- Anderson BJ, Rapp DN, Baek DH, McCloskey DP, Coburn-Litvak PS & Robinson JK (2000) Exercise influences spatial learning in the radial arm maze. *Physiol Behav* 70: 425–429
- Anderson JL, Head SI, Rae C & Morley JW (2002) Brain function in Duchenne muscular dystrophy. *Brain* 125: 4–13
- Ando S (2022) Effects Of Electrical Muscle Stimulation On Cognition, Autonomic Nervous System Activity, And Mood States. *ACSM*: 524
- Ando S, Takagi Y, Watanabe H, Mochizuki K, Sudo M, Fujibayashi M, Tsurugano S & Sato K (2021) Effects of electrical muscle stimulation on cerebral blood flow. *BMC Neurosci* 22: 67
- Andreska T, Rauskolb S, Schukraft N, Lüningschrör P, Sasi M, Signoret-Genest J, Behringer M, Blum R, Sauer M, Tovote P, *et al* (2020) Induction of

- BDNF Expression in Layer II/III and Layer V Neurons of the Motor Cortex Is Essential for Motor Learning. *J Neurosci* 40: 6289–6308
- Anfray A, Drieu A, Hingot V, Hommet Y, Yetim M, Rubio M, Deffieux T, Tanter M, Orset C & Vivien D (2020) Circulating tPA contributes to neurovascular coupling by a mechanism involving the endothelial NMDA receptors. *J Cereb Blood Flow Metab* 40: 2038–2054
- Arent SM, Landers DM & Etnier JL (2000) The Effects of Exercise on Mood in Older Adults: A Meta-Analytic Review. *Journal of Aging and Physical Activity* 8: 407–430
- Babyak M, Blumenthal JA, Herman S, Khatri P, Doraiswamy M, Moore K, Craighead WE, Baldeewicz TT & Krishnan KR (2000) Exercise treatment for major depression: maintenance of therapeutic benefit at 10 months. *Psychosom Med* 62: 633–638
- Bagayogo IP & Dreyfus CF (2009) Regulated release of BDNF by cortical oligodendrocytes is mediated through metabotropic glutamate receptors and the PLC pathway. *ASN Neuro* 1: e00001
- Bailey DM, Marley CJ, Brugniaux JV, Hodson D, New KJ, Ogoh S & Ainslie PN (2013) Elevated aerobic fitness sustained throughout the adult lifespan is associated with improved cerebral hemodynamics. *Stroke* 44: 3235–3238
- Baird MF, Graham SM, Baker JS & Bickerstaff GF (2012) Creatine-Kinase- and Exercise-Related Muscle Damage Implications for Muscle Performance and Recovery. *J Nutr Metab* 2012: 960363
- Bakovic D, Pivac N, Eterovic D, Breskovic T, Zubin P, Obad A & Dujic Z (2013) The effects of low-dose epinephrine infusion on spleen size, central and hepatic circulation and circulating platelets. *Clin Physiol Funct Imaging* 33: 30–37
- Balkowiec A & Katz DM (2000) Activity-dependent release of endogenous brain-derived neurotrophic factor from primary sensory neurons detected by ELISA in situ. *J Neurosci* 20: 7417–7423
- Ballester-Ferrer JA, Bonete-López B, Roldan A, Cervelló E & Pastor D (2022a) Effect of acute exercise intensity on cognitive inhibition and well-being: Role of lactate and BDNF polymorphism in the dose-response relationship. *Frontiers in Psychology* 13
- Ballester-Ferrer JA, Bonete-López B, Roldan A, Cervelló E & Pastor D (2022b) Effect of acute exercise intensity on cognitive inhibition and well-being: Role of lactate and BDNF polymorphism in the dose-response relationship. *Frontiers in Psychology* 13
- Ballester-Ferrer JA, Roldan A, Cervelló E & Pastor D (2022c) Memory Modulation by Exercise in Young Adults Is Related to Lactate and Not Affected by Sex or BDNF Polymorphism. *Biology (Basel)* 11: 1541
- Bamji SX, Majdan M, Pozniak CD, Belliveau DJ, Aloyz R, Kohn J, Causing CG & Miller FD (1998) The p75 neurotrophin receptor mediates neuronal apoptosis and is essential for naturally occurring sympathetic neuron death. *J Cell Biol* 140: 911–923
- Banks WA, Kastin AJ & Broadwell RD (1995) Passage of cytokines across the blood-brain barrier. *Neuroimmunomodulation* 2: 241–248
- Banno M, Harada Y, Taniguchi M, Tobita R, Tsujimoto H, Tsujimoto Y, Kataoka Y & Noda A (2018) Exercise can improve sleep quality: a systematic review and meta-analysis. *PeerJ* 6: e5172
- Bao J-F, She Q-Y, Hu P-P, Jia N & Li A (2022) Irisin, a fascinating field in our times. *Trends Endocrinol Metab* 33: 601–613
- Barde YA, Edgar D & Thoenen H (1982) Purification of a new neurotrophic factor from mammalian brain. *EMBO J* 1: 549–553
- Barha CK, Falck RS, Davis JC, Nagamatsu LS & Liu-Ambrose T (2017) Sex differences in aerobic exercise efficacy to improve cognition: A systematic review and meta-analysis of studies in older rodents. *Frontiers in Neuroendocrinology* 46: 86–105
- Barnes JN, Taylor JL, Kluck BN, Johnson CP & Joyner MJ (2013) Cerebrovascular reactivity is associated with maximal aerobic capacity in healthy older adults. *J Appl Physiol* (1985) 114: 1383–1387
- Barss TS, Ainsley EN, Claveria-Gonzalez FC, Luu MJ, Miller DJ, Wiest MJ & Collins DF (2018) Utilizing Physiological Principles of Motor Unit Recruitment to Reduce Fatigability of Electrically-Evoked Contractions: A Narrative Review. *Arch Phys Med Rehabil* 99: 779–791
- Basso JC, Shang A, Elman M, Karmouta R & Suzuki WA (2015) Acute Exercise Improves Prefrontal Cortex but not Hippocampal Function in Healthy Adults. *J Int Neuropsychol Soc* 21: 791–801
- Basso JC & Suzuki WA (2017) The Effects of Acute Exercise on Mood, Cognition, Neurophysiology, and Neurochemical Pathways: A Review. *Brain Plast* 2: 127–152
- Batouli SAH & Saba V (2017) At least eighty percent of brain grey matter is modifiable by physical activity: A review study. *Behav Brain Res* 332: 204–217

- Bawa P, Pang MY, Olesen KA & Calancie B (2006) Rotation of Motoneurons During Prolonged Isometric Contractions in Humans. *Journal of Neurophysiology* 96: 1135–1140
- Baxter GT, Radeke MJ, Kuo RC, Makrides V, Hinkle B, Hoang R, Medina-Selby A, Coit D, Valenzuela P & Feinstein SC (1997) Signal transduction mediated by the truncated trkB receptor isoforms, trkB.T1 and trkB.T2. *J Neurosci* 17: 2683–2690
- Béjot Y, Prigent-Tessier A, Cachia C, Giroud M, Mossiat C, Bertrand N, Garnier P & Marie C (2011) Time-dependent contribution of non neuronal cells to BDNF production after ischemic stroke in rats. *Neurochem Int* 58: 102–111
- Belaya I, Ivanova M, Sorvari A, Ilicic M, Loppi S, Koivisto H, Varricchio A, Tikkanen H, Walker FR, Atalay M, *et al* (2020) Astrocyte remodeling in the beneficial effects of long-term voluntary exercise in Alzheimer's disease. *J Neuroinflammation* 17: 1–19
- Benchenane K, Berezowski V, Ali C, Fernández-Monreal M, López-Atalaya JP, Brillault J, Chuquet J, Nouvelot A, MacKenzie ET, Bu G, *et al* (2005) Tissue-type plasminogen activator crosses the intact blood-brain barrier by low-density lipoprotein receptor-related protein-mediated transcytosis. *Circulation* 111: 2241–2249
- Benicky J, Sanda M, Brnakova Kennedy Z & Goldman R (2019) N-Glycosylation is required for secretion of the precursor of brain-derived neurotrophic factor (proBDNF) carrying sulfated LacdiNAc structures. *J Biol Chem* 294: 16816–16830
- Ben-Zeev T, Hirsh T, Weiss I, Gornstein M & Okun E (2020a) The Effects of High-intensity Functional Training (HIFT) on Spatial Learning, Visual Pattern Separation and Attention Span in Adolescents. *Front Behav Neurosci* 14: 577390
- Ben-Zeev T, Weiss I, Ashri S, Heled Y, Ketko I, Yanovich R & Okun E (2020b) Mild Physical Activity Does Not Improve Spatial Learning in a Virtual Environment. *Front Behav Neurosci* 14: 584052
- Berchtold NC, Castello N & Cotman CW (2010) Exercise and time-dependent benefits to learning and memory. *Neuroscience* 167: 588–597
- Berchtold NC, Chinn G, Chou M, Kessler JP & Cotman CW (2005) Exercise primes a molecular memory for brain-derived neurotrophic factor protein induction in the rat hippocampus. *Neuroscience* 133: 853–861
- Berchtold NC, Kessler JP, Pike CJ, Adlard PA & Cotman CW (2001) Estrogen and exercise interact to regulate brain-derived neurotrophic factor mRNA and protein expression in the hippocampus. *European Journal of Neuroscience* 14: 1992–2002
- Berchtold NC, Oliff HS, Isackson P & Cotman CW (1999) Hippocampal BDNF mRNA shows a diurnal regulation, primarily in the exon III transcript. *Brain Res Mol Brain Res* 71: 11–22
- Berezovskaya AS, Tyganov SA, Nikolaeva SD, Naumova AA, Merkulyeva NS, Shenkman BS & Glazova MV (2021) Dynamic Foot Stimulations During Short-Term Hindlimb Unloading Prevent Dysregulation of the Neurotransmission in the Hippocampus of Rats. *Cell Mol Neurobiol* 41: 1549–1561
- Bergami M, Rimondini R, Santi S, Blum R, Götz M & Canossa M (2008) Deletion of TrkB in adult progenitors alters newborn neuron integration into hippocampal circuits and increases anxiety-like behavior. *Proc Natl Acad Sci U S A* 105: 15570–15575
- Bergersen LH (2015) Lactate transport and signaling in the brain: potential therapeutic targets and roles in body–brain interaction. *J Cereb Blood Flow Metab* 35: 176–185
- Bernstein EE & McNally RJ (2017) Acute aerobic exercise helps overcome emotion regulation deficits. *Cogn Emot* 31: 834–843
- Bian J-T, Zhang J-W, Zhang Z-X & Zhao H-L (2005) Association analysis of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) gene 196 A/G polymorphism with Alzheimer's disease (AD) in mainland Chinese. *Neurosci Lett* 387: 11–16
- Bibel M, Hoppe E & Barde YA (1999) Biochemical and functional interactions between the neurotrophin receptors trk and p75NTR. *EMBO J* 18: 616–622
- Bigland-Ritchie BR, Furbush FH, Gandevia SC & Thomas CK (1992) Voluntary discharge frequencies of human motoneurons at different muscle lengths. *Muscle Nerve* 15: 130–137
- Binder-Macleod SA & McDermond LR (1992) Changes in the force-frequency relationship of the human quadriceps femoris muscle following electrically and voluntarily induced fatigue. *Phys Ther* 72: 95–104
- Bisgard GE, Forster HV, Byrnes B, Stanek K, Klein J & Manohar M (1978) Cerebrospinal fluid acid-base balance during muscular exercise. *J Appl Physiol Respir Environ Exerc Physiol* 45: 94–101
- Black CD & McCully KK (2008) Force per active area and muscle injury during electrically stimulated contractions. *Med Sci Sports Exerc* 40: 1596–1604

- Black JE, Isaacs KR, Anderson BJ, Alcantara AA & Greenough WT (1990) Learning causes synaptogenesis, whereas motor activity causes angiogenesis, in cerebellar cortex of adult rats. *Proc Natl Acad Sci U S A* 87: 5568–5572
- Blackmore DG, Vukovic J, Waters MJ & Bartlett PF (2012) GH mediates exercise-dependent activation of SVZ neural precursor cells in aged mice. *PLoS One* 7: e49912
- Blöchl A & Thoenen H (1996) Localization of cellular storage compartments and sites of constitutive and activity-dependent release of nerve growth factor (NGF) in primary cultures of hippocampal neurons. *Mol Cell Neurosci* 7: 173–190
- Blum R, Kafitz KW & Konnerth A (2002) Neurotrophin-evoked depolarization requires the sodium channel Na(V)1.9. *Nature* 419: 687–693
- Bon CLM & Garthwaite J (2003) On the Role of Nitric Oxide in Hippocampal Long-Term Potentiation. *J Neurosci* 23: 1941–1948
- Booth FW, Roberts CK & Laye MJ (2012) Lack of exercise is a major cause of chronic diseases. *Compr Physiol* 2: 1143–1211
- Bossù P, Cutuli D, Palladino I, Caporali P, Angelucci F, Laricchiuta D, Gelfo F, De Bartolo P, Caltagirone C & Petrosini L (2012) A single intraperitoneal injection of endotoxin in rats induces long-lasting modifications in behavior and brain protein levels of TNF- α and IL-18. *J Neuroinflammation* 9: 101
- Boström P, Wu J, Jedrychowski MP, Korde A, Ye L, Lo JC, Rasbach KA, Boström EA, Choi JH, Long JZ, *et al* (2012) A PGC1- α -dependent myokine that drives brown-fat-like development of white fat and thermogenesis. *Nature* 481: 463–468
- Bothwell M (1995) Functional interactions of neurotrophins and neurotrophin receptors. *Annu Rev Neurosci* 18: 223–253
- Brandt MD, Maass A, Kempermann G & Storch A (2010) Physical exercise increases Notch activity, proliferation and cell cycle exit of type-3 progenitor cells in adult hippocampal neurogenesis. *Eur J Neurosci* 32: 1256–1264
- Brigadski T, Hartmann M & Lessmann V (2005) Differential vesicular targeting and time course of synaptic secretion of the mammalian neurotrophins. *J Neurosci* 25: 7601–7614
- Brockett AT, LaMarca EA & Gould E (2015) Physical Exercise Enhances Cognitive Flexibility as Well as Astrocytic and Synaptic Markers in the Medial Prefrontal Cortex. *PLOS ONE* 10: e0124859
- Brooks GA (1986) Lactate production under fully aerobic conditions: the lactate shuttle during rest and exercise. *Fed Proc* 45: 2924–2929
- Brown BM, Peiffer JJ, Sohrabi HR, Mondal A, Gupta VB, Rainey-Smith SR, Taddei K, Burnham S, Ellis KA, Szoeke C, *et al* (2012) Intense physical activity is associated with cognitive performance in the elderly. *Transl Psychiatry* 2: e191
- Brown J, Cooper-Kuhn CM, Kempermann G, Van Praag H, Winkler J, Gage FH & Kuhn HG (2003) Enriched environment and physical activity stimulate hippocampal but not olfactory bulb neurogenesis. *Eur J Neurosci* 17: 2042–2046
- Brunelli A, Dimauro I, Sgrò P, Emerenziani GP, Magi F, Baldari C, Guidetti L, Di Luigi L, Parisi P & Caporossi D (2012) Acute exercise modulates BDNF and pro-BDNF protein content in immune cells. *Med Sci Sports Exerc* 44: 1871–1880
- Bullitt E, Rahman FN, Smith JK, Kim E, Zeng D, Katz LM & Marks BL (2009) The effect of exercise on the cerebral vasculature of healthy aged subjects as visualized by MR angiography. *AJNR Am J Neuroradiol* 30: 1857–1863
- Caldwell CC, Petzinger GM, Jakowec MW & Cadenas E (2020) Treadmill exercise rescues mitochondrial function and motor behavior in the CAG140 knock-in mouse model of Huntington's disease. *Chem Biol Interact* 315: 108907
- Cao W, Lin J, Xiang W, Liu J, Wang B, Liao W & Jiang T (2022) Physical Exercise-Induced Astrocytic Neuroprotection and Cognitive Improvement Through Primary Cilia and Mitogen-Activated Protein Kinases Pathway in Rats With Chronic Cerebral Hypoperfusion. *Frontiers in Aging Neuroscience* 14
- Carneiro LSF, Fonseca AM, Vieira-Coelho MA, Mota MP & Vasconcelos-Raposo J (2015) Effects of structured exercise and pharmacotherapy vs. pharmacotherapy for adults with depressive symptoms: A randomized clinical trial. *J Psychiatr Res* 71: 48–55
- Carson RG & Buick AR (2021a) Neuromuscular electrical stimulation-promoted plasticity of the human brain. *The Journal of Physiology* 599: 2375–2399
- Carson RG & Buick AR (2021b) Neuromuscular electrical stimulation-promoted plasticity of the human brain. *The Journal of Physiology* 599: 2375–2399
- Carter BD, Kaltschmidt C, Kaltschmidt B, Offenhäuser N, Böhm-Matthaei R, Baeuerle PA & Barde YA (1996) Selective activation of NF-kappa B by

- nerve growth factor through the neurotrophin receptor p75. *Science* 272: 542–545
- Cascella M & Bimonte S (2017) The role of general anesthetics and the mechanisms of hippocampal and extra-hippocampal dysfunctions in the genesis of postoperative cognitive dysfunction. *Neural Regen Res* 12: 1780–1785
- Caspersen CJ, Powell KE & Christenson GM (1985) Physical activity, exercise, and physical fitness: definitions and distinctions for health-related research. *Public Health Rep* 100: 126–131
- Cefis M, Prigent-Tessier A, Quirié A, Pernet N, Marie C & Garnier P (2019) The effect of exercise on memory and BDNF signaling is dependent on intensity. *Brain Struct Funct* 224: 1975–1985
- Cerqueira É, Marinho DA, Neiva HP & Lourenço O (2020) Inflammatory Effects of High and Moderate Intensity Exercise—A Systematic Review. *Frontiers in Physiology* 10
- Cervenka I, Agudelo LZ & Ruas JL (2017) Kynurenines: Tryptophan's metabolites in exercise, inflammation, and mental health. *Science* 357: eaaf9794
- Chacón-Fernández P, Säuberli K, Colzani M, Moreau T, Ghevaert C & Barde Y-A (2016) Brain-derived Neurotrophic Factor in Megakaryocytes. *J Biol Chem* 291: 9872–9881
- Chaddock L, Erickson KI, Prakash RS, Kim JS, Voss MW, Vanpatter M, Pontifex MB, Raine LB, Konkel A, Hillman CH, *et al* (2010) A neuroimaging investigation of the association between aerobic fitness, hippocampal volume, and memory performance in preadolescent children. *Brain Res* 1358: 172–183
- Chae C-H, Jung S-L, An S-H, Park B-Y, Kim T-W, Wang S-W, Kim J-H, Lee H-C & Kim H-T (2014) Swimming exercise stimulates neurogenesis in the subventricular zone via increase in synapsin I and nerve growth factor levels. *Biol Sport* 31: 309–314
- Chamberlain KG, Tong M & Penington DG (1990) Properties of the exchangeable splenic platelets released into the circulation during exercise-induced thrombocytosis. *Am J Hematol* 34: 161–168
- Cheeran B, Talelli P, Mori F, Koch G, Suppa A, Edwards M, Houlden H, Bhatia K, Greenwood R & Rothwell JC (2008) A common polymorphism in the brain-derived neurotrophic factor gene (BDNF) modulates human cortical plasticity and the response to rTMS. *J Physiol* 586: 5717–5725
- Chekroud SR, Gueorguieva R, Zheutlin AB, Paulus M, Krumholz HM, Krystal JH & Chekroud AM (2018) Association between physical exercise and mental health in 1.2 million individuals in the USA between 2011 and 2015: a cross-sectional study. *Lancet Psychiatry* 5: 739–746
- Chen K, Zheng Y, Wei J-A, Ouyang H, Huang X, Zhang F, Lai CSW, Ren C, So K-F & Zhang L (2019) Exercise training improves motor skill learning via selective activation of mTOR. *Sci Adv* 5: eaaw1888
- Chen MJ & Russo-Neustadt AA (2009) Running exercise-induced up-regulation of hippocampal brain-derived neurotrophic factor is CREB-dependent. *Hippocampus* 19: 962–972
- Chen WG, Chang Q, Lin Y, Meissner A, West AE, Griffith EC, Jaenisch R & Greenberg ME (2003a) Derepression of BDNF transcription involves calcium-dependent phosphorylation of MeCP2. *Science* 302: 885–889
- Chen WG, West AE, Tao X, Corfas G, Szentirmay MN, Sawadogo M, Vinson C & Greenberg ME (2003b) Upstream stimulatory factors are mediators of Ca²⁺-responsive transcription in neurons. *J Neurosci* 23: 2572–2581
- Chen Z, Gao M, Su Y, Liu P & Sun B (2021) Running Promotes Transformation of Brain Astrocytes Into Neuroprotective Reactive Astrocytes and Synaptic Formation by Targeting Gpc6 Through the STAT3 Pathway. *Frontiers in Physiology* 12
- Chen Z-Y, Ieraci A, Teng H, Dall H, Meng C-X, Herrera DG, Nykjaer A, Hempstead BL & Lee FS (2005) Sortilin controls intracellular sorting of brain-derived neurotrophic factor to the regulated secretory pathway. *J Neurosci* 25: 6156–6166
- Chen Z-Y, Jing D, Bath KG, Ieraci A, Khan T, Siao C-J, Herrera DG, Toth M, Yang C, McEwen BS, *et al* (2006) Genetic variant BDNF (Val66Met) polymorphism alters anxiety-related behavior. *Science* 314: 140–143
- Chipchase LS, Schabrun SM & Hodges PW (2011) Peripheral electrical stimulation to induce cortical plasticity: A systematic review of stimulus parameters. *Clinical Neurophysiology* 122: 456–463
- Cho H-J, Sung Y-H, Lee S-H, Chung J-Y, Kang J-M & Yi J-W (2013) Isoflurane Induces Transient Anterograde Amnesia through Suppression of Brain-Derived Neurotrophic Factor in Hippocampus. *J Korean Neurosurg Soc* 53: 139–144
- Choi SH, Bylykbashi E, Chatila ZK, Lee SW, Pulli B, Clemenson GD, Kim E, Rompala A, Oram MK, Asselin C, *et al* (2018) Combined adult neurogenesis and BDNF mimic exercise

- effects on cognition in an Alzheimer's mouse model. *Science* 361: eaan8821
- Chu C-H, Kramer AF, Song T-F, Wu C-H, Hung T-M & Chang Y-K (2017) Acute Exercise and Neurocognitive Development in Preadolescents and Young Adults: An ERP Study. *Neural Plasticity* 2017
- Chung W-S, Welsh CA, Barres BA & Stevens B (2015) Do glia drive synaptic and cognitive impairment in disease? *Nat Neurosci* 18: 1539–1545
- Cirulli F, Berry A, Chiarotti F & Alleva E (2004) Intrahippocampal administration of BDNF in adult rats affects short-term behavioral plasticity in the Morris water maze and performance in the elevated plus-maze. *Hippocampus* 14: 802–807
- Clark PJ, Bhattacharya TK, Miller DS & Rhodes JS (2011a) Induction of c-Fos, Zif268, and Arc from acute bouts of voluntary wheel running in new and pre-existing adult mouse hippocampal granule neurons. *Neuroscience* 184: 16–27
- Clark PJ, Kohman RA, Miller DS, Bhattacharya TK, Brzezinska WJ & Rhodes JS (2011b) Genetic influences on exercise-induced adult hippocampal neurogenesis across 12 divergent mouse strains. *Genes Brain Behav* 10: 345–353
- Clark PJ, Kohman RA, Miller DS, Bhattacharya TK, Haferkamp EH & Rhodes JS (2010) Adult hippocampal neurogenesis and c-Fos induction during escalation of voluntary wheel running in C57BL/6J mice. *Behav Brain Res* 213: 246–252
- Coco M, Buscemi A, Ramaci T, Tusak M, Corrado DD, Perciavalle V, Maugeri G, Perciavalle V & Musumeci G (2020) Influences of Blood Lactate Levels on Cognitive Domains and Physical Health during a Sports Stress. Brief Review. *Int J Environ Res Public Health* 17: 9043
- Coetsee C & Terblanche E (2017) The effect of three different exercise training modalities on cognitive and physical function in a healthy older population. *Eur Rev Aging Phys Act* 14: 13
- Collins DF (2007) Central contributions to contractions evoked by tetanic neuromuscular electrical stimulation. *Exerc Sport Sci Rev* 35: 102–109
- Collins DF, Burke D & Gandevia SC (2001) Large involuntary forces consistent with plateau-like behavior of human motoneurons. *J Neurosci* 21: 4059–4065
- Collins DF, Burke D & Gandevia SC (2002) Sustained contractions produced by plateau-like behaviour in human motoneurons. *J Physiol* 538: 289–301
- Colombo E, Bedogni F, Lorenzetti I, Landsberger N, Previtali SC & Farina C (2013) Autocrine and immune cell-derived BDNF in human skeletal muscle: implications for myogenesis and tissue regeneration. *The Journal of Pathology* 231: 190–198
- Colombo JA, Reisin HD, Miguel-Hidalgo JJ & Rajkowska G (2006) Cerebral cortex astroglia and the brain of a genius: A propos of A. Einstein's. *Brain research reviews* 52: 257
- Conn VS (2010) Anxiety outcomes after physical activity interventions: meta-analysis findings. *Nurs Res* 59: 224–231
- Connor B, Young D, Yan Q, Faull RL, Synek B & Dragunow M (1997) Brain-derived neurotrophic factor is reduced in Alzheimer's disease. *Brain Res Mol Brain Res* 49: 71–81
- Copeland EN, Watson CJF, Whitley KC, Baranowski BJ, Kurgan N, MacNeil AJ, MacPherson REK, Fajardo VA & Allison DJ (2022) Kynurenine metabolism is altered in mdx mice: a potential muscle to brain connection. *Exp Physiol* 107: 1029–1036
- Cordova F (1993) Epilepsy and sport. *Aust Fam Physician* 22: 558–562
- Coria-Lucero CD, Golini RS, Ponce IT, Deyurka N, Anzulovich AC, Delgado SM & Navigatore-Fonzo LS (2016) Rhythmic Bdnf and TrkB expression patterns in the prefrontal cortex are lost in aged rats. *Brain Res* 1653: 51–58
- Cosio PL, Crespo-Posadas M, Velarde-Sotres Á & Pelaez M (2021) Effect of Chronic Resistance Training on Circulating Irisin: Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *Int J Environ Res Public Health* 18: 2476
- Coull JAM, Beggs S, Boudreau D, Boivin D, Tsuda M, Inoue K, Gravel C, Salter MW & De Koninck Y (2005) BDNF from microglia causes the shift in neuronal anion gradient underlying neuropathic pain. *Nature* 438: 1017–1021
- Coutinho AE & Chapman KE (2011) The anti-inflammatory and immunosuppressive effects of glucocorticoids, recent developments and mechanistic insights. *Mol Cell Endocrinol* 335: 2–13
- Creer DJ, Romberg C, Saksida LM, van Praag H & Bussey TJ (2010) Running enhances spatial pattern separation in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 107: 2367–2372
- Cuppini R, Sartini S, Agostini D, Guescini M, Ambrogini P, Betti M, Bertini L, Vallasciani M & Stocchi V (2007) Bdnf expression in rat

- skeletal muscle after acute or repeated exercise. *Arch Ital Biol* 145: 99–110
- Czurkó A, Hirase H, Csicsvari J & Buzsáki G (1999) Sustained activation of hippocampal pyramidal cells by 'space clamping' in a running wheel. *Eur J Neurosci* 11: 344–352
- Dahlin E, Andersson M, Thorén A, Hanse E & Seth H (2019) Effects of physical exercise and stress on hippocampal CA1 and dentate gyrus synaptic transmission and long-term potentiation in adolescent and adult Wistar rats. *Neuroscience* 408: 22–30
- Dalise S, Cavalli L, Ghuman H, Wahlberg B, Gerwig M, Chisari C, Ambrosio F & Modo M (2017) Biological effects of dosing aerobic exercise and neuromuscular electrical stimulation in rats. *Sci Rep* 7: 10830
- Dao AT, Zagaar MA, Levine AT, Salim S, Eriksen JL & Alkadhi KA (2013) Treadmill exercise prevents learning and memory impairment in Alzheimer's disease-like pathology. *Curr Alzheimer Res* 10: 507–515
- De Miguel Z, Khoury N, Betley MJ, Lehallier B, Willoughby D, Olsson N, Yang AC, Hahn O, Lu N, Vest RT, *et al* (2021) Exercise plasma boosts memory and dampens brain inflammation via clusterin. *Nature* 600: 494–499
- Dechant G & Barde Y-A (2002) The neurotrophin receptor p75NTR: novel functions and implications for diseases of the nervous system. *Nat Neurosci* 5: 1131–1136
- van Dellen A, Cordery PM, Spires TL, Blakemore C & Hannan AJ (2008) Wheel running from a juvenile age delays onset of specific motor deficits but does not alter protein aggregate density in a mouse model of Huntington's disease. *BMC Neurosci* 9: 34
- Delp MD, Armstrong RB, Godfrey DA, Laughlin MH, Ross CD & Wilkerson MK (2001) Exercise increases blood flow to locomotor, vestibular, cardiorespiratory and visual regions of the brain in miniature swine. *J Physiol* 533: 849–859
- Dhanda S, Gupta S, Halder A, Sunkaria A & Sandhir R (2018) Systemic inflammation without gliosis mediates cognitive deficits through impaired BDNF expression in bile duct ligation model of hepatic encephalopathy. *Brain Behav Immun* 70: 214–232
- Dieni S, Matsumoto T, Dekkers M, Rauskolb S, Ionescu MS, Deogracias R, Gundelfinger ED, Kojima M, Nestel S, Frotscher M, *et al* (2012) BDNF and its pro-peptide are stored in presynaptic dense core vesicles in brain neurons. *J Cell Biol* 196: 775–788
- Ding Q, Ying Z & Gómez-Pinilla F (2011) Exercise influences hippocampal plasticity by modulating BDNF processing. *Neuroscience* 192: 773–780
- Ding Y-H, Li J, Zhou Y, Rafols JA, Clark JC & Ding Y (2006) Cerebral angiogenesis and expression of angiogenic factors in aging rats after exercise. *Curr Neurovasc Res* 3: 15–23
- Dinoff A, Herrmann N, Swardfager W & Lanctôt KL (2017) The effect of acute exercise on blood concentrations of brain-derived neurotrophic factor in healthy adults: a meta-analysis. *Eur J Neurosci* 46: 1635–1646
- Dolezal BA, Neufeld EV, Boland DM, Martin JL & Cooper CB (2017) Interrelationship between Sleep and Exercise: A Systematic Review. *Adv Prev Med* 2017: 1364387
- Dreibati B, Lavet C, Pinti A & Poumarat G (2010) Influence of electrical stimulation frequency on skeletal muscle force and fatigue. *Ann Phys Rehabil Med* 53: 266–271, 271–277
- Duchateau J & Hainaut K (1988) Training effects of sub-maximal electrostimulation in a human muscle. *Med Sci Sports Exerc* 20: 99–104
- Durcan L, Wilson F & Cunnane G (2014) The effect of exercise on sleep and fatigue in rheumatoid arthritis: a randomized controlled study. *J Rheumatol* 41: 1966–1973
- Dwivedi Y, Rizavi HS, Conley RR, Roberts RC, Tamminga CA & Pandey GN (2003) Altered gene expression of brain-derived neurotrophic factor and receptor tyrosine kinase B in postmortem brain of suicide subjects. *Arch Gen Psychiatry* 60: 804–815
- Eadie BD, Redila VA & Christie BR (2005) Voluntary exercise alters the cytoarchitecture of the adult dentate gyrus by increasing cellular proliferation, dendritic complexity, and spine density. *J Comp Neurol* 486: 39–47
- Edwards MK, Rhodes RE & Loprinzi PD (2017) A Randomized Control Intervention Investigating the Effects of Acute Exercise on Emotional Regulation. *Am J Health Behav* 41: 534–543
- Edwards MR, Martin DH & Hughson RL (2002) Cerebral hemodynamics and resistance exercise. *Medicine & Science in Sports & Exercise* 34: 1207
- Egan MF, Kojima M, Callicott JH, Goldberg TE, Kolachana BS, Bertolino A, Zaitsev E, Gold B, Goldman D, Dean M, *et al* (2003) The BDNF val66met polymorphism affects activity-dependent secretion of BDNF and human memory and hippocampal function. *Cell* 112: 257–269
- Eide FF, Vining ER, Eide BL, Zang K, Wang XY & Reichardt LF (1996) Naturally occurring

- truncated trkB receptors have dominant inhibitory effects on brain-derived neurotrophic factor signaling. *J Neurosci* 16: 3123–3129
- Ekelund U, Steene-Johannessen J, Brown WJ, Fagerland MW, Owen N, Powell KE, Bauman A & Lee I-M (2016) Does physical activity attenuate, or even eliminate, the detrimental association of sitting time with mortality? A harmonised meta-analysis of data from more than 1 million men and women. *The Lancet* 388: 1302–1310
- El Hayek L, Khalifeh M, Zibara V, Abi Assaad R, Emmanuel N, Karnib N, El-Ghandour R, Nasrallah P, Bilen M, Ibrahim P, *et al* (2019) Lactate Mediates the Effects of Exercise on Learning and Memory through SIRT1-Dependent Activation of Hippocampal Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF). *J Neurosci* 39: 2369–2382
- Endo K, Matsukawa K, Liang N, Nakatsuka C, Tsuchimochi H, Okamura H & Hamaoka T (2013) Dynamic exercise improves cognitive function in association with increased prefrontal oxygenation. *J Physiol Sci* 63: 287–298
- Endres M, Gertz K, Lindauer U, Katchanov J, Schultze J, Schröck H, Nickenig G, Kuschinsky W, Dirnagl U & Laufs U (2003) Mechanisms of stroke protection by physical activity. *Annals of Neurology* 54: 582–590
- Enoka RM, Amiridis IG & Duchateau J (2020) Electrical Stimulation of Muscle: Electrophysiology and Rehabilitation. *Physiology (Bethesda)* 35: 40–56
- Erickson KI, Hillman C, Stillman CM, Ballard RM, Bloodgood B, Conroy DE, Macko R, Marquez DX, Petruzzello SJ, Powell KE, *et al* (2019) Physical Activity, Cognition, and Brain Outcomes: A Review of the 2018 Physical Activity Guidelines. *Med Sci Sports Exerc* 51: 1242–1251
- Erickson KI, Voss MW, Prakash RS, Basak C, Szabo A, Chaddock L, Kim JS, Heo S, Alves H, White SM, *et al* (2011) Exercise training increases size of hippocampus and improves memory. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 108: 3017–3022
- Ernfors P, Lee KF & Jaenisch R (1994) Mice lacking brain-derived neurotrophic factor develop with sensory deficits. *Nature* 368: 147–150
- Espeit L, Lapole T, Millet GY, Rozand V & Maffiuletti NA (2023) Wide-pulse electrical stimulation of the quadriceps allows greater maximal evocable torque than conventional stimulation. *Eur J Appl Physiol* 123: 1209–1214
- Espeland MA, Luchsinger JA, Neiberg RH, Carmichael O, Laurienti PJ, Pi-Sunyer X, Wing RR, Cook D, Horton E, Casanova R, *et al* (2018) Long Term Effect of Intensive Lifestyle Intervention on Cerebral Blood Flow. *J Am Geriatr Soc* 66: 120–126
- Farmer J, Zhao X, van Praag H, Wodtke K, Gage FH & Christie BR (2004) Effects of voluntary exercise on synaptic plasticity and gene expression in the dentate gyrus of adult male Sprague-Dawley rats in vivo. *Neuroscience* 124: 71–79
- Fatouros IG (2018) Is irisin the new player in exercise-induced adaptations or not? A 2017 update. *Clin Chem Lab Med* 56: 525–548
- Fawcett JP, Aloyz R, McLean JH, Pareek S, Miller FD, McPherson PS & Murphy RA (1997) Detection of brain-derived neurotrophic factor in a vesicular fraction of brain synaptosomes. *J Biol Chem* 272: 8837–8840
- Ferguson BS, Rogatzki MJ, Goodwin ML, Kane DA, Rightmire Z & Gladden LB (2018) Lactate metabolism: historical context, prior misinterpretations, and current understanding. *Eur J Appl Physiol* 118: 691–728
- Fernandes J, Soares JCK, do Amaral Baliego LGZ & Arida RM (2016) A single bout of resistance exercise improves memory consolidation and increases the expression of synaptic proteins in the hippocampus. *Hippocampus* 26: 1096–1103
- Fernández-Bustos JG, Infantes-Paniagua Á, Cuevas R & Contreras OR (2019) Effect of Physical Activity on Self-Concept: Theoretical Model on the Mediation of Body Image and Physical Self-Concept in Adolescents. *Frontiers in Psychology* 10
- Ferrer-Martínez A, Ruiz-Lozano P & Chien KR (2002) Mouse PeP: a novel peroxisomal protein linked to myoblast differentiation and development. *Dev Dyn* 224: 154–167
- Fiorilli G, Quinzi F, Buonsenso A, Casazza G, Manni L, Parisi A, Di Costanzo A, Calcagno G, Soligo M & di Cagno A (2021) A Single Session of Whole-Body Electromyostimulation Increases Muscle Strength, Endurance and proNGF in Early Parkinson Patients. *Int J Environ Res Public Health* 18: 5499
- Foehr ED, Lin X, O'Mahony A, Gelezianus R, Bradshaw RA & Greene WC (2000) NF- κ B Signaling Promotes Both Cell Survival and Neurite Process Formation in Nerve Growth Factor-Stimulated PC12 Cells. *J Neurosci* 20: 7556–7563
- Fouré A, Duhamel G, Wegrzyk J, Boudinet H, Mattei J-P, Le Troter A, Bendahan D & Gondin J (2015a) Heterogeneity of Muscle Damage Induced by Electrostimulation: A Multimodal

- MRI Study. *Medicine & Science in Sports & Exercise* 47: 166
- Fouré A, Le Troter A, Guye M, Mattei J-P, Bendahan D & Gondin J (2015b) Localization and quantification of intramuscular damage using statistical parametric mapping and skeletal muscle parcellation. *Sci Rep* 5: 18580
- Fouré A, Le Troter A, Ogier AC, Guye M, Gondin J & Bendahan D (2019) Spatial difference can occur between activated and damaged muscle areas following electrically-induced isometric contractions. *The Journal of Physiology* 597: 4227–4236
- Fouré A, Nosaka K, Wegrzyk J, Duhamel G, Troter AL, Boudinet H, Mattei J-P, Vilmen C, Jubeau M, Bendahan D, *et al* (2014) Time Course of Central and Peripheral Alterations after Isometric Neuromuscular Electrical Stimulation-Induced Muscle Damage. *PLOS ONE* 9: e107298
- Fouré A, Ogier AC, Guye M, Gondin J & Bendahan D (2020) Muscle alterations induced by electrostimulation are lower at short quadriceps femoris length. *Eur J Appl Physiol* 120: 325–335
- Fox J, Rioux BV, Goulet EDB, Johanssen NM, Swift DL, Bouchard DR, Loewen H & Sénéchal M (2018) Effect of an acute exercise bout on immediate post-exercise irisin concentration in adults: A meta-analysis. *Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports* 28: 16–28
- Francis ST, Kelly EF, Bowtell R, Dunseath WJ, Folger SE & McGlone F (2000) fMRI of the responses to vibratory stimulation of digit tips. *Neuroimage* 11: 188–202
- Frazzini V, Granzotto A, Bomba M, Massetti N, Castelli V, d'Aurora M, Punzi M, Iorio M, Mosca A, Delli Pizzi S, *et al* (2018) The pharmacological perturbation of brain zinc impairs BDNF-related signaling and the cognitive performances of young mice. *Sci Rep* 8: 9768
- Frith E, Sng E & Loprinzi PD (2017) Randomized controlled trial evaluating the temporal effects of high-intensity exercise on learning, short-term and long-term memory, and prospective memory. *Eur J Neurosci* 46: 2557–2564
- Frodl T, Strehl K, Carballedo A, Tozzi L, Doyle M, Amico F, Gormley J, Lavelle G & O'Keane V (2020) Aerobic exercise increases hippocampal subfield volumes in younger adults and prevents volume decline in the elderly. *Brain Imaging and Behavior* 14: 1577–1587
- Fujikake T, Hart R & Nosaka K (2009) Changes in B-mode ultrasound echo intensity following injection of bupivacaine hydrochloride to rat hind limb muscles in relation to histologic changes. *Ultrasound Med Biol* 35: 687–696
- Fujimura H, Altar CA, Chen R, Nakamura T, Nakahashi T, Kambayashi J, Sun B & Tandon NN (2002) Brain-derived neurotrophic factor is stored in human platelets and released by agonist stimulation. *Thromb Haemost* 87: 728–734
- Fulgenzi G, Hong Z, Tomassoni-Ardori F, Barella LF, Becker J, Barrick C, Swing D, Yanpallewar S, Croix BS, Wess J, *et al* (2020) Novel metabolic role for BDNF in pancreatic β -cell insulin secretion. *Nat Commun* 11: 1950
- Gallego X, Cox RJ, Funk E, Foster RA & Ehringer MA (2015) Voluntary exercise decreases ethanol preference and consumption in C57BL/6 adolescent mice: sex differences and hippocampal BDNF expression. *Physiol Behav* 138: 28–36
- Galvão RP, Garcia-Verdugo JM & Alvarez-Buylla A (2008) Brain-derived neurotrophic factor signaling does not stimulate subventricular zone neurogenesis in adult mice and rats. *J Neurosci* 28: 13368–13383
- Garcia N, Tomàs M, Santafe MM, Lanuza MA, Besalduch N & Tomàs J (2010) Localization of brain-derived neurotrophic factor, neurotrophin-4, tropomyosin-related kinase b receptor, and p75NTR receptor by high-resolution immunohistochemistry on the adult mouse neuromuscular junction. *Journal of the Peripheral Nervous System* 15: 40–49
- Gardner JC, Dvoretzkiy SV, Yang Y, Venkataraman S, Lange DA, Li S, Boppart AL, Kim N, Rendeiro C, Boppart MD, *et al* (2020) Electrically stimulated hind limb muscle contractions increase adult hippocampal astroglialogenesis but not neurogenesis or behavioral performance in male C57BL/6J mice. *Sci Rep* 10: 19319
- Gatt JM, Nemeroff CB, Dobson-Stone C, Paul RH, Bryant RA, Schofield PR, Gordon E, Kemp AH & Williams LM (2009) Interactions between BDNF Val66Met polymorphism and early life stress predict brain and arousal pathways to syndromal depression and anxiety. *Mol Psychiatry* 14: 681–695
- Gerecke KM, Jiao Y, Pagala V & Smeyne RJ (2012) Exercise Does Not Protect against MPTP-Induced Neurotoxicity in BDNF Haploinsufficient Mice. *PLoS One* 7: e43250
- Gertz K, Priller J, Kronenberg G, Fink KB, Winter B, Schröck H, Ji S, Milosevic M, Harms C, Böhm M, *et al* (2006) Physical Activity Improves Long-Term Stroke Outcome via Endothelial Nitric Oxide Synthase-Dependent Augmentation of Neovascularization and

- Cerebral Blood Flow. *Circulation Research* 99: 1132–1140
- Ghalamsiah N & Nourshahi M (2023) Acute effects of high-intensity functional training with or without whole-body electromyostimulation on serum irisin and brain-derived neurotrophic factor in overweight individuals. *Science & Sports*
- Gissel H (2005) The role of Ca²⁺ in muscle cell damage. *Ann N Y Acad Sci* 1066: 166–180
- Gobbo M, Maffiuletti NA, Orizio C & Minetto MA (2014) Muscle motor point identification is essential for optimizing neuromuscular electrical stimulation use. *J NeuroEngineering Rehabil* 11: 1–6
- Goldstein MS (1961) Humoral nature of hypoglycemia in muscular exercise. *American Journal of Physiology-Legacy Content* 200: 67–70
- Gomez-Pinilla F, Vaynman S & Ying Z (2008) Brain-derived neurotrophic factor functions as a metabotrophin to mediate the effects of exercise on cognition. *Eur J Neurosci* 28: 2278–2287
- Gómez-Pinilla F, Ying Z, Opazo P, Roy RR & Edgerton VR (2001) Differential regulation by exercise of BDNF and NT-3 in rat spinal cord and skeletal muscle. *Eur J Neurosci* 13: 1078–1084
- Gomez-Pinilla F, Zhuang Y, Feng J, Ying Z & Fan G (2011) Exercise impacts brain-derived neurotrophic factor plasticity by engaging mechanisms of epigenetic regulation. *Eur J Neurosci* 33: 383–390
- Gondin J, Brocca L, Bellinzona E, D'Antona G, Maffiuletti NA, Miotti D, Pellegrino MA & Bottinelli R (2011a) Neuromuscular electrical stimulation training induces atypical adaptations of the human skeletal muscle phenotype: a functional and proteomic analysis. *J Appl Physiol (1985)* 110: 433–450
- Gondin J, Cozzone PJ & Bendahan D (2011b) Is high-frequency neuromuscular electrical stimulation a suitable tool for muscle performance improvement in both healthy humans and athletes? *Eur J Appl Physiol* 111: 2473–2487
- Goodman LJ, Valverde J, Lim F, Geschwind MD, Federoff HJ, Geller AI & Hefti F (1996) Regulated release and polarized localization of brain-derived neurotrophic factor in hippocampal neurons. *Mol Cell Neurosci* 7: 222–238
- Gorgey AS, Black CD, Elder CP & Dudley GA (2009) Effects of electrical stimulation parameters on fatigue in skeletal muscle. *J Orthop Sports Phys Ther* 39: 684–692
- Gouspillou G, Sgarioto N, Norris B, Barbat-Artigas S, Aubertin-Leheudre M, Morais JA, Burelle Y, Taivassalo T & Hepple RT (2014) The Relationship between Muscle Fiber Type-Specific PGC-1 α Content and Mitochondrial Content Varies between Rodent Models and Humans. *PLoS One* 9: e103044
- Gray K & Ellis V (2008) Activation of pro-BDNF by the pericellular serine protease plasmin. *FEBS Letters* 582: 907–910
- Greenberg ME, Xu B, Lu B & Hempstead BL (2009) New Insights in the Biology of BDNF Synthesis and Release: Implications in CNS Function. *J Neurosci* 29: 12764–12767
- Gregory CM & Bickel CS (2005) Recruitment Patterns in Human Skeletal Muscle During Electrical Stimulation. *Physical Therapy* 85: 358–364
- Griesbeck O, Canossa M, Campana G, Gärtner A, Hoener MC, Nawa H, Kolbeck R & Thoenen H (1999) Are there differences between the secretion characteristics of NGF and BDNF? Implications for the modulatory role of neurotrophins in activity-dependent neuronal plasticity. *Microsc Res Tech* 45: 262–275
- Guéniot L, Lepere V, De Medeiros GF, Danckaert A, Flamant P, Le Dudal M, Langeron O, Goossens PL, Chrétien F & Jouvion G (2020) Muscle Injury Induces Postoperative Cognitive Dysfunction. *Sci Rep* 10: 2768
- Guerini FR, Beghi E, Riboldazzi G, Zangaglia R, Pianezzola C, Bono G, Casali C, Di Lorenzo C, Agliardi C, Nappi G, *et al* (2009) BDNF Val66Met polymorphism is associated with cognitive impairment in Italian patients with Parkinson's disease. *Eur J Neurol* 16: 1240–1245
- Guo S, Kim WJ, Lok J, Lee S-R, Besancon E, Luo B-H, Stins MF, Wang X, Dedhar S & Lo EH (2008) Neuroprotection via matrix-trophic coupling between cerebral endothelial cells and neurons. *Proc Natl Acad Sci U S A* 105: 7582–7587
- van Hall G, Størmstad M, Rasmussen P, Jans Ø, Zaar M, Gam C, Quistorff B, Secher NH & Nielsen HB (2009) Blood Lactate is an Important Energy Source for the Human Brain. *J Cereb Blood Flow Metab* 29: 1121–1129
- Hall J, Thomas KL & Everitt BJ (2000) Rapid and selective induction of BDNF expression in the hippocampus during contextual learning. *Nat Neurosci* 3: 533–535
- Han J, Yoon S & Park H (2021) Endocytic BDNF secretion regulated by Vamp3 in astrocytes. *Sci Rep* 11: 21203
- Han X, Chen M, Wang F, Windrem M, Wang S, Shanz S, Xu Q, Oberheim NA, Bekar L, Betstadt S, *et al* (2013) Forebrain engraftment by human glial progenitor cells enhances synaptic plasticity and learning in adult mice. *Cell Stem Cell* 12: 342–353

- Hannibal KE & Bishop MD (2014) Chronic Stress, Cortisol Dysfunction, and Pain: A Psychoneuroendocrine Rationale for Stress Management in Pain Rehabilitation. *Phys Ther* 94: 1816–1825
- Hara D, Fukuchi M, Miyashita T, Tabuchi A, Takasaki I, Naruse Y, Mori N, Kondo T & Tsuda M (2009) Remote control of activity-dependent BDNF gene promoter-I transcription mediated by REST/NRSF. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 384: 506–511
- Hariri AR, Goldberg TE, Mattay VS, Kolachana BS, Callicott JH, Egan MF & Weinberger DR (2003) Brain-derived neurotrophic factor val66met polymorphism affects human memory-related hippocampal activity and predicts memory performance. *J Neurosci* 23: 6690–6694
- Harrison DJ, Busse M, Openshaw R, Rosser AE, Dunnett SB & Brooks SP (2013) Exercise attenuates neuropathology and has greater benefit on cognitive than motor deficits in the R6/1 Huntington's disease mouse model. *Exp Neurol* 248: 457–469
- Hartwig AC (1991) Peripheral beta-endorphin and pain modulation. *Anesth Prog* 38: 75–78
- Harvey SB, Øverland S, Hatch SL, Wessely S, Mykletun A & Hotopf M (2018) Exercise and the Prevention of Depression: Results of the HUNT Cohort Study. *Am J Psychiatry* 175: 28–36
- Hashimoto T, Tsukamoto H, Takenaka S, Olesen ND, Petersen LG, Sørensen H, Nielsen HB, Secher NH & Ogoh S (2018) Maintained exercise-enhanced brain executive function related to cerebral lactate metabolism in men. *FASEB J* 32: 1417–1427
- Haubensak W, Narz F, Heumann R & Lessmann V (1998) BDNF-GFP containing secretory granules are localized in the vicinity of synaptic junctions of cultured cortical neurons. *J Cell Sci* 111 (Pt 11): 1483–1493
- Hawley TF, Preston M & Maani CV (2023) Isoflurane. In *StatPearls* Treasure Island (FL): StatPearls Publishing
- Haynes JT, Frith E, Sng E & Loprinzi PD (2019) Experimental Effects of Acute Exercise on Episodic Memory Function: Considerations for the Timing of Exercise. *Psychol Rep* 122: 1744–1754
- Hayward GC, Caceres D, Copeland EN, Baranowski BJ, Mohammad A, Whitley KC, Fajardo VA & MacPherson REK (2022) Characterization of Alzheimer's disease-like neuropathology in Duchenne's muscular dystrophy using the DBA/2J mdx mouse model. *FEBS Open Bio* 12: 154–162
- Heldt SA, Stanek L, Chhatwal JP & Ressler KJ (2007) Hippocampus-specific deletion of BDNF in adult mice impairs spatial memory and extinction of aversive memories. *Mol Psychiatry* 12: 656–670
- Hellström G, Fischer-Colbrie W, Wahlgren NG & Jogestrand T (1996) Carotid artery blood flow and middle cerebral artery blood flow velocity during physical exercise. *J Appl Physiol* (1985) 81: 413–418
- Hempstead BL, Martin-Zanca D, Kaplan DR, Parada LF & Chao MV (1991) High-affinity NGF binding requires coexpression of the trk proto-oncogene and the low-affinity NGF receptor. *Nature* 350: 678–683
- Henneman E (1957) Relation between size of neurons and their susceptibility to discharge. *Science* 126: 1345–1347
- Henneman E, Somjen G & Carpenter DO (1965a) Functional significance of cell size in spinal motoneurons. *Journal of Neurophysiology* 28: 560–580
- Henneman E, Somjen G & Carpenter DO (1965b) Excitability and inhibibility of motoneurons of different sizes. *Journal of Neurophysiology* 28: 599–620
- Herbst E a. F & Holloway GP (2015) Exercise training normalizes mitochondrial respiratory capacity within the striatum of the R6/1 model of Huntington's disease. *Neuroscience* 303: 515–523
- Herring MP, O'Connor PJ & Dishman RK (2010) The effect of exercise training on anxiety symptoms among patients: a systematic review. *Arch Intern Med* 170: 321–331
- Herting MM & Nagel BJ (2012) Aerobic fitness relates to learning on a virtual Morris Water Task and hippocampal volume in adolescents. *Behavioural Brain Research* 233: 517–525
- Hill K, Cavalheri V, Mathur S, Roig M, Janaudis-Ferreira T, Robles P, Dolmage TE & Goldstein R (2018) Neuromuscular electrostimulation for adults with chronic obstructive pulmonary disease. *Cochrane Database Syst Rev* 5: CD010821
- Hirase H, Czurkó A, Csicsvari J & Buzsáki G (1999) Firing rate and theta-phase coding by hippocampal pyramidal neurons during 'space clamping'. *Eur J Neurosci* 11: 4373–4380
- Hiura M, Nariai T, Ishii K, Sakata M, Oda K, Toyohara J & Ishiwata K (2014) Changes in cerebral blood flow during steady-state cycling exercise: a study using oxygen-15-labeled water with PET. *J Cereb Blood Flow Metab* 34: 389–396

- Hiura M, Nariai T, Sakata M, Muta A, Ishibashi K, Wagatsuma K, Tago T, Toyohara J, Ishii K & Maehara T (2018) Response of Cerebral Blood Flow and Blood Pressure to Dynamic Exercise: A Study Using PET. *Int J Sports Med* 39: 181–188
- Hofer M, Pagliusi SR, Hohn A, Leibrock J & Barde YA (1990) Regional distribution of brain-derived neurotrophic factor mRNA in the adult mouse brain. *EMBO J* 9: 2459–2464
- Hoffman BM, Babyak MA, Craighead WE, Sherwood A, Doraiswamy PM, Coons MJ & Blumenthal JA (2011) Exercise and pharmacotherapy in patients with major depression: one-year follow-up of the SMILE study. *Psychosom Med* 73: 127–133
- Holt LM, Hernandez RD, Pacheco NL, Torres Ceja B, Hossain M & Olsen ML (2019) Astrocyte morphogenesis is dependent on BDNF signaling via astrocytic TrkB.T1. *Elife* 8: e44667
- Hopper RA & Garthwaite J (2006) Tonic and Phasic Nitric Oxide Signals in Hippocampal Long-Term Potentiation. *J Neurosci* 26: 11513–11521
- Horch HW & Katz LC (2002) BDNF release from single cells elicits local dendritic growth in nearby neurons. *Nat Neurosci* 5: 1177–1184
- Horch HW, Krüttgen A, Portbury SD & Katz LC (1999) Destabilization of cortical dendrites and spines by BDNF. *Neuron* 23: 353–364
- Horowitz AM, Fan X, Bieri G, Smith LK, Sanchez-Diaz CI, Schroer AB, Gontier G, Casaletto KB, Kramer JH, Williams KE, *et al* (2020) Blood factors transfer beneficial effects of exercise on neurogenesis and cognition to the aged brain. *Science* 369: 167–173
- Hortobágyi T & Maffiuletti NA (2011) Neural adaptations to electrical stimulation strength training. *Eur J Appl Physiol* 111: 2439–2449
- Hsieh S-S, Huang C-J, Wu C-T, Chang Y-K & Hung T-M (2018) Acute Exercise Facilitates the N450 Inhibition Marker and P3 Attention Marker during Stroop Test in Young and Older Adults. *Journal of Clinical Medicine* 7: 391
- Hsueh S-C, Chen K-Y, Lai J-H, Wu C-C, Yu Y-W, Luo Y, Hsieh T-H & Chiang Y-H (2018) Voluntary Physical Exercise Improves Subsequent Motor and Cognitive Impairments in a Rat Model of Parkinson's Disease. *Int J Mol Sci* 19: E508
- Huang EJ & Reichardt LF (2003) Trk receptors: roles in neuronal signal transduction. *Annu Rev Biochem* 72: 609–642
- Huh JY, Mougios V, Kabasakalis A, Fatouros I, Siopi A, Douroudos II, Filippaios A, Panagiotou G, Park KH & Mantzoros CS (2014a) Exercise-induced irisin secretion is independent of age or fitness level and increased irisin may directly modulate muscle metabolism through AMPK activation. *J Clin Endocrinol Metab* 99: E2154–2161
- Huh JY, Mougios V, Skraparlis A, Kabasakalis A & Mantzoros CS (2014b) Irisin in response to acute and chronic whole-body vibration exercise in humans. *Metabolism* 63: 918–921
- Hultman E, Sjöholm H, Jäderholm-Ek I & Krynicky J (1983) Evaluation of methods for electrical stimulation of human skeletal muscle in situ. *Pflugers Arch* 398: 139–141
- Hutchison M, Comper P, Mainwaring L & Richards D (2011) The influence of musculoskeletal injury on cognition: implications for concussion research. *Am J Sports Med* 39: 2331–2337
- Hwang JJ, Park M-H, Choi S-Y & Koh J-Y (2005) Activation of the Trk signaling pathway by extracellular zinc. Role of metalloproteinases. *J Biol Chem* 280: 11995–12001
- Hyldahl RD, Chen TC & Nosaka K (2017) Mechanisms and Mediators of the Skeletal Muscle Repeated Bout Effect. *Exercise and Sport Sciences Reviews* 45: 24
- Ieraci A, Madaio AI, Mallei A, Lee FS & Popoli M (2016) Brain-Derived Neurotrophic Factor Val66Met Human Polymorphism Impairs the Beneficial Exercise-Induced Neurobiological Changes in Mice. *Neuropsychopharmacology* 41: 3070–3079
- Iftikhar IH, Kline CE & Youngstedt SD (2014) Effects of exercise training on sleep apnea: a meta-analysis. *Lung* 192: 175–184
- iii) TBSG (Phase (1999) A controlled trial of recombinant methionyl human BDNF in ALS. *Neurology* 52: 1427–1427
- Im H-I, Hollander JA, Bali P & Kenny PJ (2010) MeCP2 controls BDNF expression and cocaine intake through homeostatic interactions with microRNA-212. *Nat Neurosci* 13: 1120–1127
- Inoue K, Okamoto M, Shibato J, Lee MC, Matsui T, Rakwal R & Soya H (2015) Long-Term Mild, rather than Intense, Exercise Enhances Adult Hippocampal Neurogenesis and Greatly Changes the Transcriptomic Profile of the Hippocampus. *PLoS One* 10: e0128720
- Irahara T, Sato N, Otake K, Murata S, Inoue K, Koike K & Yokota H (2020) Neuromuscular Electrical Stimulation Improves Energy Substrate Metabolism and Survival in Mice With Acute Endotoxic Shock. *Shock* 53: 236–241
- Isaacs KR, Anderson BJ, Alcantara AA, Black JE & Greenough WT (1992) Exercise and the brain: angiogenesis in the adult rat cerebellum after

- vigorous physical activity and motor skill learning. *J Cereb Blood Flow Metab* 12: 110–119
- Islam MR, Valaris S, Young MF, Haley EB, Luo R, Bond SF, Mazuera S, Kitchen RR, Caldarone BJ, Bettio LEB, *et al* (2021) Exercise hormone irisin is a critical regulator of cognitive function. *Nat Metab* 3: 1058–1070
- Islas-Preciado D, Splinter TFL, Ibrahim M, Black N, Wong S, Liu-Ambrose T, Barha CK & Galea LAM (2022) Sex and BDNF Val66Met Polymorphism matter for exercise-induced increase in neurogenesis and cognition in middle-aged mice. 2022.07.29.502070 doi:10.1101/2022.07.29.502070 [PREPRINT]
- Ivy AS, Rodriguez FG, Garcia C, Chen MJ & Russo-Neustadt AA (2003) Noradrenergic and serotonergic blockade inhibits BDNF mRNA activation following exercise and antidepressant. *Pharmacol Biochem Behav* 75: 81–88
- Janse RJ, Hoekstra T, Jager KJ, Zoccali C, Tripepi G, Dekker FW & van Diepen M (2021) Conducting correlation analysis: important limitations and pitfalls. *Clin Kidney J* 14: 2332–2337
- Jayakody K, Gunadasa S & Hosker C (2014) Exercise for anxiety disorders: systematic review. *Br J Sports Med* 48: 187–196
- Jensen SK, Michaels NJ, Ilyntskyy S, Keough MB, Kovalchuk O & Yong VW (2018) Multimodal Enhancement of Remyelination by Exercise with a Pivotal Role for Oligodendroglial PGC1 α . *Cell Rep* 24: 3167–3179
- Ji Y, Lu Y, Yang F, Shen W, Tang TT-T, Feng L, Duan S & Lu B (2010) Acute and gradual increases in BDNF concentration elicit distinct signaling and functions in neurons. *Nat Neurosci* 13: 302–309
- Jiang T, Zhang L, Pan X, Zheng H, Chen X, Li L, Luo J & Hu X (2017) Physical Exercise Improves Cognitive Function Together with Microglia Phenotype Modulation and Remyelination in Chronic Cerebral Hypoperfusion. *Front Cell Neurosci* 11: 404
- Jiang X, Tian F, Du Y, Copeland NG, Jenkins NA, Tessarollo L, Wu X, Pan H, Hu X-Z, Xu K, *et al* (2008) BHLHB2 Controls Bdnf Promoter 4 Activity and Neuronal Excitability. *J Neurosci* 28: 1118–1130
- Jiménez-Maldonado A, Cerna-Cortés J, Castro-Rodríguez EM, Montero SA, Muñiz J, Rodríguez-Hernández A, Lemus M & De Álvarez-Buylla ER (2016) Effects of moderate- and high-intensity chronic exercise on brain-derived neurotrophic factor expression in fast and slow muscles. *Muscle Nerve* 53: 446–451
- Jubeau M, Gondin J, Martin A, Sartorio A & Maffiuletti NA (2007) Random motor unit activation by electrostimulation. *Int J Sports Med* 28: 901–904
- Jubeau M, Muthalib M, Millet GY, Maffiuletti NA & Nosaka K (2012) Comparison in muscle damage between maximal voluntary and electrically evoked isometric contractions of the elbow flexors. *Eur J Appl Physiol* 112: 429–438
- Jubeau M, Sartorio A, Marinone PG, Agosti F, Hoecke JV, Nosaka K & Maffiuletti NA (2008) Comparison between voluntary and stimulated contractions of the quadriceps femoris for growth hormone response and muscle damage. *Journal of Applied Physiology* 104: 75–81
- Kafitz KW, Rose CR, Thoenen H & Konnerth A (1999) Neurotrophin-evoked rapid excitation through TrkB receptors. *Nature* 401: 918–921
- Kairisalo M, Korhonen L, Sepp M, Pruunsild P, Kukkonen JP, Kivinen J, Timmusk T, Blomgren K & Lindholm D (2009) NF- κ B-dependent regulation of brain-derived neurotrophic factor in hippocampal neurons by X-linked inhibitor of apoptosis protein. *European Journal of Neuroscience* 30: 958–966
- Kam T-I, Park H, Chou S-C, Van Vranken JG, Mittenbühler MJ, Kim H, A M, Choi YR, Biswas D, Wang J, *et al* (2022) Amelioration of pathologic α -synuclein-induced Parkinson's disease by irisin. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 119: e2204835119
- Kang H & Schuman EM (1995) Long-lasting neurotrophin-induced enhancement of synaptic transmission in the adult hippocampus. *Science* 267: 1658–1662
- Kaplan DR & Miller FD (2000) Neurotrophin signal transduction in the nervous system. *Curr Opin Neurobiol* 10: 381–391
- Kästner A, Braun M & Meyer T (2015) Two Cases of Rhabdomyolysis After Training With Electromyostimulation by 2 Young Male Professional Soccer Players. *Clinical Journal of Sport Medicine* 25: e71
- Katoh-Semba R, Takeuchi IK, Semba R & Kato K (1997) Distribution of brain-derived neurotrophic factor in rats and its changes with development in the brain. *J Neurochem* 69: 34–42
- Kawamoto Y, Nakamura S, Nakano S, Oka N, Akiguchi I & Kimura J (1996) Immunohistochemical localization of brain-derived neurotrophic factor in adult rat brain. *Neuroscience* 74: 1209–1226
- Kazantsev AG & Thompson LM (2008) Therapeutic application of histone deacetylase inhibitors for

- central nervous system disorders. *Nat Rev Drug Discov* 7: 854–868
- Kazeminasab F, Sadeghi E & Afshari-Safavi A (2022) Comparative Impact of Various Exercises on Circulating Irisin in Healthy Subjects: A Systematic Review and Network Meta-Analysis. *Oxid Med Cell Longev* 2022: 8235809
- Ke Z, Yip SP, Li L, Zheng X-X & Tong K-Y (2011a) The effects of voluntary, involuntary, and forced exercises on brain-derived neurotrophic factor and motor function recovery: a rat brain ischemia model. *PLoS One* 6: e16643
- Ke Z, Yip SP, Li L, Zheng X-X & Tong K-Y (2011b) The effects of voluntary, involuntary, and forced exercises on brain-derived neurotrophic factor and motor function recovery: a rat brain ischemia model. *PLoS One* 6: e16643
- Kemmler W, Teschler M, Bebenek M & von Stengel S (2015) [(Very) high Creatin kinase concentration after exertional whole-body electromyostimulation application: health risks and longitudinal adaptations]. *Wien Med Wochenschr* 165: 427–435
- Kenchappa RS, Tep C, Korade Z, Urra S, Bronfman FC, Yoon SO & Carter BD (2010) p75 Neurotrophin Receptor-mediated Apoptosis in Sympathetic Neurons Involves a Biphasic Activation of JNK and Up-regulation of Tumor Necrosis Factor- α -converting Enzyme/ADAM17 *. *Journal of Biological Chemistry* 285: 20358–20368
- Kennedy L, Glesaaen ER, Palibrk V, Pannone M, Wang W, Al-Jabri A, Suganthan R, Meyer N, Austbø ML, Lin X, *et al* (2022) Lactate receptor HCAR1 regulates neurogenesis and microglia activation after neonatal hypoxia-ischemia. *eLife* 11: e76451
- Kennedy MM & Newton M (1997) Effect of exercise intensity on mood in step aerobics. *J Sports Med Phys Fitness* 37: 200–204
- Kernie SG, Liebl DJ & Parada LF (2000) BDNF regulates eating behavior and locomotor activity in mice. *EMBO J* 19: 1290–1300
- Kerschensteiner M, Gallmeier E, Behrens L, Leal VV, Misgeld T, Klinkert WE, Kolbeck R, Hoppe E, Oropeza-Wekerle RL, Bartke I, *et al* (1999) Activated human T cells, B cells, and monocytes produce brain-derived neurotrophic factor in vitro and in inflammatory brain lesions: a neuroprotective role of inflammation? *J Exp Med* 189: 865–870
- Kim T-W & Sung Y-H (2017) Regular exercise promotes memory function and enhances hippocampal neuroplasticity in experimental autoimmune encephalomyelitis mice. *Neuroscience* 346: 173–181
- Kim Y-M, Ji E-S, Kim S-H, Kim T-W, Ko I-G, Jin J-J, Kim C-J, Kim T-W & Kim D-H (2015) Treadmill exercise improves short-term memory by enhancing hippocampal cell proliferation in quinolinic acid-induced Huntington's disease rats. *J Exerc Rehabil* 11: 5–11
- Kim Y-P, Kim H-B, Jang M-H, Lim B-V, Kim Y-J, Kim H, Kim S-S, Kim E-H & Kim C-J (2003) Magnitude- and time-dependence of the effect of treadmill exercise on cell proliferation in the dentate gyrus of rats. *Int J Sports Med* 24: 114–117
- Kimura A, Okada K, Sato A & Suzuki H (1994) Regional cerebral blood flow in the frontal, parietal and occipital cortices increases independently of systemic arterial pressure during slow walking in conscious rats. *Neuroscience Research* 20: 309–315
- Kimura T, Kaneko F, Iwamoto E, Saitoh S & Yamada T (2019) Neuromuscular electrical stimulation increases serum brain-derived neurotrophic factor in humans. *Exp Brain Res* 237: 47–56
- Kirk EA & Rice CL (2017) Contractile function and motor unit firing rates of the human hamstrings. *J Neurophysiol* 117: 243–250
- Kitaoka Y, Hoshino D & Hatta H (2012) Monocarboxylate transporter and lactate metabolism. *The Journal of Physical Fitness and Sports Medicine* 1: 247–252
- Kleim JA, Chan S, Pringle E, Schallert K, Procaccio V, Jimenez R & Cramer SC (2006) BDNF val66met polymorphism is associated with modified experience-dependent plasticity in human motor cortex. *Nat Neurosci* 9: 735–737
- Klein R, Conway D, Parada LF & Barbacid M (1990) The trkB tyrosine protein kinase gene codes for a second neurogenic receptor that lacks the catalytic kinase domain. *Cell* 61: 647–656
- Klein R, Parada LF, Coulier F & Barbacid M (1989) trkB, a novel tyrosine protein kinase receptor expressed during mouse neural development. *EMBO J* 8: 3701–3709
- Kleinloog JPD, Mensink RP, Ivanov D, Adam JJ, Uludağ K & Joris PJ (2019) Aerobic Exercise Training Improves Cerebral Blood Flow and Executive Function: A Randomized, Controlled Cross-Over Trial in Sedentary Older Men. *Front Aging Neurosci* 11: 333
- Klempin F, Beis D, Mosienko V, Kempermann G, Bader M & Alenina N (2013) Serotonin is required for exercise-induced adult hippocampal neurogenesis. *J Neurosci* 33: 8270–8275
- Knaflitz M, Merletti R & De Luca CJ (1990) Inference of motor unit recruitment order in voluntary and electrically elicited contractions. *J Appl Physiol* (1985) 68: 1657–1667

- Knight CA & Kamen G (2005) Superficial motor units are larger than deeper motor units in human vastus lateralis muscle. *Muscle Nerve* 31: 475–480
- Kohl Z, Kandasamy M, Winner B, Aigner R, Gross C, Couillard-Despres S, Bogdahn U, Aigner L & Winkler J (2007) Physical activity fails to rescue hippocampal neurogenesis deficits in the R6/2 mouse model of Huntington's disease. *Brain Res* 1155: 24–33
- Kohman RA, Bhattacharya TK, Wojcik E & Rhodes JS (2013) Exercise reduces activation of microglia isolated from hippocampus and brain of aged mice. *J Neuroinflammation* 10: 114
- Kolarow R, Brigadski T & Lessmann V (2007) Postsynaptic secretion of BDNF and NT-3 from hippocampal neurons depends on calcium calmodulin kinase II signaling and proceeds via delayed fusion pore opening. *J Neurosci* 27: 10350–10364
- Koponen E, Vöikar V, Riekkö R, Saarelainen T, Rauramaa T, Rauvala H, Taira T & Castrén E (2004) Transgenic mice overexpressing the full-length neurotrophin receptor trkB exhibit increased activation of the trkB-PLCgamma pathway, reduced anxiety, and facilitated learning. *Mol Cell Neurosci* 26: 166–181
- Koppel I, Tuvikene J, Lekk I & Timmusk T (2015) Efficient use of a translation start codon in BDNF exon I. *Journal of Neurochemistry* 134: 1015–1025
- Kozareva DA, O'Leary OF, Cryan JF & Nolan YM (2018) Deletion of TLX and social isolation impairs exercise-induced neurogenesis in the adolescent hippocampus. *Hippocampus* 28: 3–11
- Kronenberg G, Bick-Sander A, Bunk E, Wolf C, Ehninger D & Kempermann G (2006) Physical exercise prevents age-related decline in precursor cell activity in the mouse dentate gyrus. *Neurobiol Aging* 27: 1505–1513
- Kruse N, Cetin S, Chan A, Gold R & Lühder F (2007) Differential expression of BDNF mRNA splice variants in mouse brain and immune cells. *J Neuroimmunol* 182: 13–21
- Kuo H-I, Hsieh M-H, Lin Y-T, Kuo M-F & Nitsche MA (2023) A single bout of aerobic exercise modulates motor learning performance and cortical excitability in humans. *Int J Clin Health Psychol* 23: 100333
- Kurdiova T, Balaz M, Vician M, Maderova D, Vlcek M, Valkovic L, Srbecky M, Imrich R, Kyselovicova O, Belan V, *et al* (2014) Effects of obesity, diabetes and exercise on Fndc5 gene expression and irisin release in human skeletal muscle and adipose tissue: in vivo and in vitro studies. *J Physiol* 592: 1091–1107
- Kuwamizu R, Yamazaki Y, Aoike N, Ochi G, Suwabe K & Soya H (2022) Pupil-linked arousal with very light exercise: pattern of pupil dilation during graded exercise. *J Physiol Sci* 72: 23
- Labban JD & Etnier JL (2011) Effects of acute exercise on long-term memory. *Res Q Exerc Sport* 82: 712–721
- Lagziel S, Gottlieb E & Shlomi T (2020) Mind your media. *Nat Metab* 2: 1369–1372
- Lai HS, Domenico GD & Strauss GR (1988) The effect of different electro-motor stimulation training intensities on strength improvement. *Aust J Physiother* 34: 151–164
- Lai Z, Shan W, Li J, Min J, Zeng X & Zuo Z (2021) Appropriate exercise level attenuates gut dysbiosis and valeric acid increase to improve neuroplasticity and cognitive function after surgery in mice. *Mol Psychiatry* 26: 7167–7187
- Lang X, Zhao N, He Q, Li X, Li X, Sun C & Zhang X (2020) Treadmill exercise mitigates neuroinflammation and increases BDNF via activation of SIRT1 signaling in a mouse model of T2DM. *Brain Research Bulletin* 165: 30–39
- de Las Heras B, Rodrigues L, Cristini J, Weiss M, Prats-Puig A & Roig M (2022) Does the Brain-Derived Neurotrophic Factor Val66Met Polymorphism Modulate the Effects of Physical Activity and Exercise on Cognition? *Neuroscientist* 28: 69–86
- Latimer CS, Searcy JL, Bridges MT, Brewer LD, Popović J, Blalock EM, Landfield PW, Thibault O & Porter NM (2011) Reversal of glial and neurovascular markers of unhealthy brain aging by exercise in middle-aged female mice. *PLoS One* 6: e26812
- Lauritzen F, Paulsen G, Raastad T, Bergersen LH & Owe SG (2009) Gross ultrastructural changes and necrotic fiber segments in elbow flexor muscles after maximal voluntary eccentric action in humans. *J Appl Physiol (1985)* 107: 1923–1934
- Lear SA, Hu W, Rangarajan S, Gasevic D, Leong D, Iqbal R, Casanova A, Swaminathan S, Anjana RM, Kumar R, *et al* (2017) The effect of physical activity on mortality and cardiovascular disease in 130 000 people from 17 high-income, middle-income, and low-income countries: the PURE study. *The Lancet* 390: 2643–2654
- Lee J, Duan W & Mattson MP (2002) Evidence that brain-derived neurotrophic factor is required for basal neurogenesis and mediates, in part, the enhancement of neurogenesis by dietary restriction in the hippocampus of adult mice. *J Neurochem* 82: 1367–1375
- Lee JC-D, Yau S-Y, Lee TMC, Lau BW-M & So K-F (2016) Voluntary Wheel Running Reverses the

- Decrease in Subventricular Zone Neurogenesis Caused by Corticosterone. *Cell Transplant* 25: 1979–1986
- Lee KY, Rhodes J & Saif T (2022) Astrocyte-mediated transduction of muscle fiber contractions synchronizes hippocampal neuronal network development. doi:10.1101/2022.04.12.487995 [PREPRINT]
- Lee P, Linderman JD, Smith S, Brychta RJ, Wang J, Idelson C, Perron RM, Werner CD, Phan GQ, Kammula US, *et al* (2014) Irisin and FGF21 are cold-induced endocrine activators of brown fat function in humans. *Cell Metab* 19: 302–309
- Lee R, Kermani P, Teng KK & Hempstead BL (2001) Regulation of cell survival by secreted proneurotrophins. *Science* 294: 1945–1948
- Lee SCK, Russ DW & Binder-Macleod SA (2009) Force-Frequency Relation of Skeletal Muscle. In *Encyclopedia of Neuroscience*, Binder MD Hirokawa N & Windhorst U (eds) pp 1608–1611. Berlin, Heidelberg: Springer
- Lee T-H, Jang M-H, Shin M-C, Lim B-V, Kim Y-P, Kim H, Choi H-H, Lee K-S, Kim E-H & Kim C-J (2003) Dependence of rat hippocampal c-Fos expression on intensity and duration of exercise. *Life Sci* 72: 1421–1436
- Leger M, Quiedeville A, Bouet V, Haelewyn B, Boulouard M, Schumann-Bard P & Freret T (2013) Object recognition test in mice. *Nat Protoc* 8: 2531–2537
- Leibrock J, Lottspeich F, Hohn A, Hofer M, Hengerer B, Masiakowski P, Thoenen H & Barde YA (1989) Molecular cloning and expression of brain-derived neurotrophic factor. *Nature* 341: 149–152
- Lein ES, Hawrylycz MJ, Ao N, Ayres M, Bensinger A, Bernard A, Boe AF, Boguski MS, Brockway KS, Byrnes EJ, *et al* (2007) Genome-wide atlas of gene expression in the adult mouse brain. *Nature* 445: 168–176
- Leitzmann MF, Park Y, Blair A, Ballard-Barbash R, Mouw T, Hollenbeck AR & Schatzkin A (2007) Physical activity recommendations and decreased risk of mortality. *Arch Intern Med* 167: 2453–2460
- Leschik J, Eckenstaler R, Endres T, Munsch T, Edelmann E, Richter K, Kobler O, Fischer K-D, Zuschratter W, Brigadski T, *et al* (2019) Prominent Postsynaptic and Dendritic Exocytosis of Endogenous BDNF Vesicles in BDNF-GFP Knock-in Mice. *Mol Neurobiol* 56: 6833–6855
- Lessmann V & Brigadski T (2009) Mechanisms, locations, and kinetics of synaptic BDNF secretion: an update. *Neurosci Res* 65: 11–22
- Lesuis SL, Catsburg LAE, Lucassen PJ & Krugers HJ (2018) Effects of corticosterone on mild auditory fear conditioning and extinction; role of sex and training paradigm. *Learn Mem* 25: 544–549
- Leung HC, Skudlarski P, Gatenby JC, Peterson BS & Gore JC (2000) An event-related functional MRI study of the stroop color word interference task. *Cereb Cortex* 10: 552–560
- Li J-Y, Kuo TBJ, Hsieh SSS & Yang CCH (2008a) Changes in electroencephalogram and heart rate during treadmill exercise in the rat. *Neurosci Lett* 434: 175–178
- Li K, Schön M, Naviaux JC, Monk JM, Alchus-Laiferová N, Wang L, Straka I, Matejička P, Valkovič P, Ukropec J, *et al* (2022a) Cerebrospinal fluid and plasma metabolomics of acute endurance exercise. *The FASEB Journal* 36: e22408
- Li Q, Ford MC, Lavik EB & Madri JA (2006) Modeling the neurovascular niche: VEGF- and BDNF-mediated cross-talk between neural stem cells and endothelial cells: an in vitro study. *J Neurosci Res* 84: 1656–1668
- Li R, Wang X, Wu S, Wu Y, Chen H, Xin J, Li H, Lan J, Xue K, Li X, *et al* (2019) Irisin ameliorates angiotensin II-induced cardiomyocyte apoptosis through autophagy. *J Cell Physiol* 234: 17578–17588
- Li T, Jiang L, Zhang X & Chen H (2009) In-vitro effects of brain-derived neurotrophic factor on neural progenitor/stem cells from rat hippocampus. *Neuroreport* 20: 295–300
- Li X & Wolf ME (2011) Brain-derived neurotrophic factor rapidly increases AMPA receptor surface expression in rat nucleus accumbens. *Eur J Neurosci* 34: 190–198
- Li X, Yang Y, Zhang B, Lin X, Fu X, An Y, Zou Y, Wang J-X, Wang Z & Yu T (2022b) Lactate metabolism in human health and disease. *Sig Transduct Target Ther* 7: 1–22
- Li Y, Luikart BW, Birnbaum S, Chen J, Kwon C-H, Kernie SG, Bassel-Duby R & Parada LF (2008b) TrkB regulates hippocampal neurogenesis and governs sensitivity to antidepressive treatment. *Neuron* 59: 399–412
- Liang AP, Drazick AT, Gao H & Li Y (2018) Skeletal muscle secretion of IL-6 is muscle type specific: Ex vivo evidence. *Biochem Biophys Res Commun* 505: 146–150
- Lichtenthaler SF, Lemberg MK & Fluhrer R (2018) Proteolytic ectodomain shedding of membrane proteins in mammals—hardware, concepts, and recent developments. *EMBO J* 37: e99456
- Lieber RL & Kelly MJ (1991) Factors influencing quadriceps femoris muscle torque using

- transcutaneous neuromuscular electrical stimulation. *Phys Ther* 71: 715–721; discussion 722–723
- Liem RS, Brouwer N & Copray JC (2001) Ultrastructural localisation of intramuscular expression of BDNF mRNA by silver-gold intensified non-radioactive in situ hybridisation. *Histochem Cell Biol* 116: 545–551
- Lin SY, Wu K, Levine ES, Mount HT, Suen PC & Black IB (1998) BDNF acutely increases tyrosine phosphorylation of the NMDA receptor subunit 2B in cortical and hippocampal postsynaptic densities. *Brain Res Mol Brain Res* 55: 20–27
- Lin T-W, Chen S-J, Huang T-Y, Chang C-Y, Chuang J-I, Wu F-S, Kuo Y-M & Jen CJ (2012) Different types of exercise induce differential effects on neuronal adaptations and memory performance. *Neurobiology of Learning and Memory* 97: 140–147
- Lin Y, Dong J, Yan T, He X, Zheng X, Liang H & Sui M (2015a) Involuntary, forced and voluntary exercises are equally capable of inducing hippocampal plasticity and the recovery of cognitive function after stroke. *Neurol Res* 37: 893–901
- Lin Y, Dong J, Yan T, He X, Zheng X, Liang H & Sui M (2015b) Involuntary, forced and voluntary exercises are equally capable of inducing hippocampal plasticity and the recovery of cognitive function after stroke. *Neurol Res* 37: 893–901
- Lin Y, Lu X, Dong J, He X, Yan T, Liang H, Sui M, Zheng X, Liu H, Zhao J, *et al* (2015c) Involuntary, Forced and Voluntary Exercises Equally Attenuate Neurocognitive Deficits in Vascular Dementia by the BDNF-pCREB Mediated Pathway. *Neurochem Res* 40: 1839–1848
- Linnarsson S, Björklund A & Ernfors P (1997) Learning deficit in BDNF mutant mice. *Eur J Neurosci* 9: 2581–2587
- Lipsky RH, Xu K, Zhu D, Kelly C, Terhakopian A, Novelli A & Marini AM (2001) Nuclear factor κ B is a critical determinant in N-methyl-D-aspartate receptor-mediated neuroprotection. *Journal of Neurochemistry* 78: 254–264
- Lira VA, Benton CR, Yan Z & Bonen A (2010) PGC-1 α regulation by exercise training and its influences on muscle function and insulin sensitivity. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 299: E145–E161
- Liu M, Walter GA, Pathare NC, Forster RE & Vandenborne K (2007) A quantitative study of bioenergetics in skeletal muscle lacking carbonic anhydrase III using ³¹P magnetic resonance spectroscopy. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 104: 371–376
- Liu M, Wu L & Ming Q (2015) How Does Physical Activity Intervention Improve Self-Esteem and Self-Concept in Children and Adolescents? Evidence from a Meta-Analysis. *PLoS One* 10: e0134804
- Liu Y-F, Chen H, Wu C-L, Kuo Y-M, Yu L, Huang A-M, Wu F-S, Chuang J-I & Jen CJ (2009) Differential effects of treadmill running and wheel running on spatial or aversive learning and memory: roles of amygdalar brain-derived neurotrophic factor and synaptotagmin I. *J Physiol* 587: 3221–3231
- Locksley RM, Killeen N & Lenardo MJ (2001) The TNF and TNF receptor superfamilies: integrating mammalian biology. *Cell* 104: 487–501
- Lopez-Lopez C, LeRoith D & Torres-Aleman I (2004) Insulin-like growth factor I is required for vessel remodeling in the adult brain. *Proc Natl Acad Sci U S A* 101: 9833–9838
- Lorenz J, Minoshima S & Casey KL (2003) Keeping pain out of mind: the role of the dorsolateral prefrontal cortex in pain modulation. *Brain* 126: 1079–1091
- Lou H, Kim S-K, Zaitsev E, Snell CR, Lu B & Loh YP (2005) Sorting and activity-dependent secretion of BDNF require interaction of a specific motif with the sorting receptor carboxypeptidase e. *Neuron* 45: 245–255
- Lou S, Liu J, Chang H & Chen P (2008) Hippocampal neurogenesis and gene expression depend on exercise intensity in juvenile rats. *Brain Res* 1210: 48–55
- Lourenco MV, Frozza RL, de Freitas GB, Zhang H, Kincheski GC, Ribeiro FC, Gonçalves RA, Clarke JR, Beckman D, Staniszewski A, *et al* (2019) Exercise-linked FND5/irisin rescues synaptic plasticity and memory defects in Alzheimer's models. *Nat Med* 25: 165–175
- Lowe H, Haddock G, Mulligan LD, Gregg L, Fuzellier-Hart A, Carter L-A & Kyle SD (2019) Does exercise improve sleep for adults with insomnia? A systematic review with quality appraisal. *Clin Psychol Rev* 68: 1–12
- Lu B, Nagappan G, Guan X, Nathan PJ & Wren P (2013) BDNF-based synaptic repair as a disease-modifying strategy for neurodegenerative diseases. *Nat Rev Neurosci* 14: 401–416
- Lu B, Pang PT & Woo NH (2005) The yin and yang of neurotrophin action. *Nat Rev Neurosci* 6: 603–614
- Lu Y, Dong Y, Tucker D, Wang R, Ahmed ME, Brann D & Zhang Q (2017) Treadmill Exercise Exerts Neuroprotection and Regulates Microglial Polarization and Oxidative Stress in a Streptozotocin-Induced Rat Model of Sporadic

- Alzheimer's Disease. *J Alzheimers Dis* 56: 1469–1484
- Lucon-Xiccato T, Tomain M, D'Aniello S & Bertolucci C (2023) bdnf loss affects activity, sociability, and anxiety-like behaviour in zebrafish. *Behavioural Brain Research* 436: 114115
- Lulic T, El-Sayes J, Fassett HJ & Nelson AJ (2017) Physical activity levels determine exercise-induced changes in brain excitability. *PLoS One* 12: e0173672
- Lundquist AJ, Parizher J, Petzinger GM & Jakowec MW (2019) Exercise induces region-specific remodeling of astrocyte morphology and reactive astrocyte gene expression patterns in male mice. *Journal of Neuroscience Research* 97: 1081–1094
- Luo Y, Xiao Q, Wang J, Jiang L, Hu M, Jiang Y, Tang J, Liang X, Qi Y, Dou X, *et al* (2019) Running exercise protects oligodendrocytes in the medial prefrontal cortex in chronic unpredictable stress rat model. *Transl Psychiatry* 9: 1–11
- Lynch WJ, Peterson AB, Sanchez V, Abel J & Smith MA (2013) Exercise as a novel treatment for drug addiction: A neurobiological and stage-dependent hypothesis. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 37: 1622–1644
- Ma C, Yin Z, Zhu P, Luo J, Shi X & Gao X (2017) Blood cholesterol in late-life and cognitive decline: a longitudinal study of the Chinese elderly. *Molecular Neurodegeneration* 12: 24
- Ma H, Groth RD, Cohen SM, Emery JF, Li B, Hoedt E, Zhang G, Neubert TA & Tsien RW (2014) γ CaMKII shuttles Ca^{2+} /CaM to the nucleus to trigger CREB phosphorylation and gene expression. *Cell* 159: 281–294
- Ma X, Hamadeh MJ, Christie BR, Foster JA & Tarnopolsky MA (2012) Impact of treadmill running and sex on hippocampal neurogenesis in the mouse model of amyotrophic lateral sclerosis. *PLoS ONE* 7: e36048
- Ma YL, Wang HL, Wu HC, Wei CL & Lee EH (1998) Brain-derived neurotrophic factor antisense oligonucleotide impairs memory retention and inhibits long-term potentiation in rats. *Neuroscience* 82: 957–967
- Mackey AL, Bojsen-Moller J, Qvortrup K, Langberg H, Suetta C, Kalliokoski KK, Kjaer M & Magnusson SP (2008) Evidence of skeletal muscle damage following electrically stimulated isometric muscle contractions in humans. *Journal of Applied Physiology* 105: 1620–1627
- Mackey AL, Brandstetter S, Schjerling P, Bojsen-Moller J, Qvortrup K, Pedersen MM, Doessing S, Kjaer M, Magnusson SP & Langberg H (2011) Sequenced response of extracellular matrix deadhesion and fibrotic regulators after muscle damage is involved in protection against future injury in human skeletal muscle. *The FASEB Journal* 25: 1943–1959
- Maekawa T, Ogasawara R, Tsutaki A, Lee K, Nakada S, Nakazato K & Ishii N (2018) Electrically evoked local muscle contractions cause an increase in hippocampal BDNF. *Appl Physiol Nutr Metab* 43: 491–496
- Maeneja R, Ferreira IS, Silva CR & Abreu AM (2022) Cognitive Benefits of Exercise: Is There a Time-of-Day Effect? *Healthcare (Basel)* 10: 1766
- Maffioletti NA (2010) Physiological and methodological considerations for the use of neuromuscular electrical stimulation. *Eur J Appl Physiol* 110: 223–234
- Mancinelli R, Toniolo L, Di Filippo ES, Doria C, Marrone M, Maroni CR, Verratti V, Bondi D, Maccatrozzo L, Pietrangelo T, *et al* (2019) Neuromuscular Electrical Stimulation Induces Skeletal Muscle Fiber Remodeling and Specific Gene Expression Profile in Healthy Elderly. *Frontiers in Physiology* 10
- Mang CS, Snow NJ, Campbell KL, Ross CJD & Boyd LA (2014) A single bout of high-intensity aerobic exercise facilitates response to paired associative stimulation and promotes sequence-specific implicit motor learning. *Journal of Applied Physiology* 117: 1325–1336
- Marais L, Stein DJ & Daniels WMU (2009) Exercise increases BDNF levels in the striatum and decreases depressive-like behavior in chronically stressed rats. *Metab Brain Dis* 24: 587–597
- Marchetti L & Engelhardt B (2020) Immune cell trafficking across the blood-brain barrier in the absence and presence of neuroinflammation. *Vasc Biol* 2: H1–H18
- Marek R, Strobel C, Bredy TW & Sah P (2013) The amygdala and medial prefrontal cortex: partners in the fear circuit. *J Physiol* 591: 2381–2391
- Marie C, Pedard M, Quirié A, Tessier A, Garnier P, Totoson P & Demougeot C (2018) Brain-derived neurotrophic factor secreted by the cerebral endothelium: A new actor of brain function? *J Cereb Blood Flow Metab* 38: 935–949
- Martin RA, Viggars MR & Esser KA (2023) Metabolism and exercise: the skeletal muscle clock takes centre stage. *Nat Rev Endocrinol* 19: 272–284
- Martinowich K, Hattori D, Wu H, Fouse S, He F, Hu Y, Fan G & Sun YE (2003) DNA methylation-related chromatin remodeling in activity-dependent BDNF gene regulation. *Science* 302: 890–893

- Mason BL, Pariante CM, Jamel S & Thomas SA (2010) Central Nervous System (CNS) Delivery of Glucocorticoids Is Fine-Tuned by Saturable Transporters at the Blood-CNS Barriers and Nonbarrier Regions. *Endocrinology* 151: 5294–5305
- Matsuda N, Lu H, Fukata Y, Noritake J, Gao H, Mukherjee S, Nemoto T, Fukata M & Poo M-M (2009) Differential activity-dependent secretion of brain-derived neurotrophic factor from axon and dendrite. *J Neurosci* 29: 14185–14198
- Matsumoto T, Rauskolb S, Polack M, Klose J, Kolbeck R, Korte M & Barde Y-A (2008) Biosynthesis and processing of endogenous BDNF: CNS neurons store and secrete BDNF, not pro-BDNF. *Nat Neurosci* 11: 131–133
- Matsuo Y, Gleitsmann K, Mangner N, Werner S, Fischer T, Bowen TS, Kricke A, Matsumoto Y, Kurabayashi M, Schuler G, *et al* (2015) Fibronectin type III domain containing 5 expression in skeletal muscle in chronic heart failure—relevance of inflammatory cytokines. *J Cachexia Sarcopenia Muscle* 6: 62–72
- Maynard ME, Chung C, Comer A, Nelson K, Tran J, Werries N, Barton EA, Spinetta M & Leasure JL (2016) Ambient temperature influences the neural benefits of exercise. *Behav Brain Res* 299: 27–31
- McAllister AK, Lo DC & Katz LC (1995) Neurotrophins regulate dendritic growth in developing visual cortex. *Neuron* 15: 791–803
- McDonnell MN, Smith AE & Mackintosh SF (2011) Aerobic exercise to improve cognitive function in adults with neurological disorders: a systematic review. *Arch Phys Med Rehabil* 92: 1044–1052
- McFarland WL, Teitelbaum H & Hedges EK (1975) Relationship between hippocampal theta activity and running speed in the rat. *J Comp Physiol Psychol* 88: 324–328
- McNeil CJ, Murray BJ & Rice CL (2006) Differential changes in muscle oxygenation between voluntary and stimulated isometric fatigue of human dorsiflexors. *J Appl Physiol* (1985) 100: 890–895
- Mechau D, Mücke S, Weiss M & Liesen H (1998) Effect of increasing running velocity on electroencephalogram in a field test. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 78: 340–345
- Meeusen R, Piacentini MF & De Meirleir K (2001) Brain microdialysis in exercise research. *Sports Med* 31: 965–983
- Mela V, Mota BC, Milner M, McGinley A, Mills KHG, Kelly ÁM & Lynch MA (2020) Exercise-induced re-programming of age-related metabolic changes in microglia is accompanied by a reduction in senescent cells. *Brain Behav Immun* 87: 413–428
- Mense S (2003) The pathogenesis of muscle pain. *Curr Pain Headache Rep* 7: 419–425
- Mense S (2008) Muscle Pain: Mechanisms and Clinical Significance. *Dtsch Arztebl Int* 105: 214–219
- Merritt JR & Rhodes JS (2015) Mouse genetic differences in voluntary wheel running, adult hippocampal neurogenesis and learning on the multi-strain-adapted plus water maze. *Behav Brain Res* 280: 62–71
- Mesin L & Merletti R (2008) Distribution of electrical stimulation current in a planar multilayer anisotropic tissue. *IEEE Trans Biomed Eng* 55: 660–670
- Meuchel LW, Thompson MA, Cassivi SD, Pabelick CM & Prakash YS (2011) Neurotrophins induce nitric oxide generation in human pulmonary artery endothelial cells. *Cardiovasc Res* 91: 668–676
- Miller RM, Marriott D, Trotter J, Hammond T, Lyman D, Call T, Walker B, Christensen N, Haynie D, Badura Z, *et al* (2018) Running exercise mitigates the negative consequences of chronic stress on dorsal hippocampal long-term potentiation in male mice. *Neurobiol Learn Mem* 149: 28–38
- Minetto MA, Botter A, Bottinelli O, Miotti D, Bottinelli R & D'Antona G (2013) Variability in muscle adaptation to electrical stimulation. *Int J Sports Med* 34: 544–553
- Minichiello L, Korte M, Wolfner D, Kühn R, Unsicker K, Cestari V, Rossi-Arnaud C, Lipp HP, Bonhoeffer T & Klein R (1999) Essential role for TrkB receptors in hippocampus-mediated learning. *Neuron* 24: 401–414
- Miyamoto T, Iwakura T, Matsuoka N, Iwamoto M, Takenaka M, Akamatsu Y & Moritani T (2018a) Impact of prolonged neuromuscular electrical stimulation on metabolic profile and cognition-related blood parameters in type 2 diabetes: A randomized controlled cross-over trial. *Diabetes Res Clin Pract* 142: 37–45
- Miyamoto T, Kou K, Yanamoto H, Hashimoto S, Ikawa M, Sekiyama T, Nakano Y, Kashiwamura S-I, Takeda C & Fujioka H (2018b) Effect of Neuromuscular Electrical Stimulation on Brain-derived Neurotrophic Factor. *Int J Sports Med* 39: 5–11
- Mizuno M, Yamada K, Olariu A, Nawa H & Nabeshima T (2000) Involvement of Brain-Derived Neurotrophic Factor in Spatial Memory Formation and Maintenance in a Radial Arm Maze Test in Rats. *J Neurosci* 20: 7116–7121

- Mj C, As I & Aa R-N (2006) Nitric oxide synthesis is required for exercise-induced increases in hippocampal BDNF and phosphatidylinositol 3' kinase expression. *Brain research bulletin* 68
- Mogi M, Togari A, Kondo T, Mizuno Y, Komure O, Kuno S, Ichinose H & Nagatsu T (1999) Brain-derived growth factor and nerve growth factor concentrations are decreased in the substantia nigra in Parkinson's disease. *Neurosci Lett* 270: 45–48
- Monnier A, Prigent-Tessier A, Quirié A, Bertrand N, Savary S, Gondcaille C, Garnier P, Demougeot C & Marie C (2017) Brain-derived neurotrophic factor of the cerebral microvasculature: a forgotten and nitric oxide-dependent contributor of brain-derived neurotrophic factor in the brain. *Acta Physiol (Oxf)* 219: 790–802
- Montag C, Weber B, Fliessbach K, Elger C & Reuter M (2009) The BDNF Val66Met polymorphism impacts parahippocampal and amygdala volume in healthy humans: incremental support for a genetic risk factor for depression. *Psychol Med* 39: 1831–1839
- Montalvo S, Gomez M, Lozano A, Arias S, Rodriguez L, Morales-Acuna F & Gurovich AN (2022) Differences in Blood Flow Patterns and Endothelial Shear Stress at the Carotid Artery Using Different Exercise Modalities and Intensities. *Front Physiol* 13: 857816
- Mooney RA, Coxon JP, Cirillo J, Glenny H, Gant N & Byblow WD (2016) Acute aerobic exercise modulates primary motor cortex inhibition. *Exp Brain Res* 234: 3669–3676
- Morland C, Andersson KA, Haugen ØP, Hadzic A, Kleppa L, Gille A, Rinholm JE, Palibrk V, Diget EH, Kennedy LH, *et al* (2017) Exercise induces cerebral VEGF and angiogenesis via the lactate receptor HCAR1. *Nat Commun* 8: 15557
- Morland C, Lauritzen KH, Puchades M, Holm-Hansen S, Andersson K, Gjedde A, Attramadal H, Storm-Mathisen J & Bergersen LH (2015) The lactate receptor, G-protein-coupled receptor 81/hydroxycarboxylic acid receptor 1: Expression and action in brain. *J Neurosci Res* 93: 1045–1055
- Mortimer T & Bhadra N (1981) Peripheral Nerve and Muscle Stimulation. In
- Mount PF, Kemp BE & Power DA (2007) Regulation of endothelial and myocardial NO synthesis by multi-site eNOS phosphorylation. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology* 42: 271–279
- Mousavi K & Jasmin BJ (2006) BDNF is expressed in skeletal muscle satellite cells and inhibits myogenic differentiation. *J Neurosci* 26: 5739–5749
- Mowla SJ, Farhadi HF, Pareek S, Atwal JK, Morris SJ, Seidah NG & Murphy RA (2001) Biosynthesis and post-translational processing of the precursor to brain-derived neurotrophic factor. *J Biol Chem* 276: 12660–12666
- Mu JS, Li WP, Yao ZB & Zhou XF (1999) Deprivation of endogenous brain-derived neurotrophic factor results in impairment of spatial learning and memory in adult rats. *Brain Res* 835: 259–265
- Musazzi L, Rimland J, Ieraci A, Racagni G, Domenici E & Popoli M (2014) Pharmacological characterization of BDNF promoters I, II and IV reveals that serotonin and norepinephrine input is sufficient for transcription activation. *International Journal of Neuropsychopharmacology* 17: 779–791
- Muthalib M, Ferrari M, Quaresima V & Nosaka K (2012) Frontal cortex activation during electrical muscle stimulation as revealed by functional near-infrared spectroscopy. *Adv Exp Med Biol* 737: 45–49
- Muthalib M, Jubeau M, Millet GY, Maffiuletti NA & Nosaka K (2009) Comparison between electrically evoked and voluntary isometric contractions for biceps brachii muscle oxidative metabolism using near-infrared spectroscopy. *Eur J Appl Physiol* 107: 235–241
- Muthalib M, Kerr G, Nosaka K & Perrey S (2016) Local Muscle Metabolic Demand Induced by Neuromuscular Electrical Stimulation and Voluntary Contractions at Different Force Levels: A NIRS Study. *Eur J Transl Myol* 26: 6058
- Muthalib M, Re R, Zucchelli L, Perrey S, Contini D, Caffini M, Spinelli L, Kerr G, Quaresima V, Ferrari M, *et al* (2015) Effects of Increasing Neuromuscular Electrical Stimulation Current Intensity on Cortical Sensorimotor Network Activation: A Time Domain fNIRS Study. *PLoS One* 10: e0131951
- Nagahara AH & Tuszynski MH (2011) Potential therapeutic uses of BDNF in neurological and psychiatric disorders. *Nat Rev Drug Discov* 10: 209–219
- Nagappan G, Zaitsev E, Senatorov VV, Yang J, Hempstead BL & Lu B (2009) Control of extracellular cleavage of ProBDNF by high frequency neuronal activity. *Proc Natl Acad Sci U S A* 106: 1267–1272
- Nagase T & Tohda C (2021) Skeletal muscle atrophy-induced hemopexin accelerates onset of cognitive impairment in Alzheimer's disease. *J Cachexia Sarcopenia Muscle* 12: 2199–2210
- Navaratna D, Guo S-Z, Hayakawa K, Wang X, Gerhardinger C & Lo EH (2011) Decreased cerebrovascular brain-derived neurotrophic

- factor-mediated neuroprotection in the diabetic brain. *Diabetes* 60: 1789–1796
- Neeper SA, Góaucomez-Pinilla F, Choi J & Cotman C (1995) Exercise and brain neurotrophins. *Nature* 373: 109–109
- Nemoto A, Goyagi T, Nemoto W, Nakagawasai O, Tan-No K & Niiyama Y (2022) Low Skeletal Muscle Mass Is Associated With Perioperative Neurocognitive Disorder Due To Decreased Neurogenesis in Rats. *Anesth Analg* 134: 194–203
- Neugebauer V (2015) 15. Amygdala pain mechanisms. *Handb Exp Pharmacol* 227: 261–284
- Neva JL, Brown KE, Mang CS, Francisco BA & Boyd LA (2017) An acute bout of exercise modulates both intracortical and interhemispheric excitability. *Eur J Neurosci* 45: 1343–1355
- Nicole O, Docagne F, Ali C, Margail I, Carmeliet P, MacKenzie ET, Vivien D & Buisson A (2001) The proteolytic activity of tissue-plasminogen activator enhances NMDA receptor-mediated signaling. *Nat Med* 7: 59–64
- Nicolis di Robilant V, Scardigli R, Strimpakos G, Tirone F, Middei S, Scopa C, De Bardi M, Battistini L, Saraulli D & Farioli Vecchioli S (2019) Running-Activated Neural Stem Cells Enhance Subventricular Neurogenesis and Improve Olfactory Behavior in p21 Knockout Mice. *Mol Neurobiol* 56: 7534–7556
- Niculescu D, Michaelsen-Preusse K, Güner Ü, van Dorland R, Wierenga CJ & Lohmann C (2018) A BDNF-Mediated Push-Pull Plasticity Mechanism for Synaptic Clustering. *Cell Rep* 24: 2063–2074
- Nieman DC, Henson DA, Smith LL, Utter AC, Vinci DM, Davis JM, Kaminsky DE & Shute M (2001) Cytokine changes after a marathon race. *J Appl Physiol* (1985) 91: 109–114
- Nikolić N, Görgens SW, Thoresen GH, Aas V, Eckel J & Eckardt K (2017a) Electrical pulse stimulation of cultured skeletal muscle cells as a model for in vitro exercise – possibilities and limitations. *Acta Physiologica* 220: 310–331
- Nikolić N, Görgens SW, Thoresen GH, Aas V, Eckel J & Eckardt K (2017b) Electrical pulse stimulation of cultured skeletal muscle cells as a model for in vitro exercise – possibilities and limitations. *Acta Physiologica* 220: 310–331
- Ninan I, Bath KG, Dagar K, Perez-Castro R, Plummer MR, Lee FS & Chao MV (2010) The BDNF Val66Met polymorphism impairs NMDA receptor-dependent synaptic plasticity in the hippocampus. *J Neurosci* 30: 8866–8870
- Nishijima T, Kamidozono Y, Ishiizumi A, Amemiya S & Kita I (2017) Negative rebound in hippocampal neurogenesis following exercise cessation. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 312: R347–R357
- Nishijima T, Llorens-Martín M, Tejada GS, Inoue K, Yamamura Y, Soya H, Trejo JL & Torres-Alemán I (2013) Cessation of voluntary wheel running increases anxiety-like behavior and impairs adult hippocampal neurogenesis in mice. *Behav Brain Res* 245: 34–41
- Nishijima T, Okamoto M, Matsui T, Kita I & Soya H (2012) Hippocampal functional hyperemia mediated by NMDA receptor/NO signaling in rats during mild exercise. *J Appl Physiol* (1985) 112: 197–203
- Nishijima T & Soya H (2006) Evidence of functional hyperemia in the rat hippocampus during mild treadmill running. *Neurosci Res* 54: 186–191
- Nishikawa Y, Sakaguchi H, Kawade S, Maeda N, Tanaka S & Hyngstrom A (2023) Electrical muscle stimulation in young adults: effect of muscle volume on brain-derived neurotrophic factor levels. *Eur J Appl Physiol* 123: 361–366
- Nishikawa Y, Watanabe K, Kawade S, Maeda N & Maruyama H (2021) The Effect of a Portable Electrical Muscle Stimulation on Brain-Derived Neurotrophic Factor in Elderly People: Three Case Studies. *Gerontol Geriatr Med* 7: 23337214211040319
- Nishimura M, Kuno S, Kaji R & Kawakami H (2005) Brain-derived neurotrophic factor gene polymorphisms in Japanese patients with sporadic Alzheimer's disease, Parkinson's disease, and multiple system atrophy. *Mov Disord* 20: 1031–1033
- Norheim F, Langleite TM, Hjorth M, Holen T, Kielland A, Stadheim HK, Gulseth HL, Birkeland KI, Jensen J & Drevon CA (2014) The effects of acute and chronic exercise on PGC-1 α , irisin and browning of subcutaneous adipose tissue in humans. *The FEBS Journal* 281: 739–749
- Norris R, Carroll D & Cochrane R (1990) The effects of aerobic and anaerobic training on fitness, blood pressure, and psychological stress and well-being. *J Psychosom Res* 34: 367–375
- Norton K, Norton L & Sadgrove D (2010) Position statement on physical activity and exercise intensity terminology. *J Sci Med Sport* 13: 496–502
- Nosaka K, Aldayel A, Jubeau M & Chen TC (2011) Muscle damage induced by electrical stimulation. *Eur J Appl Physiol* 111: 2427–2437
- Nosaka K & Clarkson PM (1996) Changes in indicators of inflammation after eccentric exercise of the elbow flexors. *Med Sci Sports Exerc* 28: 953–961

- Notaras M & van den Buuse M (2020) Neurobiology of BDNF in fear memory, sensitivity to stress, and stress-related disorders. *Mol Psychiatry* 25: 2251–2274
- Nuhr M, Crevenna R, Gohlsch B, Bittner C, Pleiner J, Wiesinger G, Fialka-Moser V, Quittan M & Pette D (2003) Functional and biochemical properties of chronically stimulated human skeletal muscle. *Eur J Appl Physiol* 89: 202–208
- Nuhr MJ, Pette D, Berger R, Quittan M, Crevenna R, Huelsman M, Wiesinger GF, Moser P, Fialka-Moser V & Pacher R (2004) Beneficial effects of chronic low-frequency stimulation of thigh muscles in patients with advanced chronic heart failure. *Eur Heart J* 25: 136–143
- Nussbaum EL, Houghton P, Anthony J, Rennie S, Shay BL & Hoens AM (2017) Neuromuscular Electrical Stimulation for Treatment of Muscle Impairment: Critical Review and Recommendations for Clinical Practice. *Physiother Can* 69: 1–76
- Nygaard H, Slettaløkken G, Vegge G, Hollan I, Whist JE, Strand T, Rønnestad BR & Ellefsen S (2015) Irisin in blood increases transiently after single sessions of intense endurance exercise and heavy strength training. *PLoS One* 10: e0121367
- Nykjaer A, Lee R, Teng KK, Jansen P, Madsen P, Nielsen MS, Jacobsen C, Kliemann M, Schwarz E, Willnow TE, *et al* (2004) Sortilin is essential for proNGF-induced neuronal cell death. *Nature* 427: 843–848
- Ogborn DI & Gardiner PF (2010) Effects of exercise and muscle type on BDNF, NT-4/5, and TrkB expression in skeletal muscle. *Muscle Nerve* 41: 385–391
- Ogoh S & Ainslie PN (2009) Cerebral blood flow during exercise: mechanisms of regulation. *J Appl Physiol* (1985) 107: 1370–1380
- Oladehin A & Waters RS (2001) Location and distribution of Fos protein expression in rat hippocampus following acute moderate aerobic exercise. *Exp Brain Res* 137: 26–35
- Orsey AD, Wakefield DB & Cloutier MM (2013) Physical activity (PA) and sleep among children and adolescents with cancer. *Pediatric Blood & Cancer* 60: 1908–1913
- Ortiz-López L, Vega-Rivera NM, Babu H & Ramírez-Rodríguez GB (2017) Brain-Derived Neurotrophic Factor Induces Cell Survival and the Migration of Murine Adult Hippocampal Precursor Cells During Differentiation In Vitro. *Neurotox Res* 31: 122–135
- Ostadan F, Centeno C, Daloz J-F, Frenn M, Lundbye-Jensen J & Roig M (2016) Changes in corticospinal excitability during consolidation predict acute exercise-induced off-line gains in procedural memory. *Neurobiol Learn Mem* 136: 196–203
- Otal R, Martínez A & Soriano E (2005) Lack of TrkB and TrkC signaling alters the synaptogenesis and maturation of mossy fiber terminals in the hippocampus. *Cell Tissue Res* 319: 349–358
- Ozçelik T, Rosenthal A & Francke U (1991) Chromosomal mapping of brain-derived neurotrophic factor and neurotrophin-3 genes in man and mouse. *Genomics* 10: 569–575
- P B & C M (2009) Motor unit rotation in a variety of human muscles. *Journal of neurophysiology* 102
- Pahwa ARR, Miller DJ, Caplan JB & Collins DF (2020) Performance on an Associative Memory Test Decreases 8 hr After Cardiovascular Exercise. *J Sport Exerc Psychol* 42: 219–226
- Pan W, Banks WA, Fasold MB, Bluth J & Kastin AJ (1998) Transport of brain-derived neurotrophic factor across the blood-brain barrier. *Neuropharmacology* 37: 1553–1561
- Pan X, Jiang T, Zhang L, Zheng H, Luo J & Hu X (2017) Physical Exercise Promotes Novel Object Recognition Memory in Spontaneously Hypertensive Rats after Ischemic Stroke by Promoting Neural Plasticity in the Entorhinal Cortex. *Front Behav Neurosci* 11: 185
- Pang PT, Teng HK, Zaitsev E, Woo NT, Sakata K, Zhen S, Teng KK, Yung W-H, Hempstead BL & Lu B (2004) Cleavage of proBDNF by tPA/plasmin is essential for long-term hippocampal plasticity. *Science* 306: 487–491
- Panizza M, Nilsson J & Hallett M (1989) Optimal stimulus duration for the H reflex. *Muscle & Nerve* 12: 576–579
- Panizza M, Nilsson J, Roth BJ, Basser PJ & Hallett M (1992) Relevance of stimulus duration for activation of motor and sensory fibers: implications for the study of H-reflexes and magnetic stimulation. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology/Evoked Potentials Section* 85: 22–29
- Paolicelli RC, Sierra A, Stevens B, Tremblay M-E, Aguzzi A, Ajami B, Amit I, Audinat E, Bechmann I, Bennett M, *et al* (2022) Microglia states and nomenclature: A field at its crossroads. *Neuron* 110: 3458–3483
- Park H & Poo M (2013) Neurotrophin regulation of neural circuit development and function. *Nat Rev Neurosci* 14: 7–23
- Parkhurst CN, Yang G, Ninan I, Savas JN, Yates JR, Lafaille JJ, Hempstead BL, Littman DR & Gan W-B (2013) Microglia promote learning-dependent synapse formation through brain-

- derived neurotrophic factor. *Cell* 155: 1596–1609
- Patten AR, Sickmann H, Hryciw BN, Kucharsky T, Parton R, Kernick A & Christie BR (2013) Long-term exercise is needed to enhance synaptic plasticity in the hippocampus. *Learn Mem* 20: 642–647
- Pedard M, Cefis M, Ennequin G, Quirié A, Garnier P, Prigent-Tessier A, Pernet N & Marie C (2019) Brain-derived Neurotrophic Factor Pathway after Downhill and Uphill Training in Rats. *Med Sci Sports Exerc* 51: 27–34
- da Penha Berzaghi M, Cooper J, Castrén E, Zafra F, Sofroniew M, Thoenen H & Lindholm D (1993) Cholinergic regulation of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and nerve growth factor (NGF) but not neurotrophin-3 (NT-3) mRNA levels in the developing rat hippocampus. *J Neurosci* 13: 3818–3826
- Perakakis N, Triantafyllou GA, Fernández-Real JM, Huh JY, Park KH, Seufert J & Mantzoros CS (2017) Physiology and role of irisin in glucose homeostasis. *Nat Rev Endocrinol* 13: 324–337
- Petrie MA, Sharma A, Taylor EB, Suneja M & Shields RK (2020) Impact of short- and long-term electrically induced muscle exercise on gene signaling pathways, gene expression, and PGC1a methylation in men with spinal cord injury. *Physiological Genomics* 52: 71–80
- Petzinger GM, Fisher BE, McEwen S, Beeler JA, Walsh JP & Jakowec MW (2013) Exercise-enhanced neuroplasticity targeting motor and cognitive circuitry in Parkinson's disease. *Lancet Neurol* 12: 716–726
- Pezawas L, Verchinski BA, Mattay VS, Callicott JH, Kolachana BS, Straub RE, Egan MF, Meyer-Lindenberg A & Weinberger DR (2004) The brain-derived neurotrophic factor val66met polymorphism and variation in human cortical morphology. *J Neurosci* 24: 10099–10102
- Pilozzi A, Carro C & Huang X (2020) Roles of β -Endorphin in Stress, Behavior, Neuroinflammation, and Brain Energy Metabolism. *Int J Mol Sci* 22: 338
- Pimentel J, Tojal R & Morgado J (2015) Epilepsy and physical exercise. *Seizure* 25: 87–94
- Pivac N, Kim B, Nedić G, Joo YH, Kozarić-Kovacic D, Hong JP & Muck-Seler D (2009) Ethnic differences in brain-derived neurotrophic factor Val66Met polymorphism in Croatian and Korean healthy participants. *Croat Med J* 50: 43–48
- Plow EF, Herren T, Redlitz A, Miles LA & Hoover-Plow JL (1995) The cell biology of the plasminogen system. *FASEB J* 9: 939–945
- Poole DC, Copp SW, Colburn TD, Craig JC, Allen DL, Sturek M, O'Leary DS, Zucker IH & Musch TI (2020) Guidelines for animal exercise and training protocols for cardiovascular studies. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology* 318: H1100–H1138
- Potter MC, Yuan C, Ottenritter C, Mughal M & van Praag H (2010) Exercise is not beneficial and may accelerate symptom onset in a mouse model of Huntington's disease. *PLoS Curr* 2: RRN1201
- Pozzo-Miller LD, Gottschalk W, Zhang L, McDermott K, Du J, Gopalakrishnan R, Oho C, Sheng ZH & Lu B (1999) Impairments in high-frequency transmission, synaptic vesicle docking, and synaptic protein distribution in the hippocampus of BDNF knockout mice. *J Neurosci* 19: 4972–4983
- van Praag H, Christie BR, Sejnowski TJ & Gage FH (1999a) Running enhances neurogenesis, learning, and long-term potentiation in mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 96: 13427–13431
- van Praag H, Kempermann G & Gage FH (1999b) Running increases cell proliferation and neurogenesis in the adult mouse dentate gyrus. *Nat Neurosci* 2: 266–270
- Praag H van, Shubert T, Zhao C & Gage FH (2005) Exercise Enhances Learning and Hippocampal Neurogenesis in Aged Mice. *J Neurosci* 25: 8680–8685
- Predovan D, Fraser SA, Renaud M & Bherer L (2012) The effect of three months of aerobic training on stroop performance in older adults. *J Aging Res* 2012: 269815
- Prigent-Tessier A, Quirié A, Maguin-Gaté K, Szostak J, Mossiat C, Nappey M, Devaux S, Marie C & Demougeot C (2013) Physical training and hypertension have opposite effects on endothelial brain-derived neurotrophic factor expression. *Cardiovasc Res* 100: 374–382
- Proske U & Morgan DL (2001) Muscle damage from eccentric exercise: mechanism, mechanical signs, adaptation and clinical applications. *J Physiol* 537: 333–345
- Pruunsild P, Kazantseva A, Aid T, Palm K & Timmusk T (2007) Dissecting the human BDNF locus: Bidirectional transcription, complex splicing, and multiple promoters. *Genomics* 90: 397–406
- Qian Z, Gilbert ME, Colicos MA, Kandel ER & Kuhl D (1993) Tissue-plasminogen activator is induced as an immediate-early gene during seizure, kindling and long-term potentiation. *Nature* 361: 453–457

- Querido JS & Sheel AW (2007) Regulation of cerebral blood flow during exercise. *Sports Med* 37: 765–782
- Quiirié A, Hervieu M, Garnier P, Demougeot C, Mossiat C, Bertrand N, Martin A, Marie C & Prigent-Tessier A (2012) Comparative Effect of Treadmill Exercise on Mature BDNF Production in Control versus Stroke Rats. *PLOS ONE* 7: e44218
- Radahmadi M, Hosseini N & Alaei H (2016) Effect of exercise, exercise withdrawal, and continued regular exercise on excitability and long-term potentiation in the dentate gyrus of hippocampus. *Brain Res* 1653: 8–13
- Radka SF, Holst PA, Fritsche M & Altar CA (1996) Presence of brain-derived neurotrophic factor in brain and human and rat but not mouse serum detected by a sensitive and specific immunoassay. *Brain Res* 709: 122–301
- Rahmati M & Kazemi A (2019) Various exercise intensities differentially regulate GAP-43 and CAP-1 expression in the rat hippocampus. *Gene* 692: 185–194
- Raschke S, Elsen M, Gassenhuber H, Sommerfeld M, Schwahn U, Brockmann B, Jung R, Wisløff U, Tjønnha AE, Raastad T, *et al* (2013) Evidence against a Beneficial Effect of Irisin in Humans. *PLOS ONE* 8: e73680
- Rasmussen P, Brassard P, Adser H, Pedersen MV, Leick L, Hart E, Secher NH, Pedersen BK & Pilegaard H (2009) Evidence for a release of brain-derived neurotrophic factor from the brain during exercise. *Exp Physiol* 94: 1062–1069
- Ratkevicius A, Mizuno M, Povilonis E & Quistorff B (1998) Energy metabolism of the gastrocnemius and soleus muscles during isometric voluntary and electrically induced contractions in man. *J Physiol* 507 (Pt 2): 593–602
- Re R, Muthalib M, Contini D, Zucchelli L, Torricelli A, Spinelli L, Caffini M, Ferrari M, Quaresima V, Perrey S, *et al* (2013) Cerebral cortex activation mapping upon electrical muscle stimulation by 32-channel time-domain functional near-infrared spectroscopy. *Adv Exp Med Biol* 789: 441–447
- Redila VA & Christie BR (2006) Exercise-induced changes in dendritic structure and complexity in the adult hippocampal dentate gyrus. *Neuroscience* 137: 1299–1307
- Reed J & Ones DS (2006) The effect of acute aerobic exercise on positive activated affect: A meta-analysis. *Psychology of Sport and Exercise* 7: 477–514
- Reul JM & de Kloet ER (1985) Two receptor systems for corticosterone in rat brain: microdistribution and differential occupation. *Endocrinology* 117: 2505–2511
- Reza MM, Subramaniyam N, Sim CM, Ge X, Sathiakumar D, McFarlane C, Sharma M & Kambadur R (2017) Irisin is a pro-myogenic factor that induces skeletal muscle hypertrophy and rescues denervation-induced atrophy. *Nat Commun* 8: 1104
- Rhodes JS, Garland T & Gammie SC (2003) Patterns of brain activity associated with variation in voluntary wheel-running behavior. *Behav Neurosci* 117: 1243–1256
- Riddell DO, Hildyard JCW, Harron RCM, Hornby NL, Wells DJ & Piercy RJ (2022) Serum inflammatory cytokines as disease biomarkers in the DE50-MD dog model of Duchenne muscular dystrophy. *Dis Model Mech* 15: dmm049394
- Rm E & J D (2017) Rate Coding and the Control of Muscle Force. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine* 7
- Robertson EM & Takacs A (2017) Exercising Control Over Memory Consolidation. *Trends in Cognitive Sciences* 21: 310–312
- Roca-Rivada A, Castela C, Senin LL, Landrove MO, Baltar J, Belén Crujeiras A, Seoane LM, Casanueva FF & Pardo M (2013) FNDC5/irisin is not only a myokine but also an adipokine. *PLoS One* 8: e60563
- Rodriguez-Tébar A, Dechant G & Barde YA (1990) Binding of brain-derived neurotrophic factor to the nerve growth factor receptor. *Neuron* 4: 487–492
- Rojas Vega S, Strüder HK, Vera Wahrmann B, Schmidt A, Bloch W & Hollmann W (2006) Acute BDNF and cortisol response to low intensity exercise and following ramp incremental exercise to exhaustion in humans. *Brain Research* 1121: 59–65
- Roos MR, Rice CL, Connelly DM & Vandervoort AA (1999) Quadriceps muscle strength, contractile properties, and motor unit firing rates in young and old men. *Muscle Nerve* 22: 1094–1103
- Rose CR, Blum R, Pichler B, Lepier A, Kafitz KW & Konnerth A (2003) Truncated TrkB-T1 mediates neurotrophin-evoked calcium signalling in glia cells. *Nature* 426: 74–78
- Rosenfeld RD, Zeni L, Haniu M, Talvenheimo J, Radka SF, Bennett L, Miller JA & Welcher AA (1995) Purification and identification of brain-derived neurotrophic factor from human serum. *Protein Expr Purif* 6: 465–471
- Rubinstein S & Kamen G (2005) Decreases in motor unit firing rate during sustained maximal-effort contractions in young and older adults. *J Electromyogr Kinesiol* 15: 536–543

- Rudge JS, Alderson RF, Pasnikowski E, McClain J, Ip NY & Lindsay RM (1992) Expression of Ciliary Neurotrophic Factor and the Neurotrophins-Nerve Growth Factor, Brain-Derived Neurotrophic Factor and Neurotrophin 3-in Cultured Rat Hippocampal Astrocytes. *Eur J Neurosci* 4: 459–471
- Saba J, Turati J, Ramírez D, Carniglia L, Durand D, Lasaga M & Caruso C (2018) Astrocyte truncated tropomyosin receptor kinase B mediates brain-derived neurotrophic factor anti-apoptotic effect leading to neuroprotection. *J Neurochem* 146: 686–702
- Safdar A, Saleem A & Tarnopolsky MA (2016) The potential of endurance exercise-derived exosomes to treat metabolic diseases. *Nat Rev Endocrinol* 12: 504–517
- Saleem AB & Busse L (2023) Interactions between rodent visual and spatial systems during navigation. *Nat Rev Neurosci* 24: 487–501
- Sanchez MJ, Mossayebi A, Sigaroodi S, Apaflo JN, Galvan MJ, Min K, Agullo FJ, Wagler A & Bajpeyi S (2023) Effects of neuromuscular electrical stimulation on glycemic control: a systematic review and meta-analysis. *Frontiers in Endocrinology* 14
- Sandri M, El Meslemani AH, Sandri C, Schjerling P, Vissing K, Andersen JL, Rossini K, Carraro U & Angelini C (2001) Caspase 3 expression correlates with skeletal muscle apoptosis in Duchenne and facioscapulo human muscular dystrophy. A potential target for pharmacological treatment? *J Neuropathol Exp Neurol* 60: 302–312
- Santello M, Toni N & Volterra A (2019) Astrocyte function from information processing to cognition and cognitive impairment. *Nat Neurosci* 22: 154–166
- Santhanam AVR, Smith LA & Katusic ZS (2010) Brain-derived neurotrophic factor stimulates production of prostacyclin in cerebral arteries. *Stroke* 41: 350–356
- Sato K, Ogoh S, Hirasawa A, Oue A & Sadamoto T (2011) The distribution of blood flow in the carotid and vertebral arteries during dynamic exercise in humans. *The Journal of Physiology* 589: 2847–2856
- Saunders DH, Sanderson M, Hayes S, Johnson L, Kramer S, Carter DD, Jarvis H, Brazzelli M & Mead GE (2020) Physical fitness training for stroke patients. *Cochrane Database Syst Rev* 3: CD003316
- Saur L, Baptista PPA, de Senna PN, Paim MF, Nascimento P do, Ilha J, Bagatini PB, Achaval M & Xavier LL (2014) Physical exercise increases GFAP expression and induces morphological changes in hippocampal astrocytes. *Brain Struct Funct* 219: 293–302
- Scharfman H, Goodman J, Macleod A, Phani S, Antonelli C & Croll S (2005) Increased neurogenesis and the ectopic granule cells after intrahippocampal BDNF infusion in adult rats. *Exp Neurol* 192: 348–356
- Schiaffino S & Reggiani C (2011) Fiber types in mammalian skeletal muscles. *Physiol Rev* 91: 1447–1531
- Schiffer T, Schulte S, Sperlich B, Achtzehn S, Fricke H & Strüder HK (2011) Lactate infusion at rest increases BDNF blood concentration in humans. *Neurosci Lett* 488: 234–237
- Schmidt HD & Duman RS (2010) Peripheral BDNF Produces Antidepressant-Like Effects in Cellular and Behavioral Models. *Neuropsychopharmacology* 35: 2378–2391
- Schmidt-Kassow M, Schädle S, Otterbein S, Thiel C, Doehring A, Lötsch J & Kaiser J (2012) Kinetics of serum brain-derived neurotrophic factor following low-intensity versus high-intensity exercise in men and women. *Neuroreport* 23: 889–893
- Schnydrig S, Korner L, Landweer S, Ernst B, Walker G, Otten U & Kunz D (2007) Peripheral lipopolysaccharide administration transiently affects expression of brain-derived neurotrophic factor, corticotropin and proopiomelanocortin in mouse brain. *Neurosci Lett* 429: 69–73
- Schumacher MA, Chinnam N, Ohashi T, Shah RS & Erickson HP (2013) The structure of irisin reveals a novel intersubunit β -sheet fibronectin type III (FNIII) dimer: implications for receptor activation. *J Biol Chem* 288: 33738–33744
- Seidah NG, Benjannet S, Pareek S, Chrétien M & Murphy RA (1996) Cellular processing of the neurotrophin precursors of NT3 and BDNF by the mammalian proprotein convertases. *FEBS Lett* 379: 247–250
- Semmler A, Frisch C, Debeir T, Ramanathan M, Okulla T, Klockgether T & Heneka MT (2007) Long-term cognitive impairment, neuronal loss and reduced cortical cholinergic innervation after recovery from sepsis in a rodent model. *Exp Neurol* 204: 733–740
- Seo DY, Lee SR, Kim N, Ko KS, Rhee BD & Han J (2014) Humanized animal exercise model for clinical implication. *Pflugers Arch - Eur J Physiol* 466: 1673–1687
- Sexton CE, Betts JF, Demnitz N, Dawes H, Ebmeier KP & Johansen-Berg H (2016) A systematic review of MRI studies examining the relationship between physical fitness and activity and the white matter of the ageing brain. *NeuroImage* 131: 81–90

- Seznec H, Agbulut O, Sergeant N, Savouret C, Ghestem A, Tabti N, Willer JC, Ourth L, Duros C, Brisson E, *et al* (2001) Mice transgenic for the human myotonic dystrophy region with expanded CTG repeats display muscular and brain abnormalities. *Hum Mol Genet* 10: 2717–2726
- Shen H, Tong L, Balazs R & Cotman CW (2001) Physical activity elicits sustained activation of the cyclic AMP response element-binding protein and mitogen-activated protein kinase in the rat hippocampus. *Neuroscience* 107: 219–229
- Shen J, Xu L, Qu C, Sun H & Zhang J (2018) 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* 349: 1–7
- Shenton DW, Heppenstall RB, Chance B, Glasgow SG, Schnall MD & Sapega AA (1986) Electrical stimulation of human muscle studied using ³¹P-nuclear magnetic resonance spectroscopy. *J Orthop Res* 4: 204–211
- Shih P-C, Yang Y-R & Wang R-Y (2013) Effects of exercise intensity on spatial memory performance and hippocampal synaptic plasticity in transient brain ischemic rats. *PLoS One* 8: e78163
- Sinacore DR, Delitto A, King DS & Rose SJ (1990) Type II fiber activation with electrical stimulation: a preliminary report. *Phys Ther* 70: 416–422
- Singh AM, Duncan RE, Neva JL & Staines WR (2014) Aerobic exercise modulates intracortical inhibition and facilitation in a nonexercised upper limb muscle. *BMC Sports Science, Medicine and Rehabilitation* 6: 23
- Singh AM & Staines WR (2015) The effects of acute aerobic exercise on the primary motor cortex. *J Mot Behav* 47: 328–339
- Singh NA, Stavrinou TM, Scarbek Y, Galambos G, Liber C, Fiatarone Singh MA & Morley JE (2005) A Randomized Controlled Trial of High Versus Low Intensity Weight Training Versus General Practitioner Care for Clinical Depression in Older Adults. *The Journals of Gerontology: Series A* 60: 768–776
- Sinyor D, Golden M, Steinert Y & Seraganian P (1986) Experimental manipulation of aerobic fitness and the response to psychosocial stress: heart rate and self-report measures. *Psychosom Med* 48: 324–337
- Sleiman SF, Henry J, Al-Haddad R, El Hayek L, Abou Haidar E, Stringer T, Ulja D, Karuppagounder SS, Holson EB, Ratan RR, *et al* (2016) Exercise promotes the expression of brain derived neurotrophic factor (BDNF) through the action of the ketone body β -hydroxybutyrate. *Elife* 5: e15092
- Smith AE, Goldsworthy MR, Garside T, Wood FM & Ridding MC (2014) The influence of a single bout of aerobic exercise on short-interval intracortical excitability. *Exp Brain Res* 232: 1875–1882
- Smith GV, Alon G, Roys SR & Gullapalli RP (2003) Functional MRI determination of a dose-response relationship to lower extremity neuromuscular electrical stimulation in healthy subjects. *Exp Brain Res* 150: 33–39
- Smith KJ & Ainslie PN (2017) Regulation of cerebral blood flow and metabolism during exercise. *Exp Physiol* 102: 1356–1371
- Smith KJ, Wildfong KW, Hoiland RL, Harper M, Lewis NC, Pool A, Smith SL, Kuca T, Foster GE & Ainslie PN (2016) Role of CO₂ in the cerebral hyperemic response to incremental normoxic and hyperoxic exercise. *J Appl Physiol (1985)* 120: 843–854
- Sohrabji F, Miranda RC & Toran-Allerand CD (1995) Identification of a putative estrogen response element in the gene encoding brain-derived neurotrophic factor. *Proc Natl Acad Sci U S A* 92: 11110–11114
- Sohroforouzani AM, Shakerian S, Ghanbarzadeh M & Alaei H (2022) Effect of forced treadmill exercise on stimulation of BDNF expression, depression symptoms, tactile memory and working memory in LPS-treated rats. *Behavioural Brain Research* 418: 113645
- Song M, Martinowich K & Lee FS (2017) BDNF at the synapse: why location matters. *Mol Psychiatry* 22: 1370–1375
- Sorrells SF, Caso JR, Munhoz CD & Sapolsky RM (2009) The Stressed CNS: When Glucocorticoids Aggravate Inflammation. *Neuron* 64: 33–39
- Soya H, Nakamura T, Deocariz CC, Kimpara A, Imura M, Fujikawa T, Chang H, McEwen BS & Nishijima T (2007) BDNF induction with mild exercise in the rat hippocampus. *Biochem Biophys Res Commun* 358: 961–967
- Staron RS, Kraemer WJ, Hikida RS, Fry AC, Murray JD & Campos GE (1999) Fiber type composition of four hindlimb muscles of adult Fisher 344 rats. *Histochem Cell Biol* 111: 117–123
- Stefan K, Kunesch E, Benecke R, Cohen LG & Classen J (2002) Mechanisms of enhancement of human motor cortex excitability induced by interventional paired associative stimulation. *J Physiol* 543: 699–708

- Stefan K, Kunesch E, Cohen LG, Benecke R & Classen J (2000) Induction of plasticity in the human motor cortex by paired associative stimulation. *Brain* 123: 572–584
- Stevenson ME, Kay JJM, Atry F, Wickstrom AT, Krueger JR, Pashaie RE & Swain RA (2020a) Wheel running for 26 weeks is associated with sustained vascular plasticity in the rat motor cortex. *Behav Brain Res* 380: 112447
- Stevenson ME, Miller CC, Owen HA & Swain RA (2020b) Aerobic exercise increases sprouting angiogenesis in the male rat motor cortex. *Brain Struct Funct* 225: 2301–2314
- STOŽER A, VODOPIVC P & KRIŽANČIĆ BOMBEEK L (2020) Pathophysiology of Exercise-Induced Muscle Damage and Its Structural, Functional, Metabolic, and Clinical Consequences. *Physiol Res* 69: 565–598
- Stranahan AM, Khalil D & Gould E (2007) Running induces widespread structural alterations in the hippocampus and entorhinal cortex. *Hippocampus* 17: 1017–1022
- Stroop JR (1935) Studies of interference in serial verbal reactions. *Journal of Experimental Psychology* 18: 643–662
- Stubbs B, Vancampfort D, Rosenbaum S, Firth J, Cosco T, Veronese N, Salum GA & Schuch FB (2017) An examination of the anxiolytic effects of exercise for people with anxiety and stress-related disorders: A meta-analysis. *Psychiatry Res* 249: 102–108
- Suen PC, Wu K, Levine ES, Mount HT, Xu JL, Lin SY & Black IB (1997) Brain-derived neurotrophic factor rapidly enhances phosphorylation of the postsynaptic N-methyl-D-aspartate receptor subunit 1. *Proc Natl Acad Sci U S A* 94: 8191–8195
- Sun L, Cui K, Xing F & Liu X (2020) Akt dependent adult hippocampal neurogenesis regulates the behavioral improvement of treadmill running to mice model of post-traumatic stress disorder. *Behav Brain Res* 379: 112375
- Suri D & Vaidya VA (2013) Glucocorticoid regulation of brain-derived neurotrophic factor: Relevance to hippocampal structural and functional plasticity. *Neuroscience* 239: 196–213
- Szabó MR, Csont T & Csonka C (2023) The effect of electrical stimulation of skeletal muscle on cardioprotection and on muscle-derived myokine levels in rats: A pilot study. *Physiol Int* 110: 135–149
- Szuhany KL, Bugatti M & Otto MW (2015) A meta-analytic review of the effects of exercise on brain-derived neurotrophic factor. *J Psychiatr Res* 60: 56–64
- Tabuchi A, Sakaya H, Kisukeda T, Fushiki H & Tsuda M (2002) Involvement of an upstream stimulatory factor as well as cAMP-responsive element-binding protein in the activation of brain-derived neurotrophic factor gene promoter I. *J Biol Chem* 277: 35920–35931
- Takahashi T, Haitani T, Tanaka F, Yamagishi T, Kawakami Y, Shibata S & Kumano H (2020) Effects of the time-of-day (morning vs. afternoon) of implementing a combined physical and cognitive exercise program on cognitive functions and mood of older adults: A randomized controlled study. *Adv Gerontol* 33: 595–599
- Takimoto M & Hamada T (2014) Acute exercise increases brain region-specific expression of MCT1, MCT2, MCT4, GLUT1, and COX IV proteins. *J Appl Physiol (1985)* 116: 1238–1250
- Tanaka S, Masuda T, Kamiya K, Hamazaki N, Akiyama A, Kamada Y, Maekawa E, Noda C, Yamaoka-Tojo M & Ako J (2016) A Single Session of Neuromuscular Electrical Stimulation Enhances Vascular Endothelial Function and Peripheral Blood Circulation in Patients With Acute Myocardial Infarction. *Int Heart J* 57: 676–681
- Tang J, Liang X, Dou X, Qi Y, Yang C, Luo Y, Chao F, Zhang L, Xiao Q, Jiang L, *et al* (2021) Exercise rather than fluoxetine promotes oligodendrocyte differentiation and myelination in the hippocampus in a male mouse model of depression. *Transl Psychiatry* 11: 622
- Tang Y, Zhang Y, Zheng M, Chen J, Chen H & Liu N (2018) Effects of treadmill exercise on cerebral angiogenesis and MT1-MMP expression after cerebral ischemia in rats. *Brain and Behavior* 8: e01079
- Tao X, Finkbeiner S, Arnold DB, Shaywitz AJ & Greenberg ME (1998) Ca²⁺ influx regulates BDNF transcription by a CREB family transcription factor-dependent mechanism. *Neuron* 20: 709–726
- Tao X, West AE, Chen WG, Corfas G & Greenberg ME (2002) A calcium-responsive transcription factor, CaRF, that regulates neuronal activity-dependent expression of BDNF. *Neuron* 33: 383–395
- Tatsumi K, Okuda H, Morita-Takemura S, Tanaka T, Isonishi A, Shinjo T, Terada Y & Wanaka A (2016) Voluntary Exercise Induces Astrocytic Structural Plasticity in the Globus Pallidus. *Frontiers in Cellular Neuroscience* 10
- Teng HK, Teng KK, Lee R, Wright S, Tevar S, Almeida RD, Kermani P, Torkin R, Chen Z-Y, Lee FS, *et al* (2005) ProBDNF induces neuronal apoptosis via activation of a receptor complex

- of p75NTR and sortilin. *J Neurosci* 25: 5455–5463
- Tessier A-J, Wing SS, Rahme E, Morais JA & Chevalier S (2022) Association of Low Muscle Mass With Cognitive Function During a 3-Year Follow-up Among Adults Aged 65 to 86 Years in the Canadian Longitudinal Study on Aging. *JAMA Network Open* 5: e2219926
- Tettamanti G, Cattaneo AG, Gornati R, de Eguileor M, Bernardini G & Binelli G (2010) Phylogenesis of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in vertebrates. *Gene* 450: 85–93
- Thayer RE, Newman JR & McClain TM (1994) Self-regulation of mood: strategies for changing a bad mood, raising energy, and reducing tension. *J Pers Soc Psychol* 67: 910–925
- Theurel J, Lepers R, Pardon L & Maffiuletti NA (2007) Differences in cardiorespiratory and neuromuscular responses between voluntary and stimulated contractions of the quadriceps femoris muscle. *Respir Physiol Neurobiol* 157: 341–347
- Thomas AG, Dennis A, Rawlings NB, Stagg CJ, Matthews L, Morris M, Kolind SH, Foxley S, Jenkinson M, Nichols TE, *et al* (2016) Multimodal characterization of rapid anterior hippocampal volume increase associated with aerobic exercise. *Neuroimage* 131: 162–170
- Tibana RA, de Sousa Neto IV, de Sousa NMF, Dos Santos WM, Prestes J, Neto JHF, Dominski FH, Kennedy MD & Voltarelli FA (2022) Time-course effects of functional fitness sessions performed at different intensities on the metabolic, hormonal, and BDNF responses in trained men. *BMC Sports Sci Med Rehabil* 14: 22
- Tikac G, Unal A & Altug F (2022) Regular exercise improves the levels of self-efficacy, self-esteem and body awareness of young adults. *J Sports Med Phys Fitness* 62: 157–161
- Tong L, Shen H, Perreau VM, Balazs R & Cotman CW (2001) Effects of exercise on gene-expression profile in the rat hippocampus. *Neurobiol Dis* 8: 1046–1056
- Totoson P, Santini C, Prigent-Tessier A, Marie C & Demougeot C (2021) Endothelial TrkB receptor activation controls vascular tone of rat middle cerebral artery. *Vascul Pharmacol* 141: 106930
- Tracey I & Mantyh PW (2007) The cerebral signature for pain perception and its modulation. *Neuron* 55: 377–391
- Trigiani LJ & Hamel E (2017) An endothelial link between the benefits of physical exercise in dementia. *J Cereb Blood Flow Metab* 37: 2649–2664
- Tsai S-F, Liu Y-W & Kuo Y-M (2019) Acute and long-term treadmill running differentially induce c-Fos expression in region- and time-dependent manners in mouse brain. *Brain Struct Funct* 224: 2677–2689
- Twist DJ, Culpepper-Morgan JA, Ragnarsson KT, Petrillo CR & Kreek MJ (1992) Neuroendocrine changes during functional electrical stimulation. *Am J Phys Med Rehabil* 71: 156–163
- Vaessen T, Rintala A, Otsabryk N, Viechtbauer W, Wampers M, Claes S & Myin-Germeys I (2021) The association between self-reported stress and cardiovascular measures in daily life: A systematic review. *PLOS ONE* 16: e0259557
- Valenzuela PL, Castillo-García A, Morales JS, de la Villa P, Hampel H, Emanuele E, Lista S & Lucia A (2020) Exercise benefits on Alzheimer's disease: State-of-the-science. *Ageing Res Rev* 62: 101108
- Van der Borght K, Havekes R, Bos T, Eggen BJJ & Van der Zee EA (2007) Exercise improves memory acquisition and retrieval in the Y-maze task: relationship with hippocampal neurogenesis. *Behav Neurosci* 121: 324–334
- Van der Borght K, Kóbor-Nyakas DE, Klauke K, Eggen BJJ, Nyakas C, Van der Zee EA & Meerlo P (2009) Physical exercise leads to rapid adaptations in hippocampal vasculature: temporal dynamics and relationship to cell proliferation and neurogenesis. *Hippocampus* 19: 928–936
- Vanderbeken I & Kerckhofs E (2017) A systematic review of the effect of physical exercise on cognition in stroke and traumatic brain injury patients. *NeuroRehabilitation* 40: 33–48
- Vanderthommen M, Duteil S, Wary C, Raynaud JS, Leroy-Willig A, Crielaard JM & Carlier PG (2003) A comparison of voluntary and electrically induced contractions by interleaved 1H- and 31P-NMRS in humans. *J Appl Physiol* (1985) 94: 1012–1024
- Vanderthommen M, Gilles R, Carlier P, Ciancabilla F, Zahlan O, Sluse F & Crielaard JM (1999) Human muscle energetics during voluntary and electrically induced isometric contractions as measured by 31P NMR spectroscopy. *Int J Sports Med* 20: 279–283
- Vanhorebeek I, Gunst J, Casaer MP, Derese I, Derde S, Pauwels L, Segers J, Hermans G, Gosselink R & Van den Berghe G (2023) Skeletal Muscle Myokine Expression in Critical Illness, Association With Outcome and Impact of Therapeutic Interventions. *J Endocr Soc* 7: bvad001
- Vasuta C, Caunt C, James R, Samadi S, Schibuk E, Kannangara T, Titterness AK & Christie BR

- (2007) Effects of exercise on NMDA receptor subunit contributions to bidirectional synaptic plasticity in the mouse dentate gyrus. *Hippocampus* 17: 1201–1208
- Vaynman S, Ying Z & Gomez-Pinilla F (2003) Interplay between brain-derived neurotrophic factor and signal transduction modulators in the regulation of the effects of exercise on synaptic-plasticity. *Neuroscience* 122: 647–657
- Vaynman S, Ying Z & Gomez-Pinilla F (2004) Hippocampal BDNF mediates the efficacy of exercise on synaptic plasticity and cognition. *Eur J Neurosci* 20: 2580–2590
- Venezia AC, Guth LM, Sapp RM, Spangenburg EE & Roth SM (2016) Sex-dependent and independent effects of long-term voluntary wheel running on Bdnf mRNA and protein expression. *Physiol Behav* 156: 8–15
- Venezia AC, Hyer MM, Glasper ER, Roth SM & Quinlan E (2020) Acute Forced Exercise Increases Bdnf IV mRNA and Reduces Exploratory Behavior in C57BL/6J Mice. *Genes Brain Behav* 19: e12617
- Venezia AC, Quinlan E & Roth SM (2017) A single bout of exercise increases hippocampal Bdnf: Influence of chronic exercise and noradrenaline. *Genes Brain Behav* 16: 800–811
- Viboolvorakul S & Patumraj S (2014) Exercise training could improve age-related changes in cerebral blood flow and capillary vascularity through the upregulation of VEGF and eNOS. *Biomed Res Int* 2014: 230791
- Vicente-Campos D, Mora J, Castro-Piñero J, González-Montesinos JL, Conde-Caveda J & Chicharro JL (2012) Impact of a physical activity program on cerebral vasoreactivity in sedentary elderly people. *J Sports Med Phys Fitness* 52: 537–544
- Vignoli B, Sansevero G, Sasi M, Rimondini R, Blum R, Bonaldo V, Biasini E, Santi S, Berardi N, Lu B, et al (2021) Astrocytic microdomains from mouse cortex gain molecular control over long-term information storage and memory retention. *Commun Biol* 4: 1–17
- Vivar C, Potter MC & van Praag H (2013) All about running: synaptic plasticity, growth factors and adult hippocampal neurogenesis. *Curr Top Behav Neurosci* 15: 189–210
- Voss MW, Heo S, Prakash RS, Erickson KI, Alves H, Chaddock L, Szabo AN, Mailey EL, Wójcicki TR, White SM, et al (2013a) The influence of aerobic fitness on cerebral white matter integrity and cognitive function in older adults: results of a one-year exercise intervention. *Hum Brain Mapp* 34: 2972–2985
- Voss MW, Soto C, Yoo S, Sodoma M, Vivar C & van Praag H (2019) Exercise and Hippocampal Memory Systems. *Trends Cogn Sci* 23: 318–333
- Voss MW, Vivar C, Kramer AF & van Praag H (2013b) Bridging animal and human models of exercise-induced brain plasticity. *Trends Cogn Sci* 17: 525–544
- Vulturar R, Chiş A, Hambrich M, Kelemen B, Ungureanu L & Miu AC (2016) Allelic distribution of BDNF Val66Met polymorphism in healthy Romanian volunteers. *Transl Neurosci* 7: 31–34
- Wahl P, Hein M, Achtzehn S, Bloch W & Mester J (2015) Acute effects of superimposed electromyostimulation during cycling on myokines and markers of muscle damage. *J Musculoskelet Neuronal Interact* 15: 53–59
- Wang C, Bomberg E, Billington CJ, Levine AS & Kotz CM (2010) Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in the hypothalamic ventromedial nucleus increases energy expenditure. *Brain Res* 1336: 66–77
- Wang F & Boros S (2021) The effect of physical activity on sleep quality: a systematic review. *European Journal of Physiotherapy* 23: 11–18
- Wang J, Yue B, Zhang X, Guo X, Sun Z & Niu R (2021) Effect of exercise on microglial activation and transcriptome of hippocampus in fluorosis mice. *Sci Total Environ* 760: 143376
- Wang Y-H, Zhou H-H, Luo Q & Cui S (2022) The effect of physical exercise on circulating brain-derived neurotrophic factor in healthy subjects: A meta-analysis of randomized controlled trials. *Brain and Behavior* 12: e2544
- Wegrzyk J, Ranjeva J-P, Fouré A, Kavounoudias A, Vilmen C, Mattei J-P, Guye M, Maffiuletti NA, Place N, Bendahan D, et al (2017) Specific brain activation patterns associated with two neuromuscular electrical stimulation protocols. *Sci Rep* 7: 2742
- Wei Z, Liao J, Qi F, Meng Z & Pan S (2015) Evidence for the contribution of BDNF-TrkB signal strength in neurogenesis: An organotypic study. *Neurosci Lett* 606: 48–52
- Weinstein A & Weinstein Y (2014) Exercise addiction-diagnosis, bio-psychological mechanisms and treatment issues. *Curr Pharm Des* 20: 4062–4069
- Wen CP, Wai JPM, Tsai MK, Yang YC, Cheng TYD, Lee M-C, Chan HT, Tsao CK, Tsai SP & Wu X (2011) Minimum amount of physical activity for reduced mortality and extended life expectancy: a prospective cohort study. *The Lancet* 378: 1244–1253

- Westwood AJ, Beiser A, Jain N, Himali JJ, DeCarli C, Auerbach SH, Pase MP & Seshadri S (2017) Prolonged sleep duration as a marker of early neurodegeneration predicting incident dementia. *Neurology* 88: 1172–1179
- Wetsel WC, Rodriguiz RM, Guillemot J, Rousset E, Essalmani R, Kim IH, Bryant JC, Marcinkiewicz J, Desjardins R, Day R, *et al* (2013) Disruption of the expression of the proprotein convertase PC7 reduces BDNF production and affects learning and memory in mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 110: 17362–17367
- Wheeler MJ, Green DJ, Ellis KA, Cerin E, Heinonen I, Naylor LH, Larsen R, Wennberg P, Boraxbekk C-J, Lewis J, *et al* (2020) Distinct effects of acute exercise and breaks in sitting on working memory and executive function in older adults: a three-arm, randomised cross-over trial to evaluate the effects of exercise with and without breaks in sitting on cognition. *Br J Sports Med* 54: 776–781
- Wilckens KA, Erickson KI & Wheeler ME (2018) Physical Activity and Cognition: A Mediating Role of Efficient Sleep. *Behavioral Sleep Medicine* 16: 569–586
- Williams SN & Undieh AS (2009) Dopamine D1-like receptor activation induces brain-derived neurotrophic factor protein expression. *Neuroreport* 20: 606–610
- Winn NC, Grunewald ZI, Liu Y, Heden TD, Nyhoff LM & Kanaley JA (2017) Plasma Irisin Modestly Increases during Moderate and High-Intensity Afternoon Exercise in Obese Females. *PLoS One* 12: e0170690
- Woo NH, Teng HK, Siao C-J, Chiaruttini C, Pang PT, Milner TA, Hempstead BL & Lu B (2005) Activation of p75NTR by proBDNF facilitates hippocampal long-term depression. *Nat Neurosci* 8: 1069–1077
- Wrann CD, White JP, Salogiannis J, Laznik-Bogoslavski D, Wu J, Ma D, Lin JD, Greenberg ME & Spiegelman BM (2013) Exercise Induces Hippocampal BDNF through a PGC-1 α /FNDC5 Pathway. *Cell Metabolism* 18: 649–659
- Wu D & Partridge WM (1999) Neuroprotection with noninvasive neurotrophin delivery to the brain. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 96: 254–259
- Wu K, Len G-W, McAuliffe G, Ma C, Tai JP, Xu F & Black IB (2004) Brain-derived neurotrophic factor acutely enhances tyrosine phosphorylation of the AMPA receptor subunit GluR1 via NMDA receptor-dependent mechanisms. *Brain Res Mol Brain Res* 130: 178–186
- Wu X & Reddy DS (2012) Integrins as Receptor Targets for Neurological Disorders. *Pharmacol Ther* 134: 68–81
- Xiao K, Luo Y, Liang X, Tang J, Wang J, Xiao Q, Qi Y, Li Y, Zhu P, Yang H, *et al* (2021) Beneficial effects of running exercise on hippocampal microglia and neuroinflammation in chronic unpredictable stress-induced depression model rats. *Transl Psychiatry* 11: 1–12
- Xu B, Goulding EH, Zang K, Cepoi D, Cone RD, Jones KR, Tecott LH & Reichardt LF (2003) Brain-derived neurotrophic factor regulates energy balance downstream of melanocortin-4 receptor. *Nat Neurosci* 6: 736–742
- Xu C, Wang Z, Fan M, Liu B, Song M, Zhen X & Jiang T (2010) Effects of BDNF Val66Met polymorphism on brain metabolism in Alzheimer's disease. *Neuroreport* 21: 802–807
- Yamazaki Y, Sato D, Yamashiro K, Nakano S, Onishi H & Maruyama A (2019) Acute Low-Intensity Aerobic Exercise Modulates Intracortical Inhibitory and Excitatory Circuits in an Exercised and a Non-exercised Muscle in the Primary Motor Cortex. *Front Physiol* 10: 1361
- Yamazaki Y, Suwabe K, Nagano-Saito A, Saotome K, Kuwamizu R, Hiraga T, Torma F, Suzuki K, Sankai Y, Yassa MA, *et al* (2023) A possible contribution of the locus coeruleus to arousal enhancement with mild exercise: evidence from pupillometry and neuromelanin imaging. *Cereb Cortex Commun* 4: tgad010
- Yan Q, Radeke MJ, Matheson CR, Talvenheimo J, Welcher AA & Feinstein SC (1997) Immunocytochemical localization of TrkB in the central nervous system of the adult rat. *J Comp Neurol* 378: 135–157
- Yanagisawa H, Dan I, Tsuzuki D, Kato M, Okamoto M, Kyutoku Y & Soya H (2010) Acute moderate exercise elicits increased dorsolateral prefrontal activation and improves cognitive performance with Stroop test. *Neuroimage* 50: 1702–1710
- Yang J, Harte-Hargrove LC, Siao C-J, Marinic T, Clarke R, Ma Q, Jing D, Lafrancois JJ, Bath KG, Mark W, *et al* (2014a) proBDNF negatively regulates neuronal remodeling, synaptic transmission, and synaptic plasticity in hippocampus. *Cell Rep* 7: 796–806
- Yang J, Ruchti E, Petit J-M, Jourdain P, Grenningloh G, Allaman I & Magistretti PJ (2014b) Lactate promotes plasticity gene expression by potentiating NMDA signaling in neurons. *Proc Natl Acad Sci U S A* 111: 12228–12233
- Yang J, Siao C-J, Nagappan G, Marinic T, Jing D, McGrath K, Chen Z-Y, Mark W, Tessarollo L, Lee FS, *et al* (2009) Neuronal release of proBDNF. *Nat Neurosci* 12: 113–115

- Yang J-D, Liao C-D, Huang S-W, Tam K-W, Liou T-H, Lee Y-H, Lin C-Y & Chen H-C (2019) Effectiveness of electrical stimulation therapy in improving arm function after stroke: a systematic review and a meta-analysis of randomised controlled trials. *Clin Rehabil* 33: 1286–1297
- Yang Y & Wang J-Z (2017) From Structure to Behavior in Basolateral Amygdala-Hippocampus Circuits. *Frontiers in Neural Circuits* 11
- Yarlagadda A, Alfson E & Clayton AH (2009) The Blood Brain Barrier and the Role of Cytokines in Neuropsychiatry. *Psychiatry (Edgmont)* 6: 18–22
- Yasuda R, Hayashi Y & Hell JW (2022) CaMKII: a central molecular organizer of synaptic plasticity, learning and memory. *Nat Rev Neurosci* 23: 666–682
- Yeung RR (1996) The acute effects of exercise on mood state. *J Psychosom Res* 40: 123–141
- You H & Lu B (2023) Diverse Functions of Multiple Bdnf Transcripts Driven by Distinct Bdnf Promoters. *Biomolecules* 13: 655
- Yu D, Yin H, Han T, Jiang H & Cao X (2016) Intramuscular innervations of lower leg skeletal muscles: applications in their clinical use in functional muscular transfer. *Surg Radiol Anat* 38: 675–685
- Yu Q, Kou W, Xu X, Zhou S, Luan P, Xu X, Li H, Zhuang J, Wang J, Zhao Y, *et al* (2019) FNDC5/Irisin inhibits pathological cardiac hypertrophy. *Clin Sci (Lond)* 133: 611–627
- Zafra F, Castrén E, Thoenen H & Lindholm D (1991) Interplay between glutamate and gamma-aminobutyric acid transmitter systems in the physiological regulation of brain-derived neurotrophic factor and nerve growth factor synthesis in hippocampal neurons. *Proc Natl Acad Sci U S A* 88: 10037–10041
- Zafra F, Hengerer B, Leibrock J, Thoenen H & Lindholm D (1990) Activity dependent regulation of BDNF and NGF mRNAs in the rat hippocampus is mediated by non-NMDA glutamate receptors. *EMBO J* 9: 3545–3550
- Zagaar M, Dao A, Levine A, Alhaider I & Alkadhi K (2013) Regular exercise prevents sleep deprivation associated impairment of long-term memory and synaptic plasticity in the CA1 area of the hippocampus. *Sleep* 36: 751–761
- Zamani Sani SH, Fathirezaie Z, Brand S, Pühse U, Holsboer-Trachsler E, Gerber M & Talepasand S (2016) Physical activity and self-esteem: testing direct and indirect relationships associated with psychological and physical mechanisms. *Neuropsychiatr Dis Treat* 12: 2617–2625
- Zaychik Y, Fainstein N, Touloumi O, Goldberg Y, Hamdi L, Segal S, Nabat H, Zoidou S, Grigoriadis N, Katz A, *et al* (2021) High-Intensity Exercise Training Protects the Brain Against Autoimmune Neuroinflammation: Regulation of Microglial Redox and Pro-inflammatory Functions. *Front Cell Neurosci* 15: 640724
- Zhang D, Tang Z, Huang H, Zhou G, Cui C, Weng Y, Liu W, Kim S, Lee S, Perez-Neut M, *et al* (2019a) Metabolic regulation of gene expression by histone lactylation. *Nature* 574: 575–580
- Zhang M-J, Mu J-W, Qu X-S, Feng C & Zhao W (2018) Effect of neuromuscular electrical stimulation for fatigue management in patients with advanced laryngeal cancer receiving chemoradiotherapy. *Medicine (Baltimore)* 97: e11370
- Zhang X, He Q, Huang T, Zhao N, Liang F, Xu B, Chen X, Li T & Bi J (2019b) Treadmill Exercise Decreases A β Deposition and Counteracts Cognitive Decline in APP/PS1 Mice, Possibly via Hippocampal Microglia Modifications. *Front Aging Neurosci* 11: 78
- Zhang X, Xu S, Hu Y, Liu Q, Liu C, Chai H, Luo Y, Jin L & Li S (2023) Irisin exhibits neuroprotection by preventing mitochondrial damage in Parkinson's disease. *NPJ Parkinsons Dis* 9: 13
- Zhang X-Y, Liu F, Chen Y, Guo W-C & Zhang Z-H (2020) Proprotein convertase 1/3-mediated down-regulation of brain-derived neurotrophic factor in cortical neurons induced by oxygen-glucose deprivation. *Neural Regen Res* 15: 1066–1070
- Zhang Y, Chao F-L, Zhou C-N, Jiang L, Zhang L, Chen L-M, Luo Y-M, Xiao Q & Tang Y (2017) Effects of exercise on capillaries in the white matter of transgenic AD mice. *Oncotarget* 8: 65860–65875
- Zhang Y, Fu R, Sun L, Gong Y & Tang D (2019c) How Does Exercise Improve Implicit Emotion Regulation Ability: Preliminary Evidence of Mind-Body Exercise Intervention Combined With Aerobic Jogging and Mindfulness-Based Yoga. *Front Psychol* 10
- Zhang Z, Fan J, Ren Y, Zhou W & Yin G (2013) The release of glutamate from cortical neurons regulated by BDNF via the TrkB/Src/PLC- γ 1 pathway. *J Cell Biochem* 114: 144–151
- Zheng F, Zhou X, Luo Y, Xiao H, Wayman G & Wang H (2011) Regulation of brain-derived neurotrophic factor exon IV transcription through calcium responsive elements in cortical neurons. *PLoS One* 6: e28441
- Zheng J, Shen W-H, Lu T-J, Zhou Y, Chen Q, Wang Z, Xiang T, Zhu Y-C, Zhang C, Duan S, *et al*

- (2008) Clathrin-dependent endocytosis is required for TrkB-dependent Akt-mediated neuronal protection and dendritic growth. *J Biol Chem* 283: 13280–13288
- Zheng J, Sun X, Ma C, Li B & Luo F (2019) Voluntary wheel running promotes myelination in the motor cortex through Wnt signaling in mice. *Molecular Brain* 12: 85
- Zhou B, Cai Q, Xie Y & Sheng Z-H (2012) Snapin recruits dynein to BDNF-TrkB signaling endosomes for retrograde axonal transport and is essential for dendrite growth of cortical neurons. *Cell Rep* 2: 42–51
- Zhou J, Li L, Tang S, Cao X, Li Z, Li W, Li C & Zhang X (2008) Effects of serotonin depletion on the hippocampal GR/MR and BDNF expression during the stress adaptation. *Behav Brain Res* 195: 129–138
- Références bibliographiques*
- Zhu B, Zhao L, Luo D, Xu D, Tan T, Dong Z, Tang Y, Min Z, Deng X, Sun F, *et al* (2018) Furin promotes dendritic morphogenesis and learning and memory in transgenic mice. *Cell Mol Life Sci* 75: 2473–2488
- Zigova T, Pencea V, Wiegand SJ & Luskin MB (1998) Intraventricular administration of BDNF increases the number of newly generated neurons in the adult olfactory bulb. *Mol Cell Neurosci* 11: 234–245
- Zuccato C, Ciammola A, Rigamonti D, Leavitt BR, Goffredo D, Conti L, MacDonald ME, Friedlander RM, Silani V, Hayden MR, *et al* (2001) Loss of huntingtin-mediated BDNF gene transcription in Huntington's disease. *Science* 293: 493–498
- Zügel M, Qiu S, Laszlo R, Bosnyák E, Weigt C, Müller D, Diel P, Steinacker JM & Schumann U (2016) The role of sex, adiposity, and gonadectomy in the regulation of irisin secretion. *Endocrine* 54: 101–110

Titre : Électromyostimulation et cognition

Mots clés : électrostimulation, cognition, BDNF, activité neuronale, flux sanguin cérébral, dialogue muscle-cerveau

Résumé : De nombreuses preuves scientifiques confirment les bienfaits de l'exercice physique (EX) sur la santé cérébrale, manifestés notamment par une amélioration de la cognition et de l'état émotionnel. Des investigations précliniques ont mis en évidence que le facteur neurotrophique dérivé du cerveau (BDNF, pour Brain-Derived Neurotrophic Factor) joue un rôle central dans les bénéfices cérébraux engendrés par l'EX. L'augmentation des taux de BDNF dans le cerveau, en réponse à l'EX, résulte d'une augmentation de l'activité neuronale, du flux sanguin cérébral, ainsi que de la sécrétion d'exerkines telles que l'irisine et le lactate par les muscles squelettiques. En dépit du lien solide entre la pratique de l'EX et les bienfaits pour la santé cérébrale, de nombreuses contraintes entravent la participation à un programme d'EX actif chez de nombreuses personnes. En conséquence, l'objectif principal de cette thèse a été d'évaluer si l'électromyostimulation (EMS), c'est-à-dire l'induction de contractions musculaires involontaires au moyen d'une source de courant exogène, pouvait représenter une alternative efficace à l'EX pour améliorer la santé cérébrale. Les résultats de cette thèse ont révélé que la stimulation d'une grande masse musculaire, entraînant des lésions musculaires substantielles, avait un effet délétère sur la neuroplasticité dépendante du BDNF chez le rat. En revanche, un protocole de stimulation appliqué au muscle quadriceps, générant de rares lésions musculaires, a permis l'induction d'une neuroplasticité dépendante du BDNF chez le rat, ainsi qu'une amélioration de la cognition et de l'humeur chez l'Homme. Même si aucun des protocoles de stimulation n'a eu d'impact sur les taux circulants d'irisine, ni sur l'activité neuronale et le flux sanguin dans les régions cérébrales associées à la cognition, il convient de noter que les effets bénéfiques sur le cerveau étaient positivement corrélés à la production de lactate en réponse à l'EMS, à la fois chez l'Homme et chez le rat. En conclusion, l'EMS comme méthode alternative à l'EX peut exercer des effets positifs sur la santé cérébrale, mais le choix du protocole s'avère crucial pour obtenir des bénéfices neuroplastiques et cognitifs optimaux.

Title: Electrical muscle stimulation and cognition

Keywords: muscle stimulation, cognition, BDNF, neuronal activity, cerebral blood flow, skeletal muscle-brain crosstalk

Abstract: Numerous pieces of evidence confirm the benefits of physical exercise (EX) on brain health, notably manifested by improvements in cognition and emotional state. Preclinical investigations have highlighted the central role of Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF) in the cerebral benefits brought about by EX. The increase in BDNF levels in the brain in response to EX results from heightened neuronal activity, cerebral blood flow, as well as the secretion of exerkines such as irisin and lactate by skeletal muscles. Nonetheless, despite this robust evidence demonstrating the cerebral benefits of EX, numerous individuals are unable to engage in an active EX program due to various constraints. Consequently, the aim of this thesis was to evaluate whether Electrical Muscle Stimulation (EMS), i.e., the induction of involuntary muscle contractions through an exogenous current source, could represent an effective alternative to EX for improving brain health. The results of this thesis have revealed that stimulating a large muscle mass, leading to substantial muscle lesions, had a detrimental effect on BDNF-dependent neuroplasticity in rats hippocampus. In contrast, a stimulation protocol applied to the quadriceps muscle, generating rare muscle lesions, allowed for the induction of BDNF-dependent neuroplasticity in rats, as well as improvements in cognition and mood in humans. Although none of the stimulation protocols had an impact on circulating levels of irisin or on neuronal activity and cerebral blood flow in brain regions associated with cognition, it is worth noting that the beneficial effects on the brain were positively correlated with lactate production in response to EMS, both in humans and rats. In conclusion, EMS as an alternative method to EX can exert positive effects on brain health, but the choice of the protocol proves to be crucial in achieving optimal cognitive and neuroplastic benefits.