

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA DE EDUCAÇÃO FÍSICA E ESPORTE DE RIBEIRÃO PRETO

UDSON REGIS DOS SANTOS

**Efeito dos métodos de treinamento contínuo e intervalado sobre a sinalização
músculo esquelético-cérebro**

RIBEIRÃO PRETO

2022

UDSON REGIS DOS SANTOS

**Efeitos dos métodos de treinamento contínuo e intervalado sobre a sinalização
músculo esquelético-cérebro**

Versão Corrigida

Dissertação apresentada à Escola de Educação Física e Esporte de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para obtenção de título de Mestre em Ciências, Programa de Pós-graduação em Educação Física e Esporte.

Área de Concentração: Atividade Física e Esporte

Orientadora: Profa. Dra. Camila de Moraes

Ribeirão Preto

2022

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Catálogo na publicação

Serviço de Biblioteca e Documentação

Escola de Educação Física e Esporte de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo

Dos Santos, Uilson Regis

Efeitos dos métodos de treinamento contínuo e intervalado sobre a sinalização músculo esquelético-cérebro. Uilson Regis dos Santos. - Ribeirão Preto, 2022.

49p.

Dissertação apresentada à Escola de Educação Física e Esporte de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, para obtenção do título de mestre em Ciências, Programa de Pós-Graduação Educação Física e Esporte.

Orientadora: Prof. Dra. Camila de Moraes

1. Exercício físico. 2. Catepsina B. 3. Fator Neurotrófico Derivado do Encéfalo. I. Efeitos dos métodos de treinamento contínuo e intervalado sobre a sinalização músculo esquelético-cérebro

DOS SANTOS, U. R. **Efeitos dos métodos de treinamento contínuo e intervalado sobre sinalização músculo esquelético-cérebro**. 2022, 47f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Escola de Educação Física e Esporte de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2022.

Aprovado em:

Banca Examinadora

Prof. Dr. Camila de Moraes
Instituição: EEFERP - USP
Julgamento: Aprovado Camila de Moraes

Prof. Dr. Leandro Ferreira
Instituição: UNIFAFIBE
Julgamento: Aprovado p/ Camila de Moraes

Prof. Dr. Hanna Karen Moreira Antunes
Instituição: UNIFESP
Julgamento: Aprovado p/ Camila de Moraes

AGRADECIMENTO

À FAPESP pelo auxílio financeiro para o desenvolvimento do projeto de pesquisa
(Processo 2017/27042).

RESUMO

DOS SANTOS, U. R. **Efeitos dos métodos de treinamento contínuo e intervalado sobre sinalização músculo esquelético-cérebro**. 2022. Dissertação (Mestrado em Ciências)–Escola de Educação Física e Esporte de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2022.

Nos últimos anos tem sido demonstrado que a realização de exercício físico modifica positivamente a função cognitiva, com destaque para o melhor desempenho de indivíduos, fisicamente treinados, em testes que avaliam diferentes tipos de memória, sejam pessoas saudáveis ou portadores de doença neurodegenerativa. Estudos na área da ciência do esporte passaram a investigar quais seriam os mecanismos envolvidos nessa resposta, por quais vias o exercício físico exerceria seus efeitos benéficos sobre a função cognitiva. Mais recentemente a hipótese da existência de comunicação entre músculo esquelético e cérebro tem ganhado destaque. Diante do exposto, o objetivo deste estudo foi investigar a influência de dois métodos de treinamento físico, contínuo e intervalado, sobre a expressão de catepsina B no músculo esquelético e no hipocampo, fator neurotrófico derivado do cérebro e o marcador de permeabilidade da barreira hematoencefálica no hipocampo, a memória e aprendizagem espacial também foram avaliadas. Para isso, ratos Sprague Dawley com 120 dias de vida, foram divididos em três grupos: sedentário (SD n=10), treinamento contínuo (TRC n=09) e treinamento intervalado (TRI n=13). Ambos os protocolos de exercício foram realizados por cinco semanas, três vezes por semana no mesmo período do dia. As sessões tinham duração de 40 minutos de 40% a 60% da V_{max} para o treinamento contínuo e 18 minutos para o treinamento intervalado, sendo de 3 x 2 minutos de 50% a 70% da V_{max} , por 4 minutos de 25% a 35% da V_{max} . A expressão de catepsina B no músculo esquelético e de catepsina B, fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) e ocludina no hipocampo foram determinadas por western blot, a memória espacial e a aprendizagem foram avaliadas utilizando o labirinto de Barnes. O protocolo de treinamento com método intervalado induziu aumento da expressão de catepsina B em 172% no músculo esquelético em 139% no hipocampo, mas, nenhuma modificação foi observada na expressão de BDNF e de ocludina. A possível comunicação entre músculo esquelético e cérebro foi investigada por meio de testes de correlação que mostraram forte associação entre as expressões de catepsina B muscular e cerebral ($r=0,77$, $p<0,05$) e associação de grau médio entre as expressões de catepsina B e BDNF no hipocampo ($r=0,57$, $p<0,05$). Podemos concluir que o estímulo de treinamento intervalado foi o que induziu alteração

significativa na expressão da miocina catepsina B no músculo e no hipocampo. Além disso, a catepsina B participa da regulação da expressão de BDNF no hipocampo uma vez que os resultados mostraram associação positiva de grau médio entre a expressão destas duas proteínas.

Palavras-chave: Exercício Físico, Catepsina B, Fator Neurotrófico Derivado do Encéfalo

ABSTRACT

DOS SANTOS, U. R. Effects of continuous and interval training methods on skeletal muscle-brain signaling. 2022. Dissertation (Master of Science)–School of Physical Education and Sport of Ribeirão Preto, University of São Paulo, Ribeirão Preto, 2022.

In recent years it has been shown that physical exercise positively modifies cognitive function, with emphasis on the better performance of physically trained individuals in tests that assess different types of memory, whether healthy people or those with neurodegenerative disease. Studies in the field of sport science began to investigate the mechanisms involved in this response, through which physical exercise would exert its beneficial effects on cognitive function. More recently, the hypothesis of the existence of communication between skeletal muscle and brain has gained prominence. In view of the above, the objective of this study was to investigate the influence of two methods of physical training, continuous and interval, on the expression of cathepsin B in skeletal muscle and in the hippocampus, a brain-derived neurotrophic factor and a marker of permeability of the blood-brain barrier in the hippocampus, memory and spatial learning were also assessed. For this, Sprague Dawley rats with 120 days-old were divided into three groups: sedentary (SD n=10), continuous training (CRT n=09) and interval training (TRI n=13). Both exercise protocols were performed for 5 weeks, three times a week at the same time of day. The sessions lasted 40 minutes at 40% to 60% of Vmax for continuous training and 18 minutes for interval training, being 3 x 2 minutes at 50% to 70% of Vmax, for 4 minutes at 25% to 35 % of Vmax. The expression of cathepsin B in skeletal muscle and of cathepsin B, brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and occludin in the hippocampus were determined by western blot, spatial memory and learning were evaluated using the Barnes maze. The training protocol with the interval method induced an increase in the expression of cathepsin B by 172% in skeletal muscle and by 139% in the hippocampus, but no changes were observed in the expression of BDNF and occludin. The possible communication between skeletal muscle and brain was investigated by means of correlation tests that showed a strong association between muscle and brain cathepsin B expressions ($r=0.77$, $p<0.05$) and a medium degree association between the expressions of cathepsin B and BDNF in the hippocampus ($r=0.57$, $p<0.05$). We can conclude that the interval training stimulus was what induced a significant change in the expression of myokine cathepsin B in the muscle and in the hippocampus. In addition, cathepsin B participates in the regulation of BDNF expression

in the hippocampus since the results showed a medium degree positive association between the expression of these two proteins.

Key-words: Exercise, Cathepsin B, Brain-Derived Neurotrophic Facto

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	11
2. REVISÃO DA LITERATURA	13
2.1 Evidências sobre os efeitos do exercício físico sobre a função cognitiva	13
2.2 Possíveis mediadores das adaptações morfofuncionais do cérebro: miocinas e fatores neurotróficos	16
2.3 A barreira hematoencefálica: como os fatores produzidos pelo músculo esquelético chegam ao cérebro?	18
3. OBJETIVO GERAL	21
3.1 Objetivos específicos	21
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	22
4.1. Animais, condições de manutenção e protocolos experimentais.....	22
4.2. Adaptação ao exercício físico e teste incremental máximo	22
4.3. Protocolo de exercício físico.....	23
4.4. Teste de memória e aprendizagem espacial.....	24
4.5. Eutanásia e obtenção de sangue e tecidos	25
4.6. Detecção de proteínas sinalizadoras em músculo esquelético e em hipocampo.....	25
4.7. Análise estatística.....	26
5. RESULTADOS	27
6. DISCUSSÃO	35
7. CONCLUSÃO.....	41
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	42

1. INTRODUÇÃO

Estudos realizados em modelo animal e em humanos tem demonstrado de que a prática de exercício físico pode melhorar a função cerebral durante a vida, podendo representar uma possível estratégia para preservação da função cognitiva bem como para a prevenção de distúrbios neurológicos. Programas de exercício físico tem se mostrado eficazes para indução de aumento dos níveis de fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF), fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1 (IGF-1) e fator de crescimento endotelial (VEGF), apontando alterações positivas na conectividade neuronal (VOSS et al., 2013).

Ainda, a já demonstrada ação anti-inflamatória do exercício físico, de leve e moderada intensidade, poderia estar contribuindo para este conjunto de ações benéficas sobre a função cognitiva. A inflamação crônica de baixo grau, observada em pessoas com idade avançada ou em condição de doença metabólica como obesidade e diabetes mellitus tipo 2, aumenta a permeabilidade da barreira hematoencefálica, permitindo que citocinas pró-inflamatórias como o TNF-alfa e IL-6 atravessem essa barreira e produzam impacto negativo na neurogênese, aprendizagem e memória (ARNOLDUSSEN et al., 2014). Os efeitos do exercício físico sobre a barreira hematoencefálica ainda não são claros, pois até o momento são escassos os estudos nessa área. Os efeitos do exercício físico poderiam ser mediados através da modulação para baixo dos sistemas noradrenérgico e renina-angiotensina, aumentando a capacidade antioxidante e atuando como fator anti-inflamatório. Essas adaptações sistêmicas ao exercício promoveriam o fortalecimento das junções estreitas e diminuiriam a permeabilidade da barreira hematoencefálica via aprimoramento da função endotelial dos vasos cerebrais (MAŁKIEWICZ et al. 2019).

Mais recentemente foi sugerida a existência de uma relação direta entre o músculo esquelético e o cérebro no qual fatores periféricos produzidos durante a contração muscular exerceriam ação direta sobre o cérebro. Assim, o músculo esquelético atuaria como um órgão endócrino capaz de secretar miocinas que agem diretamente na função do hipocampo, especificamente (PEDERSEN, 2019). Segundo essa teoria, alguns fatores como a miocina catepsina B, a via da PGC1- α - FNDC5-irisina e o β -hidroxibutirato seriam os responsáveis por este “cross-talk” e exerceriam função neurotrófica estimulando o aumento da expressão de BDNF no cérebro e, conseqüentemente, aprimoramento da função cognitiva.

Tendo em vista o estado atual do conhecimento e a escassez, até o momento, de estudos que buscam investigar os efeitos do exercício físico nesta comunicação entre músculo esquelético e cérebro, o objetivo do presente estudo é investigar a expressão de catepsina B, miocina produzida pelo músculo esquelético, do fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) e de ocludina, proteína marcadora da integridade da barreira hematoencefálica, em animais submetidos à dois diferentes métodos de treinamento físico.

A justificativa para o estudo é contribuir para elucidar o papel da miocina catepsina B como possível mediadora dos efeitos neurotróficos do exercício físico e como isso impactaria na função cognitiva. Ainda,

se os protocolos de treinamento físico induzem modificação em um marcador da permeabilidade de barreira hematoencefálica. A comparação entre os dois métodos de treinamento, contínuo e intervalado, está em voga na área de Ciências do Esporte uma vez que há a busca por métodos de treinamento físico mais eficientes para a melhora ou manutenção do estado geral de saúde dos indivíduos. Ademais o uso do modelo animal se justifica devido à utilização de técnicas de quantificação de proteínas no hipocampo, o que não seria possível ser realizados em humanos

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1. Evidências sobre os efeitos do exercício físico sobre a função cognitiva

Há alguns anos bons níveis de aptidão cardiovascular têm sido associados a melhor função e desempenho em processos cognitivos em idosos, sendo os possíveis mecanismos associados à angiogênese e aprimoramento de conexões neuronais (KRAMER et al, 1999). A realização de exercício físico parece promover maior atividade neural da proteína quinase C (PKC) ligada ao hipocampo, melhorando a aprendizagem e função executiva (FORDYCE e WEHNER, 1993). A neurogênese se mostra como uma importante adaptação para função da memória e estrutura cerebral, e a prática de corrida se mostrou determinante para essa adaptação em ratos (VAN PRAAG et al, 1999), mesmo estando bem documentada a neurogênese em ratos, a sua ocorrência em seres humanos ainda é controversa e com evidências conflitantes, sendo necessário mais investigações sobre o tema (LEE e THURET, 2018). Declínios nas funções executivas são observados a partir dos trinta anos de idade em indivíduos saudáveis, podendo estar relacionado à perda estrutural do cérebro, que por sua vez é agravada pelo sedentarismo (PARK et al, 2001). Compreender e identificar os principais fatores de risco atrelados ao declínio cognitivo se torna importante na elaboração de estratégias de prevenção e ações para intervenção, neste cenário a prática de exercícios físicos poderia proteger a função cognitiva já que ocorre um aumento no fluxo sanguíneo cerebral devido ao estímulo do exercício (ROGERS et al, 1990), contribuindo para prevenção de patologias cerebrovasculares, angiogênese e fatores de crescimento neuronais (VAN PRAAG et al, 1999).

Ainda que a prática de exercício físico não possa impedir o avanço biológico do envelhecimento, existem evidências sólidas de que o exercício físico praticado regularmente retarda o declínio funcional observado durante o processo de envelhecimento, bem como promove benefícios cognitivos e psicológicos (CHODZKO-ZAJKO et al, 2009). Com relação especificamente as funções executivas, estudos têm mostrado que há aprimoramento das funções de memória e atenção em indivíduos jovens (ZENG et al., 2017), adultos (HEISZ et al., 2017) e idosos (NORTHEY et al., 2018), mesmo sem diagnóstico de doença neurodegenerativa.

Essa discussão ganha importância uma vez que o estilo de vida moderno e mudanças de hábitos afetaram o processo cognitivo de crianças, tornando-as grandes consumidores de variadas tecnologias e, como consequência, apresentam um alto dispêndio de tempo em frente a televisores e computadores. Essa nova rotina que ignora o tempo disponível para a prática de exercício físico as torna menos ativas e altamente suscetíveis a desordens na saúde física (BIDZAN-BLUMA et al., 2018). Estudo comparou as habilidades motoras (sprint, coordenação, força explosiva membros inferiores) e as habilidades cognitivas (memória de trabalho, atenção, função executiva) de crianças praticantes de Caratê às de crianças sedentárias, com idade média de 9 anos, e observou-se melhores resultados dos praticantes de caratê em todos os testes realizados comparando com o grupo de sedentários, isso pode ser explicado devido o caratê

ser uma atividade que possui como característica movimentos variados estimulando o trabalho cognitivo, demonstrando uma boa relação entre perfil motor e capacidade cognitiva dos seus praticantes (ALESI et al. 2014).

Interessante destacar que a melhora da função executiva e aprendizagem parecem estar intimamente relacionadas a duração da sessão de exercícios físicos (KUBESCH et al, 2009). Crianças entre 7 a 11 anos com excesso de peso, sedentárias e sem condições médicas graves, realizaram sessões de exercício físico com duração de 20 minutos ou 40 minutos, na mesma intensidade (frequência cardíaca a 150 bpm) numa frequência semanal de cinco vezes durante 15 semanas. Os resultados mostram que o grupo de crianças que se exercitaram em sessões de 40 minutos apresentaram melhor desempenho em testes que avaliam processos cognitivos de planejamento, atenção, simultaneidade e sucessão em comparação ao grupo que realizou sessões de 20 minutos. Interessante salientar que não houve diferença significativa no desempenho cognitivo entre as crianças que realizavam sessões de 20 minutos e as crianças do grupo controle, que não realizaram exercício físico, o que sugere um efeito limiar do volume de exercício para que se tenha benefícios sobre a cognição (DAVIS et al, 2007). Estudo recente mostrou associação positiva entre a prática de atividade física na infância e adolescência e o melhor desempenho em tempo de reação e atenção na fase adulta da vida (HAKALA et al., 2019.).

Em adultos e idosos saudáveis os benefícios do exercício físico sobre a função cognitiva também foram demonstrados. Stern et al. (2019) avaliaram o efeito de um programa de treinamento aeróbio com intensidades de 55% a 75% da frequência cardíaca máxima em indivíduos com idades entre 20 e 67 anos, com duração de 6 meses e frequência semanal de 4 vezes, e observaram aprimoramento na memória executiva e aumento na espessura cortical, evidenciando um efeito neuroprotetor, que se mostrava mais evidente conforme a idade do participante fosse mais avançada, sugerindo que o exercício físico atenua a degeneração cognitiva própria do envelhecimento.

Alguns estudos têm sugerido que em apenas uma sessão de ciclismo de moderada intensidade é possível observar a melhora aguda em testes cognitivos, em particular na função executiva (LUDYGA et al, 2017; XIE et al., 2020). Du Rietz e colaboradores (2018) avaliaram 29 homens saudáveis, entre 18 e 26 anos de idade, submetidos a testes cognitivos antes e depois de 20 minutos de ciclismo em alta intensidade. Os participantes apresentaram melhora em processos cognitivos sugerindo que mesmo em curta duração, exercício físico de alta intensidade contribui para melhora de funções cognitivas. Na mesma linha, Wang e colaboradores (2018) submeteram 42 jovens saudáveis, entre 19 e 25 anos de idade, a 30 minutos de exercício em ciclo ergômetro com intensidades de 60% a 70% da FC de reserva, e treinamento de resistência de força com repetições de 8 - 12 a 70% de 1RM. Os resultados mostram que os participantes de ambos os grupos apresentaram melhora nas funções cognitivas, sugerindo que os dois tipos de treinamento estimulam igualmente os processos de aprendizagem e memória, evidenciando que mesmo o exercício físico agudo

pode gerar benefícios neurológicos ao participante. Jovens saudáveis com idade média de 22 anos realizaram 20 minutos de atividade em cicloergômetro com intensidade moderada e tiveram melhora aguda na tarefa de flanker que avaliou o controle motor e aprendizagem (BERGELT et al., 2020).

Danos moleculares e celulares se acumulam durante a vida, colaborando com o declínio das funções neurológicas como aprendizado e memória, (GLORIOSO e SIBILLE, 2011). Idosos entre 60 e 79 anos, sem diagnóstico de doença neurodegenerativa, apresentaram aumento crônico no volume de diferentes regiões cerebrais, sendo as mais perceptíveis no lobo frontal e região do córtex, que estão estreitamente ligadas a processos cognitivos, após seis meses de um programa de exercício físico que consistia em três sessões semanais de uma hora com intensidade de 70% da frequência cardíaca de reserva (COLCOMBE et al., 2006). O estudo de Ruscheweyh e colaboradores (2011) investigou se a prática de diferentes tipos de atividade física traria benefícios na memória de idosos saudáveis com média de idade de 60 anos. Foi observado que após seis meses de intervenção houve aumento crônico no escore de memória nos grupos que realizavam caminhada de moderada intensidade ou ginástica e alongamento em intensidade leve, por 50 minutos, três vezes por semana, comparados ao grupo que se manteve sedentário. Ainda, observou-se maior volume de córtex pré-frontal apontando que a atividade física modula fatores neurotróficos (BDNF) independente de maneira semelhante em ambos os tipos e intensidades de exercício físico.

Estudos utilizando animais foram desenvolvidos na tentativa de elucidar os mecanismos pelos quais indivíduos fisicamente treinados apresentam melhor desempenho cognitivo comparado aos sedentários. Ratos Wistar com 24 meses de idade foram submetidos a treinamento aeróbio sendo 10 minutos em esteira a 10m/min, e treinamento de força consistindo em cilindros com 25% do peso total do rato amarrado a sua cauda, e subiam uma escada com 1metro de comprimento com grades de 2cm a 85° de inclinação, e realizadas de 3 a 4 séries de 8 a 12 repetições, os dois programas duraram 50 minutos cada sessão, de 3 a 4 dias por semana, durante 8 semanas. Foi observado que ambos os tipos de treinamento melhoraram o desempenho dos animais em teste de memória. Os mecanismos sugeridos pelos autores para explicar o aprimoramento funcional seria o aumento de proteínas de plasticidade sináptica no hipocampo, entre elas a de sinalização neurotrófica (BDNF) que teve sua expressão aumentada em ambos os protocolos (VILELA et al., 2016). Na presença de doença de Alzheimer induzida através da injeção de peptídeos amiloides em ratos Wistar com 8 semanas de vida, o exercício físico de corrida em esteira em intensidade leve realizado 5 dias por semana durante 4 semanas, também exerceu efeito benéfico crônico sobre a aprendizagem e reduziu déficits de memória. Estes resultados foram observados conjuntamente à redução das placas β -amilóide, aumento da expressão de neprilisina e da enzima degradadora de insulina (ambas degradam proteína β -amilóide mal-formada) no hipocampo dos animais treinados (KHODADADI et al., 2018).

Estudo com animais com diabéticos (tipo 2), induzida por dieta e injeções de estreptozotocina, foram submetidos a exercícios aeróbios por 6 semanas, com frequência semanal de cinco vezes, e observou-se

diminuição da glicemia em jejum, melhora na função cognitiva e redução em marcadores inflamatórios IL-1 β , TNF- α , bem como melhora na densidade neuronal no hipocampo (MEHTA et al, 2019). Esses estudos confirmam os achados de que o exercício físico pode inibir vias de sinalização inflamatória e otimizando a sinalização insulínica, o que pode melhorar a expressão de proteínas envolvidas no processo de plasticidade sináptica (WANG et al., 2019).

2.2. Possíveis mediadores das adaptações neuroquímicas do cérebro: miocinas e fatores neurotróficos

Na história evolutiva do homem a fisiologia sempre apontou uma fina ligação entre o músculo esquelético e o cérebro nos dando evidências de que a prática moderada de exercícios físicos impõe efeitos benéficos na saúde cerebral e em sua função (COTMAN et al., 2007), podendo diminuir o declínio cognitivo em indivíduos com doenças neurodegenerativas ou indivíduos saudáveis de todas as idades (PEDERSEN e SALTIN, 2015). O músculo esquelético seria capaz de liberar citocinas e peptídeos através de suas fibras exercendo um papel endócrino em todo o organismo, reforçando sua capacidade de se comunicar com demais órgãos do corpo, principalmente o cérebro, o que explica sua capacidade de mediar os efeitos benéficos do exercício em todo o corpo (HAWLEY et al., 2014).

Assim, o exercício físico parece ter um importante papel na neurogênese que parece ser mediada por miocinas, RNAs e respostas hormonais que desencadeiam alterações em enzimas musculares, e remodelam a atividade de compostos como a quinurenina, no cérebro (AGUDELO et al., 2014). A quinurenina é o metabólito da via do triptofano e cofator importante para processos enzimáticos (BADAWY, 2017). Essa via parece atuar como um mediador na secreção de neuroprotetores (ácido quinurênico, ácido picolínico) e metabólitos neurotóxicos (ácido quinolínico, hidroxiquinurenina) e o desequilíbrio na secreção dos dois tipos de metabólitos tem sido relacionado a distúrbios neurológicos (LOVELACE et al., 2017). Grande parte das miocinas são secretadas nos exossomos micro RNA e DNA mitocondrial, durante uma sessão de treinamento pode haver aumento dos exossomos circulantes e mediar a comunicação entre musculo e cérebro (SAFDAR e TARNOPOLSKY, 2018).

Alguns achados que tratam da relação entre exercício físico e saúde cerebral apontam um mecanismo que funcionaria como “crosstalk” músculo–cérebro, embora não esteja muito bem elucidado como funcionaria este mecanismo há um consenso de que o músculo esquelético é um órgão endócrino e, portanto, secretor (FEBBRAIO e PEDERSEN, 2005). Giudice e Taylor (2017) apontam que o músculo esquelético se comunica com outros órgãos através da liberação de miocinas durante as contrações musculares podendo exercer função autócrina, parácrina ou endócrina.

Um dos possíveis mediadores das adaptações neuroquímicas do cérebro em resposta ao exercício físico é o fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF- Brain derived Neurotrophic Factor) (LOPRIZINI e

FRITH, 2019), pois, foram encontrados níveis elevados de BDNF no hipocampo de ratos exercitados em comparação com ratos sedentários (LIU e NUSSLOCK, 2018). Identificou-se também que o BDNF está envolvido no aumento do número de células no giro dentado do hipocampo, área que está relacionada à memória e aprendizagem, e que esta seria a explicação para o melhor desempenho de animais treinados nestas tarefas (VAYNMAN et al., 2004).

O BDNF atua como um fator de crescimento que possui funções importantes no sistema nervoso central (SNC) com atuação em processos de maturação neuronal, sinapse e plasticidade sináptica (PARK e POO, 2013), sendo amplamente expresso no SNC e exerce mudanças significativas no desenvolvimento e processos sinápticos no cérebro. Tem sido creditado a disfunção do BDNF os transtornos neurológicos como esquizofrenia, deficiência intelectual, e transtornos no humor como a depressão (AUTRY e MONTEGGIA, 2012). O BDNF é sintetizado em células de neurônios e conduzido aos terminais onde é liberado (LESSMANN e BRIGADSKI, 2009), porém o BDNF pode ser transportado para os dendritos, ocorrendo localmente a tradução dependente da atividade do BDNF (LAU et al., 2010), primeiro sintetizado em pré-BDNF e logo clivado em BDNF maduro, porém esse caminho carece de mais investigações para determinar se essa conversão ocorre internamente na célula ou após a secreção extracelular (LEAL et al., 2014), o entendimento da biologia do BDNF e seus processos ainda é complexa e permanece ainda indefinida (KARPOVA, 2014).

A prática de exercício físico tem sido apontada como um importante fator na modulação para baixo da neuroinflamação, induzindo adaptações positivas (SHIRAKAWA et al., 1993). O mal funcionamento nos mecanismos de controle neuroprotetores antioxidantes e anti-inflamatórios tem relação com o desenvolvimento de lesões neurológicas (LIDDELL, 2017). Neste sentido, os astrócitos que têm a função de suporte trófico, neuronal e metabólico (MATSUI et al., 2017) além de outras ações como o metabolismo do glutamato e a contribuição para síntese de ATP caracterizam estas células como neuroprotetoras (CUNNINGHAM et al., 2019).

O exercício físico pode estimular a proliferação astrogliar de acordo com a demanda energética do cérebro (MEREGE et al., 2014). Ratos Wistar adultos saudáveis foram submetidos a 12 semanas de corrida em esteira, 5 vezes por semana, em intensidade 70% da Vmax e duração da sessão de 30 ou 90 minutos. Os achados mostram que ambos os volumes de treinamento aumentaram a concentração de superóxido dismutase no cerebelo, entretanto, somente o grupo que realizou menor volume de exercício físico apresentou aumento da catalase no mesmo tecido e os animais que treinaram em maior volume (sessões diárias de 90 minutos) tiveram aumento de corticosterona no soro e de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) no cerebelo. Interessante salientar que ambos os grupos não apresentaram aumento da expressão de proteína glial fibrilar ácida (GFAP), marcador para astrócitos, no cerebelo. Assim, parece haver importante influência do volume de exercícios realizados sobre o balanço oxidativo cerebral (DE

SOUZA et al., 2020). Por outro lado, ratos Wistar que realizaram caminhada em esteira por 30 minutos, cinco vezes na semana, durante quatro semanas apresentaram aumento da densidade de astrócitos e de suas ramificações no hipocampo, confirmando que o exercício físico estaria envolvido na modulação da plasticidade neural (SAUR et al., 2014).

Com relação aos fatores produzidos e liberados durante a contração muscular, que exerceriam função neurotrófica estimulando o aumento da expressão de BDNF no cérebro, existem candidatos como a catepsina B, PGC1- α - FNDC5- irisina, β -hidroxibutirato (PEDERSEN, 2019). Neste sentido foi demonstrado aumento da expressão do gene *ctsb*, codificador da catepsina B muscular, em cultura de células de músculo esquelético tratadas com AICAR (um análogo da AMPk). O mesmo estudo utilizando camundongos knockout para gene *ctbs* confirmou que a catepsina B seria o mediador das alterações positivas na memória e neurogênese observadas em animais wild type treinados (MOON et al, 2016).

A fibronectina tipo III contendo domínio 5 (FNDC5) é uma proteína de membrana que quando clivada dá origem à Irisina, um peptídeo que pode chegar no cérebro e estimular a expressão genética de BDNF (SLEIMAN e CHAO, 2015). A contração muscular aumenta a expressão de PGC1 α , estimulando a expressão de FNDC5 (BROSTOM et al., 2012). Foi demonstrado que altos níveis de PGC1 α no músculo esquelético teria um efeito similar a antidepressivos, pois, a PCG1 α estimula a expressão da quinurenina aminotransferase no músculo esquelético, alterando o seu metabolismo, o que limitaria a entrada de quinurenina neurotóxica no cérebro (AGUDELO et al., 2014).

O β -hidroxibutirato é um corpo cetônico resultado da oxidação de ácidos graxos para a produção de ATP. A quantidade deste corpo cetônico está aumentada na circulação cerebral durante exercício físico, jejum e restrições calóricas, e assim pode servir como fonte energética para os neurônios em condições de baixo nível de glicose principalmente os observados após exercício prolongado (MITCHELL et al, 1995). Foi demonstrado que o β -hidroxibutirato atravessa a barreira hematoencefálica, acumula-se no hipocampo e aumenta a expressão de BDNF (SLEIMAN et al., 2016).

2.3. A barreira hematoencefálica: como os fatores produzidos pelo músculo esquelético chegam ao cérebro?

A barreira hematoencefálica é formada por células endoteliais dos capilares sanguíneos que, no sistema nervoso central, possuem propriedades particulares, que permitem regular o fluxo de moléculas, células e íons entre o sangue e o Sistema Nervoso Central (SNC). Assim, a barreira hematoencefálica tem a função de proteger o SNC e manter a homeostase para que a função neuronal seja adequada (ZLOKOVIC, 2008).

As propriedades diferenciadas das células endoteliais dos capilares do SNC são conferidas por sua menor espessura, se comparadas às de outros vasos de maior calibre, e por se conectarem através de junções estreitas (*tight junctions*), o que limita o fluxo paracelular de substâncias livres (REESE e KARNOVSKY, 1967) e o nível de transcitose que também é menor em relação aos endotélios periféricos, diminuindo o movimento transcelular (COOMBER, STEWART, 1985).

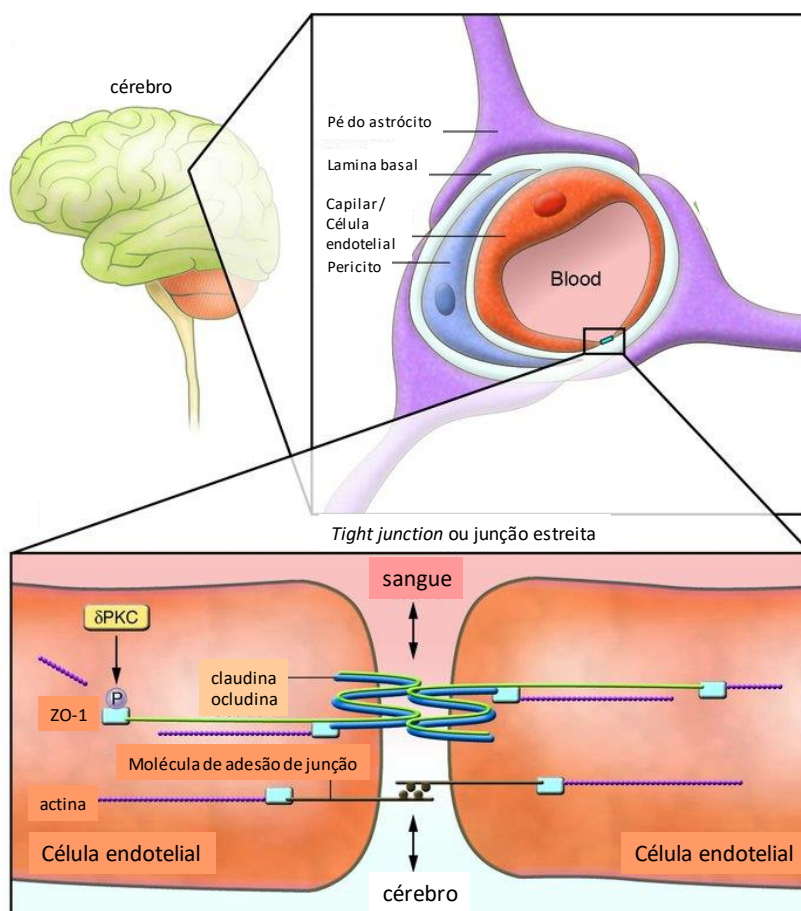
O transporte dentro da rede vascular do CNS se dá por três vias que atuam em conjunto protegendo o SNC. A primeira é o sistema de fluxo sangue-cérebro que entrega nutrientes como a glicose e os aminoácidos para o cérebro; o segundo é o mecanismo que impede a entrada de compostos químicos estranhos no cérebro por bombear agentes estranhos para o sangue circulante (chamado de bomba de efluxo de drogas); e o terceiro é o transporte de efluxo cérebro-sangue que funciona de modo a expelir metabólitos e agentes neurotóxicos do meio intersticial cerebral. Para que todos estes mecanismos possam funcionar adequadamente as células endoteliais do SNC possuem mais mitocôndrias para geração de ATP e orientação do gradiente de íons para a função de transporte nesse meio (OLDENDORF et al. 1977).

Os astrócitos são um importante tipo de célula glial envolvida em processos neurais em vasos sanguíneos, estabelecem a ligação celular entre vasos sanguíneos e circuitos neuronais, essa junção neurovascular permite que os astrócitos realizem transmissão de sinais para regular o fluxo sanguíneo de acordo com a atividade neural (ABOTT et al, 2006). A ligação entre o astrócito e o vaso sanguíneo se dá através do pé terminal que está sobreposto às células endoteliais, assim, também contribuem para alterar o diâmetro do capilar regulando o fluxo sanguíneo cerebral, e atuam como uma ponte de transmissão da atividade neural aos vasos daquela região controlando a entrega de glicose e oxigênio para o tecido cerebral (GORDON et al. 2011). A figura 1 mostra o arranjo celular em torno do capilar sanguíneo do SNC e, em destaque, a estrutura da junção entre células endoteliais (*tight junction*). Humanos e animais possuem em seu sistema barreiras epiteliais e endoteliais que atuam de modo a proteger o ambiente intracelular, e chamada junção estreita é o componente vital dessa barreira, e a ocludina compõe e tem um papel crucial no papel de filtração através dessa barreira (FELDMAN, MULLIN e RYAN, 2005.)

O aumento da permeabilidade da barreira hematoencefálica, conhecida como ruptura da barreira hematoencefálica, pode ocorrer devido à traumas, hipóxia, infecção, inflamação, componentes da dieta, toxinas ambientais e fatores genéticos (SHLOSBERG et al., 2010). A inflamação crônica e de baixo grau, observada em pacientes com resistência à insulina, diabetes tipo 2, hipertensão arterial, dislipidemia e obesidade, parece induzir ao aumento da permeabilidade da barreira hematoencefálica (MAŁKIEWICZ et al., 2019). As alterações vasculares induzidas pelo excesso de frutose tem mostrado alta correlação com a incidência de danos cognitivos (EGGERMONT et al., 2012). Estudo recente propõe que parâmetros vasculares periféricos poderiam ser utilizados como possíveis biomarcadores para detecção de riscos cognitivos oriundos de distúrbios vasculares (OLVER et al., 2016).

Os efeitos do exercício físico sobre a barreira hematoencefálica ainda não claros, pois até o momento são escassos os estudos nessa área. Os efeitos do exercício físico poderiam ser mediados através da modulação para baixo dos sistemas noradrenérgico e renina-angiotensina, aumentando a capacidade antioxidante e atuando como fator anti-inflamatório. Essas adaptações sistêmicas ao exercício promoveriam o fortalecimento das junções estreitas e diminuiriam a permeabilidade da barreira hematoencefálica via aprimoramento da função endotelial dos vasos cerebrais (MAŁKIEWICZ et al. 2019). Os efeitos diretos sobre a permeabilidade da barreira hematoencefálica e neuroquímica cerebral poderiam ser decorrentes da ação de miocinas (proteínas produzidas pelo músculo esquelético), sugerindo um “crosstalk” entre músculo esquelético e cérebro. Entre elas está a catepsina B que consegue atravessar a barreira hematoencefálica e induz neurogênese, aprimorando a memória e o aprendizado (PEDERSEN, 2019).

Figura 1. Capilar sanguíneo do SNC e as células que o circundam. Em detalhe, a junção entre células endoteliais que constituem a barreira hematoencefálica



Fonte: Adaptado de CHOU, W; MESSING, R.O. Hypertensive encephalopathy and the blood-brain barrier: is δ PKC a gatekeeper? *Journal of Clinical Investigation*; v. 118, n. 1, p. 17-20, 2008.

3. Objetivo Geral

O objetivo deste estudo foi comparar o efeito de dois métodos de treinamento físico, contínuo e intervalado, sobre a expressão de catepsina B no músculo esquelético e no hipocampo, do fator neurotrófico derivado do cérebro e do marcador de permeabilidade da barreira hematoencefálica no hipocampo. Além disso, a memória e aprendizagem também foram avaliadas.

3.1. Objetivos Específicos

1. Quantificar a expressão de catepsina B no músculo gastrocnêmio e hipocampo de animais sedentários e os treinados sob protocolo de treinamento aeróbio (corrida) pelo método contínuo ou intervalado;
2. Quantificar a expressão do fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) no hipocampo de animais sedentários e os treinados sob protocolo de treinamento aeróbio (corrida) pelo método contínuo ou intervalado;
3. Quantificar a expressão de ocludina no hipocampo de animais sedentários e os treinados sob protocolo de treinamento aeróbio (corrida) pelo método contínuo ou intervalado;
4. Investigar a existência de associação entre a expressão de catepsina B muscular e cerebral, assim como entre a expressão de catepsina muscular e cerebral com a expressão de BDNF;
5. Avaliar o desempenho em teste de memória e aprendizagem espacial dos animais sedentários e os treinados sob protocolo de treinamento aeróbio (corrida) pelo método contínuo ou intervalado;

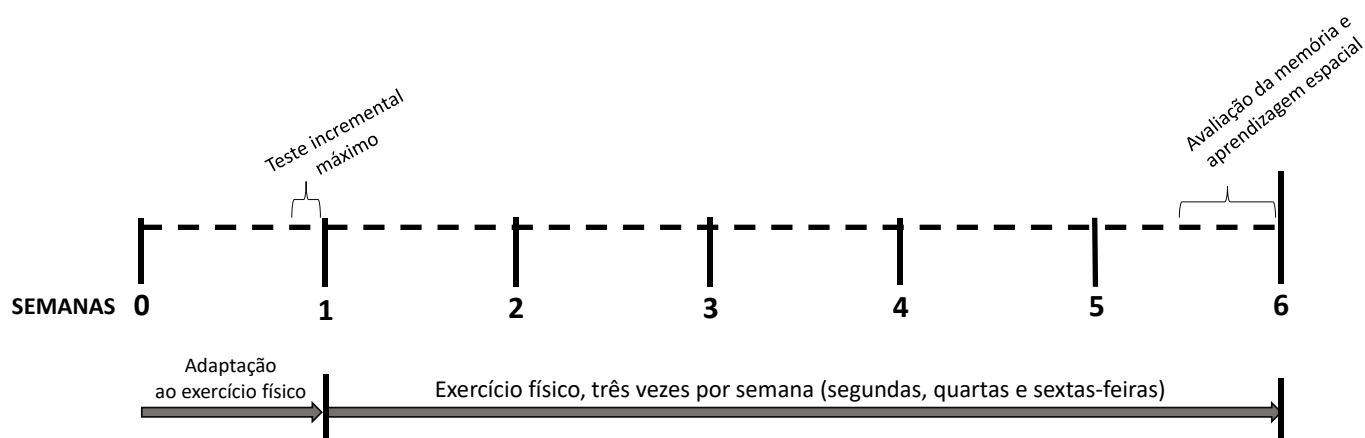
4. Material e Métodos

4.1. Animais, condições de manutenção e protocolos experimentais

Ratos Sprague-Dawley, machos, com 120 dias de vida foram mantidos em caixas coletivas de 1.394 cm² (41 x 34 x16 cm), com cinco animais, em biotério convencional, ciclo claro/ escuro de 12h controlado com timer e com a fase clara iniciando as 18h, temperatura entre 22°C e 24°C controlado com ar-condicionado, sem controle de umidade, e exaustor de parede realizando 30 trocas de ar/hora (volume do local 30 m³, capacidade do exaustor 4200 m³/hora, 20 minutos ligado por 30 minutos desligado), cama de maravalha trocada três vezes por semana.

O protocolo experimental teve duração de seis semanas, sendo a primeira semana de adaptação ao exercício físico e nas outras cinco semanas foi realizado o programa de exercício físico. Os animais tiveram livre acesso a ração padrão para roedores (marca NUVILAB) durante todo o período experimental e água para beber durante as seis semanas, e foram divididos nos seguintes grupos: Sedentário (SD), Treinamento Contínuo (TRC), e Treinamento Intervalado (TRI).

Figura 2- Protocolo experimental



4.2. Adaptação ao exercício físico e teste incremental máximo

Na primeira semana do protocolo experimental todos os animais foram submetidos a um período de adaptação em esteira com progressão na velocidade e no tempo de permanência do animal no aparato. Detalhes na tabela 1.

Tabela 1. Esquema de adaptação dos animais ao exercício em esteira durante a 5ª semana do experimento

	1º dia	2º dia	3º dia	4º dia	5º dia
Vel (m/ min)	5	5	10	10	teste
Tempo (min)	30	60	30	60	máximo

Vel: velocidade; m/min: metros por minutos; min: minutos

Após este período, somente os animais considerados aptos a correr realizaram o teste incremental máximo. A velocidade inicial do teste foi de 11,6 m/min com incremento de 1,6 m/min a cada 2 minutos, até a velocidade de 20 m/min. A partir desta velocidade, o incremento era de 3,2 m/min a cada dois minutos. A exaustão foi determinada quando o animal tocasse o fundo da baia, por cinco vezes, no período de um minuto (adaptado de HOHL et al., 2009) e a velocidade do estágio incompleto foi considerada como a velocidade pico. Quando o estágio do teste não era completado aplicou-se a equação de Kuipers (adaptado de KUIPERS et al., 1985) para a determinação da velocidade máxima de corrida daquele animal. Assim, a velocidade máxima foi determinada a partir da equação: $V_{\max} = W1 + (W2 \times \text{tempo} / 120)$, sendo $W1 =$ velocidade do último estágio; $W2$ incremento do estágio; $t =$ tempo no estágio em segundos.

4.3. Protocolo de exercício físico

Os animais dos grupos TRC e TRI realizaram sessões de exercício físico três vezes por semana durante cinco semanas em dias intercalados (seg, qua, sex), no mesmo período do dia (entre 11h e 14h). A parte principal da sessão de exercício teve duração de 40 minutos para o grupo TRC e de 18 minutos para TRI, sendo 2 minutos na maior intensidade seguido de 4 minutos na menor intensidade, por 3 vezes. A parte principal da sessão de ambos os grupos foi precedida de 5 minutos de aquecimento ($20\% V_{\max}$) e ao final houve mais 5 minutos de desaquecimento a $20\% V_{\max}$. Durante as cinco semanas de treinamento houve progressão das cargas conforme mostra a tabela 2.

Tabela 2. Carga de treinamento dos protocolos de exercício contínuo (TRC) e intervalado (TRI), considerando frequência semanal de três vezes e duração de cinco semanas

Semanas	Treinamento Contínuo		Treinamento Intervalado	
	Intensidade (% da V_{max})	Carga de treino semana (u.a)	Intensidade (% da V_{max})	Carga de treino semana (u.a)
1	40	4800	50 – 25	1650
2	50	6000	60 – 30	1980
3	50	6000	60 – 30	1980
4	60	7200	70 – 35	2310
5	60	7200	70 – 35	2310
Carga total		31.200		10.230

Carga de treino= intensidade x tempo x frequência semanal, dada em unidades arbitrárias (u.a).

4.4. Teste de memória e aprendizagem espacial

A memória e a aprendizagem espacial foram avaliadas utilizando-se o Labirinto de Barnes. A tarefa é baseada na tendência espontânea dos roedores buscarem um ambiente mais escuro e protegido. Os animais foram colocados em uma plataforma circular com 130 cm de diâmetro, com 20 buracos de 10 cm de diâmetro com tampas removíveis e uma caixa de escape (13 cm × 29 cm x 14 cm) construída de plástico preto para que pudessem explorar o aparato e identificar o escape. Todas as sessões foram gravadas em vídeo e o tempo que o animal levou para identificar a caixa de escape (tempo de latência) e o tempo que levou para efetivamente entrar na caixa de escape (tempo de escape) foram determinados por programa computacional.

O teste foi iniciado em uma quarta-feira, após as 14 horas e nos dias de realização das fases de Aquisição e Evocação os animais não foram submetidos ao treinamento físico.

O protocolo completo do teste consiste em exposições do animal ao aparato, em dias subsequentes, conforme segue:

Dia 0: Habituação

Realizada 24 horas antes da fase de aquisição, o animal foi colocado no aparato e na caixa de escape, com iluminação da sala feita com luz branca e sem pistas visuais afixadas nas paredes, seguindo a etapas abaixo:

- O animal colocado no centro do labirinto, deixado explorando por 1 minuto
- O animal foi gentilmente levado para a caixa de escape
- O animal permaneceu na caixa de escape por 2 min
- Colocado novamente em sua caixa (casa)

Dias 1 a 4: Fase de Aquisição

- a. Iluminação da sala feita com luz vermelha, com dicas visuais afixadas;
- b. O animal foi colocado no centro do labirinto, coberto por uma caixa (branca leitosa) por 30 segundos, com um aviso sonoro;
- c. Após os 30 segundos o som cessava, a caixa era removida e a gravação das imagens do teste se iniciavam;
- d. O rato permaneceu explorando o labirinto por 2 minutos, quando encontrado o escape o animal era devolvido a sua caixa (casa). Caso o animal não encontrasse a caixa de escape, era gentilmente levado para esta e permanecia dentro da caixa de escape por 1 minuto;
- e. Repetiu-se mais uma vez o procedimento, com o mesmo animal, após 15 minutos.

Dia 5: Evocação

- a. Após 24 horas da última exposição da fase de aquisição o rato foi colocado sob caixa branca leitosa por 15 segundos, após esse tempo a caixa foi retirada;
- b. O animal permaneceu explorando o labirinto, caso identificasse a saída, mas não saísse efetivamente era anotado o tempo de latência e ele permanecia no labirinto até que houvesse a saída do animal ou que o tempo de 1 minuto e 30 segundos fosse atingido;
- c. Finalizada a sessão de evocação o animal era devolvido à sua caixa de manutenção (casa).

4.5. Eutanásia e obtenção de sangue e tecidos

Ao final do protocolo experimental os animais foram eutanasiados por decapitação, tendo sido previamente anestesiados com Uretana a 2,5% (25 mg/kg) via intraperitoneal. A eutanásia ocorreu na segunda-feira subsequente ao final do teste de memória (que foi realizado entre a quarta-feira e a sexta-feira) e estando em jejum de 12 horas.

Foram extraídos sangue (centrifugado por 15 minutos a 3000 rpm à temperatura ambiente para obtenção de alíquotas de soro e plasma que foram congeladas para análise futura), tecido adiposo epididimal para pesagem, músculo gastrocnêmico (porção do ponto de origem da cabeça lateral e medial) e o encéfalo para dissecação do hipocampo.

4.6. Detecção de proteínas sinalizadoras em músculo esquelético e em hipocampo

O protocolo de imunoblotting foi adaptado de OLIVEIRA et al. (2019). O hipocampo e a porção do gastrocnêmio foram homogeneizados a 4° C em um tampão de extração (1% Triton X - 100, 100 mM de Tris, pH 7,4, contendo 100 mM de pirofosfato de sódio, 100 mM de fluoreto de sódio, 10 mM de ácido etilenodiamina tetraacético (EDTA), 10 mM de vanadato de sódio, 2 mM de fluoreto de fenilmetilsulfonil

(PMSF) e 0,1 mg / mL de aprotinina) com um gerador Polytron PTA 20S (Brinkmann Instruments modelo PT 10/35), que foi operado a uma velocidade máxima por 30 segundos. Os extratos foram centrifugados (11000g) por 40 minutos a 4° C para remoção do material insolúvel, e os sobrenadantes foram utilizados para quantificação de proteínas pelo método de Bradford (BRADFORD, 1976).

As proteínas foram desnaturadas por fervura em um tampão de amostra Laemmli contendo 100mM de DTT, colocadas em um gel de eletroforese em gel de dodecil sulfato de poliacrilamida e transferidas para membranas de nitrocelulose (RPN303D, Hybond ECL; GE Healthcare, EUA). A eficiência de transferência para as membranas de nitrocelulose foi testada por uma breve coloração dos blots com uma coloração vermelho Ponceau. Essas membranas foram então bloqueadas com solução salina tamponada com Tris contendo 5% de albumina de soro bovino e 0,1% de Tween-20 por 1 hora a 4 ° C. A transferência de proteínas para as membranas foi monitorada qualitativa ou quantitativamente por meio da coloração com vermelho de Ponceau. Além de visualizar qualitativamente as proteínas nas membranas após o blotting, a coloração com vermelho de Ponceau oferece um método conveniente para quantificar a quantidade de proteína em uma faixa especificada. Este valor é usado para corrigir quaisquer diferenças na carga de proteína de pista para pista.

Os anticorpos usados para immunoblotting durante a noite a 4°C foram para músculo esquelético: Catepsina B (diluição 1:1,000, ab; Abcam) e para hipocampo: Catepsina B (diluição 1:1,000, ab; Abcam), BDNF (diluição 1: 1.000, ab226843; Abcam) e Ocludina (Ocludin, 1:1.000 ab222691, Abcam).

Após a lavagem com solução salina tamponada com Tris contendo 0,1% de Tween-20, todas as membranas foram incubadas por 1 hora a 4°C com um anticorpo secundário conjugado com uma peroxidase de rábano. As bandas imunorreativas específicas foram detectadas por quimioluminescência (RPN2132, ECL Plus Western Blotting blot analysis Sistema de detecção; GE Healthcare). As imagens foram adquiridas pelo C - DiGit Blot Scanner (LI - COR, EUA) e quantificadas usando o software livre ImageJ (U.S. National Institutes of Health, EUA).

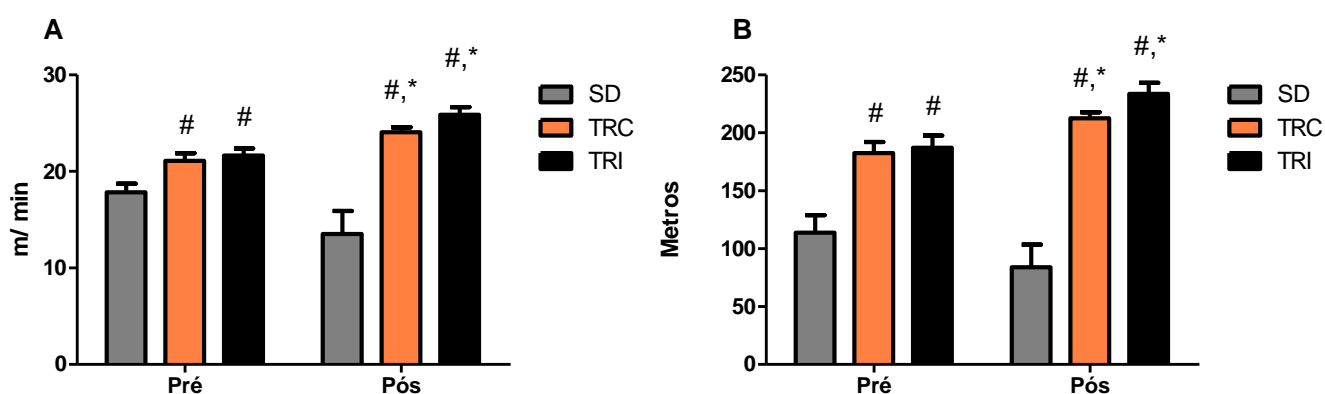
4.7. Análise estatística

Os dados foram analisados por ANOVA one way com pós teste de Tukey, exceto para os resultados de desempenho físico dos animais que foram analisados utilizando ANOVA two way (para os fatores treinamento e tempo) com pós teste de Bonferroni. Ainda, foram calculadas a Correlação de Pearson e o coeficiente de determinação (r^2) da regressão linear simples. Todas as análises foram realizadas utilizando o programa GraphPad Prism e foi considerado o valor de $p < 0,05$ como significativo.

5. RESULTADOS

Ambos os programas de treinamento físico melhoraram o desempenho dos animais no teste incremental máximo. A velocidade pico foi aumentada em aproximadamente 19% em TRC e TRI (figura 3, painel A), a distância percorrida no teste aumentou em 17% no grupo TRC e em 25% no grupo TRI, sem diferença entre os grupos treinados (figura 3, painel B).

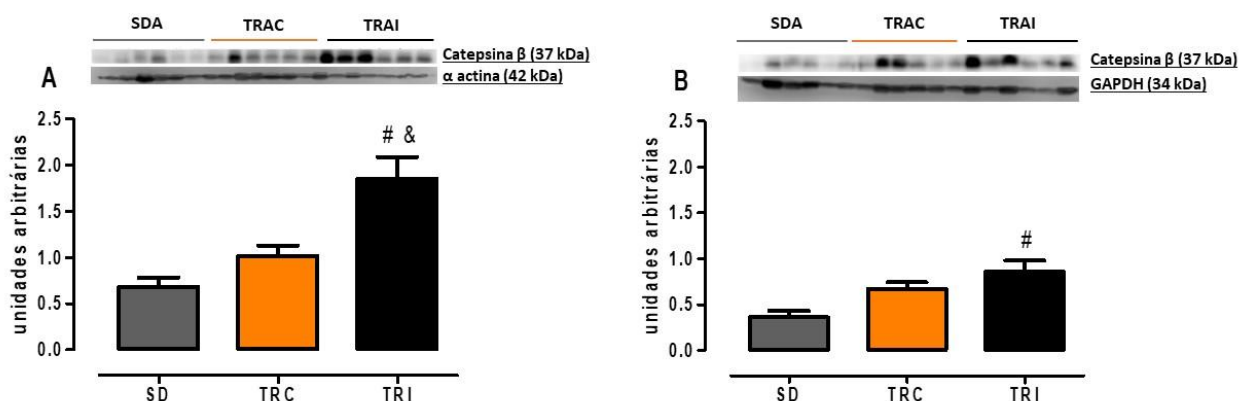
Figura 3 – Velocidade pico e distância percorrida no teste incremental máximo, antes e após o protocolo de treinamento



Dados expressos em média \pm E.P.M. ANOVA two way (para os fatores treinamento e tempo) com pós teste de Bonferroni (nível de significância de $p < 0,05$). # diferente de SD; * diferente de pré.

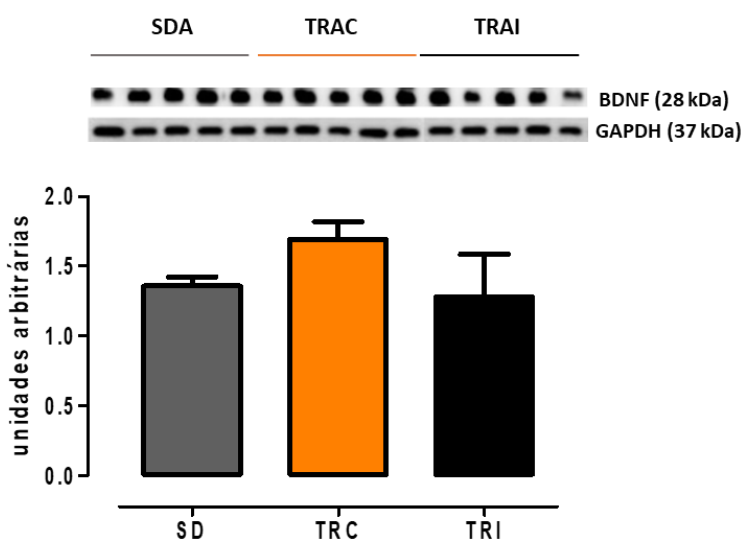
O protocolo de treinamento com método intervalado induziu aumento da expressão de catepsina B em 172% no músculo esquelético (figura 4A) e em 139% no hipocampo (figura 4B). Com relação ao fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) nenhuma modificação foi observada entre os grupos estudados (figura 5), assim como para a proteína de integridade da barreira hematoencefálica, ocludina (figura 6).

Figura 4 – Expressão de catepsina B no músculo gastrocnêmio (painel A) e no hipocampo (painel B)

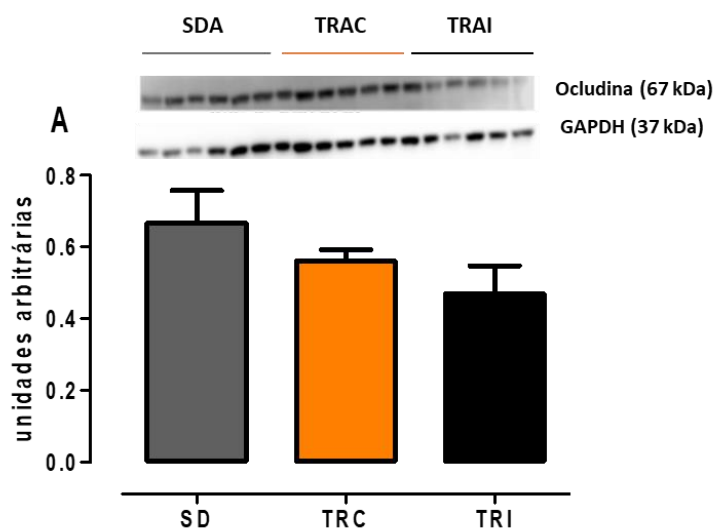


Fonte: próprio autor. Painel superior mostra as bandas representativas e painel inferior a quantificação da densidade. Sedentário (SDA n=6), treinado contínuo (TRC n=6), e treinado intervalado (TRI n=6). Dados expressos em média \pm E.P.M. ANOVA one way, pós hoc de Tukey (nível de significância de $p < 0,05$). # diferente de SD; & diferente de TRC.

Figura 5 – Expressão do BDNF no hipocampo



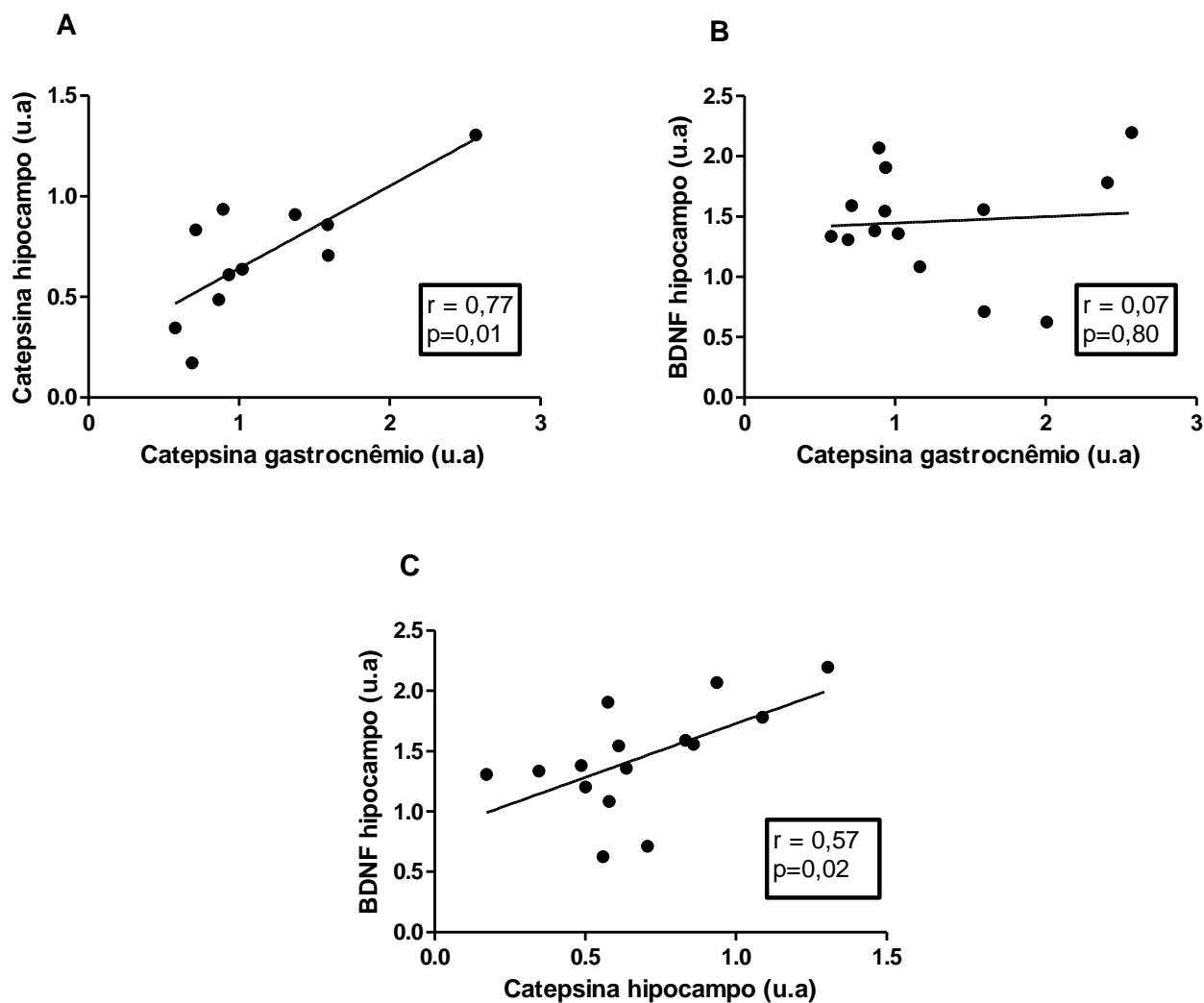
Fonte: próprio autor. Painel superior mostra as bandas representativas e painel inferior a quantificação da densidade. Sedentário (SD n=5), treinado contínuo (TRC n=5), e treinado intervalado (TRI n=5). Dados expressos em média \pm E.P.M. ANOVA one way, pós hoc de Tukey (nível de significância de $p < 0,05$).

Figura 6 – Expressão de ocludina no hipocampo

Fonte: próprio autor. Painel superior mostra as bandas representativas e painel inferior a quantificação da densidade. Sedentário (SD n=6), treinado contínuo (TRC n=6), e treinado intervalado (TRI n=6). Dados expressos em média \pm E.P.M. ANOVA one way, pós hoc de Tukey (nível de significância de $p < 0,05$).

Foi observado elevado grau de associação entre a expressão de catepsina B muscular e hipocampal (figura 7A) com $r^2=0,59$ significando que aproximadamente 60% da variação da expressão de catepsina B no hipocampo está associada a variação da expressão dessa miocina no gastrocnêmio. A correlação entre BDNF no hipocampo e a catepsina B no gastrocnêmio foi próxima de zero (figura 7B). Correlação de grau médio e significativa também foi observada entre a expressão de catepsina no hipocampo e a expressão de BDNF também no hipocampo (figura 7C). Para essa, o $r^2=0,33$ mostra que 33% da variação da expressão de BDNF no hipocampo pode ser explicada pela variação da expressão de catepsina B.

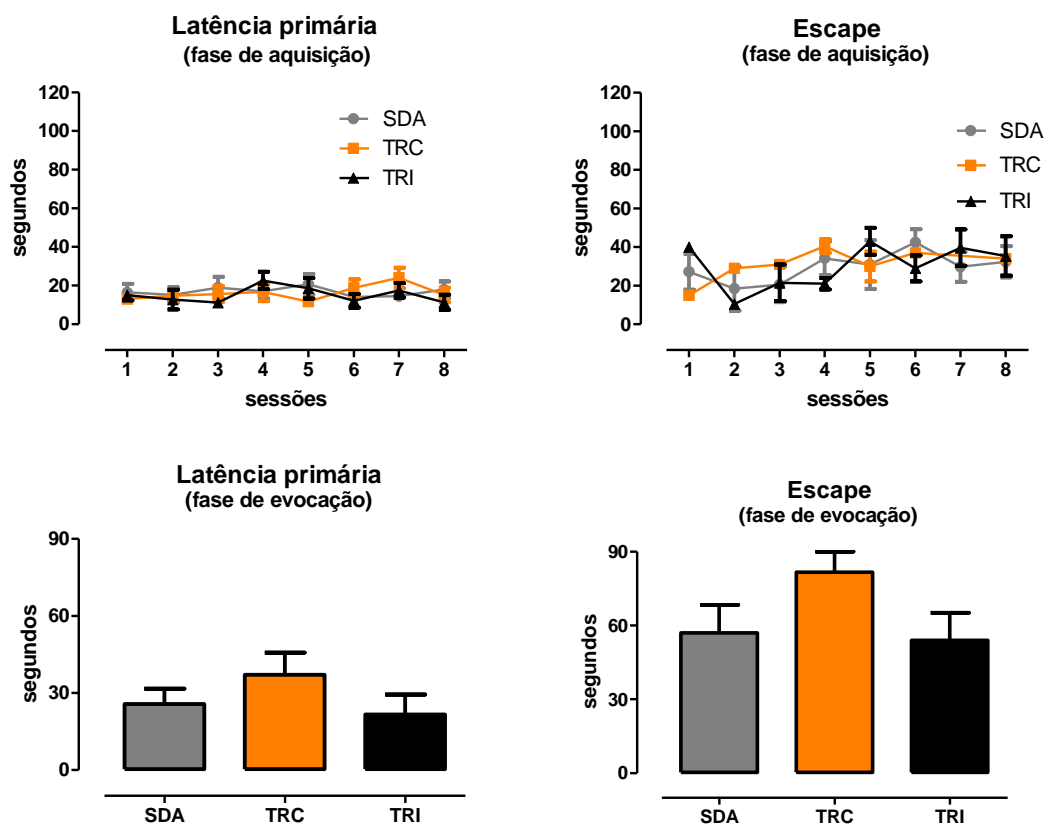
Figura 7 – Correlação de Pearson entre a miocina catepsina B muscular, hipocampal e BDNF



Fonte: próprio autor. A análise de correlação foi determinada utilizando um pool de dados com animais de todos os grupos. Os pontos em cada gráfico representam o resultado de um animal, a diferença no número de pontos entre os gráficos é devida à falta de resultado daquele animal para uma das proteínas analisadas cujo resultado da expressão foi utilizado para o cálculo da correlação.

Diante dos resultados que mostraram a influência do exercício físico de método intervalado sobre a expressão da miocina catepsina B no músculo e no hipocampo passamos a investigar se esta sinalização afetaria o desempenho dos animais em teste de memória e aprendizagem espacial. A figura 8 mostra o tempo de latência (tempo que o animal leva para identificar a saída do labirinto) e o tempo de escape (tempo que o animal leva para efetivamente sair do labirinto). Não foram identificadas diferenças no comportamento dos animais dos diferentes grupos experimentais.

Figura 8 – Desempenho em teste de memória e aprendizagem espacial. Tempo percorrido para identificação da saída (latência) e tempo percorrido para saída do labirinto (escape).



Fonte: próprio autor. Dados representativos do teste de memória e aprendizagem espacial para latência primária (tempo de identificação da saída) e tempo de escape (saída do labirinto). O painel superior ilustra o tempo médio de latência e de escape nas sessões da fase de aquisição que ocorreram entre os dias 1 e 4 (sendo 2 sessões por dia separadas por 15 minutos). O painel inferior mostra o tempo médio de latência e de escape na sessão da fase de aquisição, ou seja, a sessão teste que ocorreu após 24h da última sessão de aquisição. Sedentário (SDA, n= 10), Treinado contínuo (TRC, n= 8), Treinado intervalado (TRI, n= 6). Dados expressos em média \pm erro padrão (nível de significância de $p < 0,05$).

6. DISCUSSÃO

O músculo esquelético é um órgão com capacidade endócrina que através da secreção de miocinas, pode mediar os efeitos do exercício físico na saúde metabólica, bem como na saúde do cérebro (HOJMAN et al, 2018). Parece haver um cross-talk entre músculo esquelético e cérebro, porém as vias pelas quais ocorrem este processo ainda carecem de mais investigações, ainda que esteja bem estabelecido que o músculo esquelético é um órgão secretor (FEBRAIO e PEDERSEN, 2005). Assim o exercício físico parecer ter uma influência positiva na neurogênese e em consequência na função cognitiva (RAI e DEMONTIS, 2016), algumas das maneiras por onde essa ação poderia acontecer seria durante contração do músculo esquelético no exercício físico quando ocorre a secreção de catepsina B que atravessa a barreira hematoencefálica e pode influenciar a neurogênese, memória e aprendizado; a secreção de catepsina B parece ser induzida pela proteína quinase ativada por AMP (AMPK) no músculo esquelético durante exercícios físicos (PEDERSEN, 2019). Camundongos sob um protocolo de exercício aeróbio tiveram aumento da expressão de catepsina B no gastrocnêmio, essa miocina foi associada a níveis aumentados de mRNA e de fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF), sendo essa cadeia de reações características essenciais para neurogênese, influenciando diretamente o aprendizado e a memória (MOON et al, 2016). Diante deste cenário o presente estudo investigou a influência de dois métodos de treinamento, contínuo e intervalado, sobre a expressão de catepsina B muscular e hipocampal, além da expressão de BDNF no hipocampo. Os achados apontam que o protocolo de treinamento intervalado utilizado induziu aumento da expressão de catepsina B no gastrocnêmio e no hipocampo dos animais, entretanto, nenhuma modificação na expressão de BDNF ou no comportamento dos animais em testes de memória e aprendizagem espacial foi observado.

Pesquisas em humanos e animais, tem mostrado que o exercício físico contribui de forma efetiva na saúde cerebral e cognição, podendo atenuar o declínio de memória e aprendizagem relacionados à idade (DUZEL et al, 2016). Em ratos submetidos ao exercício aeróbio, apresentaram melhora da plasticidade sináptica e neurogênese; em humanos sob o mesmo protocolo foi possível observar aumento no fluxo sanguíneo cerebral, e consequente melhora no fluxo sanguíneo no hipocampo, região onde os efeitos do exercício no cérebro são mais notados (COTMAN et al, 2007). Para avaliar o efeito da intensidade do exercício sobre a função cognitiva em humanos, 59 mulheres foram divididas em dois grupos, grupo controle que realizaram exercícios de flexibilidade e recreativos, e grupo treinado que realizaram 12 semanas de exercícios de membros inferiores em baixa intensidade, seguido de 12 semanas em alta intensidade. Ao final do estudo não houve diferença significativa entre os grupos nos testes cognitivos (SANDERS et al, 2020), porém resultados diferentes foram encontrados quando avaliada a expressão de BDNF, PGC-1 α e FNDC5 que foi maior no grupo treinado. Um estudo com ratos jovens e idosos submetidos a protocolo de exercício aeróbio mostrou que o exercício induziu maior expressão de genes e proteínas neurotróficas quando comparados a um grupo controle, sugerindo que o exercício físico pode

melhorar o processo cognitivo e retardar o seu declínio com o avanço da idade (BELVIRANLI e OKUDAN, 2018).

Indivíduos fisicamente ativos apresentam menor chance em longo prazo de desenvolver doenças neurodegenerativas (HAMER e CHIDA, 2009), já que o exercício físico tem um efeito neuroprotetor no cérebro diante do envelhecimento, efeito semelhante foi observado em estudos com roedores, mesmo que haja um quadro de leve disfunção cognitiva a prática de exercício físico de leve a moderada intensidade pode retardar o processo neurodegenerativo através da melhora na plasticidade cerebral (BAKER et al, 2010; NICHOL et al, 2009; HASKELL et al, 2007). Derivados circulantes extracelulares como peptídeos, lipoproteínas e vesículas extracelulares possuem em sua estrutura RNA e DNA mitocondrial, e algumas miocinas são induzidas pelo exercício são vistas compondo o meio extracelular (SAFDAR, SALEEM, TARNOPOLSKY, 2016), assim essas vesículas extracelulares parecem ter influência na comunicação intercelular em vários processos biológicos (MAAS, BREAKFIELD, WEAVER, 2017), alguns estudos sugerem que miocinas presentes nos derivados extracelulares, podem ter um papel positivo na mediação dos benefícios do exercício em doenças metabólicas (CHATURVEDI et al, 2015), em um estudo para avaliar a influência de derivados extracelulares induzidos pelo exercício na maturação de células neuronais, ratos foram divididos em dois grupos, sedentário e exercício, onde este último realizou corrida em esteira a 16m/min por 30 minutos, 5 dias na semana durante 2 semanas, ao final do protocolo de treinamento, observou-se que os animais do grupo treinado apresentaram maiores níveis de marcadores de maturação neuronal, entre eles Proteína A2 Associada a Microtúbulos (MAP2ab) e Núcleos Neurais (NeuN), sugerindo que essa seria mais uma via de atuação do exercício físico frente a desordens neurais (MOON et al, 2020).

Em humanos e em modelo animal (ratos) foi demonstrado que o exercício físico pode atuar de forma neuroprotetora através da via da irisina que tem como seu precursor a FNDC5 uma proteína produzida pelo músculo esquelético durante a atividade muscular, regulada pela PGC-1 α , que uma vez na circulação sanguínea a pode atravessar a barreira hematoencefálica e induzir aumento da expressão de BDNF no hipocampo, o que está intimamente ligado ao processo de aprendizagem e memória (WRANN et al, 2013). O exercício físico pode ser um agente natural para o aumento dos níveis de FNDC5 no hipocampo em animais já com algum estágio de declínio cognitivo. Em um estudo camundongos foram induzidos a um déficit de memória por β -amiloide e consequente redução nos níveis de FNDC5 no cérebro, e avaliados após um protocolo de natação de 1h por dia, 5 vezes na semana por 5 semanas, foi observado que este protocolo impediu o prejuízo cognitivo induzido por β -amiloide mantendo os níveis de hipocampais de FNDC5 (LOURENÇO et al, 2019).

Investigações sobre doenças neurodegenerativas apontaram a miocina Catepsina B como possível mediadora da saúde cognitiva, agindo beneficemente para neurogênese no hipocampo, em doenças como

Alzheimer pode ocorrer o extravasamento lisossômico da Catepsina B para o citosol, dando início a processos inflamatórios ligados a neurodegeneração (MONTINE et al, 2014). A catepsina B é uma protease endolisossomal e pertence a uma categoria de cisteína, que com base em sua estrutura pode ser de diferentes tipos sendo capaz de mediar muitos processos celulares como secreção de hormônios, apoptose e autofagia (GAIRE et al, 2021). As proteases são enzimas responsáveis por catalisar a proteólise, processo em que ocorre quebra de proteína em polipeptídios ou aminoácidos, assim, a ação fisiológica das proteases é manter o catabolismo de proteínas celulares e extracelulares, proteínas estruturais celulares e proteínas da matriz extracelular (POPE e NIXON, 1984). Em lesões cerebrais agudas, como no acidente vascular cerebral isquêmico, na lesão cerebral traumática e em distúrbios neurodegenerativos crônicos foi observado comportamento anormal das proteases (DAVIS, MANTLE, MENDELOW, 2000) e aparentemente tem um papel na gênese de condições como a epilepsia, doença de Alzheimer, Mal de Parkinson e esclerose múltipla (NAKANISHI, 2020) sendo a cisteína mais abundante no cérebro (PETANCESKA et al, 1994).

A Catepsina B é sintetizada em ribossomos associados ao retículo endoplasmático como uma pré enzima de 339 aminoácidos, após a síntese a Catepsina B é clivada por uma peptidase de sinal dentro do lúmen do reticulo endoplasmático para se tornar pro Catepsina B (46 kDa) (CAVALLO-MEDVED, MOIN, SLOANE, 2011), essa pro Catepsina B é glicosilada dentro do reticulo endoplasmático e transportada através de vesículas para o aparelho de Golgi onde é modificada para se tornar porções de manose 6 fosfato (M6P) e são revestidas de clatrina, e transportadas aos endossomos tardios (BRIGHT, DAVIS, LUZIO, 2016), uma vez neste ambiente ácido o M6P libera a Catepsina B e é transportado de volta ao aparelho de Golgi para ser reutilizado (ABAZEED, BLANCHETTE, FULLER, 2005).

Apesar de ser encontrada em todo o corpo e ter a capacidade de regular o ambiente a nível neuronal (TURK et al, 2012), em diferentes tipos de câncer em humanos foi verificada a presença excessiva de Catepsina B circulante (AGGARWAL E SLOANE, 2014), bem como na morte celular pós lesões cerebrais (BANERJEE et al, 2015) e em estágios iniciais da doença de Alzheimer (HOOK et al, 2008), esse aparente extravasamento lisossômico observado na doença de Alzheimer e Parkinson sugere que a Catepsina B é redistribuída do lisossomo ao citosol, onde se inicia processos inflamatórios e morte celular comumente associados a neurodegeneração (HOOK et al, 2020). No presente estudo verificamos que o grupo de treinamento intervalado (TRI) demonstrou maiores níveis de Catepsina B tanto no músculo quanto no hipocampo, mas sem apresentar diferença na expressão de BDNF e no desempenho no teste de memória quando comparado aos grupos sedentário (SD) e treinamento contínuo (TRC). Resultado diferente foi encontrado no estudo de MOON et al. (2020) onde camundongos submetidos a corrida em esteira, apresentaram níveis aumentados de Catepsina B no músculo gastrocnêmio, bem como neurogênese do hipocampo aumentada e melhora da memória espacial, sugerindo que a Catepsina B se correlaciona com a boa função da memória, uma vez que pode atravessar a barreira hematoencefálica, e promover a expressão de BDNF e agir como mediadora dos efeitos do exercício físico na cognição. O protocolo do exercício físico

pode explicar a diferença nos resultados já que os animais do último estudo realizaram trinta minutos de exercício por uma hora de descanso durante cinco dias, ao invés de três dias como no presente estudo.

O exercício físico pode contribuir na mediação desse processo ao induzir fatores metabólicos como a Catepsina B e Irisina que estimulam a expressão do fator neurotrófico do cérebro (BDNF), influenciando no estado anti-inflamatório cerebral, inibindo o extravasamento celular e danos a barreira hematoencefálica, característico de patologias neurodegenerativas (VALENZUELA et al, 2020). No presente estudo que utilizou ratos saudáveis o exercício físico não induziu alteração na expressão da ocludina, uma das proteínas da integridade da barreira hematoencefálica.

O fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) devido ao seu papel de regulação em processos celulares diversos, ligados ao desenvolvimento e preservação da boa função cerebral, ativando o receptor TrkB que faz parte de um conjunto de receptores maiores da família Trk, assim sendo, este tem sido o fator neurotrófico mais pesquisado e bem difundido no sistema nervoso central (SNC) (ANDRESKA et al, 2014), células gliais de neurônios glutamatergicos, sendo estes, astrócitos isolados do córtex e hipocampo são responsáveis pela expressão de BDNF no cérebro (CLARKE et al, 2018), no processo de embriogênese a interação BDNF-TrkB estimula a difundir células progenitoras corticais em neurônios, processo chamado de neurogênese (BARTKOWSKA et al, 2007). A influência de estímulos externos na relação BDNF e neurogênese no hipocampo, tem sido alvo de pesquisas desde a última década (NUMAKAWA, ODAKA, ADACHI, 2018), a prática regular de exercício físico parece contribuir para um ambiente positivo estimulando a expressão de BDNF e a neurogênese hipocampal (FABEL et al, 2009), de modo que, níveis aumentados de BDNF circulantes e consequente melhora na função cerebral, são observados em indivíduos fisicamente ativos, sugerindo que o exercício físico possa ter um papel neuroprotetor (KNAEPEN et al, 2010; SZUHANY, BUGATTI, OTTO, 2015).

Foi observada influência positiva do exercício físico sobre a memória de ratos submetidos a exercícios físicos de natureza aeróbia e de força. Interessante salientar que os diferentes estímulos, treino aeróbio e treino de força, provocam melhora do desempenho em teste de memória por vias distintas, sendo que o treino aeróbio aumenta a expressão de BDNF e o treino de força a de IGF-1 no cérebro (CASSILHAS et al., 2012). Os animais que realizaram o treinamento físico no presente estudo, não obtiveram os melhores resultados em teste de memória e não tiveram aumentada a expressão de BDNF no hipocampo. A razão para estes achados pode ter sido a diferença no protocolo de exercício físico que difere em termos de frequência semanal (3 vezes vs 5 vezes na semana).

No presente estudo não observamos diferenças significativas no teste de memória entre os grupos avaliados, a razão para este achado pode estar relacionada à não presença de déficits. Estudo de Mokhtari-Zaer e colaboradores (2020) utilizando um modelo de neuroinflamação induzida por injeção de ovalbumina (intraperitoneal) mostraram aprimoramento do desempenho em teste de memória e redução de TNF- α e

aumento de IL-10 no hipocampo de animais que realizaram corrida em esteira por 30 minutos, 5 dias na semana, por 4 semanas.

A melhora da função cerebral e memória, foi observada de modo crônico e agudo em resposta ao exercício físico, quando predominantemente aeróbio o exercício intervalado induziu de modo mais eficaz a neuroplasticidade, já que foi observado melhora na sinalização do fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF), fator de crescimento semelhante a insulina (IGF-1) e fator de crescimento endotelial vascular (VEGF), responsáveis por manter um ambiente vascular que beneficie a neurogênese (EL – SAYES et al, 2019), modificações na estrutura cerebral como aumento do volume do hipocampo e córtex pré frontal foram observados em humanos sob exercício físico (YOOK et al, 2019), em crianças analisadas com ressonância magnética foi verificada a interação entre volume cerebral e exercício físico já que o VO_2 máx foi positivamente associado ao volume do hipocampo (THOMAS et al, 2012), ainda de forma crônica o exercício aeróbio contribui no aumento da densidade sináptica, melhor eficiência na sinalização de BDNF e regulação positiva das cascatas de transcrição e sinalização (LOPRINZI, 2019).

7.CONCLUSÃO

Podemos concluir que apenas o estímulo de treinamento intervalado utilizado neste estudo foi capaz de induzir alteração significativa na expressão da miocina catepsina B no músculo e no hipocampo. Além disso, a catepsina B parece participar da regulação da expressão de BDNF no hipocampo uma vez que os resultados mostraram associação positiva de grau médio entre a expressão destas duas proteínas. Não foi observado diferença significativa entre os grupos para ocludina e no teste de memória.

Dessa forma o exercício físico intervalado pode ser um agente de enfrentamento na prevenção de patologias neurodegenerativas bem como ser eficiente para retardar o declínio relacionado a idade avançada. Mais estudos são necessários para investigar quais seriam as proteínas envolvidas, além do BDNF a quinurenina, PGC1- α , FNDC5, irisina e β -hidroxibutirato são candidatos a possíveis mediadores neste papel neuroprotetor do exercício físico.

8.REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBOTT, N. JOAN., RONNBACK, LARS., HANSSON, ELISABETH. Astrocyte-endothelial interactions at the blood-brain-barrier. *Nature Reviews Neuroscience*, v. 7, n. 1, p. 41-53, 2006.

ABAZEED, M. E., BLANCHETTE, J. M., FULLER, R. S. Cell-free transport from the trans-golgi network to late endosome requires factors involved in formation and consumption of clathrin-coated vesicles. *The Journal of biological chemistry*. v.280, n.6, p.4442–4450, 2005.

AGGARWAL, N., SLOANE, B. F. Cathepsin B: multiple roles in cancer. *Proteomics Clinical applications*. v.8, n.5-6, p.427–437, 2014.

AGUDELO, L. Z., TERESA, F., FUNDA, O., MARGARETA, P.P., MICHEL, G., VICENTE, M., JORGE, C.C., MANIZHEH, I., MARIA, B., INA, S.K., AMANDA, P., DUARTE, M.S. FERREIRA., A.K., ROMAIN, B., JULEEN, R.Z., SOPHIE, E., MARIA, L., JORGE, L.R. Skeletal muscle PGC-1 α 1 modulates kynurenine metabolism and mediates resilience to stress-induced depression. *Cell*. n. 159, p. 33–45, 2014.

ALESI M, BIANCO A, PADULO J, VELLA FP, PETRUCCI M, PAOLI A, PALMA A, PEPI A. Motor and cognitive development: the role of karate. *Muscles Ligaments and Tendons Journal*. v.4, n.2, p.114-120, 2014.

ANDRESKA, T., AUFMKOLK, S., SAUER, M., BLUM, R. High abundance of BDNF within glutamatergic presynapses of cultured hippocampal neurons. *Frontiers in cellular neuroscience*. v.8, art.107, 2014. <https://doi.org/10.3389/fncel.2014.00107>.

ARNOLDUSSEN, I.A., KILIAAN, A.J., GUSTAFSON, D.R. Obesity and dementia: adipokines interact with the brain. *European Neuropsychopharmacology: The journal of the European college of Neuropsychopharmacology*. v.24, n.12, p.1982-99, 2014.

AMMIRATI, E., MORONI, F., NORATA, G.N., MAGNONI, M., CAMICI, G.P. Markers of Inflammation Associated with Plaque Progression and Instability in Patients with Carotid Atherosclerosis. *Mediators of Inflammation*. v. 2015, 2015. <https://doi.org/10.1155/2015/718329>.

AUTRY, A.E., MONTEGGIA, L.M. Brain-derived neurotrophic factor and neuropsychiatric disorders. *Pharmacology Reviews*. v.64, n.2, p. 238-258, 2012.

BADAWY, A.A. Tryptophan availability for kynurenine pathway metabolism across the life span: Control mechanisms and focus on aging, exercise, diet and nutritional supplements. *Neuropharmacology*. v.112, p.248-263. 2017.

BAKER, L. D., FRANK, L. L., FOSTER-SCHUBERT, K., GREEN, P. S., WILKINSON, C. W., MCTIERNAN, A., PLYMATE, S. R., FISHEL, M. A., WATSON, G. S., CHOLERTON, B. A., DUNCAN, G. E., MEHTA, P. D., CRAFT, S. Effects of aerobic exercise on mild cognitive impairment: a controlled trial. *Archives of Neurology*. v.67, n.1, 71–79, 2010.

BANERJEE, M., SASSE, V.A., WANG, Y., MAULIK, M., KAR, S. Increased levels and activity of cathepsins B and D in kainate-induced toxicity. *Neuroscience*. v.284, p.360–373, 2015.

BARTKOWSKA, K., PAQUIN, A., GAUTHIER, A. S., KAPLAN, D. R., MILLER, F. D. Trk signaling regulates neural precursor cell proliferation and differentiation during cortical development. *Development*. v.134, n.24, p.4369–4380, 2007.

BELVIRANLI, M., OKUDAN, N. Exercise Training Protects Against Aging-Induced Cognitive Dysfunction via Activation of the Hippocampal PGC-1 α /FNDC5/BDNF Pathway. *Neuromolecular medicine*. v.20, n.3, p. 386–400, 2018.

BARENBERG, J., BERSE, T., DUTKE, S. Executive functions in learning processes: do they benefit from physical activity? *Educational Research Review*. v.6, n.3, p. 208-222, 2011.

BERGELT, M., FUNG, Y. V., O'BRIEN, R., MIDDLETON, L.E., MARTINS, S. W. Moderate aerobic exercise, but not anticipation of exercise, improves cognitive control. *PLoS One*. v.15, n.11, doi: 10.1371/journal.pone.0242270. 2020.

BIDZAN-BLUMA, I., MAŁGORZATA, L., Physical Activity and Cognitive Functioning of Children: A Systematic Review. *International journal of environmental research and public health*. v.15,4 800. 19 Apr. 2018,

BRADFORD, M.M. A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding. *Analytical Biochemistry*. v. 72, p. 248–254, 1976. DOI 10.1016/j.cj.2017.04.003

BRIGHT, N. A., DAVIS, L. J., LUZIO, J. P. Endolysosomes Are the Principal Intracellular Sites of Acid Hydrolase Activity. *Current biology*. v.26, n.17, p.2233–2245, 2016.

BOSTRÖM, P., WU, J., JEDRYCHOWSKI, M.P., KORDE, A., YE, L., LO, J.C., RASBACH, K.A., BOSTRÖM, E.A., CHOI, J.H., LONG, J.Z., KAJIMURA, S., ZINGARETTI, M.C., VIND, B.F., TU, H., CINTI, S., HØJLUND, K., GYGI, S.P., SPIEGELMAN, B.M. A PGC1- α -dependent myokine that drives brown-fat-like development of white fat and thermogenesis. *Nature*. v. 481, p. 463-468, 2012.

CASSILHAS, R. C., LEE, K. S., FERNANDES, J., OLIVEIRA, M. G., TUFIK, S., MEEUSEN, R., & DE MELLO, M. T. Spatial memory is improved by aerobic and resistance exercise through divergent molecular mechanisms. *Neuroscience*. v. 202, p. 309–317, 2012.

CASSILHAS, R. C., TUFIK, S., DE MELLO, M. T. Physical exercise, neuroplasticity, spatial learning and memory. *Cellular and molecular life sciences*. v.73, n.5, p.975–983, 2016.

CAVALLO-MEDVED, D., MOIN, K., SLOANE, B. Cathepsin B: Basis Sequence: Mouse. *The AFCS-nature molecule pages*. p.01-17, 2011.

CHATURVEDI, P., KALANI, A., MEDINA, I., FAMILTSEVA, A. TYAGI, S. C. Cardiosome mediated regulation of MMP9 in diabetic heart: role of mir29b and mir455 in exercise. *Journal of Cellular Molecular Medicine*. v.19, p.2153–2161, 2015.

CHEKROUD, S. R., GUEORGUEVA, R., ZHEUTLIN, A. B., PAULUS, M., KRUMHOLZ, H. M., KRYSTAL, J. H., & CHEKROUD, A. M. Association between physical exercise and mental health in 1.2 million individuals in the USA between 2011 and 2015: a cross-sectional study. *The lancet Psychiatry*. v.5, n.9, p.739–746, 2018.

CHODZKO-ZAJKO, W. J., PROCTOR, D.N., FIATARONI, N. Exercise and physical activity for older adults. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, v.41, n. 7, p.1510-1530. 2009.

- CLARKE, L. E., LIDDELOW, S. A., CHAKRABORTY, C., MÜNCH, A. E., HEIMAN, M., BARRES, B. A. Normal aging induces A1-like astrocyte reactivity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. v.115, n.8, p.1896–1905, 2018.
- COLCOMBE, S.J., KIRK, I.E., PAIGE, E.S., JENNY, S.K, RUCHIKA, P., EDWARD, M., ELAVSKY, S., MARQUEZ, X.D., HU, L., KRAMER, F.K. Aerobic Exercise Training Increases Brain Volume in Aging Humans. *The Journal of Gerontology*. v. 6, n.11, p. 1166-1170, 2006.
- COOMBER, B. L., STEWART, P. A. Morphometric analysis of CNS microvascular endothelium. *Microvascular Research*. v. 30, p. 99-115, 1985.
- COTMAN, C. W., BERCHTOLD, N. C., CHRISTIE, L. A. Exercise builds brain health: key roles of growth factor cascades and inflammation. *Trends Neuroscience*. n.30, p.464–472, 2007.
- CUNNINGHAM, C., DUNNE, A., LOPEZ-RODRIGUEZ, A. B. Astrocytes: heterogeneous and dynamic phenotypes in neurodegeneration and innate immunity. *Neuroscientist*. v.25, p. 455–474, 2019.
- DAVIS, C.L., TOMPOROWSKI, P.D., BOYLE, C.A., WALLER, J.L., MILLER, P.H., NAGLIERI, J.A., GREGOSKI, M. Effects of aerobic exercise on overweight children's cognitive functioning: a randomized controlled trial. *Research Quarterly for Exercise and Sport*. v.78 n.5, p.510-519, 2007.
- DAVIS, M., MANTLE, D., MENDELOW, A. D. The role of proteolytic enzymes in focal ischaemic brain damage. *Acta neurochirurgica Supplement*. v.76, p.261–264, 2000.
- DE LA ROSA, A., SOLANA, E., CORPAS, R., BARTRÉS-FAZ, D., PALLÀS, M., VINA, J., SANFELIU, C., GOMEZ-CABRERA, M.C. Long-term exercise training improves memory in middle-aged men and modulates peripheral levels of BDNF and Cathepsin B. *Scientific Reports*. v.4 n.9, art. 3337, 2019.
- DE SENNA, P. N., XAVIER, L. L., BAGATINI, P. B., SAUR, L., GALLAND, F., ZANOTTO, C., BERNARDI, C., NARDIN, P., GONÇALVES, C. A., ACHAVAL, M. Physical training improves non-spatial memory, locomotor skills and the blood brain barrier in diabetic rats. *Brain research*. v.16, n.18, p.75–82, 2015.
- DE SOUZA, R.F., AUGUSTO, R.L., DE MORAES, S.R.A., DE SOUZA, F.B., GONÇALVES, L.V.D.P., PEREIRA, D.D., MORENO, G.M.M., DE SOUZA, F.M.A., ANDRADE-DA-COSTA B.L.D.S. Ultra-Endurance Associated With Moderate Exercise in Rats Induces Cerebellar Oxidative Stress and Impairs Reactive GFAP Isoform Profile. *Frontiers Molecular Neuroscience*. v. 13, p. 1-16, 2020.
- DU RIETZ, E., BARKER, A. R., MICHELINI, G., ROMMEL, A. S., VAINIERI, I., ASHERSON, P., KUNTSI, J. Beneficial effects of acute high-intensity exercise on electrophysiological indices of attention processes in young adult men. *Behavioral brain research*. v.359, p. 474–484, 2019.
- DUZEL, E., VAN PRAAG, H., & SENDTNER, M. Can physical exercise in old age improve memory and hippocampal function? *Brain: A journal of neurology*, v. 139, p. 662–673, 2016.
- EGGERMONT, L. H. P. et al. Cardiac disease and cognitive impairment: A systematic review. *Heart*. v. 98, n. 18, p. 1334–1340, 2012.
- EL-SAYES, J., HARASYM, D., TURCO, C. V., LOCKE, M. B., NELSON, A. J. Exercise-Induced Neuroplasticity: A Mechanistic Model and Prospects for Promoting Plasticity. *The Neuroscientist: a review journal bringing neurobiology, neurology and psychiatry*. v.25, n.1, p.65–85, 2019

- FABEL, K., WOLF, S. A., EHNINGER, D., BABU, H., LEAL-GALICIA, P., KEMPERMANN, G. Additive effects of physical exercise and environmental enrichment on adult hippocampal neurogenesis in mice. *Frontiers in neuroscience*. v.3, art.50, 2009. <https://doi.org/10.3389/neuro.22.002.2009>.
- FEBBRAIO, M. A., PEDERSEN, B. K. Contraction-induced myokine production and release: is skeletal muscle an endocrine organ? *Exercise Sport Science*. n.33, p.114–119, 2005.
- FELDMAN, G.J., MULLIN, J.M., RYAN, M.P. Occludin: structure, function and regulation. *Advanced Drug Delivery Reviews*.v.25, n.57, p.883-917, 2005.
- FORDYCE, D. E., WEHNER, J. M. Physical activity enhances spatial learning performance with an associated alteration in hippocampal protein kinase C activity in C57BL/6 and DBA/2 mice. *Brain Research*. v. 619, n.2, p. 111-119, 1993.
- GAIRE, B. P., SUBEDI, L., TERAMOTO, H., HU, B. The Role of Cathepsin B in Ischemia-Reperfusion Injury After Stroke. *Cerebral Ischemia Exon Publications*, 2021. Disponível em <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK575745/>>.
- GIUDICE, J., TAYLOR, J. M. Muscle as a paracrine and endocrine organ. *Current Opinion in Pharmacology*. V.34, p.49–55, 2017.
- GLORIOSO, C., SIBILLE, E. Between destiny and disease: Genetics and molecular pathways of human central nervous system aging. *Progress in Neurobiology*. v.93, n.2, p. 156-181, 2011.
- GORDON, G. R. J., HOWART, C., MACVICAR, B.A. Bidirectional control of arteriole diameter by astrocytes. *Experimental Physiology*. v. 96, n.4, p. 393-399, 2011.
- HAKALA, J.O., ROVIO, S.P., PAHKALA, K., NEVALAINEN, J., JUONALA, M., HUTRI-KÄHÖNEN, N., HEINONEN, O.J., HIRVENSALO, M., TELAMA, R., VIKARI, J.S.A., TAMMELIN, T.H., RAITAKARI, O.T. Physical Activity from Childhood to Adulthood and Cognitive Performance in Midlife. *Medicine and Science in Sports Exercise*.v.51, n.5, p.882-890, 2019.
- HAMER, M., CHIDA, Y. Physical activity and risk of neurodegenerative disease: a systematic review of prospective evidence. *Psychological medicine*. v.39, n.1, p.3–11, 2009.
- HASKELL, W. L., LEE, I. M., PATE, R. R., POWELL, K. E., BLAIR, S. N., FRANKLIN, B. A., MACERA, C. A., HEATH, G. W., THOMPSON, P. D., BAUMAN, A. Physical activity and public health: updated recommendation for adults from the American College of Sports Medicine and the American Heart Association. *Medicine and science in sports and exercise*. v.39, n.8, p.1423–1434, 2007.
- HAWLEY, A. J., HARGRAVES, M., JOYNER, J. M., ZIERATH, J. R. Integrative biology of exercise. *Cell*. v. 159, n. 6, p. 738-749, 2014.
- HEISZ, J.J., CLARK, I.B., BONIN, K., PAOLUCCI, E.M., MICHALSKI, B., BECKER, S., FAHNESTOCK, M. The Effects of Physical Exercise and Cognitive Training on Memory and Neurotrophic Factors. *Journal of Cognitive Neuroscience*. v.29, n.11, p.1895-1907, 2017.
- HOJMAN, P., GEHL, J., CHRISTENSEN, J. F., PEDERSEN, B. K. Molecular Mechanisms Linking Exercise to Cancer Prevention and Treatment. *Cell metabolism*. v.27, n.1, p.10–21, 2018.

HOOK VY, KINDY M, HOOK G. Inhibitors of cathepsin B improve memory and reduce beta-amyloid in transgenic Alzheimer disease mice expressing the wild-type, but not the Swedish mutant, beta-secretase site of the amyloid precursor protein. *Journal of Biological Chemistry*. v.283, n12, p.7745–7753, 2008.

HOOK, V., YOON, M., MOSIER, C., ITO, G., PODVIN, S., HEAD, B. P., RISSMAN, R., O'DONOGHUE, A. J., HOOK, G. Cathepsin B in neurodegeneration of Alzheimer's disease, traumatic brain injury, and related brain disorders. *Biochimica et biophysica acta. Proteins and proteomics*. v.1868, n.8, p.140-428, 2020.

HOPKINS, M.E., BUCCI, D.J. Interpreting the effects of exercise on fear conditioning: the influence of time of day. *Behavioral Neuroscience*. v.124, n.6, p.868-872, 2010.

HOWARTH, C. The contribution of astrocytes to the regulation of cerebral blood flow. *Frontier in Neuroscience*. v.8, n.9, p.1-9, 2014.

INTLEKOFER, K.A., BERCHTOLD, N.C., MALVAEZ, M., CARLOS, A.J., MCQUOWN, S.C., CUNNINGHAM, M.J., WOOD, M.A., COTMAN, C.W. Exercise and sodium butyrate transform a subthreshold learning event into long-term memory via a brain-derived neurotrophic factor-dependent mechanism. *Neuropsychopharmacology*. v.38, n.10, p.2027-2034, 2013.

JEDRYCHOWSKI, M. P., WRANN, C. D., PAULO, J. A., GERBER, K. K., SZPYT, J., ROBINSON, M. M., NAIR, K. S., GYGI, S. P., SPIEGELMAN, B. M. Detection and Quantitation of Circulating Human Irisin by Tandem Mass Spectrometry. *Cell metabolism*. v.22, n.4, p.734–740, 2015.

KAFFASHIAN, S., DUGRAVOT, A., ELBAZ, A., SHIPLEY, M.J., SABIA, S., KIVIMÄKI, M., SINGH-MANOUX, A. Predicting cognitive decline: a dementia risk score vs. the Framingham vascular risk scores. *Neurology*. v.80, n.14, p.1300-1306, 2013.

KARPOVA, N.N. Role of BDNF epigenetics in activity-dependent neuronal plasticity. *Neuropharmacology*. v.76, p.709-718, 2014.

KHODADADI, D., GHARAKHANLOU, R., NAGHDI, N., SALIMI, M., AZIMI, M., SHAHED, A., HEYSIEATTALAB, S. Treadmill Exercise Ameliorates Spatial Learning and Memory Deficits Through Improving the Clearance of Peripheral and Central Amyloid-Beta Levels. *Neurochemical Research*. v.43, n. 8, p.1561-1574, 2018.

KIM, J. H., KIM, D. Y. Aquarobic exercises improve the serum blood irisin and brain-derived neurotrophic factor levels in elderly women. *Experimental gerontology*. v.104, p.60–65, 2018.

KNAEPEN, K.; GOEKINT, M.; HEYMAN, E.M.; MEEUSEN, R. Neuroplasticity-exercise-induced response of peripheral brain-derived neurotrophic factor: A systematic review of experimental studies in human subjects. *Sports Medicine*. v.40, p.765–801, 2010.

KOŠČAK TIVADAR B. Physical activity improves cognition: possible explanations. *Biogerontology*, v.18, n.4, p.477–483, 2017.

KRAMER, A.F., HAHN, S., COHEN, N.J., BANICH, M.T., MCAULEY, E., HARRISON, C.R., CHASON, J., VAKIL, E., BARDELL, L., BOILEAU, R.A., COLCOMBE, A. *Ageing, fitness and neurocognitive function*. *Nature*. v. 400, p. 418-419, 1999.

KUBESCH, S., LAURA, W., MANFRED, S., THOMAS, K., ALYONA, L., RUDIGER, H., KATRIN, HILLE. A 30-minute physical education program improves students executive attention. *Mind, Brain, and Education*. v.3, n.4, p. 235-242, 2009.

- LAU, A.G., IRIER, H.A., GU, J., TIAN, D., KU, L., LIU, G., XIA, M., FRITSCH, B., ZHENG, J.Q., DINGLELINE, R., XU, B., LU, B., FENG, Y. Distinct 3'UTRs differentially regulate activity-dependent translation of brain-derived neurotrophic factor (BDNF). *Proceedings of the National Academy of Sciences*. v.107, n.36, p.15945-15950, 2010.
- LEAL, G., AFONSO, P.M., SALAZAR, I.L., DUARTE, C.B., 2014. Regulation of Hippocampal Synaptic Plasticity by BDNF. *Brain Research*. v. 1621, p. 82-101, 2014.
- LEE, H., THURET, S. Adult human hippocampal neurogenesis: Adult human hippocampal neurogenesis: Controversy and Evidence. *Trends in Molecular Medicine*. v.24, n.6, p.521-522, 2018.
- LESSMANN, V., BRIGADSKI, T. Mechanisms, locations, and kinetics of synaptic BDNF secretion: an update. *Neuroscience Research*. v. 65, n. 1, p.11-22, 2009.
- LIDDELL, J. Are Astrocytes the predominant cell type for activation of Nrf2 in aging and neurodegeneration? *Antioxidants*. v.6, p. 2–35, 2017.
- LIU, P.Z., NUSSLOCK, R. Exercise-Mediated Neurogenesis in the Hippocampus via BDNF. *Frontiers Neuroscience*. v.12, doi: 10.3389/fnins.2018.00052. 2018.
- LOPRINZI, P.D, EDWARDS, M.K., FRITH, E. Potential avenues for exercise to activate episodic memory related pathways: a narrative review. *Euro Journal of Neuroscience*. v.46, n. 5, p. 2067–2077, 2017.
- LOPRINZI, P.D. The Effects of Exercise on Dendritic Spine Density: Implications for Exercise-Induced Memory Enhancement. *The Journal of Neurobehavioral Sciences*. v.6, n.1, p.76-79, 2019.
- LOPRINZI, P. D., FRITH, E. A brief primer on the mediational role of BDNF in the exercise-memory link. *Clinical Physiology and Functional Imaging*. v. 39, p. 9–14, 2018.
- LOURENCO, M.V., FROZZA, R.L., DE FREITAS, G.B., ZHANG, H., KINCHESKI, G.C., RIBEIRO, F.C., GONÇALVES, R.A., CLARKE, J.R., BECKMAN, D., STANISZEWSKI, A., BERMAN, H., GUERRA, L.A., FORNY-GERMANO, L., MEIER, S., WILCOCK, D.M., DE SOUZA, J.M., ALVES-LEON, S., PRADO, V.F., PRADO, MAM., ABISAMBRA, J.F., TOVAR-MOLL, F., MATTOS, P., ARANCIO, O., FERREIRA, S.T., DE FELICE, F.G. Exercise-linked FNDC5/irisin rescues synaptic plasticity and memory defects in Alzheimer's models. *Nature Medicine*. v.25, n.1, p.165-175, 2019.
- LOVELACE, M.D., VARNEY, B., SUNDARAM, G., LENNON, M.J., LIM C.K., JACOBS, K., GUILLEMIN, G.J., BREW, B.J. Recent evidence for an expanded role of the kynurenine pathway of tryptophan metabolism in neurological diseases. *Neuropharmacology*. v.112, p. 373-388, 2017.
- LUDYGA, S., BRAND, S., GERBER, M., WEBER, P., BROTZMANN, M., HABIBIFAR, F., PÜHSE, U. An event-related potential investigation of the acute effects of aerobic and coordinative exercise on inhibitory control in children with ADHD. *Developmental Cognitive Neuroscience*. v. 28, p.21-28, 2017.
- LUO, L., LI, C., DU, X., SHI, Q., HUANG, Q., XU, X., WANG, Q. Effect of aerobic exercise on BDNF/proBDNF expression in the ischemic hippocampus and depression recovery of rats after stroke. *Behavioural Brain Research*.v.362, p.323-331, 2019.
- MAASS, A. DUZEL., GOERKE, M., BECKE, A., SOBIERAY, U., NEUMANN, K. Vascular hippocampal plasticity after aerobic exercise in older adults. *Molecular Psychiatry*. v.20, p.585-593, 2015.

- MALKIEWICZ, M.A., SZAMARCH, A., SABIZ, A., CUBALA, W. J., EDYTA, W. L., PAWEL, J. Blood-brain barrier permeability and physical exercise. *Journal of Neuroinflammation*. v. 16, n. 1, p.1-16, 2019.
- MAAS, S. L. N., BREAKEFIELD, X. O., WEAVER, A. M. Extracellular Vesicles: Unique Intercellular Delivery Vehicles. *Trends Cell Biology*. v.27, p.172–188, 2017.
- MATSUI, T., OMURO, H., LIU, Y.F., SOYA, M., SHIMA, T., MCEWEN, B.S., SOYA, H. Astrocytic glycogen-derived lactate fuels the brain during exhaustive exercise to maintain endurance capacity. *Proceedings of the National Academy of Science U S A*. v.114, n. 24, p.6358-6363, 2017.
- MEHTA, B.K., SINGH, K.K., BANERJEE, S. Effect of exercise on type 2 diabetes-associated cognitive impairment in rats. *International Journal of Neuroscience*. v.129, n.3, p.252-263, 2019.
- MEREGE, A.A.C., ALVES, R.R.C., SEPÚLVEDA, A.C., COSTA, S.A., JUNIOR, L.H.A., GUALANO, B. influência do exercício físico na cognição: uma atualização sobre mecanismos fisiológicos. *Revista Brasileira de Medicina do Esporte*. v.20, n.3, p.237-241, 2014.
- MITCHELL, G.A., KASSOVSKA-BRATINOVA, S., BOUKAFTANE, Y., ROBERT, M.F., WANG, S.P., ASHMARINA, L., LAMBERT, M., LAPIERRE, P., POTIER, E. Medical aspects of ketone body metabolism. *Clinical and Investigative Medicine*. v. 3, p.193-216, 1995.
- MOKHTARI-ZAER, A., HOSSEINI, M., ROSHAN, N. M., BOSKABADY, M. H. Treadmill exercise ameliorates memory deficits and hippocampal inflammation in ovalbumin-sensitized juvenile rats. *Brain research bulletin*. v.165, p.40–47, 2020.
- MONTINE, T. J., KOROSHETZ, W. J., BABCOCK, D., DICKSON, D. W., GALPERN, W. R., GLYMOUR, M. M., GREENBERG, S. M., HUTTON, M. L., KNOPMAN, D. S., KUZMICHEV, A. N., MANLY, J. J., MARDER, K. S., MILLER, B. L., PHELPS, C. H., SEELEY, W. W., SIEBER, B. A., SILVERBERG, N. B., SUTHERLAND, M., TORBORG, C. L., WADDY, S. P. Conference Organizing Committee. Recommendations of the Alzheimer's disease-related dementias conference. *Neurology*. v.83, n.9, p.851–860, 2014.
- MOON, H. Y., ANDREAS, B., DAVID, B., JULIE, A.M., DUZEL, H., VAN PRAAG, H. Running-induced systemic cathepsin B secretion is associated with memory function. *Cell Metabolism*. v.24, n. 2, p.332–340, 2016.
- MOON, H.Y., YOON. K.J., LEE. W.S., CHO. H.S., KIM. D.Y., KIM. J.S. Neural maturation enhanced by exercise-induced extracellular derivatives. *Scientific Reports*. v.10, n.1, art.3893, 2020.
- NAKANISHI H. Microglial cathepsin B as a key driver of inflammatory brain diseases and brain aging. *Neural regeneration research*. v.15, n.1, p.25–29, 2020.
- NICHOL, K., DEENY, S. P., SEIF, J., CAMACLANG, K., COTMAN, C. W. Exercise improves cognition and hippocampal plasticity in APOE epsilon4 mice. *Alzheimer's & dementia: the journal of the Alzheimer's Association*, v.5, n.4, p.287–294, 2009.
- NUMAN T, BAIN, A.R., HOILAND, R.L., SMIRL, J.D., LEWIS, N.C., AINSLIE, P.N. Static autoregulation in humans: a review and reanalysis. *Medical Engineering & Physics*. V.36, n.11, p.1487–1495, 2014.
- NUMAKAWA, T., ODAKA, H., ADACHI, N. Actions of Brain-Derived Neurotrophin Factor in the Neurogenesis and Neuronal Function, and Its Involvement in the Pathophysiology of Brain Diseases. *International journal of molecular sciences*. v.19, n.11, art.3650, 2018. <https://doi.org/10.3390/ijms19113650>.

NORTHEY, J. M., CHERBUIN, N., PUMPA, K. L., SMEE, D. J., RATTRAY, B. Exercise interventions for cognitive function in adults older than 50: a systematic review with meta-analysis. *British journal of sports medicine*. v.52, n.3, p.154–160, 2018.

OLDENDORF, W. H., CORNFORD, M. E., BROWN, W. J. The large apparent work capability of the blood-brain barrier: A study of the mitochondrial content of capillary endothelial cells in brain and other tissues of the rat. *Annals of Neurology*. v. 1, n. 5, p. 409-417, 1977.

OLIVEIRA, L., DE MORAIS, G. P., DA ROCHA, A. L., TEIXEIRA, G. R., PINTO, A. P., DE VICENTE, L. G., PAULI, J. R., DE MOURA, L. P., MEKARY, R. A., ROPELLE, E. R., CINTRA, D. E., DA SILVA, A. Excessive treadmill training enhances the insulin signaling pathway and glycogen deposition in mice hearts. *Journal of cellular biochemistry*, v.120, n.2, p.1304-1317, 2018.

OLVER, T. D., KLAKOTSKAIA, D., FERGUSON, B. S., HIEMSTRA, J. A., SCHACHTMAN, T. R., LAUGHLIN, M. H., & EMTER, C. A. Carotid Artery Vascular Mechanics Serve as Biomarkers of Cognitive Dysfunction in Aortic-Banded Miniature Swine That Can Be Treated With an Exercise Intervention. *Journal of the American Heart Association*. v.5, n.5, p.1-11, 2016.

PARK, H., POO, M.M. Neurotrophin regulation of neural circuit development and function. *Nature Reviews Neuroscience*. v.14, p.7–23, 2013.

PEDERSEN, B. K., SALTIN, B. Exercise as medicine - evidence for prescribing exercise as therapy in 26 different chronic diseases. *Scandinavian Journal Medicine Science Sports*. v.25 n. 3, p.1–72, 2015.

PEDERSEN, B. K. Physical activity and muscle–brain crosstalk. *Nature Reviews Endocrinology*. v.15, n.7, p.383-392, 2019.

PETANCESKA, S., BURKE, S., WATSON, S.J., DEVI, L. Differential distribution of messenger RNAs for cathepsins B, L and S in adult rat brain: an in-situ hybridization study. *Neuroscience*.v.59, n3, p.729–38, 1994.

POPE, A., NIXON, R. A. Proteases of human brain. *Neurochemical research*. v.9, n.3, p.291–323, 1984.

RAI, M., DEMONTIS, F. Systemic Nutrient and Stress Signaling via Myokines and Myometabolites. *Annual review of physiology*. v.78, p.85–107, 2016.

REESE, T. S., KARNOVSKY, M. J. Fine structural localization of a blood-brain barrier to exogenous peroxidase. *The Journal of Cell Biology*. v.34, n.1, p.207-217, 1967.

ROBBINS, T.W., ARNSTEN, A.F. The neuropsychopharmacology of fronto-executive function: monoaminergic modulation. *Annual Review of Neuroscience*. v.32, n.1, p.267-287, 2009.

ROGERS, M.L., MEYER, J.S, MORTEL, K.F. After reaching retirement age physical activity sustains cerebral perfusion and cognition. *American Geriatrics Society*. v.38, p. 123-128, 1990.

SAFDAR, A., SALEEM, A., TARNOPOLSKY, M. A. The potential of endurance exercise-derived exosomes to treat metabolic diseases. *Nature Reviews. Endocrinology*. v.12, p.504–517, 2016.

SAFDAR, A., TARNOPOLSKY, M. A. Exosomes as mediators of the systemic adaptations to endurance exercise. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*. v.8, n. 3, p.1 – 24, 2017.

SANDERS, L., HORTOBÁGYI, T., KARSSEMEIJER, E., VAN DER ZEE, E. A., SCHERDER, E., & VAN HEUVELEN, M. Effects of low- and high-intensity physical exercise on physical and cognitive

- function in older persons with dementia: a randomized controlled trial. *Alzheimer's research & therapy*, v.12, n.1, p. 28, 2020.
- SHLOSBERG, D., BENIFLA, M., KAUFER, D., FRIEDMAN, A. Blood-brain barrier breakdown as a therapeutic target in traumatic brain injury. *Nature Reviews Neurology*. v. 6, p. 393–403, 2010.
- SLEIMAN, S. F., HENRY, J., AL-HADDAD, R., EL HAYEK, L., ABOU HAIDAR, E., STRINGER, T., ULJA, D., KARUPPAGOUNDER, S. S., HOLSON, E. B., RATAN, R. R., NINAN, I., CHAO, M. V. Exercise promotes the expression of brain derived neurotrophic factor (BDNF) through the action of the ketone body β -hydroxybutyrate. *Elifesciences.org*. n.5, e15092, 2016.
- SLEIMAN, S.F., CHAO, M.V. Downstream Consequences of Exercise Through the Action of BDNF. *Brain Plasticity*. v.1, n.1, p.143-148, 2015.
- SMITH, K.J., AINSLIE, P.N. Regulation of cerebral blood flow and metabolism during exercise. *Experimental Physiology*. v.102, n.11, p.1356-1371, 2017.
- STERN, Y., MACKAY-BRANDT, A., LEE, S., MCKINLEY, P., MCINTYRE, K., RAZLIGHI, Q., AGARUNOV, E., BARTELS, M., SLOAN, R.P. Effect of aerobic exercise on cognition in younger adults: A randomized clinical trial. *Neurology*. v.92, n.9, p.905-916, 2019.
- STUBBS, B., KOYANAGI, A., HALLGREN, M., FIRTH, J., RICHARDS, J., SCHUCH, F., ROSENBAUM, S., MUGISHA, J., VERONESE, N., LAHTI, J., VANCAMPFORT, D. Physical activity and anxiety: A perspective from the World Health Survey. *Journal of affective disorders*. v.208, p.545–552, 2017.
- STUBBS, B., VANCAMPFORT, D., ROSENBAUM, S., FIRTH, J., COSCO, T., VERONESE, N., SALUM, G. A., & SCHUCH, F. B. An examination of the anxiolytic effects of exercise for people with anxiety and stress-related disorders: A meta-analysis. *Psychiatry research*. v.249, p.102–108, 2017.
- SZUHANY, K. L., BUGATTI, M., OTTO, M. W. A meta-analytic review of the effects of exercise on brain-derived neurotrophic factor. *Journal of psychiatric research*. v.60, p.56–64, 2015.
- TEYCHENNE, M., COSTIGAN, S. A., PARKER, K. The association between sedentary behaviour and risk of anxiety: a systematic review. *BMC public health*, v.15, 513, 2015. Disponivel em <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26088005/>>
- THOMAS, A. G., DENNIS, A., BANDETTINI, P. A., JOHANSEN-BERG, H. The effects of aerobic activity on brain structure. *Frontiers in psychology*, v.3, p.1-9, 2012.
- TURK, V., STOKA, V., VASILJEVA, O., RENKO, M., SUN, T., TURK, B., TURK, D. Cysteine cathepsins: from structure, function and regulation to new frontiers. *Biochim Biophys Acta*. v.1824, n.1, p.68–88, 2012.
- VALENZUELA, P. L., CASTILLO-GARCÍA, A., MORALES, J. S., DE LA VILLA, P., HAMPEL, H., EMANUELE, E., LISTA, S., LUCIA, A. Exercise benefits on Alzheimer's disease: State-of-the-science. *Ageing research reviews*. V.62, p.101-108, 2020.
- VAN PRAAG, H., BRIAN, R. C., TERRENCE, J. S., FRED, H.G. Running enhances neurogenesis, learning, and long-term potentiation in mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. v.96, n.23, p. 13427-13431, 1999.

VAYNMAN, S., YING, Z., GOMEZ-PINILLA, F. Hippocampal BDNF mediates the efficacy of exercise on synaptic plasticity and cognition. *European Journal of Neuroscience*. v. 20, n 10, p. 2580-2590, 2004.

VILELA, T.C., MULLER, A.P., DAMIANI, A.P., MACAN, T.P., SILVA, S., CANTEIRO, P.B., CASAGRANDE, S. A., PEDROSO, G.D.S., NESI, R.T., ANDRADE, V. M., PINHO, R.A. Strength and Aerobic Exercises Improve Spatial Memory in Aging Rats Through Stimulating Distinct Neuroplasticity Mechanisms. *Molecular Neurobiology*. v.54, n.10, p.7928-7937, 2016.

VOSS, M.W., VIVAR, C., KRAMER, A.F., VAN PRAAG, H. Bridging animal and human models of exercise-induced brain plasticity. *Trends in Cognitive Sciences*. v.17, n.10, p.525-544, 2013.

XIE, C., ALDERMAN, B.L, MENG, F., AI, J., CHANG, Y.K., LI, A. Acute High-Intensity Interval Exercise Improves Inhibitory Control Among Young Adult Males with Obesity. *Frontiers in Psychology*. v. 11, p 1-9, 2020.

WANG, C.C., VEREADOR, B., WU, C.H., CHI, L., CHEN, S.R., CHU, I.H., CHANG, Y.K. Effects of Acute Aerobic and Resistance Exercise on Cognitive Function and Salivary Cortisol Responses. *Journal of Sport and Exercise Psychology*. v.41, n.2, p.73-81, 2019.

WANG, Q., HU, J., LIU, Y., LI, J., LIU, B., LI, M., LOU, S. Aerobic Exercise Improves Synaptic-Related Proteins of Diabetic Rats by Inhibiting FOXO1/NF- κ B/NLRP3 Inflammatory Signaling Pathway and Ameliorating PI3K/Akt Insulin Signaling Pathway. *Journal of Molecular Neuroscience*.v.69, n.1, p.28-38, 2018.

WILHELMSSON, U., LI, L., PEKNA, M., BERTHOLD, C. H., BLOM, S., ELIASSON, C., RENNER, O., BUSHONG, E., ELLISMAN, M., MORGAN, T. E., PEKNY, M. Absence of glial fibrillary acidic protein and vimentin prevents hypertrophy of astrocytic processes and improves post-traumatic regeneration. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*. v.24, n.21, p.5016–5021. 2004.

WILHELMSSON, U., POZO-RODRIGALVAREZ, A., KALM, M., DE PABLO, Y., WIDESTRAND, Å., PEKNA, M., PEKNY, M. The role of GFAP and vimentin in learning and memory. *Biological chemistry*. v.400, n.9, p.1147–11562019.

WRANN, C. D., WHITE, J. P., SALOGIANNIS, J., LAZNIK-BOGOSLAVSKI, D., WU, J., MA, D., LIN, J. D., GREENBERG, M. E., SPIEGELMAN, B. M. Exercise induces hippocampal BDNF through a PGC-1 α /FNDC5 pathway. *Cell metabolism*. v.18, n.5, p.649–659, 2013.

YOOK, J. S., RAKWAL, R., SHIBATO, J., TAKAHASHI, K., KOIZUMI, H., SHIMA, T., IKEMOTO, M. J., OHAROMARI, L. K., MCEWEN, B. S., SOYA, H. Leptin in hippocampus mediates benefits of mild exercise by an antioxidant on neurogenesis and memory. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v.116, n.22, p.10988–10993, 2019.

ZENG N, A. M, SUN, H., WEN, X., XIANG, P., GAO, Z. Effects of Physical Activity on Motor Skills and Cognitive Development in Early Childhood: A Systematic Review. *Biomed Research International*. v. 2017, 2017:2760716. doi:10.1155/2017/2760716, Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5745693/>>.

ZLOKOVIC, V. V. The blood-brain barrier in health and chronic neurodegenerative disorders. *Neuron*. v. 57, n. 2, p. 178-201, 2008.