

Comparison of the effect of 4 weeks of aerobic and resistance training on muscle gene expression of leukemia inhibitory factor in rats fed with a high-fat diet

Received:

2024-02-01

Accepted:

2024-04-18

Online ISSN

3041-8666

Mostafa Babaeinejad

1. Department of exercise physiology, Central Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

Mohammad Tajik

2. Department of exercise physiology, Central Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

Ali Hosseinabadi

Department of Physical Education and sport science, University of Tehran, Tehran, Iran

ABSTRACT

Background and Aims: Leukemia inhibitory factor (LIF) is a myokine that is affected by overweight and has inflammatory and destructive effects. Since exercise causes excess weight loss, the aim of this study is the effect of aerobic and resistance exercises on muscle LIF gene expression in rats fed a high-fat diet.

Method: In this experimental study, 32 rats were randomly divided into four groups: healthy control, obese control, obese + aerobic exercise, and obese + resistance exercise. The training was done for 4 weeks with moderate aerobic intensity (50-65% of VO₂max). For resistance training, rats were trained to climb a ladder (height 110 cm, slope 80%, and the distance between the bars of the ladder 2 cm), based on determining the maximum of one repetition. A high-fat diet of 40% fat, 13% protein, and 47% carbohydrate was prepared and continued until the mice reached the obesity threshold. The tissue sample was taken from the gluteus muscle.

Results: The expression of LIF in the obese control group was significantly increased compared to the healthy control group (P=0.039). The expression of LIF in the resistance training group was significantly decreased compared to the obese control group (P=0.046). There was no significant difference between the aerobic exercise group and the obese control group (P=0.059). There was a significant difference between the aerobic and resistance training groups regarding FSTL-1 (P=0.042).

Conclusion: Resistance training seems to have a greater effect on LIF expression in the muscles of obese samples compared to aerobic exercise.

Keywords: training, leukemia inhibitory factor, high-fat diet

*Correspondence:

Email:

babaeinejad.2014@gmail.com

Orcid: 0000-0003-1806-3301

Introduction:

Leukemia inhibitory factor (LIF) is a myokine that is affected by obesity and has inflammatory and destructive effects. LIF has been shown to have a wide range of actions, including acting as a stimulator for platelet formation, hematopoietic cell proliferation, bone formation, neurogenesis and survival, muscle satellite cell proliferation, and acute-phase hepatocyte generation. Since exercise causes excess weight loss, the aim of this study is the effect of aerobic and resistance exercises on muscle LIF gene expression in rats fed a high-fat diet.

Method:

The current research was experimental and fundamental. This research has been approved by the Ethics Committee of the Institute of Physical Education with code IR.SSRI.REC.1401.1607. The statistical population of this study were all 12-week-old adult male Wistar rats with an average weight of 180 to 200 grams and they were used in 4 groups (8 rats in each group). Mice were kept in standard environmental and temperature conditions with 12 hours of light and 12 hours of darkness in standard size cages. 8 mice were kept in each cage. One week before the beginning of the training protocol, the animals were kept at the project site in order to adapt to the new environment, and during the study period, all the animals were kept in standard laboratory conditions in transparent polycarbonate cages. Temperature (20–22) °C, humidity (55%) and free access to water (300 mL clear, graduated, autoclavable bottle with 1 cm stainless steel screw-free cap) were maintained with 12 h/light cycle. All principles of work on laboratory animals approved by the Ministry of Health of the Islamic Republic of Iran were observed in this study. 32 rats were randomly divided into four groups: healthy control, obese control, obese + aerobic exercise, and obese + resistance exercise. The training was done for 4 weeks with moderate aerobic intensity. For resistance training, rats were trained to climb a ladde, based on determining the maximum of one repetition. A high-fat diet of 40% fat, 13% protein, and 47% carbohydrate was prepared and continued until the mice reached the obesity threshold. Aerobic exercise program was performed for 4 weeks with moderate intensity. In order to adapt the rats to the main training program, a week of adaptation training was performed at a speed of 9 meters per minute for 20 minutes. In the main training, the training intensity reached 50% VO₂max in the first week and 65% VO₂max in the last week. Based on this, the duration of training was determined to be 20 minutes, and the training intensity reached 16 meters per minute in the first week and 26 meters per minute in the last week. Also, the rats were warmed up for 5 minutes at a speed of 7 m/min to start the training and cooled down for 5 minutes at a speed of 5 m/min after the main training. For resistance training, rats were trained to climb a ladder (height 110 cm, incline 80%, and distance between steps 2 cm) based on the determination of one repetition maximum (1RM). After one week of adaptation, the weight of the mice was measured. Then a weight equal to 50% of their body weight was attached to the end of their tail. After one successful ascent, 30 grams were added to the initial weight (50 + 30% grams). The last weight that the animal could lift was considered 1RM. The first training session started with 50% and 140 seconds of rest between each set and continued with 75, 90 and 100% of 1RM. If the animal could lift 100% of 1RM, 30 g was added to the weight and this process continued until the animal could not reach 1RM. The last weight successfully lifted was considered the rat's 1RM. In the following days, the training started with the highest weight of the previous day, 1RM. The tissue sample was taken from the gluteus muscle. In this research, the Shapiro-Wilk test was used to check the normality of data distribution. After normalization of data distribution, one-way analysis of variance test was used to check the difference between groups, and Tukey's post hoc test was used to determine the difference between groups. All analyzes were performed using SPSS software version 22 and at the level of $P \leq 0.05$.

Results:

ANOVA test results showed that there is a significant difference in LIF expression between groups ($P=0.041$). Based on the post hoc test, the expression of LIF in the obese control group increased significantly compared to the healthy control group ($P=0.039$). The expression of LIF was significantly decreased in the resistance training group compared to the obese control group ($P=0.046$). However, despite the reduction of LIF in the aerobic training group compared to the obese control group, no significant difference was observed between these two groups ($P=0.059$). There was a significant difference between the aerobic and resistance training groups ($P=0.055$).

Conclusions:

The results of the research showed that the expression of LIF in the resistance training group had a significant decrease compared to the obese control group. However, despite the reduction of LIF in the aerobic exercise group compared to the obese control group, no significant difference was observed between these two groups. There was a significant difference between aerobic and resistance training groups. In this regard, the results of some studies showed that LIF levels in the circulation are related to the severity of liver steatosis. Patients with ballooning, fibrosis, lobular inflammation and abnormally elevated liver damage markers alanine transaminase and aspartate aminotransferase also had higher LIF serum levels than control patients (1). In this regard, So et al. (2017) showed in research that 12 weeks of aerobic and resistance training decreased the level of LIF protein in hind limb muscle in rats, and there was a negative correlation between LIF protein level in soleus muscle and leg lean mass (1). In another study, eight men cycled for 3 hours at 60% VO_{2max} , and muscle samples were taken before exercise and up to 48 hours after exercise. Muscle LIF mRNA expression increased up to 4-fold immediately after cessation of exercise and gradually decreased during the postexercise period (1). This study showed that aerobic exercise and resistance training regulate LIF mRNA expression. Given that resistance training causes more muscle involvement (3-4), the decrease in LIF in our research in the resistance training group may be the reason.

مقایسه اثر ۴ هفته تمرین هوازی و مقاومتی بر بیان ژن عضلانی فاکتور بازدارنده لوسمی در موش‌های صحرایی تغذیه شده با رژیم غذایی پرچرب

چکیده	تاریخ ارسال: ۱۴۰۲/۱۱/۱۲ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۱/۳۰ شاپا الکترونیکی ۳۰۴۱-۸۶۶۶
<p>مقدمه: فاکتور بازدارنده لوسمی (LIF) میوکینی است که تحت تاثیر اضافه وزن قرار گرفته و دارای اثرات التهابی و مخرب است. از آنجایی که ورزش باعث کاهش وزن اضافی می‌شود، هدف از این مطالعه تأثیر تمرینات هوازی و مقاومتی بر بیان ژن عضلانی LIF در موش‌های صحرایی تغذیه شده با رژیم غذایی پرچرب می‌باشد.</p> <p>مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی، ۳۲ موش صحرایی به طور تصادفی به چهار گروه کنترل سالم، کنترل چاق، چاق + ورزش هوازی و چاق + تمرین مقاومتی تقسیم شدند. تمرین به مدت ۴ هفته با شدت هوازی متوسط (۵۰ تا ۶۵ درصد VO2max) انجام شد. برای تمرین مقاومتی نیز موش‌ها برای بالا رفتن از نردبان آموزش داده شدند (ارتفاع ۱۱۰ سانتی‌متر، شیب ۸۰ درصد و فاصله بین میله‌های نردبان ۲ سانتی‌متر) که بر اساس تعیین حداکثر یک تکرار است. یک رژیم غذایی پرچرب با ۴۰ درصد چربی، ۱۳ درصد پروتئین و ۴۷ درصد کربوهیدرات تهیه شد و تا زمانی که موش‌ها به محدوده چاقی رسیدند ادامه یافت. نمونه بافت از عضله گلوئوس گرفته شد.</p> <p>یافته‌ها: بیان LIF در گروه کنترل چاق نسبت به گروه کنترل سالم افزایش معنی‌داری داشت ($P=0/039$). بیان LIF در گروه تمرین مقاومتی نسبت به گروه کنترل چاق کاهش معنی‌داری داشت ($P=0/046$). تفاوت معنی‌داری بین گروه تمرین هوازی نسبت به گروه کنترل چاق وجود نداشت ($P=0/059$). تفاوت معنی‌داری بین دو گروه تمرین هوازی و مقاومتی از نظر FSTL-1 وجود داشت ($P=0/042$).</p> <p>نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد تمرین مقاومتی در مقایسه با ورزش هوازی تأثیر بیشتری بر بیان LIF در عضلات نمونه‌های چاق دارد.</p>	<p>مصطفی بابائی نژاد ۱- گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد تهران مرکزی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران. محمد تاجیک گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد تهران مرکزی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران. علی حسین آبادی گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه تهران، تهران، ایران.</p>
<p>کلمات کلیدی: تمرین، فاکتور بازدارنده لوسمی، رژیم غذای چرب</p>	<p>* نویسنده مسئول: مصطفی بابائی نژاد ایمیل: babaeinejad.2014@gmail.com اورکید:۰۰۰۳-۱۸۰۶-۳۳۰۱</p>

مقدمه

میوکین یک سیتوکین است که توسط سلول‌های ماهیچه‌ای اسکلتی (فیبرهای عضلانی) در پاسخ به انقباضات عضلانی آزاد می‌شود (۱). آنها اثرات پاراکرین و/یا غدد درون ریز و اتوکرین دارند. اثرات سیستمیک آنها در غلظت‌های پیکومولار رخ می‌دهد. گیرنده‌های میوکین روی سلول‌های چربی، ماهیچه، پانکراس، کبد، استخوان، سیستم ایمنی، قلب و سلول‌های مغز یافت می‌شوند. در این رابطه لیکورسی و همکاران (۲۰۱۶) گزارش کرد که کاهش فاکتور مهارکننده لوسمی^۱ بی‌اشتهایی (LIF) در ساقه مغز ناشی از رژیم غذایی پرچرب ممکن است شرایط مناسبی را برای مصرف بیش از حد یک رژیم غذایی پرچرب فراهم کند (۲). این فرآیند ممکن است، حداقل تا حدی، توسط هسته‌ی انفرادی tractus واسطه‌شود (۳). جانسون و همکاران (۲۰۰۶) گزارش داد که LIF توده چربی بدن را در موش‌های جونده تخمدان برداشته شده کاهش می‌دهد. LIF یکی از میوکین‌های کشف شده است (۳). اکنون مشخص شده است که LIF دارای طیف گسترده‌ای از اقدامات، از جمله عمل به عنوان یک محرک برای تشکیل پلاکت، تکثیر سلول‌های خونساز، تشکیل استخوان، نوروزن و بقا، تکثیر سلول‌های ماهواره‌ای ماهیچه‌ای، و تولید سلول‌های کبدی فاز حاد است (۴). با توجه به تأثیر ورزش بر LIF، نتایج دقیقی در دسترس نیست، اما برومهل و همکاران (۲۰۱۰) در مطالعه‌ای گزارش داد که در حین و بعد از ورزش، عضله اسکلتی تعدادی میوکین را سنتز و آزاد می‌کند که اثرات خود را به صورت سیستمی یا موضعی در عضله اعمال می‌کند (۴). هدف از این مطالعه بررسی تأثیر نوع ورزش (مقاومت هوازی) بر بیان ژن‌های LIF در موش‌های تغذیه‌شده با غذای چرب است.

روش تحقیق

تحقیق حاضر از نوع تجربی و بنیادی بود. این تحقیق با کد IR.SSRI.REC.1401.1607 به تایید کمیته اخلاق پژوهشگاه تربیت‌بدنی رسیده است. جامعه آماری این مطالعه تمامی موش‌های صحرایی نر بالغ نژاد ویستار ۱۲ هفته‌ای با میانگین وزنی ۱۸۰ تا ۲۰۰ گرم بودند و در ۴ گروه (هر گروه ۸ موش) مورد استفاده قرار گرفتند. موش‌ها در شرایط محیطی و دمایی استاندارد با ۱۲ ساعت نور و ۱۲ ساعت تاریکی در قفس‌هایی با اندازه استاندارد نگهداری شدند. در هر قفس ۸ موش نگهداری شد. یک هفته قبل از شروع پروتکل آموزشی، حیوانات به منظور سازگاری با محیط جدید در محل اجرای پروژه نگهداری شدند و در طول مدت مطالعه، تمامی حیوانات در شرایط استاندارد آزمایشگاهی در قفس‌های پلی‌کربنات شفاف نگهداری شدند. دما (۲۰-۲۲) درجه سانتیگراد، رطوبت (۵۵٪) و دسترسی آزاد به آب (بطری شفاف و مدرج ۳۰۰ میلی لیتری با قابلیت اتوکلاو و درپوش فولادی ضد زنگ ۱ سانتی متری بدون نخ) با ۱۲ ساعت / چرخه نور حفظ شد. کلیه اصول کار بر روی حیوانات آزمایشگاهی مورد تایید وزارت بهداشت جمهوری اسلامی ایران در این مطالعه رعایت شد.

۳۲ موش صحرایی به طور تصادفی به چهار گروه کنترل سالم، کنترل چاق، چاق + ورزش هوازی و چاق + تمرین مقاومتی تقسیم شدند. تمرینات هوازی و مقاومتی به مدت ۴ هفته و ۳ روز در هفته انجام شد. به منظور ایجاد مدل چاقی، رژیم غذایی پرچرب با ۴۰ درصد چربی، ۱۳ درصد پروتئین و ۴۷ درصد کربوهیدرات تهیه شد و تا رسیدن موش‌ها به محدوده چاقی ادامه یافت. موش‌ها به مدت ۹ هفته با رژیم غذایی آماده شده تغذیه شدند و پس از رسیدن به وزن مورد نظر، پروتکل تمرینی آغاز شد. غذای استاندارد حیوانات آزمایشگاهی برای موش‌های گروه کنترل سالم استفاده شد.

برنامه تمرین هوازی

برنامه تمرینی هوازی به مدت ۴ هفته با شدت متوسط انجام شد. به منظور تطبیق موش‌ها با برنامه تمرینی اصلی، یک هفته

¹ Leukemia inhibitory factor

تمرین سازگاری با سرعت ۹ متر در دقیقه و به مدت ۲۰ دقیقه انجام شد. در تمرین اصلی شدت تمرین به VO_{2max}^2 ۵۰٪ در هفته اول و ۶۵٪ VO_{2max} در هفته آخر رسید. براین اساس مدت زمان تمرین ۲۰ دقیقه تعیین شد و شدت تمرین در هفته اول به ۱۶ متر در دقیقه و در هفته آخر به ۲۶ متر در دقیقه رسید. همچنین موش‌ها برای شروع تمرین به مدت ۵ دقیقه با سرعت ۷ متر در دقیقه گرم شدند و پس از تمرین اصلی به مدت ۵ دقیقه با سرعت ۵ متر در دقیقه خنک شدند.

پروتکل تمرین مقاومتی

موش‌ها برای بالا رفتن از یک نردبان (ارتفاع ۱۱۰ سانتی‌متر، شیب ۸۰ درصد و فاصله بین پله‌ها ۲ سانتی‌متر) آموزش دیدند که بر اساس تعیین حداکثر یک تکرار RM^3 است. پس از یک هفته سازگاری، وزن موش‌ها اندازه‌گیری شد. سپس وزنی معادل ۵۰ درصد وزن بدن آنها به انتهای دم آنها چسبانده شد. پس از یک بار صعود موفق، ۳۰ گرم به وزن اولیه (۵۰ + ۳۰ درصد گرم) اضافه شد. آخرین وزنه‌ای که حیوان می‌توانست بلند کند RM^1 در نظر گرفته شد. اولین جلسه تمرینی با ۵۰ درصد و ۱۴۰ ثانیه استراحت بین هر ست آغاز شد و با ۷۵، ۹۰ و ۱۰۰ درصد RM^1 ادامه یافت. اگر حیوان می‌توانست ۱۰۰٪ RM^1 را بلند کند، ۳۰ گرم به وزن اضافه می‌شود و این روند تا زمانی ادامه می‌یابد که حیوان نتواند به RM^1 برسد. آخرین وزنه‌ای که با موفقیت بلند شد RM^1 موش در نظر گرفته شد. در روزهای بعد تمرین با بالاترین وزن روز قبل RM^1 شروع شد.

روش آماری

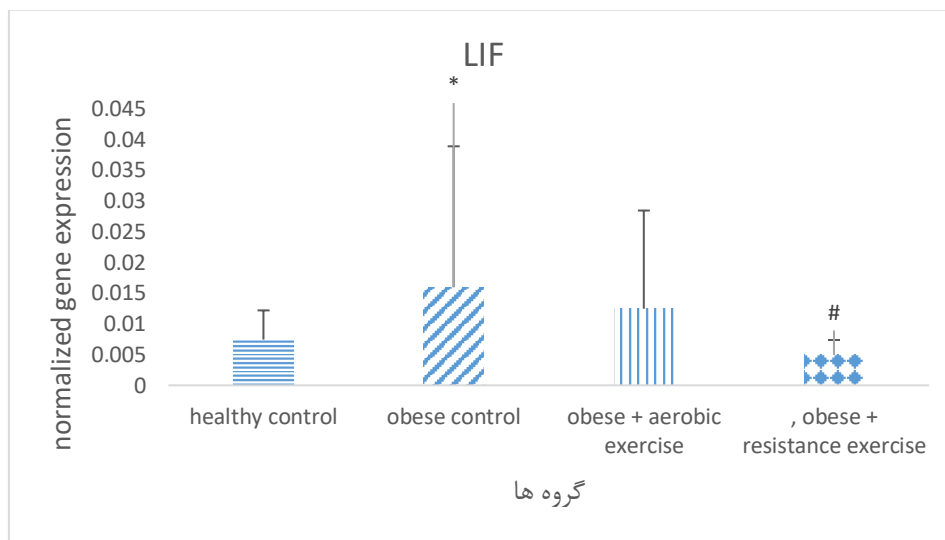
در این تحقیق برای بررسی نرمال بودن توزیع داده‌ها از آزمون شاپیرو ویلک استفاده شد. پس از نرمال شدن توزیع داده‌ها، برای بررسی تفاوت بین گروه‌ها از آزمون تحلیل واریانس یک طرفه و برای تعیین محل تفاوت بین گروه‌ها از آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. تمامی تحلیل‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۲۲ و در سطح $P \leq 0/05$ انجام شد.

نتایج

نتایج آزمون ANOVA نشان داد که در بیان LIF بین گروه‌ها تفاوت معنی‌داری وجود دارد ($P=0/041$). بر اساس آزمون تعقیبی، بیان LIF در گروه کنترل چاق به طور معنی‌داری نسبت به گروه کنترل سالم افزایش یافت ($P=0/039$). بیان LIF در گروه تمرین مقاومتی نسبت به گروه کنترل چاق به طور معنی‌داری کاهش یافت ($P=0/046$). اما علیرغم کاهش LIF در گروه تمرین هوازی نسبت به گروه کنترل چاق، تفاوت معنی‌داری بین این دو گروه مشاهده نشد ($P=0/059$). بین دو گروه تمرین هوازی و مقاومتی تفاوت معناداری وجود داشت ($P=0/055$). (نمودار ۱).

² maximal oxygen consumption

³ one-repetition maximum



نمودار ۱. بیان LIF در همه گروه ها. * = معنی دار در مقایسه با کنترل سالم، # = معنی دار در مقایسه با کنترل چاق

بحث

نتایج تحقیق نشان داد که بیان LIF در گروه تمرین مقاومتی نسبت به گروه کنترل چاق کاهش معنی داری داشت. اما علیرغم کاهش LIF در گروه تمرین هوازی نسبت به گروه کنترل چاق، تفاوت معنی داری بین این دو گروه مشاهده نشد. بین گروه‌های تمرین هوازی و مقاومتی تفاوت معنی داری وجود داشت. در این راستا، نتایج برخی از مطالعات نشان داد که سطوح LIF در گردش خون با شدت استئاتوز کبد مرتبط است. بیماران مبتلا به بالون کردن، فیروز، التهاب لوبولار و افزایش غیرطبیعی نشانگرهای آسیب کبدی آلانین ترانس آمیناز و آسپاراتات آمینوترانسفراز نیز سطوح سرمی LIF بالاتری نسبت به بیماران کنترل داشتند (۵). در این رابطه So et al. (2017) در تحقیقات نشان داد که ۱۲ هفته تمرین هوازی و مقاومتی باعث کاهش سطح پروتئین LIF در عضله اندام عقبی در موش صحرایی شد و بین سطح پروتئین LIF در عضله کف پا و توده بدون چربی ساق پا همبستگی منفی وجود داشت (۵). در مطالعه دیگری، هشت مرد به مدت ۳ ساعت با ۶۰٪ VO2max دوچرخه سواری کردند و نمونه‌های عضلانی قبل از ورزش و تا ۴۸ ساعت بعد از ورزش گرفته شد. بیان mRNA LIF عضلانی بلافاصله پس از توقف ورزش تا ۴ برابر افزایش یافت و به تدریج در طول دوره پس از تمرین کاهش یافت (۶). این مطالعه نشان داد که ورزش هوازی و تمرین مقاومتی بیان mRNA LIF را تنظیم می‌کند. با توجه به اینکه تمرینات مقاومتی باعث درگیری بیشتر عضلات می‌شود (۷-۸)، بنابراین کاهش LIF در تحقیقات ما در گروه تمرینات مقاومتی ممکن است دلیل آن باشد.

نتیجه‌گیری

بر اساس نتایج این تحقیق، رژیم غذایی چرب بیان LIF را در بافت عضلانی موش‌ها افزایش داد. اما تمرین مقاومتی LIF را کاهش داد، اما تمرین هوازی تاثیر معنی داری نداشت. به طور کلی به نظر می‌رسد تمرینات مقاومتی در مقایسه با تمرینات هوازی بر روی میوکین‌های عضلات نمونه‌های چاق تاثیر بیشتری و بهتری داشته باشد. با این حال، تحقیقات بیشتری مورد نیاز است.

ملاحظات اخلاقی

این تحقیق با کد IR.SSRI.REC.1401.1607 به تایید کمیته اخلاق پژوهشگاه تربیت بدنی رسیده است.

منابع مالی

ندارد.

تضاد منافع

نویسندگان هیچ گونه تعارض منافی ندارند.

منابع:

- So B. Effects of aerobic and resistance exercise training on leukemia inhibitory factor in skeletal muscles of aging mice. 2017.
- Broholm C, Mortensen OH, Nielsen S, Akerstrom T, Zankari A, Dahl B, et al. Exercise induces expression of leukaemia inhibitory factor in human skeletal muscle. *The Journal of physiology*. 2008;586(8):2195-201.
- KARIMIFARD, Mahmood; ARAZI, Hamid; MEHRABANI, Javad. Twelve Weeks Rest–Pause and Traditional Resistance Training: Effects on Myokines and Performance Adaptations among Recreationally Trained Men. *Stresses*, 2023, 3.1: 302-315.
- KIM, Jeongwoon, et al. Higher Protein Intake does not Modulate Resistance Training–Induced Changes in Myokines and Cognitive Function in Middle-Aged Adults. *Journal of Cognitive Enhancement*, 2024, 1-19.
- Barbalho SM, de Alvares Goulart R, Bechara M, Audi M, LM GC, Buchain D. Myokines: a descriptive review. *The Journal of Sports Medicine and Physical Fitness*. 2020.
- Licursi M, Alberto CO, Dias A, Hirasawa K, Hirasawa M. High-fat diet-induced downregulation of anorexic leukemia inhibitory factor in the brain stem. *Obesity*. 2016;24(11):2361-7.
- Jansson J-O, Movérare-Skrtic S, Berndtsson A, Wernstedt I, Carlsten H, Ohlsson C. Leukemia inhibitory factor reduces body fat mass in ovariectomized mice. *European journal of endocrinology*. 2006;154(2):349-54.
- Broholm C, Pedersen BK. Leukaemia inhibitory factor-an exercise-induced myokine. *Exercise immunology review*. 2010;16.
- So B. Effects of aerobic and resistance exercise training on leukemia inhibitory factor in skeletal muscles of aging mice. 2017.
- Broholm C, Mortensen OH, Nielsen S, Akerstrom T, Zankari A, Dahl B, et al. Exercise induces expression of leukaemia inhibitory factor in human skeletal muscle. *The Journal of physiology*. 2008;586(8):2195-201.
- KARIMIFARD, Mahmood; ARAZI, Hamid; MEHRABANI, Javad. Twelve Weeks Rest–Pause and Traditional Resistance Training: Effects on Myokines and Performance Adaptations among Recreationally Trained Men. *Stresses*, 2023, 3.1: 302-315.
- KIM, Jeongwoon, et al. Higher Protein Intake does not Modulate Resistance Training–Induced Changes in Myokines and Cognitive Function in Middle-Aged Adults. *Journal of Cognitive Enhancement*, 2024, 1-19.