

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BÁSICAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS:
FISIOLOGIA

Silvia Elisandra Bitello Nunes

**EFEITO DO PROCESSO DO ENVELHECIMENTO E DE MODALIDADES DE
EXERCÍCIO SOBRE A VIA DE SINALIZAÇÃO DO BDNF NO MÚSCULO
GASTROCNÊMIO DE RATOS WISTAR**

Porto Alegre

2020

Silvia Elisandra Bitello Nunes

**EFEITO DO PROCESSO DO ENVELHECIMENTO E DE MODALIDADES DE
EXERCÍCIO SOBRE A VIA DE SINALIZAÇÃO DO BDNF NO MÚSCULO
GASTROCNÊMIO DE RATOS WISTAR**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas: Fisiologia do Instituto de Ciências Básicas da Saúde da Universidade Federal do Rio Grande do Sul como requisito parcial para a obtenção do título de mestre em Fisiologia.

Orientadora: Profa. Dra. Ionara Rodrigues Siqueira

Porto Alegre

2020

CIP - Catalogação na Publicação

Nunes, Silvia Elisandra Bitello
EFEITO DO PROCESSO DO ENVELHECIMENTO E DE
MODALIDADES DE EXERCÍCIO SOBRE A VIA DE SINALIZAÇÃO DO
BDNF NO MÚSCULO GASTROCNÊMIO DE RATOS WISTAR / Silvia
Elisandra Bitello Nunes. -- 2020.
51 f.
Orientadora: Ionara Rodrigues Siqueira.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do
Rio Grande do Sul, Instituto de Ciências Básicas da
Saúde, Programa de Pós-Graduação em Ciências
Biológicas: Fisiologia, Porto Alegre, BR-RS, 2020.

1. envelhecimento. 2. exercício físico. 3. BDNF. 4.
músculo gastrocnêmio. 5. ratos Wistar. I. Siqueira,
Ionara Rodrigues, orient. II. Título.

Silvia Elisandra Bitello Nunes

**EFEITO DO PROCESSO DO ENVELHECIMENTO E DE MODALIDADES DE
EXERCÍCIO SOBRE A VIA DE SINALIZAÇÃO DO BDNF NO MÚSCULO
GASTROCNÊMIO DE RATOS WISTAR**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas:
Fisiologia do Instituto de Ciências Básicas da Saúde da Universidade Federal do Rio
Grande do Sul como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em
Fisiologia

Aprovado em: ____ de _____ de 2020.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Maurício da Silva Krause

Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas: Fisiologia

Profa. Dra. Cristiane Matté

Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas: Fisiologia

Prof. Dr. Luiz Fernando Freire Royes

Membro do Programa de Pós-Graduação em Educação Física

Profa. Dra. Ionara Rodrigues Siqueira - Programa de Pós-Graduação em Ciências
Biológicas: Fisiologia (orientadora)

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente, aos meus pais Pedro Eli Silveira Nunes e Ivane Silvia Bitello, por todo apoio e carinho desde sempre, por acreditarem em mim e me incentivarem nas horas difíceis. Vocês são fonte infinita de amor, admiração e exemplos de ser humano.

Ao meu esposo, Mauro Prestes, que durante esse período todo foi companheiro, incentivador, atencioso e compreensivo. Muito obrigada por entenderas muitas ausências que esta jornada demandou. Certamente, sem seu apoio, compreensão e parceria esta trajetória teria sido mais árdua.

Um agradecimento muito especial a professora Dra. Ionara Rodrigues Siqueira, minha “mãe científica” pela sua inestimável confiança, pela paciência, pelos eternos ensinamentos e pelo acolhimento no seu grupo de pesquisa. Obrigado pela sua dedicação e por ser meu exemplo de pesquisadora. Serei eternamente grata pela oportunidade!

Obrigada aos meus queridos colegas de grupo de pesquisa Lolita, Chris, Laura, Monique, Luana, Cledir, Fabiana, Catherina, Natália, Roberta e Fernando por todo apoio, carinho e amizade. Lolita, muito obrigada por toda ajuda neste mestrado, sempre a posta para ajudar no que for preciso desde as bancadas, protocolos e escrita deste trabalho. Agradeço também pelas conversas, amizade e incentivo. Chris, te admiro muito e te agradeço por toda a ajuda no laboratório, pelas conversas e pelo auxílio nas disciplinas que fizemos juntas. Monique obrigada pela prestatividade e parcerias nos experimentos. Laura muito obrigado pelo acolhimento no grupo, pelos ensinamentos e toda a ajuda com as disciplinas do “Cadeirão” e na qualificação.

Aos colegas e amigos de mestrado Silvio Tasca e Leonardo Simões que tive o privilégio de conhecer e por enfrentarmos juntos tanto as angustias quanto as alegrias. Vocês moram em meu coração!

Aos professores Dr. Alex Sander da Rosa Araújo, Dra. Nadja Schroder, Dra. Wania Partata e Dra. Maria Flávia Marques Ribeiro obrigado pelos ensinamentos e pela disponibilidade de me auxiliar fora do horário da disciplina de Fisiologia.

Um agradecimento especial a Professora Dra. Adriane Belló-Klein não só por me auxiliar nas dificuldades em relação Fisiologia Cardiovascular, mas também pelas conversas e incentivos. Sem sua ajuda incondicional não teria superado as minhas dificuldades.

Ao professor Dr. Luiz Carlos Rios Kucharski, obrigada por sua disponibilidade e pelo seu laboratório.

Ao professor Dr. Maurício da Silva Krause por me auxiliar tanto no estágio docente quanto na qualificação. Agradeço também pelos ensinamentos e incentivos.

Agradeço ao PPG Fisiologia pelos conhecimentos compartilhados e transmitidos.

À Capes por ter me concedido bolsa e ao CNPq pelo financiamento para realização deste mestrado.

“Estou entre aqueles que pensam que a ciência tem uma grande beleza. Um cientista em seu laboratório não é apenas um técnico: é também uma criança colocada diante dos fenômenos naturais que o impressionam como um conto de fadas.”

Marie Curie

RESUMO

Ao longo das últimas décadas observou-se um aumento da população idosa pelo mundo, com isso faz-se necessário buscar estratégias para melhorar a qualidade de vida e atenuar os danos relacionados ao processo de envelhecimento e também elucidar os mecanismos envolvidos neste processo. O exercício físico tem sido reconhecido como uma importante estratégia para melhorar o desempenho cognitivo e motor no processo de envelhecimento. São raros os estudos que avaliam o impacto de modalidades: aeróbica, acrobática, força e combinada de exercícios sobre a sinalização do BDNF em músculo gastrocnêmio de ratos Wistar adultos e envelhecidos (2 meses e 22 meses de idade). Os animais foram submetidos a diferentes modalidades de exercício durante 20 minutos, 3 vezes por semana durante 12 semanas. Uma hora após a última sessão de exercícios os animais foram decapitados e os músculos gastrocnêmios foram dissecados. Os níveis de pró-BDNF, mBDNF e TrkB foram analisados por *Western Blotting*. Em todos os testes, $P < 0,05$ foi considerado significativo. O envelhecimento induziu uma diminuição nos níveis de mBDNF ($P=0,04$), aumento nos níveis de TrkB ($P=0,04$) e não apresentou efeito significativo sobre os níveis de pró-BDNF ($P=0,62$). As modalidades de exercício não induziram modificações nos níveis de pró-BDNF ($P=0,57$), mBDNF ($P=0,47$) e TrkB ($P=0,96$) em músculo gastrocnêmio de ratos Wistar adultos. As modalidades de exercício também não induziram modificações nos níveis de pró-BDNF ($P=0,98$), mBDNF ($P=0,94$) e TrkB ($P=4,67$) em ratos Wistar envelhecidos. Em suma, nossos resultados demonstram que o envelhecimento impacta sobre os níveis de mBDNF e seu receptor TrkB em músculo gastrocnêmio de ratos Wistar durante o processo de envelhecimento. Embora frequentemente várias ações benéficas do exercício físico sejam relacionadas ao aumento nos níveis de BDNF não podemos associar que a sinalização do BDNF está envolvida com o impacto do exercício físico em músculo esquelético, especialmente o gastrocnêmio de ratos Wistar em diferentes idades.

Palavras-chave: envelhecimento, exercício físico, BDNF, TrkB, músculo gastrocnêmio, ratos Wistar

ABSTRACT

Over the past few decades, there has been an increase in the elderly population around the world, so it is necessary to seek strategies to improve the quality of life and mitigate the damage related to the aging process and also to elucidate the mechanisms involved in this process. Physical exercise has been recognized as an important strategy to improve cognitive and motor performance in the aging process. There are few studies that assess the impact of modalities: aerobics, acrobatics, strength and combined exercises on BDNF signaling in gastrocnemius muscle of adult and aged Wistar rats (2 months and 22 months of age). The animals were submitted to different exercise modalities for 20 minutes, 3 times a week for 12 weeks. One hour after the last exercise session, the animals were beheaded and the gastrocnemius muscles were dissected. The levels of pro-BDNF, mBDNF and TrkB were analyzed by Western Blotting. In all tests, $P < 0.05$ was considered significant. Aging induced a decrease in mBDNF levels ($P=0,04$), an increase in TrkB levels ($P=0,04$) and had no significant effect on pro-BDNF levels ($P = 0,62$). The exercise modalities did not induce changes in the levels of pro-BDNF ($P=0,57$), mBDNF ($P=0,47$) and TrkB ($P=0,96$) in the gastrocnemius muscle of adult Wistar rats. The exercise modalities also did not induce changes in the levels of pro-BDNF ($P=0,98$), mBDNF ($P=0,94$) and TrkB ($P= 0,67$) in aged Wistar rats. In summary, our results demonstrate that aging impacts the levels of mBDNF and its TrkB receptor in gastrocnemius muscle of Wistar rats during the aging process. Although several beneficial actions of physical exercise are often related to the increase in BDNF levels, we cannot associate that BDNF signaling is involved with the impact of physical exercise on skeletal muscle, especially the gastrocnemius of Wistar rats at different ages.

Keywords: aging, physical exercise, BDNF, TrkB, gastrocnemius muscle, Wistar rats

LISTA DE FIGURA

Figura 1 - Atrofia muscular relacionada ao envelhecimento e ao impacto do exercício físico	14
Figura 2 - Diagrama esquemático das funções do BDNF muscular.....	20
Figura 3 - Desenho experimental	22
Figura 4 - Esteira ergométrica adaptada para ratos.....	24
Figura 5 - Equipamento usado para a realização do treinamento de força em ratos.....	25
Figura 6 - Treinamento acrobático	26
Figura 7 - Efeito do envelhecimento na via de sinalização do BDNF em músculo gastrocnêmio de ratos Wistar.....	32
Figura 8 - Sinalização do BDNF em músculo gastrocnêmio de ratos Wistar adultos.....	33
Figura 9 - Sinalização do BDNF em músculo gastrocnêmio de ratos Wistar envelhecidos.....	35

LISTA DE ABREVIATURAS

% - porcentagem

°C – graus Celsius

µg – micrograma

1RM – uma repetição máxima

BDNF – fator neurotrófico derivado do encéfalo

Capes – Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior

CEUA – Comissão de Ética no Uso de Animais

cm – centímetros

CNPq – Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico

CONCEA – Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal

CREAL – Centro de Reprodução e Experimentação de Animais de Laboratório

FC – frequência cardíaca

g – grama

h – hora

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

IL4 – interleucina 4

IL6 – interleucina 6

KW – Kruskal-Wallis

m/mim – metros por minutos

mBDNF – fator neurotrófico derivado do encéfalo maduro

mg – miligrama

min – minutos

mmol/L – milimol por litro

mRNA – RNA mensageiro

SNC – sistema nervoso central

SPSS – Statistical Package for the Social Sciences

TrkB – receptor de tropomiosina quinase

UFRGS – Universidade Federal do Rio Grande do Sul

VEGF – fator de crescimento endotelial vascular

VO₂ máx – Consumo máximo de oxigênio

WHO – *World Health Organization*

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	12
1.1 ENVELHECIMENTO.....	12
1.2 EXERCÍCIO FÍSICO E ENVELHECIMENTO.....	13
1.3 MÚSCULO ESQUELÉTICO.....	16
1.4 FATOR NEUOTRÓFICO DERIVADO DO CÉREBRO.....	18
2. HIPÓTESE	21
3. OBJETIVOS.....	21
3.1 OBJETIVO GERAL.....	21
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	21
4. MATERIAL E MÉTODOS	22
4.1 ANIMAIS	22
4.2 MODALIDADES DE EXERCÍCIO FÍSICO.....	23
4.2.1 Treinamento aeróbico.....	23
4.2.2 Treinamento de força.....	24
4.2.3 Treinamento acrobático.....	26
4.2.4 Treinamento combinado.....	27
4.2.5 Animais do grupo sedentário.....	27
4.3 PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS.....	27
4.4 IMUNOCONTEÚDO DE PROTEÍNAS	28
5. ANÁLISE ESTATÍSTICA	29
6. RESULTADOS.....	30
6.1 EFEITOS DO ENVELHECIMENTO SOBRE A SINALIZAÇÃO DO BDNF EM MÚSCULO ESQUELÉTICO DE RATOS.....	30
6.2 EFEITO DE MODALIDADES DE EXERCÍCIO FÍSICO SOBRE A SINALIZAÇÃO DO BDNF EM MÚSCULO GASTROCNÊMIO DE RATOS ADULTOS.....	32
6.3 FEITO DE MODALIDADES DE EXERCÍCIO FÍSICO SOBRE A SINALIZAÇÃO DO BDNF EM MÚSCULO GASTROCNÊMIO DE RATOS ENVELHECIDOS.....	34
7. DISCUSSÃO.....	36
8. CONCLUSÕES	41
9. PERSPECTIVAS.....	41
10. REFERÊNCIAS.....	42

1. INTRODUÇÃO

1.1 ENVELHECIMENTO

Nas últimas décadas, observou-se uma alteração no perfil demográfico mundial caracterizado pelo envelhecimento acentuado da população (Lima-Costas e Vera, 2003). A Organização Mundial de Saúde afirma que de 2015-2050 a proporção de população com mais de 60 anos, no mundo, irá aumentar de 12% para 22% (WHO, 2019). No Brasil, segundo dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), estima-se que, nos próximos 20 anos um quarto da população brasileira deverá ter idade igual ou acima de 60 anos (IBGE, 2019).

O aumento da expectativa de vida é um fenômeno global decorrente dos avanços da medicina, da tecnologia e o acesso ao saneamento básico (Lima-Costas e Vera, 2003; Silva e Boemer, 2009). O envelhecimento é um processo dinâmico e progressivo caracterizado pelo declínio das funções fisiológicas e bioquímicas, envolvendo a perda progressiva dos tecidos e da funcionalidade dos órgãos (Flatt, 2012). Com o envelhecimento da população, ocorre o conseqüente aumento da prevalência de doenças relacionadas à idade, como doenças neurodegenerativas, diabetes, hipertensão, doenças cardíacas, osteoporose, dislipidemias, sarcopenia, entre outras, o que torna eminente a necessidade de atenção à população idosa (Mahncke *et al.*, 2006; Souza *et al.*, 2007; Paradies *et al.*, 2011; Jurgens e Johnson, 2012).

No processo de envelhecimento, ocorre uma perda progressiva da massa muscular esquelética e atrofia de fibras musculares (Fielding *et al.*, 2011; Cesari, 2012) geralmente acompanhada de diminuição de força e funcionalidade muscular que são características da sarcopenia (Rosenberg, 1997; Cruz-Jentoft *et al.*, 2010; Burks e Cohn, 2011). A sarcopenia decorre de fatores que afetam a transmissão neuromuscular, arquitetura muscular, composição das fibras e metabolismo (Lynch, 2010; Aagaard *et al.*, 2010; Budui *et al.*, 2015; Zampieri *et al.*, 2015; McLean e Kiel, 2015; Kalinkovich e Livshits, 2015). No processo de envelhecimento, a diminuição da massa muscular pode ser acompanhada por um aumento progressivo na massa gorda. Há um aumento significativo no acúmulo de gordura dentro e ao redor das

células musculares (Holloszy, 2000; Melton *et al.*, 2000; Cartee *et al.*, 2016). Assim, o aumento da expectativa de vida é um gerador de desafios a diversas áreas do conhecimento.

1.2 EXERCÍCIO FÍSICO E ENVELHECIMENTO

Estudos demonstram que pessoas idosas estão entre o segmento da sociedade mais sedentário e fisicamente inativo (Peterson *et al.*, 2010; Lee *et al.*, 2017). Os efeitos deletérios da inatividade física em idosos estão diretamente relacionados à incidência de quedas e doenças como hipertensão, doenças cardiovasculares, diabetes, câncer, acidente vascular cerebral, doenças de Parkinson e Alzheimer (Manso e Ribeiro, 2012; Lee *et al.*, 2017).

Diferentes estudos apresentam evidências apoiando a hipótese de que intervenções ambientais como a adequada alimentação e, principalmente, o exercício físico podem atenuar ou reverter parcialmente o declínio cognitivo e motor, além de reduzir o risco de quedas (Cotaman *et al.*, 2007; Radak *et al.*, 2013). Recentemente nosso grupo de pesquisa observou que modalidades de exercício físico foram capazes de melhorar o desempenho da memória aversiva em animais idosos (de Meireles *et al.*, 2019). Neste contexto, sugere-se o exercício físico como um importante instrumento profilático e terapêutico (Kramer *et al.*, 1999; Sundstrup *et al.*, 2016; Delezie e Handschin, 2018).

O exercício físico pode desencadear diferentes mudanças, dependendo de vários fatores, incluindo modalidade, frequência, duração e intensidade. Essa classificação depende da intensidade do esforço realizado pelo indivíduo e pode ser mensurada pela capacidade de captação e utilização do oxigênio inspirado para gerar trabalho, comumente chamada de taxa de consumo máximo de oxigênio (VO_2 máx) (Hambrecht *et al.*, 1998; Drummond *et al.*, 2005). A intensidade do exercício pode ser expressa como percentual do VO_2 máx ou frequência cardíaca (FC) máxima. Exercícios de intensidade moderada são realizados a uma intensidade relativa de 40% a 60% do VO_2 máx, enquanto que exercícios intensos acontecem a mais de 60% do VO_2 máx (Thompson *et al.*, 2003). Para uma sessão de treinamento ser considerada moderada, a FC do indivíduo deve ser entre 50 e 70% da FC

máxima, já em exercícios de treinamento intenso a frequência desejada será de 70 a 85% da FC máxima (Tao *et al.*, 2015). Para otimizar as contrações musculares durante o exercício físico, a atividade dos sistemas cardiovascular, respiratório, metabólico e neuroendócrino é modulada (Delezie e Handschin, 2018). O exercício físico tem sido relacionado à atenuação da diminuição da massa muscular, da força, da velocidade, das capacidades regenerativas e metabólicas do músculo esquelético na população idosa (Figura 1).

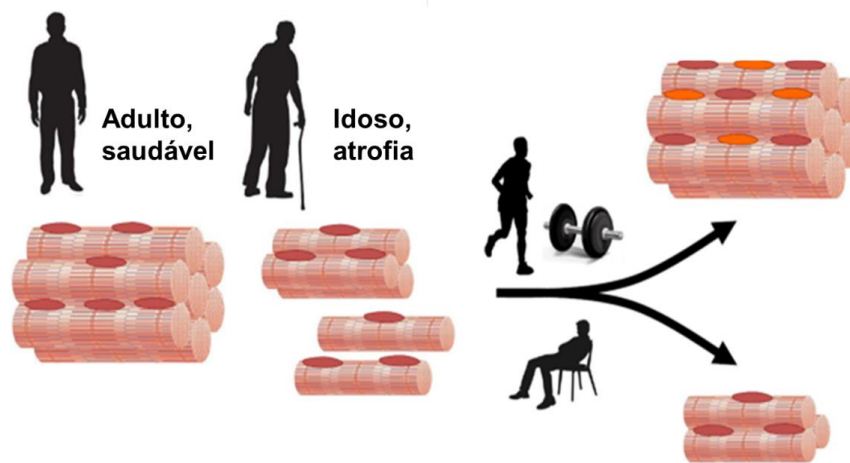


Figura 1 - Atrofia muscular relacionada ao envelhecimento e o impacto do exercício físico (Adaptado de Cartee *et al.*, 2017)

Considerando as especificidades de cada modalidade de exercício físico, sugere-se a inclusão de um treinamento de modalidades combinadas (Garberet *al.*, 2011). O *American Heart Association and America College of Sport Medicine* recomenda a combinação de exercício aeróbico, de força e de equilíbrio para pacientes idosos com o objetivo de promover melhora na capacidade funcional, independência física e também a melhora do desempenho cognitivo (Chodzko-Zajko *et al.*, 2005; Nelson *et al.*, 2007). Existem evidências que o treinamento combinado induz melhora de força, potência muscular e função cardiorrespiratória em idosos (Kavavirta *et al.*, 2011, Cadore *et al.*, 2013). Bann e colaboradores (2016) sugerem que uma combinação de exercícios aeróbico e de força para a população idosa como uma estratégia para melhorar tanto funções neuromuscular e cardiorrespiratória como, conseqüentemente, para manter a capacidade funcional durante o envelhecimento.

É interessante que tanto o treinamento aeróbico, quanto o treino de força, são procurados por indivíduos idosos para aprimorar aptidão física, e já existem estudos

que observam que a combinação dessas modalidades por 12 meses produzem um efeito funcional, reduzindo a incidência de quedas (Barnett *et al.*, 2003). Aspectos relacionados à marcha na população idosa também apresentaram uma melhora após a combinação de diferentes protocolos de exercício físico durante 3 e 12 meses (Kim *et al.*, 2012; Freiburger *et al.*, 2012).

Neste contexto, modelos animais são utilizados para estudar mecanismos de ação pelos quais o exercício físico protege ou reestabelece a massa muscular, a força e as funções motoras e cerebrais no envelhecimento (Matthews *et al.*, 2009; Garcia-Valles *et al.*, 2013; Gill *et al.*, 2017; Vilela *et al.*, 2018; Máderová *et al.*, 2019; de Meireles *et al.*, 2019; Gao *et al.*, 2020)

Dentre as modalidades de exercício físico, o treinamento aeróbico é um dos mais estudados. O treinamento aeróbico pode induzir adaptações centrais e periféricas que melhoram VO₂ máx e a capacidade do músculo esquelético gerar energia através do metabolismo oxidativo (Izquierdo *et al.*, 2004). Estudos em humanos demonstram que a prática regular de exercício aeróbico durante a vida melhora aspectos da função executiva, diminui a perda neuronal relacionada com a idade, melhora o controle motor em idosos (Tseng *et al.*, 2013). Trabalhos pré-clínicos também demonstraram efeitos benéficos do exercício sobre a função cognitiva, onde protocolos de exercício com duração entre 1 e 3 meses melhoraram a memória em roedores em diferentes testes comportamentais (Ben *et al.*, 2010; Hopkins *et al.*, 2011; Pietrelli *et al.*, 2012).

O treinamento de força é outra modalidade de exercício físico empregada na população idosa com descrição de bons resultados funcionais, como a melhora de equilíbrio e de força muscular, atenuação da hipotrofia muscular, diminuição de quedas e adaptações neurais, tais como o aumento no recrutamento de unidades motoras (Seene e Kaasik, 2016; Sharples *et al.*, 2016). Estudos demonstram que o treinamento de força pode ser uma ferramenta útil para prevenir ou tratar a perda de massa muscular relacionada à idade e outras doenças relacionadas ao envelhecimento (Deschenes *et al.*, 2015).

Na população idosa, o treino de equilíbrio é investigado especialmente com a prática do Tai Chi (Wayne *et al.*, 2014; Kim *et al.*, 2016), são observadas melhoras tanto de equilíbrio e coordenação, quanto de aspectos cognitivos. Em modelos animais, o treinamento acrobático exige que os animais desenvolvam equilíbrio, coordenação e aprendizado motor (Anderson *et al.*, 1996), habilidades para uso dos

membros posteriores e coordenação dos membros anteriores (Chu e Jones, 2000). Assim sendo, pode-se sugerir que o exercício físico é essencial para um envelhecimento saudável e que modalidades podem trazer benefícios à saúde da população idosa. No entanto, os mecanismos pelos quais esses benefícios ocorrem ainda não estão totalmente elucidados.

1.3 MÚSCULO ESQUELÉTICO

Nos seres humanos, o tecido muscular esquelético compreende cerca de 40% da massa corporal total (Frontera e Ochala, 2015; Schinyder e Handaschin, 2015; Huh, 2018). O músculo esquelético é um dos tecidos mais dinâmicos responsável pela manutenção postural, locomoção, respiração e termorregulação (Frontera e Ochala, 2015; Lee e Jun, 2019). O músculo esquelético é responsável por grande parte do metabolismo oxidativo e da captação de glicose estimulada pela insulina. Além disso, como local de armazenamento de glicogênio e triglicerídeos, o músculo esquelético é coordenador importante do metabolismo energético (Schinyder e Handaschin, 2015; Delizie e Handschin, 2018).

O músculo esquelético é composto por miofibrilas, estruturas multinucleadas que são formadas pela fusão de vários mioblastos durante o processo de miogênese (Jansen e Pavlath, 2006). Os músculos esqueléticos adultos são compostos de vários tipos de fibras, sendo caracterizados quanto ao tipo de contração e classificados em dois grupos, de contração lenta ou de contração rápida (Hoppeler *et al.*, 2011). A composição do músculo em relação aos diferentes tipos de fibras depende da função do músculo. Músculos posturais como o sóleo, possuem maior proporção de fibras de contração lenta, oxidativas e resistentes à fadiga, enquanto os músculos envolvidos em atividades rápidas e que exigem força, como por exemplo, os músculos gastrocnêmio e bíceps braquial, possuem maior quantidade de fibras de contração rápida, glicolíticas e altamente fatigáveis. Nos seres humanos, a classificação mais frequentemente usada para os músculos incluem três tipos de fibras musculares: tipo I (contração lenta, oxidativa), IIa (contração rápida, glicolítica-oxidativa) e IIb (contração rápida, glicolítica). As fibras do tipo I apresentam maior sensibilidade e responsividade à insulina, são pequenas,

produzem baixa tensão, mas são altamente resistentes à fadiga porque possuem maior densidade mitocondrial, são efetivas em metabolizar ácidos graxos para produzir energia e trabalham para manter a postura. Por outro lado, as fibras do tipo II são mais sensíveis aos estímulos de contração, são de maiores calibres, produzem enorme tensão, mas apresentam pouca resistência à fadiga e trabalham para controlar movimentos mais explosivos. Nos roedores, as fibras tipo I e tipo IIa são consideradas oxidativas, enquanto o tipo IIx e o tipo IIb são mais glicolíticas (Schiaffino e Reggiani, 2011; Frontera e Ochala, 2015; Carter, Justice e Thompson, 2019).

As fibras musculares esqueléticas do tipo II apresentam uma redução de número e volume celular durante o envelhecimento enquanto as fibras do tipo I são menos afetadas (Deschenes, 2004). Com o envelhecimento, as fibras do tipo II são perdidas seletivamente, enquanto as fibras do tipo I são preservadas (Zhang *et al.*, 2006). Diferentes mecanismos foram propostos elucidar o motivo pelo qual as fibras do tipo II são mais suscetíveis aos efeitos do envelhecimento (Deschenes, 2004). Esses incluem capacidade regenerativa reduzida e exaustão de células-tronco, senescência celular, sinalização intercelular pró-inflamatória, resistência à insulina e detecção desregulada de nutrientes, disfunção mitocondrial, estresse oxidativo, lipotoxicidade e desnervação da fibra muscular. No entanto, ainda não foi estabelecido até que ponto esses mecanismos levam à perda ou atrofia das fibras musculares do tipo II (Deschenes, 2004; Nilwik *et al.*, 2013; Wilkinson, Piasescki e Atherton, 2018; Carter, Justice e Thompson, 2019).

O músculo esquelético também apresenta células satélites que são pequenas células miogênicas mononucleadas e fusiformes. Essas células estão localizadas entre o sarcolema e a lâmina basal e contribuem para o crescimento muscular, reparo e regeneração (Hikida, 2011; Frontera e Ochala, 2015). Essas células contribuem para o crescimento do músculo no embrião e no período pós-natal e são quiescentes no adulto. Têm potencial para, quando ativadas, se diferenciarem em mioblastos, se duplicarem ou migrarem para região lesionada e fundirem-se às células musculares acelerando o processo regenerativo (Frontera e Ochala, 2015; Snijders *et al.*, 2015; MacKay *et al.*, 2019).

Observações recentes em roedores e humanos demonstraram que o músculo esquelético é capaz produzir e liberar miocinas e outros peptídeos em resposta a contração. As miocinas produzidas pelo músculo esquelético em resposta a

contração muscular incluem as interleucinas 4 e 6 (IL4 e IL6), a irisina, a miostatina, o fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) e o fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF). Atualmente, existe um interesse crescente por estas miocinas e seu papel nos efeitos benéficos do exercício físico (Delezie e Handschin, 2018; Kim *et al.*, 2019)

As miocinas são liberadas pelas células musculares em resposta à contração (Pedersen *et al.*, 2007). As miocinas desempenham papel na regulação autócrina do metabolismo nos músculos, bem como na regulação parácrina e endócrina (Huh, 2017; Delezie e Handschin; 2018; Coelho-Junior *et al.*, 2019) de outros tecidos e órgãos como o tecido adiposo, fígado e cérebro (Carson, 2017; Delezie e Handschin, 2018; Lee e Jun, 2019) através de seus receptores (Bortoluzzi *et al.*, 2006; Henningsen *et al.*, 2010; Delezie e Handschin, 2018).

1.4 FATOR NEUROTRÓFICO DERIVADO DO CÉREBRO

Originalmente descoberto no cérebro, o BDNF também é expresso por tecidos periféricos (Shimizu *et al.*, 2003; Pedersen, 2019), incluindo músculo esquelético, músculo cardíaco, fígado, tecido adiposo e plaquetas (Noble *et al.*, 2011; Huh, 2017).

Inicialmente, o BDNF é sintetizado como um precursor, o pró-BDNF, o qual é clivado para gerar o BDNF maduro (Yang *et al.*, 2009). O BDNF maduro é considerado a forma biologicamente ativa. Estudos, mostraram uma possível relação para o pró-BDNF e o BDNF maduro, com relevantes implicações para o direcionamento de rotas celulares diferentes, através da interação a receptores distintos. O pró-BDNF possui maior afinidade ao p75NTR, e juntamente com o correceptor sortilina, favorece uma rota pró-apoptótica. A ligação BDNF maduro com o receptor TrkB é responsável pelo controle do desenvolvimento e a manutenção dos seus alvos-celulares, refletindo uma sinalização anti-apoptótica. O BDNF maduro é preferencialmente direcionado para uma rota regulada, e o pró-BDNF secretado sinaliza para uma via constitutiva (Delezie *et al.*, 2019).

Chevrel e colaboradores (2006) relataram que o BDNF é expresso diferencialmente nos músculos esqueléticos de acordo com condições fisiológicas e

patológicas. Os estudos de Yamamoto e colaboradores (1996) e Shibayama e Koizumi (1996) têm demonstrado a presença de BDNF e seu receptor TrkB no músculo esquelético de mamíferos, incluindo o homem.

Estudos *in vitro* e *in vivo* demonstraram que durante o desenvolvimento embrionário, o BDNF é expresso tanto em células musculares precursoras como em diferenciadas. A ausência condicional de BDNF em células precursoras de músculo de camundongo altera a miogênese e regeneração *in vivo*. Experimentos funcionais *in vitro* demonstraram que silenciar o gene BDNF ou bloquear sua atividade em culturas de mioblastos dificultaram a miogênese. Esses efeitos seriam produzidos por meio de um eixo de sinalização BDNF-p75NTR, uma vez que os miócitos expressariam p75NTR, mas não TrkB (Colombo *et al.*, 2013).

Estudos demonstram que o exercício físico pode aumentar os níveis circulantes de BDNF em humanos (Ferris, Willians e Shen, 2007; Walsh *et al.*, 2016). Matthews e colaboradores (2009) demonstraram que a produção de mRNA e da proteína do BDNF pelo músculo esquelético humano após 2 horas de exercício de bicicleta ergométrica. Outros estudos também evidenciam que os níveis de BDNF são aumentados no músculo esquelético em resposta ao exercício (Gómez-Pinilla *et al.*, 2002; Sakura e Yamaguchi, 2011).

O BDNF muscular parece estar principalmente envolvido na sinalização autócrina e parácrina para promover oxidação de gordura pelas fibras musculares (Matthews *et al.*, 2009) e potencialmente estar envolvido na miogênese e, conseqüentemente, em situações onde ocorre sarcopenia, como no envelhecimento por exemplo. O BDNF também desempenharia papel na sinalização retrógrada nos neurônios motores localizados na medula espinhal (Pedersen *et al.*, 2007; Delezie e Handschin, 2018; Lee e Jun, 2019)

No músculo esquelético, o BDNF atuaria na manutenção, proliferação e diferenciação das células satélites (Mousavi *et al.*, 2006), bem como na remodelação das fibras musculares (Clow e Jasmin, 2010), sugerindo que o BDNF pode desempenhar papel na mediação da célula satélite em resposta à lesão muscular (Omura *et al.*, 2005; Clow e Jasmin, 2010; Yu *et al.*, 2017; Lee e Jun, 2019). Clow e Jasmin (2010), usando um modelo de camundongo com deficiência de BDNF muscular, demonstraram que o BDNF regula a diferenciação das células satélites. Os resultados destes estudos, sugerem que o BDNF pode desempenhar um papel importante na mediação da resposta da célula satélite à lesão muscular e

regeneração muscular esquelética. Outros estudos sugerem que o BDNF produzido pelo músculo esquelético após o exercício também esteja envolvido com os efeitos benéficos do exercício físico na cognição e memória atuando de forma endócrina (Figura 2).

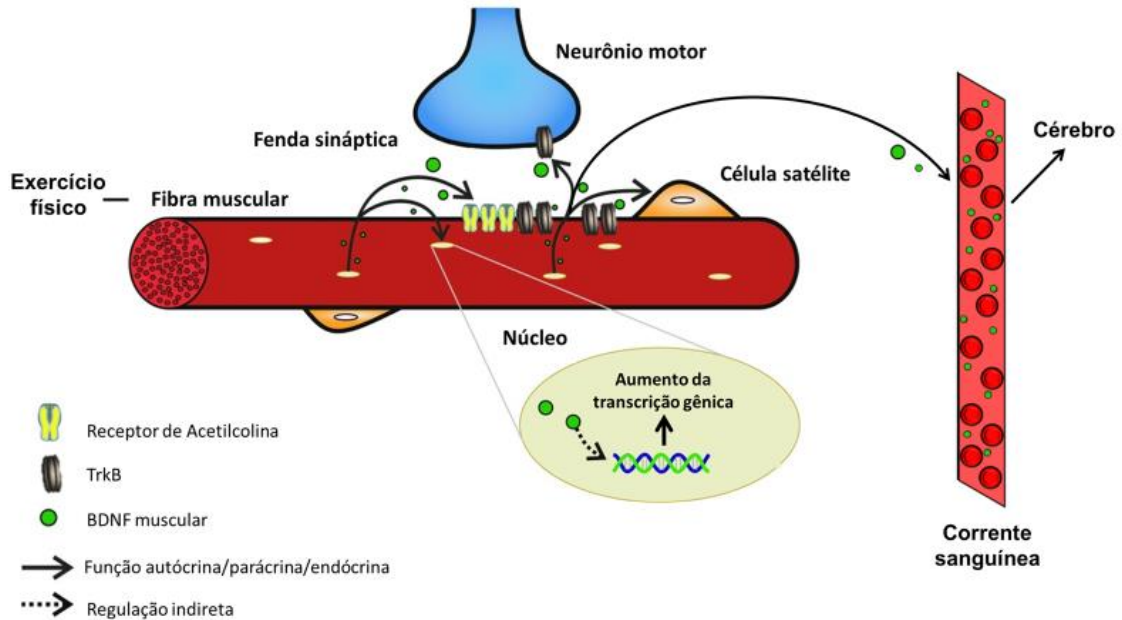


Figura 2 – Diagrama esquemático das funções do BDNF muscular – O exercício aumenta a expressão de BDNF no músculo esquelético. O BDNF poderia atuar com fator autócrino para influenciar a expressão gênica. Como fator parácrino, o BDNF poderia regular a diferenciação de células satélites. No cérebro, o BDNF poderia atuar de forma endócrina (Adaptado de Delezie *et al.*, 2019).

Foi descrito na literatura que o BDNF atua via receptor TrkB para regular a manutenção e função da sinapse no sistema neuromuscular (Hurtado *et al.*, 2017; Delezie *et al.*, 2019) por meio de um efeito pré-sináptico e na manutenção de estrutura das junções neuromusculares, efeitos que diminuem ou desaparecem com o envelhecimento (Greising *et al.*, 2015; Hurtado *et al.*, 2017; Simó *et al.*, 2018) (Figura 2). De acordo com esta função, o BDNF também é expresso em áreas próximas às sinapses mioneurais. Estudos sugerem que o BDNF derivado do músculo esquelético atuaria como um fator de sobrevivência para os neurônios motores no sistema neuromuscular (Mousavi e Jasmin, 2006).

Compreender como o sistema BDNF/TrkB muscular funciona e como benefícios terapêuticos podem ser alcançados, especialmente na velhice, quando a massa muscular e funções cognitivas e motoras se deterioram é fundamental. Portanto, para compreender melhor a expressão e a via de sinalização do BDNF

muscular e do seu receptor TrkB, investigamos se modalidades de exercício físico poderiam induzir mudanças nos níveis de BDNF e TrkB no tecido muscular esquelético de ratos Wistar em diferentes idades.

2. HIPÓTESE

Nossas hipóteses são que o processo de envelhecimento altere os níveis e a via de sinalização do BDNF em músculo gastrocnêmio de ratos Wistar; e, as modalidades de exercício (aeróbico, acrobático, de força e a combinação destas) modulariam de maneira protocolo e idade-dependente a via de sinalização do BDNF em músculo esquelético, amenizando e/ou revertendo o efeito do envelhecimento

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

- Estudar os efeitos do envelhecimento e de quatro modalidades de exercício físico (treinamento aeróbico, treinamento de força, treinamento acrobático e treinamento combinado) sobre os níveis de BDNF e seu receptor TrkB em músculo gastrocnêmio de ratos Wistar de diferentes idades.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar o efeito do envelhecimento sobre os níveis de pró-BDNF, BDNF maduro e receptor TrkB, em músculo gastrocnêmio de ratos Wistar
- Avaliar os níveis de pró-BDNF, BDNF maduro e receptor TrkB em músculo gastrocnêmio de ratos Wistar adultos e envelhecidos submetidos a

modalidades de exercício físico, 3 sessões por semana de 20 minutos, durante 12 semanas.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 ANIMAIS

Para este estudo foram utilizados 40 ratos Wistar de 2 e 22 meses fornecidos pelo Centro de Reprodução e Experimentação de Animais de Laboratório (CREAL) da UFRGS, após aprovação pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA-UFRGS 29818). Os animais adultos permaneceram em grupos de no máximo 4 e os envelhecidos em grupos de 2 animais por caixas de Plexiglass (40 x 33,3 x 17 cm), com troca de maravalha a cada dois dias e condições padrão de biotério (ciclo de 12h claro/escuro), com temperatura 21°C ($\pm 2^\circ\text{C}$) e umidade 60% (± 10) controladas e água e comida fornecidas à vontade, e posteriormente foram divididos em dez grupos experimentais, conforme o desenho experimental (Figura 3).

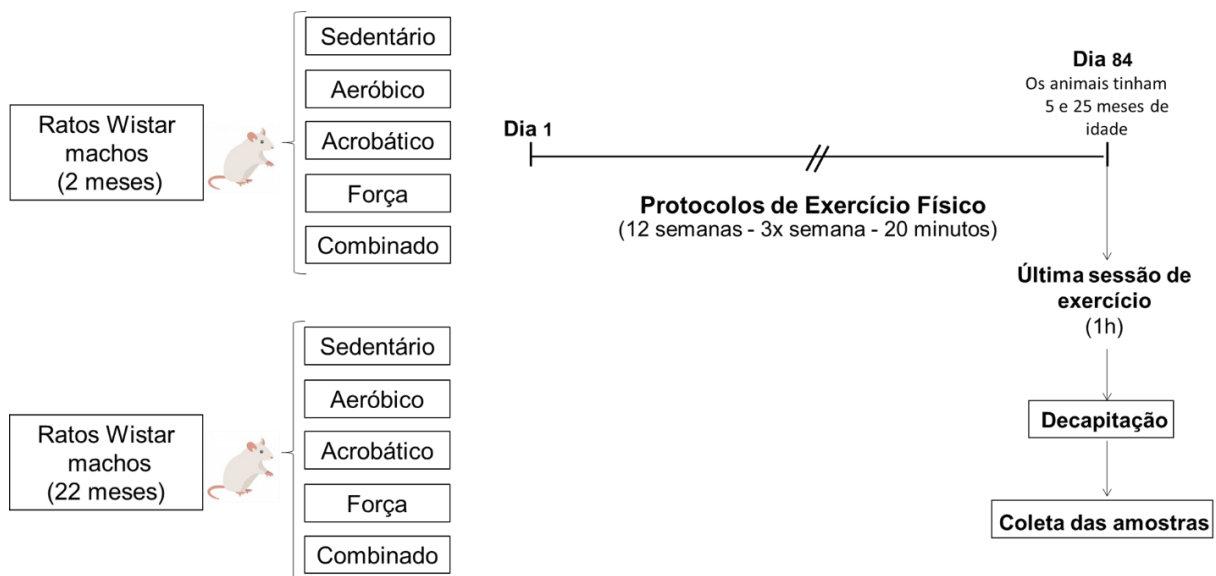


Figura 3 – Desenho Experimental

Os ratos Wistar adultos jovens e envelhecidos foram randomicamente divididos em 5 grupos (n=4): sedentário, aeróbico, acrobático, força e combinado.

Todos os grupos experimentais, exceto o grupo sedentário, foram submetidos a 20 minutos de exercício, 3 vezes por semana durante 12 semanas. Todos os animais foram habituados a cada modalidade por meio da exposição aos diferentes aparatos uma semana antes do início dos protocolos de exercício. Nenhum choque ou estímulo físico foi utilizado nesse estudo. Todos os procedimentos ocorreram entre às 14 e 17 horas.

Cabe descrever que a escolha do tempo de exercício foi baseada em achados neuroprotetores. Inicialmente nosso grupo de pesquisa avaliou o efeito de protocolos de exercício de diferentes intensidades sobre a susceptibilidade ao evento isquêmico *in vitro* – a privação de oxigênio e glicose – em fatias hipocâmpais de ratos Wistar, onde a corrida em esteira ergométrica, durante 60 min/dia por 2 semanas aumentou o dano induzido por privação de oxigênio e glicose. Entretanto, o dano isquêmico foi reduzido em animais exercitados em protocolos de exercício físico moderado, corrida em esteira ergométrica durante 20 min/dia, por 2 semanas, quando comparado ao grupo controle (Scopel *et al.*, 2006). Assim, nosso grupo tem estudado o efeito de 20 minutos de exercício físico por sessão (Lovatel *et al.*, 2012; Lovatel *et al.*, 2013; Lovatel *et al.*, 2014; de Meireles *et al.*, 2019; Barcellos *et al.*, 2020). Além disto, estudos que avaliam os efeitos de exercício de intensidade moderada utilizam como tempo de treinamento 20 minutos (Abe, *et al.*, 1990; Yang *et al.* 1995; Larsen, Skalicky e Viidik, 2000; Rubinacci *et al.*, 2008; Chen *et al.*, 2016; Spindler *et al.*, 2019; Tarawan *et al.*, 2019).

Recentemente, de Meirelles e colaboradores (2019) demonstraram que as modalidades de exercício melhoraram a taxa de sobrevivência e o desempenho da memória aversiva em animais envelhecidos.

4.2 MODALIDADES DE EXERCÍCIO FÍSICO

4.2.1 Treinamento aeróbico

O protocolo de treinamento aeróbico consistiu em corrida em esteira ergométrica adaptada para ratos (INBRAMED TK 01, Porto Alegre, Brasil) (Scopel *et*

al., 2006; Cechetti *et al.*, 2007) (Figura 4). Para determinar a velocidade de corrida, foi utilizada a medida de consumo máximo de oxigênio indireto (VO_2 máx) (Brooks e White, 1978). Os animais foram submetidos à corrida em esteira com velocidade progressiva (5 m/min a cada 3 min) até atingirem a exaustão (incapacidade do rato em continuar a correr – tempo de fadiga). O tempo de fadiga (em minutos) e a velocidade máxima (em m/min) foram tomados como 100% da capacidade de exercício e utilizados para a mensuração de VO_2 máx indireto. Além de ser usado para determinação inicial da intensidade do treino, essa medida foi repetida a cada três semanas para progressão da velocidade, totalizando 4 verificações.

Os animais do grupo aeróbico foram submetidos à corrida na esteira durante 20 minutos, 3 vezes por semana, durante 12 semanas a uma intensidade de 60% do VO_2 máx entre às 14h e 17h (Spindler *et al.*, 2015), diariamente, segundo protocolo neuroprotetor proposto por Elsner e colegas (2011).



Figura 4 – Esteira ergométrica adaptada para ratos

4.2.2 Treinamento de força

O protocolo de treinamento de força foi adaptado de Gil e colaboradores (2015), utilizando uma escada vertical (1 m de comprimento, posicionada com um ângulo de 85°) contendo uma caixa escura no seu topo (20 x 20 x 20 cm) (Cassilhas *et al.*, 2012) (Figura 5). O peso para o treinamento de força foi determinado através

do teste de uma repetição máxima (1RM) adaptado para ratos realizado antes do treinamento. Os animais subiram a escada duas vezes com 50% do peso corporal acoplado à cauda. Após a conclusão bem-sucedida desta tarefa, 30 g foram adicionadas para novo teste (2 subidas na escada e 2 minutos de intervalo) isso foi repetido até que os animais não conseguiram subir a escada e o peso registrado como sobrecarga máxima. Os animais iniciaram o protocolo de exercício subindo com 50% da sobrecarga máxima presa à cauda. A cada 3 semanas, 10% da sobrecarga máxima foi adicionada, até atingir o máximo de 80% da sobrecarga nas últimas 3 semanas. Os animais realizaram oito repetições com o peso fixado em sua cauda. O tempo de duração de cada sessão do treino de força foi em torno de 20 minutos, como descrito acima foi realizado três vezes por semana durante 12 semanas.

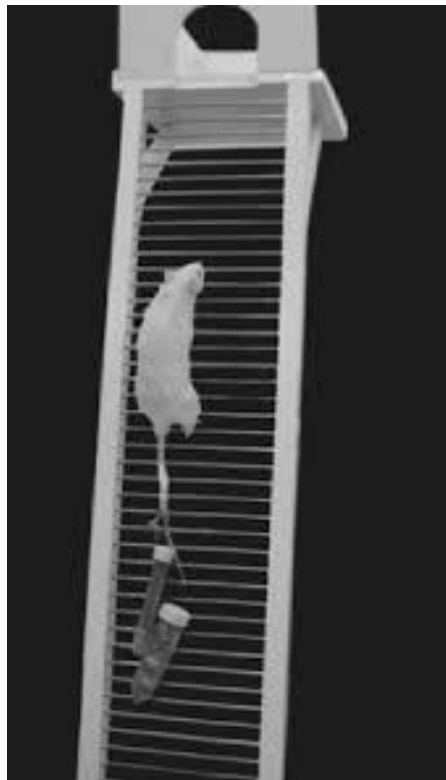


Figura 5 – Equipamento usado para a realização do treinamento de força em ratos

4.2.3 Treinamento acrobático

O treinamento acrobático foi adaptado conforme protocolo de Jones e colaboradores (1999). Em cada sessão de treinamento os animais precisavam completar 5 atividades 6 vezes: (1) atravessar uma escada horizontal (100 cm de comprimento, 3 cm entre os degraus), (2) atravessar obstáculos (barreiras de 5 a 21 cm de altura), (3) atravessar uma gangorra, (4) andar sobre uma barra estreita (90 cm de comprimento e 10 cm de largura) e (5) andar sobre uma corda suspensa (100 cm de comprimento 5 cm de largura) (Figura 6). A cada 3 semanas, os obstáculos foram alterados, as barras e a corda foram estreitadas e o espaço entre os degraus da escada foram aumentados a fim de aumentar a dificuldade do treinamento (Black *et al.*, 1990). O tempo total de duração de cada sessão do treino acrobático foi em torno de 20 minutos, o treino foi realizado três vezes por semana durante 12 semanas.

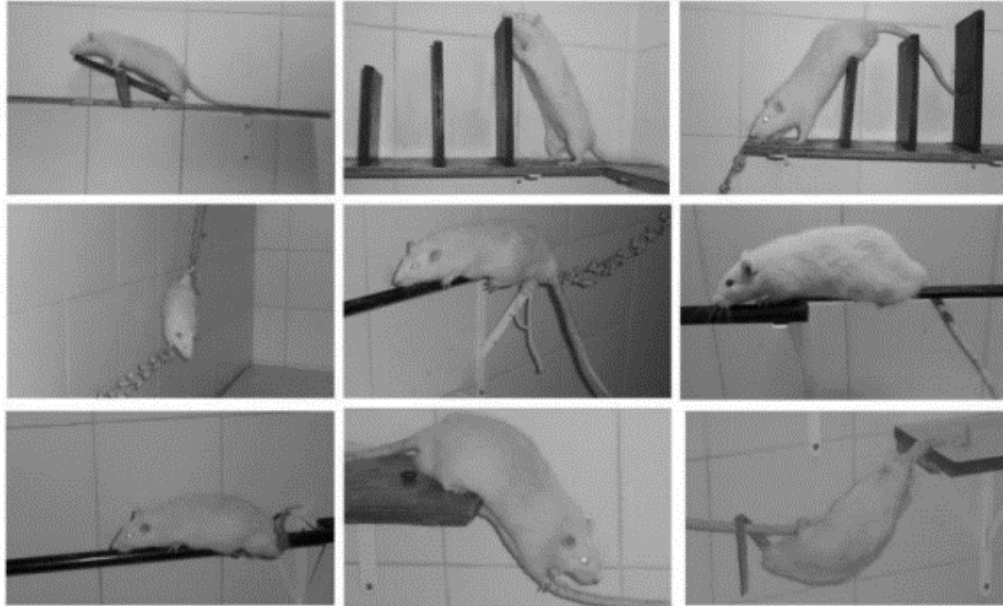


Figura 6 – Treinamento acrobático

4.2.4 Treinamento Combinado

O treinamento combinado consistiu na união dos protocolos de exercícios: aeróbico, força e acrobático. Cada sessão consistia de 6 minutos de exercício aeróbico, 6 minutos de exercício de força e 6 minutos de exercício de equilíbrio/coordenação. O teste de VO_2 máx e o de 1RM foram determinados da mesma forma como descritos nos protocolos de exercícios aeróbico e de força. O tempo de duração de cada sessão do treino combinado foi de aproximadamente 20 minutos, o treinamento foi realizado três vezes por semana durante 12 semanas.

4.2.5 Animais do grupo sedentário

Os animais dos grupos sedentários adulto e envelhecido receberam manipulação semelhante aos exercitados. Foram colocados na esteira desligada ou aparato do treino acrobático e força sem carga.

4.3 PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS

Os animais foram submetidos à decapitação, método aceito com restrição, conforme as “Diretrizes da Prática de Eutanásia do CONCEA”, em ambiente apropriado com baixa luminosidade, silencioso e longe de outros animais por pesquisador com treinamento e experiência. O ambiente foi cuidadosamente higienizado antes do ingresso do animal na sala

Os animais foram decapitados, 1 hora após a última sessão de exercício (Elsner *et al.*, 2011; Gomez-Pinilla *et al.*, 2011), em guilhotina adaptada para roedores (Insight®) sem anestesia prévia para não impactar parâmetros bioquímicos estudados no músculo gastrocnêmio e em estruturas encefálicas.

A escolha do tempo de 1 hora após a última sessão de exercício ocorreu porque nosso grupo de pesquisa demonstrou que o exercício físico aeróbico

melhora o desempenho de memória aversiva no paradigma da esQUIVA inibitória, quando testados 1 hora após a última sessão de exercício, sem diferenças significativas nos tempos de 18 horas, 3 e 7 dias (Lovatel *et al.*, 2012). Ainda, as modalidades de exercício aqui testadas induziram diferenças significativas no desempenho de memória aversiva, alteraram marcas epigenéticas no promotor do gene do BDNF em hipocampo (de Meireles *et al.*, 2019) e, comparando as modalidades, observamos níveis aumentados de BDNF em vesículas extracelulares de ratos Wistar envelhecidos submetidos ao protocolo aeróbico (Barcellos *et al.*, 2020).

Os músculos gastrocnêmios das patas direita e esquerda foram rapidamente dissecados, congelados em nitrogênio líquido, e armazenados em freezer - 80° C até o dia da realização dos ensaios bioquímicos. Neste estudo, focamos na avaliação do músculo gastrocnêmio devido ao fato de ser um músculo predominantemente glicolítico, sensíveis aos estímulos de contração, de contração rápida envolvido em movimentos de força (Schiaffino e Reggiani, 2011; Frontera e Ochala, 2015; Carter, Justice e Thompson, 2019). Além disso, Delizie e colaboradores (2019) verificaram que o BDNF regula a identidade do tipo de fibra do músculo glicolítico.

Para realização dos ensaios, as amostras foram homogeneizadas de acordo com as especificações de cada ensaio bioquímico.

4.4 IMUNOCONTEÚDO DE PROTEÍNAS

As amostras de tecido muscular, gastrocnêmio, 20 mg, foram homogeneizadas em tampão de lise (RIPA 1x, 400 µL por amostra) contendo inibidores de proteases (PIK:PMSF, 100:1) e detergente e homogeneizadas com a utilização do homogeneizador Tissue Ruptor (Qiagen®) em pulso de 40 segundos. As amostras foram centrifugadas utilizando a centrífuga 5424 R (Eppendorf®) a 7.000 x g por 15 minutos a 4° C para descartar *debris* celulares, e o sobrenadante foi coletado e utilizado no ensaio de *Western Blotting*. A quantidade de proteína total de cada amostra foi quantificada pelo método de Bradford (1976). Foram submetidas 50 µg de proteínas totais, de cada amostra, à eletroforese em gel de dodecilsulfato de sódio-poliacrilamida (SDS-PAGE) a 10%. A eletroforese iniciou com 80 V por 30 min,

seguida de mais 90 min a 120 V. Após a eletroforese, as proteínas foram transferidas para uma membrana de nitrocelulose. A transferência se deu por imersão em tampão contendo Tris 20 mmol/L, glicina 150 mmol/L, metanol 30% (V/V) e SDS 0,02% (P/V) (pH=8,3) em uma cuba de transferência Bio-Rad® resfriada durante 90 min a 100 V. Após os sítios de proteínas inespecíficas foram bloqueados com BSA a 3% em TTBS (NaCl 138 mM, Tris 25 mM, pH=8,0 e Tween-20 a 0,1%) à temperatura ambiente por 1 h sob agitação. As membranas foram incubadas durante a noite a 4° C (pelo menos por 16 h), sob agitação, com os anticorpos primários que foram avaliados neste estudo. As membranas foram processadas por imunodeteção usando os seguintes anticorpos primários: anticorpo primário monoclonal anti-BDNF de coelho (Abcam, cat. ab108319, diluição de 1:1000) para BDNF maduro (15 kDa) e pró-BDNF (28 kDa) e anticorpo primário policlonal receptor anti-tirosina quinase B (Bioss, cat. bs-0175R, diluição 1:1000) para TrkB (90 kDa). Após a incubação com anticorpos primários, as membranas foram lavadas 3 x com TTBS, e incubadas com o anticorpo secundário Goat *anti-rabbit* IgG H&L (Abcan, cat ab205718, diluição 1:5000) por 2 h em temperatura ambiente sob agitação. Após, as membranas foram lavadas com TBS (2 mM Tris-HCl, 140 mM NaCl, pH= 7,4). As membranas com os anticorpos específicos foram reveladas por quimiluminescência, sendo utilizado um kit comercial de ECL de acordo com as especificações do fabricante (Thermo Scientific, Pierce™ ECL *Western Blotting* Substrate cat. 32106). A reação de quimiluminescência foi detectada pelo analisador de IBRIGHT C1000 (Thermofischer®). A densitometria das bandas foi analisada usando o software Image J® (NIH, Bethesda, MD, USA).

Os pesos moleculares das bandas foram determinados por referência a um marcador de peso molecular padrão (RPN 800 rainbow full range Bio-Rad, CA, USA). Os resultados foram normalizados pelo método do Ponceau (Klen *et al.*, 1995)

5. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Ao final dos experimentos, os dados coletados foram armazenados e organizados em uma planilha (Microsoft Excel 2010). Os resultados foram analisados quanto a sua normalidade utilizando o teste de Levene. Os dados que

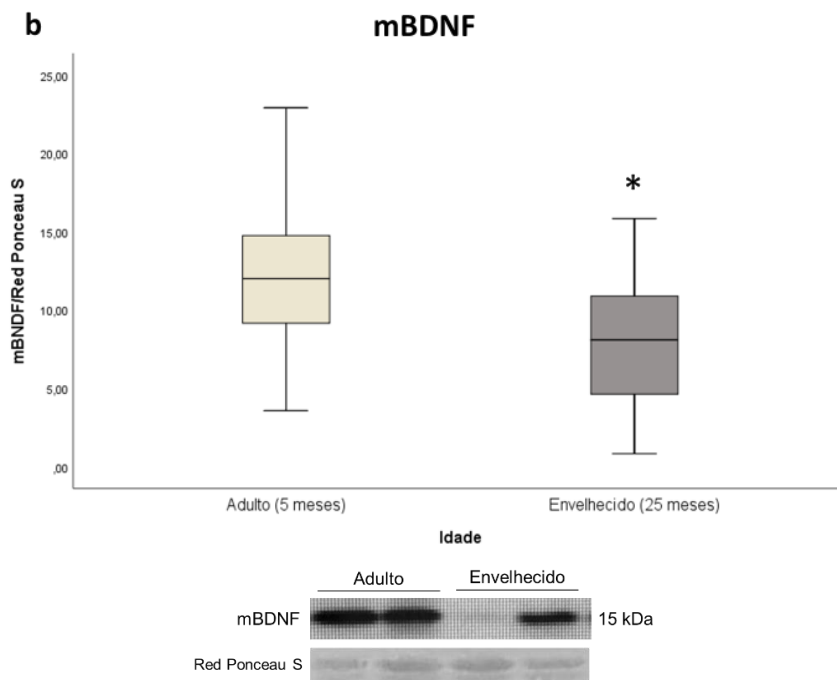
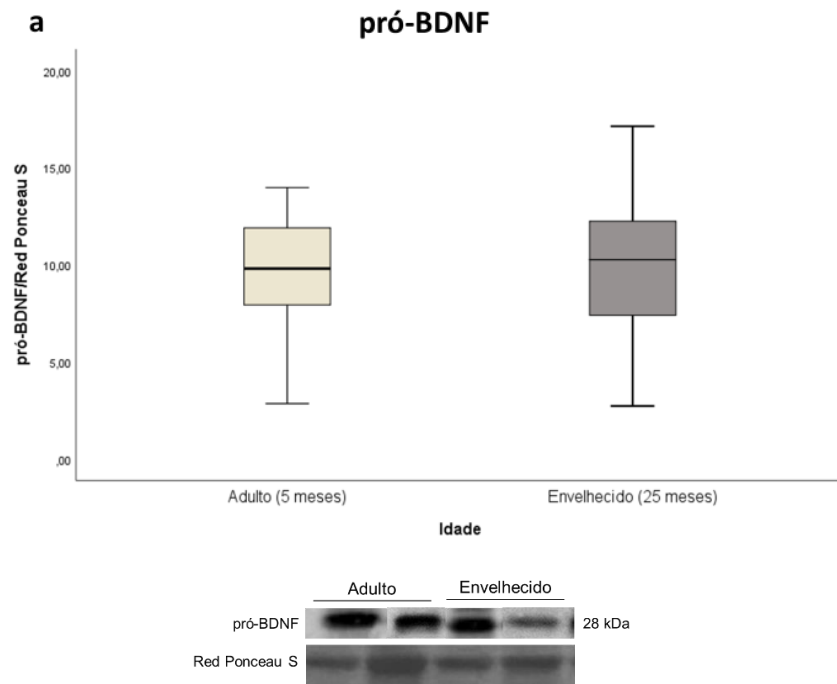
seguiram a distribuição normal foram analisados pelo teste t de Student, seguido de post hoc de Dunnett, onde foi considerado o fator idade. Os resultados cuja distribuição foi não paramétrica foram analisados através do teste Kruskal-Wallis, seguido de post hoc de Dunn. Todos os testes foram realizados usando o programa estatístico Statal Package for the Social Science (SPSS), versão 20.0. Os dados paramétricos foram expressos em média \pm desvio padrão. Os dados não paramétricos foram expressos em medianas (intervalos interquartis 25/75). Em todos os testes, foi considerado $P < 0,05$ como significativo.

6. RESULTADOS

6.1 EFEITOS DO ENVELHECIMENTO SOBRE A SINALIZAÇÃO DO BDNF EM MÚSCULO ESQUELÉTICO DE RATOS

Inicialmente, foram analisadas as alterações relacionadas à idade nos níveis de pró-BDNF, mBDNF e TrkB em músculo gastrocnêmio de ratos Wistar. O processo de envelhecimento não impactou os níveis de pró-BDNF em músculo gastrocnêmio de ratos Wistar (teste t de Student; $P=0,62$) (Figura 7a).

O teste t de Student indicou níveis reduzidos de BDNF maduro em animais envelhecidos ($P=0,04$) em comparação aos animais adultos (Figura 7b). Observamos também um efeito da idade sobre os níveis do receptor TrkB (teste t de Student; $P=0,04$) em animais envelhecidos (Figura 7c). Os animais envelhecidos exibiram níveis mais altos de TrkB em músculo gastrocnêmio em comparação com o grupo adulto.



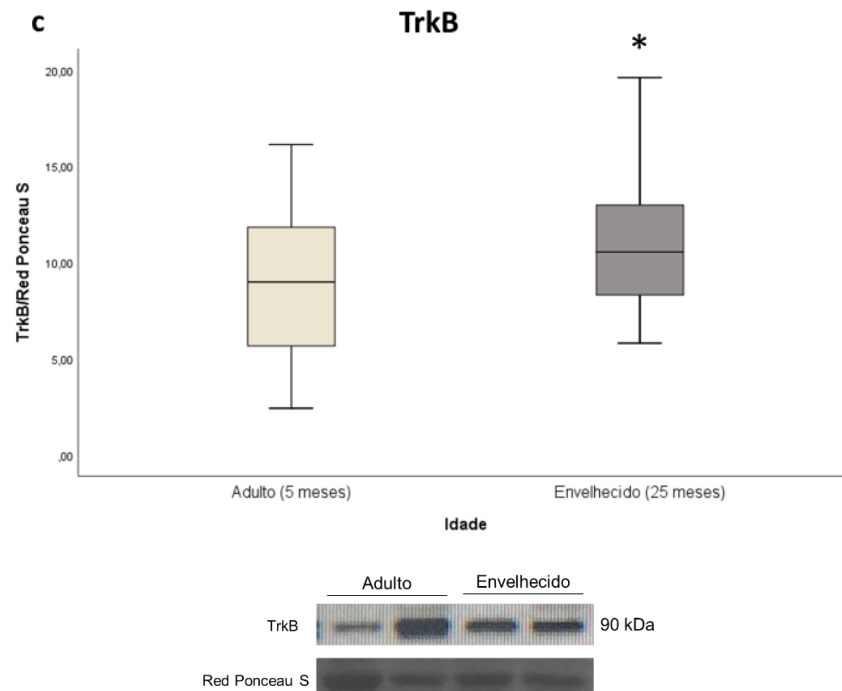
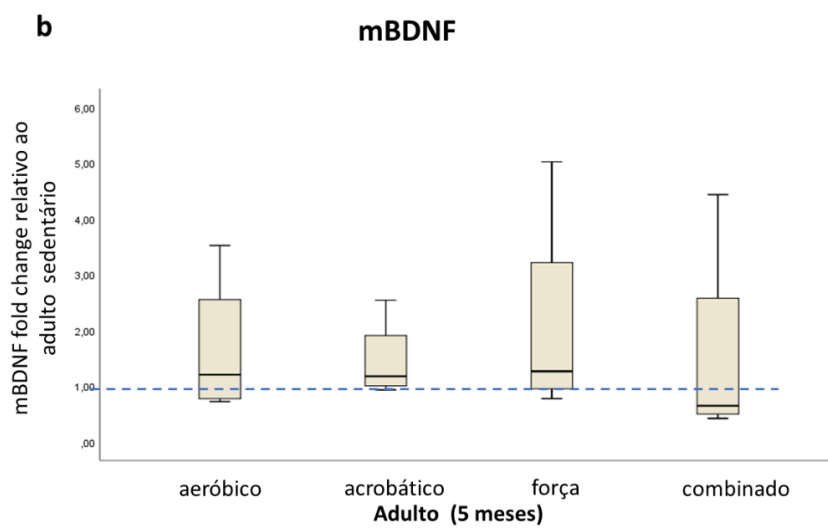
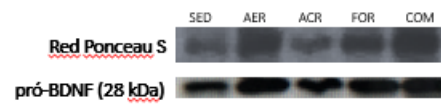
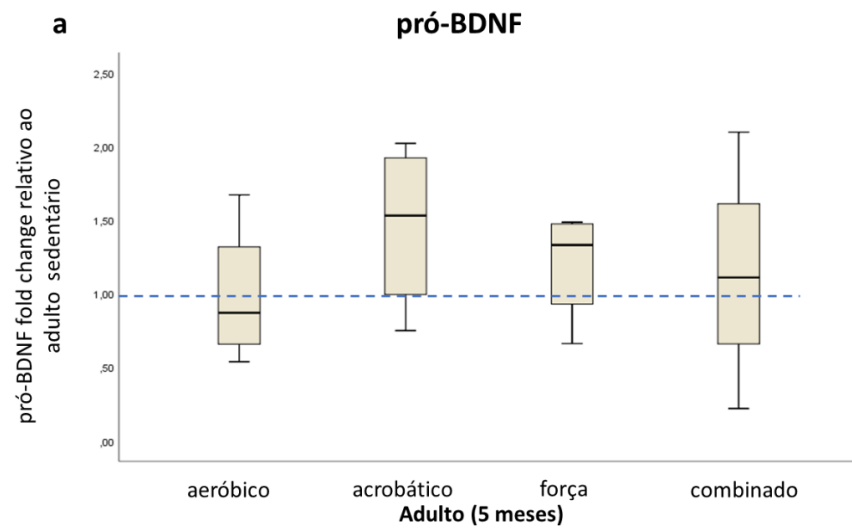


Figura 7 – Efeito do envelhecimento na via de sinalização do BDNF em músculo gastrocnêmio de ratos Wistar. (a) Efeito do envelhecimento nos níveis de pró-BDNF. (b) Efeito do envelhecimento nos níveis de mBDNF. (c) Efeito do envelhecimento nos níveis do TrkB. *Valores do teste t de Student significativamente diferentes do grupo de animais de 5 meses de idade. Os dados estão expressos como média \pm desvio padrão ($P < 0,05$; $n = 4$ animais por grupo em relação ao pró-BDNF e mBDNF; $n = 3$ animais por grupo no TrkB) e os valores absolutos foram normalizados por Red Ponceau S.

6.2 EFEITOS DE MODALIDADES DE EXERCÍCIO FÍSICO SOBRE A SINALIZAÇÃO DO BDNF EM MÚSCULO GASTROCNÊMIO DE RATOS ADULTOS

Avaliamos se as modalidades de exercício alteram a sinalização do BDNF, níveis de pró-BDNF, mBDNF e TrkB, em músculos gastrocnêmios de animais adultos.

Não foi possível identificar diferenças significativas nos níveis de pró-BDNF ($KW = 2,92$; $P = 0,57$), mBDNF ($KW = 3,55$; $P = 0,47$) e TrkB ($KW = 0,60$; $P = 0,96$) em músculo gastrocnêmio de ratos Wistar adultos nos protocolos de treinamento físico realizados (Figura 8).



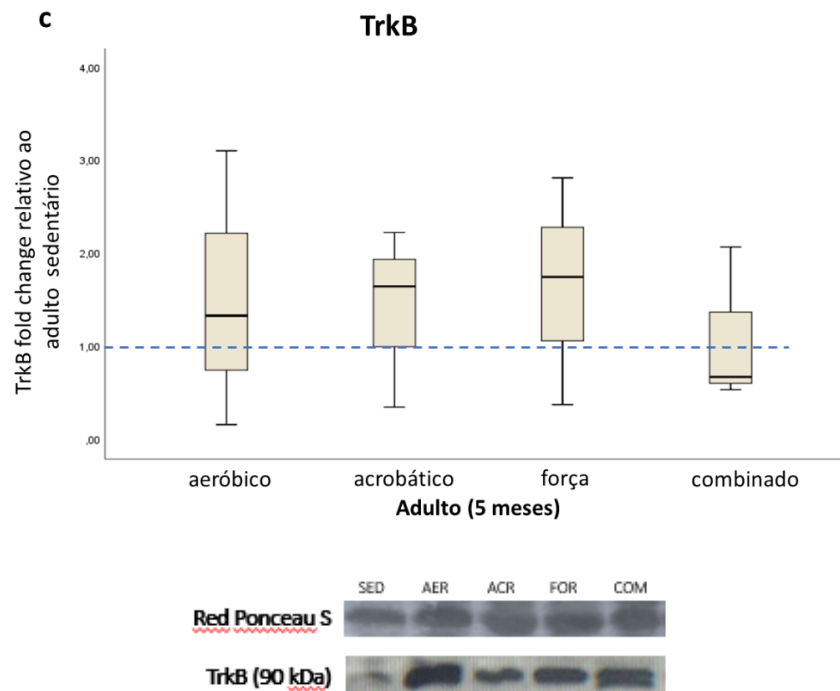
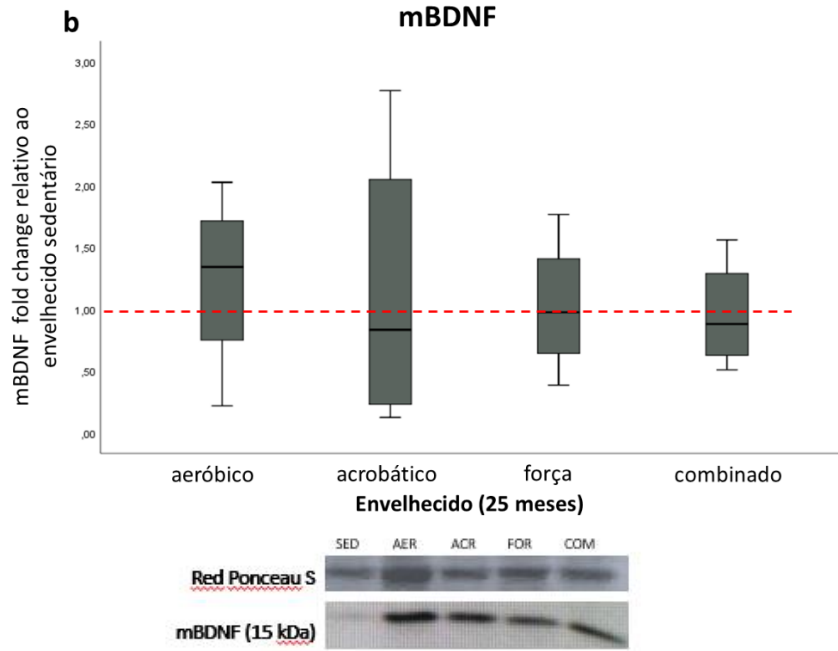
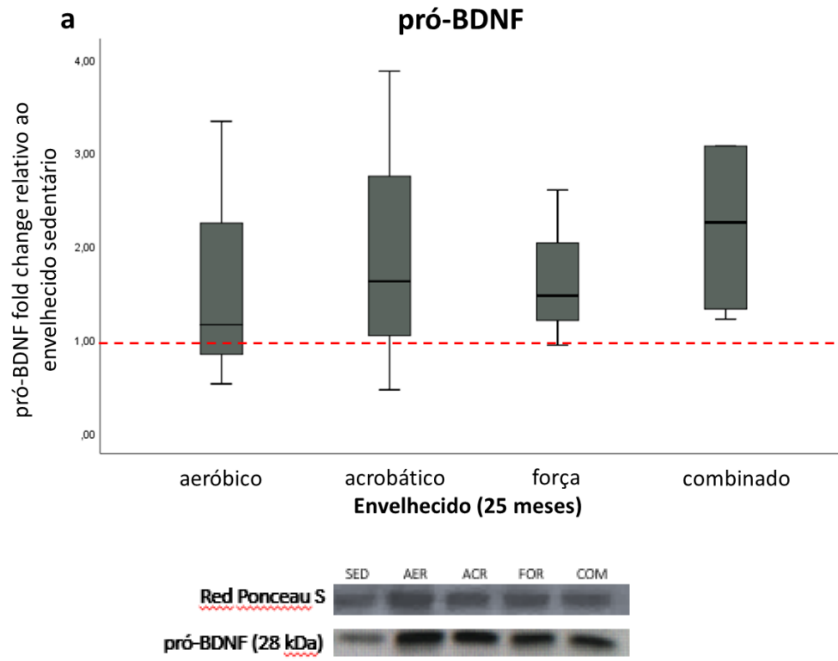


Figura 8 – Sinalização do BDNF em músculo gastrocnêmio de ratos Wistar adultos submetidos a modalidades de exercício físico durante 12 semanas (a) Níveis de pró-BDNF. (b) Níveis de mBDNF. (c) Níveis de TrkB. Os resultados foram expressos em medianas e intervalos interquartis da expressão gênica relativa ao grupo sedentário (Fold Change, linha azul refere-se ao grupo sedentário) e foram analisados estatisticamente com Kruskal-Wallis ($P < 0,05$; $n = 4$ animais por grupo em relação ao pró-BDNF e mBDNF; $n = 3$ animais por grupo no TrkB).

6.3 EFEITO DE MODALIDADES DE EXERCÍCIO FÍSICO SOBRE A SINALIZAÇÃO DO BDNF EM MÚSCULO GASTROCNÊMIO DE RATOS WISTAR ENVELHECIDOS

Não foi possível identificar diferenças significativas nos níveis de pró-BDNF ($KW = 0,39$; $P = 0,98$), mBDNF ($KW = 0,79$; $P = 0,94$) e TrkB ($KW = 04,67$; $P = 0,32$) em músculo gastrocnêmio de ratos Wistar envelhecidos submetidos a quaisquer modalidades de exercício físico testados (Figura 9)



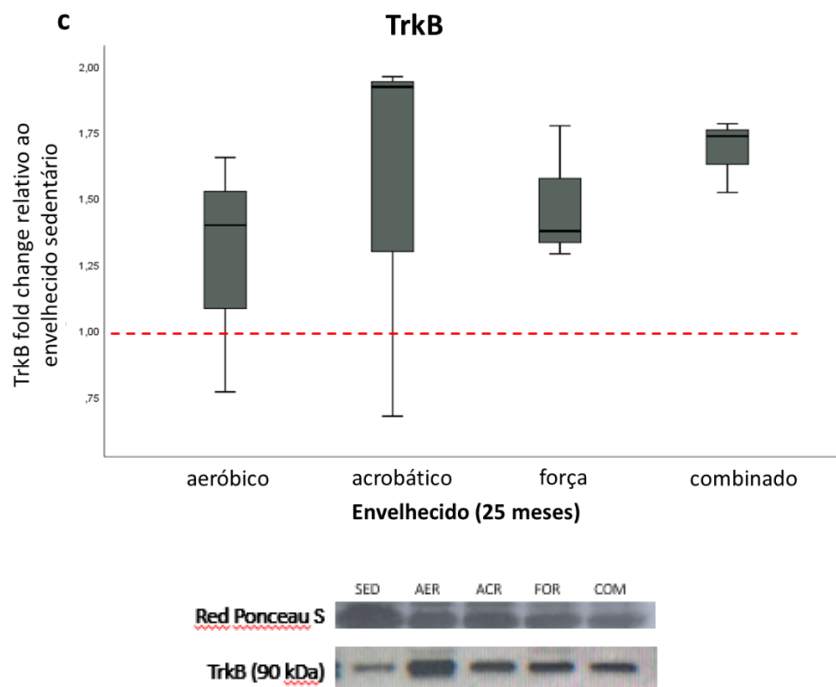


Figura 9 – Sinalização do BDNF em músculo gastrocnêmio de ratos Wistar envelhecidos submetidos a modalidades de exercício físico durante 12 semanas (a) Níveis de pró-BDNF. (b) Níveis de mBDNF. (c) Níveis de TrkB. Os resultados foram expressos em medianas e intervalos interquartis da expressão gênica relativa ao grupo sedentário (Fold Change, linha vermelha refere-se ao grupo sedentário) e foram analisados estatisticamente com Kruskal-Wallis ($P < 0,05$; $n = 4$ animais por grupo em relação ao pró-BDNF e mBDNF; $n = 3$ animais por grupo no TrkB).

7. DISCUSSÃO

Nossos dados demonstram que alterações na sinalização do BDNF estão relacionadas ao envelhecimento muscular em ratos, no entanto, não foi possível demonstrar um efeito agudo (1 hora após a última sessão de exercício) de modalidades de exercício, tanto em ratos adultos, quanto em envelhecidos. Embora frequentemente as propriedades benéficas do exercício sejam associadas ao aumento de níveis de BDNF, do nosso conhecimento, este trabalho tem a primazia de estudar o impacto de modalidades: aeróbica, acrobática, força e combinada de exercício sobre a sinalização do BDNF em músculo gastrocnêmio de ratos adultos e envelhecidos.

É interessante descrever que nossos dados demonstram uma redução nos níveis de BDNF maduro em músculo gastrocnêmio de ratos Wistar envelhecidos

(Figura 7b). De acordo com nossos achados, outros grupos musculares também apresentam níveis reduzidos de BDNF; os músculos diafragmas de camundongos envelhecidos também apresentaram menores níveis de BDNF (Greising *et al.*, 2017). Outro estudo também sugere que com o envelhecimento há uma redução na produção endógena de BDNF nos neurônios motores frênicos que precede alterações na expressão e/ou atividade do TrkB (Elliott *et al.*, 2016). Esta diminuição dos níveis de mBDNF está bem descrita na literatura quando se refere ao SNC e aos níveis plasmáticos (Calabrese *et al.*, 2013; Forti *et al.* 2015; Belviranli e Okadun, 2018; Máderová *et al.*, 2019). Foi relatado também uma tendência de redução do mRNA do BDNF muscular em músculo tríceps sural de ratos envelhecido (Ming *et al.*, 1999). Considerando os papéis do BDNF, tanto trófico às células musculares quanto nas junções neuromusculares (Greising *et al.*, 2015; Hurtado *et al.*, 2017; Simó *et al.*, 2018), podemos sugerir que a redução dos níveis no tecido muscular esquelético pode contribuir para a sarcopenia relacionada ao envelhecimento.

Observamos que músculos gastrocnêmios de animais envelhecidos apresentaram níveis maiores do receptor TrkB comparados aos animais de 5 meses (Figura 7c). É relevante destacar que trabalhos que utilizaram diferentes grupos musculares de camundongos apresentaram um padrão contrário de resposta ao envelhecimento. O músculo sóleo de camundongos envelhecidos apresentou uma expressão reduzida de TrkB (Kulakowski, Parker e Personius, 2011). Outro estudo com o músculo sóleo de camundongos envelhecidos constatou uma expressão diminuída da proteína TrkB em animais de 24 meses (Personius e Parker, 2013). O músculo diafragma de camundongo TrkB^{F616A} sugere que a redução do BDNF endógeno precede a atividade reduzida do TrkB (Greising *et al.*, 2015). Sakuma e Yamaguchi (2011) também não conseguiram verificar diferenças na expressão de BDNF muscular em músculo sóleo de ratos Wistar de 2 a 12 semanas de idade. As diferenças podem estar relacionadas a diferentes variáveis, como as espécies e grupos musculares estudados como sugerido por Greising e colaboradores (2015).

Ainda o processo de envelhecimento parece não interferir nos níveis de pró-BDNF, uma vez que não foram observadas diferenças significativas entre os animais de 5 e 25 meses de idade (Figura 7a).

Como descrito acima, as modalidades de exercício, aeróbica, força, acrobática e a combinação das modalidades, não apresentaram um efeito agudo (1

hora após a última sessão de exercício) sobre a sinalização do BDNF em músculo gastrocnêmio de ratos adultos e envelhecidos.

É notável citar que todas as modalidades de exercícios reduziram a taxa de mortalidade e melhoraram o desempenho da memória em ratos envelhecidos (de Meireles *et al.*, 2019), o que pode impactar na saúde geral durante o processo de envelhecimento.

Embora frequentemente várias ações benéficas do exercício sejam relacionadas ao aumento dos níveis de BDNF, nossos dados refutam a hipótese de que a sinalização do BDNF está envolvida com o impacto do exercício físico em músculo esquelético, especificamente o gastrocnêmio.

Segundo diferentes autores, o músculo é capaz de produzir BDNF, mas resultados conflitantes foram verificados em resposta ao exercício. A expressão do BDNF muscular ao nível de proteína parece depender da atividade e do tipo de célula muscular. Não há consenso sobre os efeitos do exercício físico sobre o BDNF em músculo.

O efeito da contração muscular nos níveis de BDNF é controverso. Alguns protocolos de exercícios mostraram aumentos do BDNF em músculo esquelético, enquanto outros não (Gómez-Pinilla *et al.*, 2001; Cuppini *et al.*, 2007; Ogborn e Gardiner, 2010). A expressão do BDNF muscular ao nível da proteína depende da atividade e do tipo de célula muscular: exercício crônico de alta intensidade reduz o nível de BDNF em músculos rápidos e aumenta os níveis de BDNF-mRNA em músculos lentos (Jiménez-Maldonado *et al.*, 2016).

A resposta do BDNF muscular também parece estar relacionada a diferentes modalidades de exercício (Jiménez-Maldonado *et al.*, 2018). Recentemente Antunes e colaboradores (2019) estudaram a resposta do BDNF após sessões de exercícios agudos realizado em intensidades baixa, moderada e alta. Exercício de alta intensidade leva à diminuição dos níveis de BDNF e foi observado que os indivíduos com níveis de menor aptidão física teve maiores aumentos no BDNF em exercícios intensos intensidade. Os autores concluem que o exercício de alta intensidade parece ser mais eficiente em aumentar a concentração de BDNF em curto prazo. Matthews e colaboradores (2009) verificaram que a contração das células musculares aumenta os níveis de mRNA-BDNF Além disso, o tempo em que a expressão do BDNF foi regulada em resposta ao exercício permanece incerto. Neste estudo, não observamos alterações significativas induzidas pelas modalidades

testadas sobre os níveis de pró-BDNF, mBDNF ou TrkB tanto em animais de 5 meses quanto de 25 meses (Figuras 8 e 9). Corroborando com nossos dados sobre os animais adultos, em uma sessão de treinamento de força não foram detectados efeitos significativos nos níveis de BDNF e TrkB em músculos sóleo e flexor longo do hálux de ratos de Wistar, vinte e quatro horas após a sessão de treinamento (Eslami, Gharakhsnlou e Parnow, 2018). Estudos com os músculos diafragma e elevador *auris longus* de ratos Sprague-Dawley verificaram que a contração muscular induzida através da estimulação elétrica de nervo aumenta os níveis de mBDNF sem afetar os níveis de pró-BDNF e não afeta os níveis do receptor de alta afinidade, TrkB (Hurtado *et al.*, 2017). Belvirani e Okudan (2018) constataram que ratas Wistar jovens (4 meses) e envelhecidas (20 meses) sedentárias apresentavam menores níveis de BDNF cardíaco, hepático e plasmático em comparação a ratas jovens e envelhecidas treinadas por 12 semanas em exercício voluntário em roda de corrida.

É de nota que processos adaptativos podem estar relacionados aos nossos protocolos de treinamento físico que foram realizados durante 12 semanas, uma vez que ratos Sprague-Dawley exercitados em esteira em velocidade de até 20 m/min com uma inclinação de 5%, apresentaram, em músculo sóleo, maior expressão, mRNA de BDNF após 5 dias (184%), mas não em 10 dias de exercício. Os níveis de TrkB não foram afetados em nenhum momento (Ogborn e Gardiner, 2019). Foi verificado que breves períodos de treinamento em esteira durante 5 dias produzem aumentos no mRNA de BDNF em músculo sóleo (Gómez-Pinilla *et al.*, 2001; Cuppini *et al.*, 2007). Um estudo envolvendo ratos espontaneamente hipertensos e normotensos submetidos a 5 semanas de treinamento aeróbico não apresentaram aumento na expressão da proteína BDNF em músculo quadríceps (Wang *et al.*, 2019).

Corroborando com nossos achados, um estudo envolvendo tanto o treinamento de aeróbico quanto o treinamento de força verificou que estes protocolos não afetaram os níveis de BDNF em músculo gastrocnêmio de ratos envelhecidos (Vilela *et al.*, 2018). Em ratos diabéticos Zucker 8 semanas de treinamento de força inibiu a elevação da expressão de BDNF em músculos sóleo concomitante à melhora da força muscular (Kim *et al.*, 2015). Em estudos com ratas Sprague-Dawley que realizaram um protocolo de exercício de treinamento contínuo em esteira, foi verificado um aumento nos níveis de BDNF em músculo gastrocnêmio

48 h após a última sessão de exercício nos animais 8 meses em comparação aos animais de 26 meses (Gao *et al.*, 2020).

Conforme discutido anteriormente, alguns estudos verificam um aumento no mRNA e na proteína BDNF após um curto período de exercício (menos de 7 dias), enquanto outros observam apenas um aumento no mRNA do BDNF (Gómez-Pinilla *et al.*, 2001) ou proteína BDNF (Gómez-Pinilla *et al.*, 2002; Cuppini *et al.*, 2007; Ogborg *et al.*, 2010; Lee *et al.*, 2017, Yu *et al.*, 2017). Também foi observada uma falta de efeito do exercício ou até mesmo uma diminuição nos níveis de BDNF muscular (Jiménez-Maldonado *et al.*, 2016).

Ainda, autores sugerem que o aumento dos níveis plasmáticos de BDNF induzido pelo exercício pode ter se originado no músculo esquelético (Zoladz e Pilac, 2010). Máderová e colaboradores (2019) ao investigar os efeitos do exercício aeróbico agudo e do treinamento de força durante 3 meses em humanos jovens e idosos verificou que o exercício aeróbico agudo aumentou transitoriamente os níveis de BDNF sérico em não praticantes de exercícios físicos, mas não em jovens ou adultos treinados. Esse mesmo estudo, demonstrou que o exercício aeróbico agudo resultou em um declínio nos níveis de BDNF plasmático 1 h pós-exercício em jovens e idosos treinados. A diversidade de protocolos de exercícios físicos, os músculos analisados e o tempo de morte após a última sessão de exercício podem implicar na disparidade dos dados da literatura.

É importante destacar que os efeitos funcionais do exercício em animais idosos, relatados anteriormente (de Meireles *et al.*, 2019) não podem ser atribuídos aos níveis de BDNF muscular, uma vez que todas as modalidades de exercício não impactaram na via de sinalização do BDNF no músculo gastrocnêmio de ratos Wistar. Contudo, são necessários mais estudos para que possamos estabelecer quais são os benefícios promovidos pelas modalidades de exercício.

Este estudo apresenta algumas limitações, dados sobre níveis de glicogênio muscular, de BDNF plasmático ou ainda a avaliação em diferentes tempos de morte dos animais poderia elucidar mais o efeito do exercício físico em animais envelhecidos e adultos.

8. CONCLUSÕES

Este estudo indicou uma diminuição significativa nos níveis de BDNF nos ratos envelhecidos, enquanto os níveis do receptor TrkB aumentaram nos ratos envelhecidos, quando comparado aos adultos. Assim, fornecemos evidências de que de alterações na sinalização BDNF/TrkB que podem contribuir para a sarcopenia relacionada ao processo de envelhecimento.

Por outro lado, verificamos que as modalidades de treinamento aeróbico, acrobático, força e a combinação destas, realizadas 3 sessões por semana de 20 minutos por 12 semanas não alteraram os níveis de BDNF e do receptor TrkB em músculo gastrocnêmio, obtido uma hora após a última sessão de exercício, de ratos Wistar adultos e envelhecidos.

9. PERSPECTIVAS

Nossas perspectivas são estudar os mecanismos epigenéticos ligados à alteração da sinalização do BDNF muscular durante o processo de envelhecimento e avaliar esses parâmetros em outros tempos, como o de 24 horas após a última sessão de exercício e /ou outros mecanismos de ação para a melhor compreensão dos efeitos de modalidades de exercício com vistas à prescrição individualizada de exercícios, respeitando as necessidades e características dos idosos, aumentando a adesão ao programa de exercícios.

10. REFERÊNCIAS

AAGAARD, Per et al. Role of the nervous system in sarcopenia and muscle atrophy with aging: strength training as a countermeasure. **Scandinavian journal of medicine & science in sports**, v. 20, n. 1, p. 49-64, 2010.

ABE, Takashi et al. Relationship between exercise-induced changes in serum and hepatic cholesterol metabolism in rats. **The Annals of physiological anthropology**, v. 9, n. 4, p. 321-327, 1990.

ANDERSON, Brenda J.; ALCANTARA, Adriana A.; GREENOUGH, William T. Motor-skill learning: changes in synaptic organization of the rat cerebellar cortex. **Neurobiology of learning and memory**, v. 66, n. 2, p. 221-229, 1996.

ANTUNES, Barbara Moura et al. Short-time high-intensity exercise increases peripheral BDNF in a physical fitness-dependent way in healthy men. **European journal of sport science**, v. 20, n. 1, p. 43-50, 2020.

BANN, David et al. Socioeconomic differences in the benefits of structured physical activity compared with health education on the prevention of major mobility disability in older adults: the LIFE study. **J Epidemiol Community Health**, v. 70, n. 9, p. 930-933, 2016.

BARCELLOS, Natália et al. Effects of exercise modalities on BDNF and IL-1 β content in circulating total extracellular vesicles and particles obtained from aged rats. **Experimental gerontology**, v. 142, p. 111124, 2020.

BARNETT, Anne et al. Community-based group exercise improves balance and reduces falls in at-risk older people: a randomised controlled trial. **Age and ageing**, v. 32, n. 4, p. 407-414, 2003.

BELVIRANLI, Muaz; OKUDAN, Nilsel. 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.

BEN, Juliana et al. Running exercise effects on spatial and avoidance tasks in ovariectomized rats. **Neurobiology of learning and memory**, v. 94, n. 3, p. 312-317, 2010.

BLACK, James E. et al. Learning causes synaptogenesis, whereas motor activity causes angiogenesis, in cerebellar cortex of adult rats. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 87, n. 14, p. 5568-5572, 1990.

BORTOLUZZI, Stefania et al. Computational reconstruction of the human skeletal muscle secretome. **PROTEINS: Structure, Function, and Bioinformatics**, v. 62, n. 3, p. 776-792, 2006.

BRADFORD, Marion M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, n. 1-2, p. 248-254, 1976.

BROOKS, George A.; WHITE, Timothy P. Determination of metabolic and heart rate responses of rats to treadmill exercise. **Journal of applied physiology**, v. 45, n. 6, p. 1009-1015, 1978.

BUDUI, Simona L.; ROSSI, Andrea P.; ZAMBONI, Mauro. The pathogenetic bases of sarcopenia. **Clinical cases in mineral and bone metabolism**, v. 12, n. 1, p. 22, 2015.

BURKS, Tyeshia N.; COHN, Ronald D. One size may not fit all: anti-aging therapies and sarcopenia. **Aging (Albany NY)**, v. 3, n. 12, p. 1142, 2011.

CADORE, Eduardo Lusa et al. Neuromuscular adaptations to concurrent training in the elderly: effects of intrasession exercise sequence. **Age**, v. 35, n. 3, p. 891-903, 2013.

CARSON, Brian P. The potential role of contraction-induced myokines in the regulation of metabolic function for the prevention and treatment of type 2 diabetes. **Frontiers in Endocrinology**, v. 8, p. 97, 2017.

CARTEE, Gregory D. et al. Exercise promotes healthy aging of skeletal muscle. **Cell metabolism**, v. 23, n. 6, p. 1034-1047, 2016.

CARTER, Christy S.; JUSTICE, Jamie N.; THOMPSON, La Dora. Lipotoxicity, aging, and muscle contractility: does fiber type matter? **Geroscience**, p. 1-12, 2019.

CASSILHAS, Ricardo Cardoso et al. Resistance exercise improves hippocampus-dependent memory. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 45, n. 12, p. 1215-1220, 2012.

CECHETTI, Fernanda et al. Effect of treadmill exercise on cell damage in rat hippocampal slices submitted to oxygen and glucose deprivation. **Brain Research**, v. 1157, p. 121-125, 2007.

CENSO, I.B.G.E. Disponível em: <<https://censo2020.ibge.gov.br/>>. Consultado em 02/2020

CESARI, Matteo. Perspective: Protein supplementation against sarcopenia and frailty: Future perspectives from novel data. **Journal of the American Medical Directors Association**, v. 14, n. 1, p. 62-63, 2013.

CHEN, Lin - Mu et al. O exercício de corrida protege os capilares da substância branca em um modelo de depressão em ratos. **Journal of Comparative Neurology**, v. 524, n. 17, pág. 3577-3586, 2016.

CHEVREL, Guillaume; HOHLFELD, Reinhard; SENDTNER, Michael. The role of neurotrophins in muscle under physiological and pathological conditions. **Muscle & Nerve: Official Journal of the American Association of Electrodiagnostic Medicine**, v. 33, n. 4, p. 462-476, 2006.

CHODZKO-ZAJKO, Wojtek et al. The National Blueprint for Promovendo Atividade Física na População de Meia-Idade e Adultos Idosos. **Quest**, v. 57, n. 1, p. 2-11, 2005.

CHU, Catherine J.; JONES, Theresa A. Experience-dependent structural plasticity in cortex heterotopic to focal sensorimotor cortical damage. **Experimental neurology**, v. 166, n. 2, p. 403-414, 2000.

CLOW, Charlene; JASMIN, Bernard J. Brain-derived neurotrophic factor regulates satellite cell differentiation and skeletal muscle regeneration. **Molecular biology of the cell**, v. 21, n. 13, p. 2182-2190, 2010.

COELHO-JUNIOR, Hélio J. et al. If my muscle could talk: Myokines as a biomarker of frailty. **Experimental gerontology**, v. 127, p. 110715, 2019.

COTMAN, Carl W.; BERCHTOLD, Nicole C.; CHRISTIE, Lori-Ann. Exercise builds brain health: key roles of growth factor cascades and inflammation. **Trends in neurosciences**, v. 30, n. 9, p. 464-472, 2007.

CRUZ-JENTOFT, Alfonso J. et al. Sarcopenia: European consensus on definition and diagnosis Report of the European Working Group on Sarcopenia in Older People. A. J. Cruz-Gentoft et al. **Age and ageing**, v. 39, n. 4, p. 412-423, 2010.

CUPPINI, Riccardo et al. BDNF expression in rat skeletal muscle after acute or repeated exercise. **Archives italiennes de biologie**, v. 145, n. 2, p. 99-110, 2007.

DE MEIRELES, Louisiana Carolina Ferreira et al. Exercise Modalities Improve Aversive Memory and Survival Rate in Aged Rats: Role of Hippocampal Epigenetic Modifications. **Molecular Neurobiology**, v. 56, n. 12, p. 8408-8419, 2019.

DE SOUZA, Rosangela Ferreira; SKUBS, Thais; BRÊTAS, Ana Cristina Passarella. Envelhecimento e família: uma nova perspectiva para o cuidado de enfermagem. **Revista Brasileira de Enfermagem**, v. 60, n. 3, p. 263-267, 2007.

DELEZIE, Julien et al. BDNF is a mediator of glycolytic fiber-type specification in mouse skeletal muscle. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 116, n. 32, p. 16111-16120, 2019.

DELEZIE, Julien; HANDSCHIN, Christoph. Endocrine crosstalk between skeletal muscle and the brain. **Frontiers in neurology**, v. 9, p. 698, 2018.

DESCHENES, Michael R. Effects of aging on muscle fibre type and size. **Sports medicine**, v. 34, n. 12, p. 809-824, 2004.

DESCHENES, Michael R. et al. Effect of resistance training on neuromuscular junctions of young and aged muscles featuring different recruitment patterns. **Journal of neuroscience research**, v. 93, n. 3, p. 504-513, 2015.

DRUMMOND, Micah J. et al. Aerobic and resistance exercise sequence affects excess postexercise oxygen consumption. **Journal of strength and conditioning research**, v. 19, n. 2, p. 332, 2005.

ELLIOTT, Jonathan E. et al. Functional impact of sarcopenia in respiratory muscles. **Respiratory physiology & neurobiology**, v. 226, p. 137-146, 2016.

ELSNER, V. R. et al. Effect of different exercise protocols on histone acetyltransferases and histone deacetylases activities in rat hippocampus. **Neuroscience**, v. 192, p. 580-587, 2011.

FIELDING, Roger A. et al. Sarcopenia: an undiagnosed condition in older adults. Current consensus definition: prevalence, etiology, and consequences. International

working group on sarcopenia. **Journal of the American Medical Directors Association**, v. 12, n. 4, p. 249-256, 2011.

FLATT, Thomas. A new definition of aging? **Frontiers in genetics**, v. 3, p. 148, 2012.

FORTI, Louis Nuvagah et al. Dose-and gender-specific effects of resistance training on circulating levels of brain derived neurotrophic factor (BDNF) in community-dwelling older adults. **Experimental gerontology**, v. 70, p. 144-149, 2015.

FREIBERGER, Ellen et al. Long-term effects of three multicomponent exercise interventions on physical performance and fall-related psychological outcomes in community-dwelling older adults: a randomized controlled trial. **Journal of the American Geriatrics Society**, v. 60, n. 3, p. 437-446, 2012.

FRONTERA, Walter R.; OCHALA, Julien. Skeletal muscle: a brief review of structure and function. **Calcified tissue international**, v. 96, n. 3, p. 183-195, 2015.

GAO, Hao-En et al. Effects of lifelong exercise on age-related body composition, oxidative stress, inflammatory cytokines, and skeletal muscle proteome in rats. **Mechanisms of Ageing and Development**, v. 189, p. 111262, 2020.

GAO, Li et al. Gastrocnemius-derived BDNF promotes motor function recovery in spinal cord transected rats. **Growth Factors**, v. 30, n. 3, p. 167-175, 2012.

GARBER, Carol Ewing et al. American College of Sports Medicine position stand. Quantity and quality of exercise for developing and maintaining cardiorespiratory, musculoskeletal, and neuromotor fitness in apparently healthy adults: guidance for prescribing exercise. **Medicine and science in sports and exercise**, v. 43, n. 7, p. 1334, 2011.

GARCIA-VALLES, Rebeca et al. O exercício espontâneo ao longo da vida não prolonga a expectativa de vida, mas melhora a expectativa de saúde em ratos. **Longevity & healthspan**, v. 2, n. 1, p. 14, 2013.

GILL, Jonathan F. et al. PGC-1 α affects aging-related changes in muscle and motor function by modulating specific exercise-mediated changes in old mice. **Ageing cell**, v. 17, n. 1, p. 12697, 2018.

GÓMEZ-PINILLA, F. et al. Differential regulation by exercise of BDNF and NT-3 in rat spinal cord and skeletal muscle. **European Journal of Neuroscience**, v. 13, n. 6, p. 1078-1084, 2001.

GÓMEZ-PINILLA, Fernando et al. Voluntary exercise induces a BDNF-mediated mechanism that promotes neuroplasticity. **Journal of neurophysiology**, v. 88, n. 5, p. 2187-2195, 2002.

GREISING, Sarah M. et al. Ageing and neurotrophic signalling effects on diaphragm neuromuscular function. **The Journal of physiology**, v. 593, n. 2, p. 431-440, 2015.

GREISING, Sarah M. et al. Role of TrkB kinase activity in aging diaphragm neuromuscular junctions. **Experimental gerontology**, v. 72, p. 184-191, 2015.

GREISING, Sarah M. et al. Chronic TrkB agonist treatment in old age does not mitigate diaphragm neuromuscular dysfunction. **Physiological reports**, v. 5, n. 1, p. 13103, 2017.

HAMBRECHT, Rainer et al. Regular physical exercise corrects endothelial dysfunction and improves exercise capacity in patients with chronic heart failure. **Circulation**, v. 98, n. 24, p. 2709-2715, 1998.

HENNINGSEN, Jeanette et al. Dynamics of the skeletal muscle secretome during myoblast differentiation. **Molecular & cellular proteomics**, v. 9, n. 11, p. 2482-2496, 2010.

HIKIDA, Robert S. Aging changes in satellite cells and their functions. **Current aging science**, v. 4, n. 3, p. 279-297, 2011.

HOLLOSZY, John O. The biology of aging. In: **Mayo Clinic Proceedings**. Elsevier, p. S3-S9.2000

HOPKINS, Michael E.; NITECKI, Roni; BUCCI, David J. Physical exercise during adolescence versus adulthood: differential effects on object recognition memory and brain-derived neurotrophic factor levels. **Neuroscience**, v. 194, p. 84-94, 2011.

HOPPELER, Hans et al. Molecular mechanisms of muscle plasticity with exercise. **Comprehensive Physiology**, v. 1, n. 3, p. 1383-1412, 2011.

HUH, Joo Young. The role of exercise-induced myokines in regulating metabolism. **Archives of pharmacal research**, v. 41, n. 1, p. 14-29, 2018.

HURTADO, Erica et al. Muscle contraction regulates BDNF/TrkB signaling to modulate synaptic function through presynaptic cPKC α and cPKC β I. **Frontiers in Molecular Neuroscience**, v. 10, p. 147, 2017.

IZQUIERDO, Mikel et al. Effects of combined resistance and cardiovascular training on strength, power, muscle cross-sectional area, and endurance markers in middle-aged men. **European journal of applied physiology**, v. 94, n. 1-2, p. 70-75, 2005.

JANSEN, Katie M.; PAVLATH, Grace K. Mannose receptor regulates myoblast motility and muscle growth. **The Journal of cell biology**, v. 174, n. 3, p. 403-413, 2006.

JIMÉNEZ-MALDONADO, Alberto et al. Effects of moderate-and high-intensity chronic exercise on brain-derived neurotrophic factor expression in fast and slow muscles. **Muscle & Nerve**, v. 53, n. 3, p. 446-451, 2016.

JIMÉNEZ-MALDONADO, Alberto et al. The impact of high-intensity interval training on brain derived neurotrophic factor in brain: a mini-review. **Frontiers in neuroscience**, v. 12, p. 839, 2018.

JONES, Theresa A. et al. Motor skills training enhances lesion-induced structural plasticity in the motor cortex of adult rats. **Journal of Neuroscience**, v. 19, n. 22, p. 10153-10163, 1999.

JURGENS, Heidi A.; JOHNSON, Rodney W. Dysregulated neuronal–microglial cross-talk during aging, stress and inflammation. **Experimental neurology**, v. 233, n. 1, p. 40-48, 2012.

KALINKOVICH, Alexander; LIVSHITS, Gregory. Sarcopenia–The search for emerging biomarkers. **Ageing research reviews**, v. 22, p. 58-71, 2015.

KARAVIRTA, L. et al. Effects of combined endurance and strength training on muscle strength, power and hypertrophy in 40–67-year-old men. **Scandinavian journal of medicine & science in sports**, v. 21, n. 3, p. 402-411, 2011.

KIM, Hee-Jae et al. Resistance training inhibits the elevation of skeletal muscle derived-BDNF level concomitant with improvement of muscle strength in zucker diabetic rat. **Journal of exercise nutrition & biochemistry**, v. 19, n. 4, p. 281, 2015.

KIM, Hun Kyung et al. Effects of exercise and amino acid supplementation on body composition and physical function in community-dwelling elderly Japanese sarcopenic women: a randomized controlled trial. **Journal of the American Geriatrics Society**, v. 60, n. 1, p. 16-23, 2012.

KIM, Sujin et al. Roles of myokines in exercise-induced improvement of neuropsychiatric function. **Pflügers Archiv-European Journal of Physiology**, v. 471, n. 3, p. 491-505, 2019.

KIM, Theresa HM et al. The mental-attention Tai Chi effect with older adults. **BMC psychology**, v. 4, n. 1, p. 29, 2016.

KRAMER, Arthur F. et al. Ageing, fitness and neurocognitive function. **Nature**, v. 400, n. 6743, p. 418-419, 1999.

KULAKOWSKI, Scott A.; PARKER, Sara D.; PERSONIUS, Kirkwood E. Reduced TrkB expression results in precocious age-like changes in neuromuscular structure, neurotransmission, and muscle function. **Journal of applied physiology**, v. 111, n. 3, p. 844-852, 2011.

LARSEN, Jytte Overgaard; SKALICKY, Monika; VIIDIK, Andrus. Does long-term physical exercise counteract age-related Purkinje cell loss? A stereological study of rat cerebellum. **Journal of Comparative Neurology**, v. 428, n. 2, p. 213-222, 2000.

LEE, Heow Won et al. Effects of exercise training on brain-derived neurotrophic factor in skeletal muscle and heart of rats post myocardial infarction. **Experimental physiology**, v. 102, n. 3, p. 314-328, 2017.

LEE, Jong Han; JUN, Hee-Sook. Role of myokines in regulating skeletal muscle mass and function. **Frontiers in physiology**, v. 10, p. 42, 2019.

LEE, Pearl Guozhu; JACKSON, Elizabeth A.; RICHARDSON, Caroline R. Exercise prescriptions in older adults. **American family physician**, v. 95, n. 7, p. 425-432, 2017.

LIMA-COSTA, Maria Fernanda; VERAS, Renato. Saúde pública e envelhecimento. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 19, n. 3, p. 700-701, 2003.

LOVATEL, Gisele Agustini et al. Time-dependent effects of treadmill exercise on aversive memory and cyclooxygenase pathway function. **Neurobiology of learning and memory**, v. 98, n. 2, p. 182-187, 2012.

LOVATEL, Gisele Agustini et al. Treadmill exercise induces age-related changes in aversive memory, neuroinflammatory and epigenetic processes in the rat hippocampus. **Neurobiology of learning and memory**, v. 101, p. 94-102, 2013.

LOVATEL, Gisele Agustini et al. Long-term effects of pre and post-ischemic exercise following global cerebral ischemia on astrocyte and microglia functions in hippocampus from Wistar rats. **Brain research**, v. 1587, p. 119-126, 2014.

LYNCH, Gordon S. Update on emerging drugs for sarcopenia—age-related muscle wasting. **Expert opinion on emerging drugs**, v. 13, n. 4, p. 655-673, 2008.

MÁDEROVÁ, Denisa et al. Acute and regular exercise distinctly modulate serum, plasma and skeletal muscle BDNF in the elderly. **Neuropeptides**, v. 78, p. 101961, 2019.

MAHNCKE, Henry W.; BRONSTONE, Amy; MERZENICH, Michael M. Brain plasticity and functional losses in the aged: scientific bases for a novel intervention. **Progress in Brain Research**, v. 157, p. 81-109, 2006.

MANSO, Maria Elisa Gonzalez; RIBEIRO, Mônica P. Caracterização das condições de saúde de um grupo de idosos pertencente a um plano de saúde. **Revista Brasileira de Medicina**, v. 69, n. 3, p. 49-55, 2012.

MATTHEWS, Vance B. et al. Brain-derived neurotrophic factor is produced by skeletal muscle cells in response to contraction and enhances fat oxidation via activation of AMP-activated protein kinase. **Diabetologia**, v. 52, n. 7, p. 1409-1418, 2009.

MCKAY, Bryon R. et al. Brain-derived neurotrophic factor is associated with human muscle satellite cell differentiation in response to muscle-damaging exercise. **Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism**, v. 45, n. 6, p. 581-590, 2020.

MCLEAN, Robert R.; KIEL, Douglas P. Developing consensus criteria for sarcopenia: an update. **Journal of Bone and Mineral Research**, v. 30, n. 4, p. 588-592, 2015.

MELTON, L. J. Khosla S, Crowson CS, O'Connor MK, O'Fallon WM, and Riggs BL. **Epidemiology of sarcopenia. J Am Geriatr Soc**, v. 48, p. 625-630, 2000.

MING, Yu et al. Reciprocal changes in the expression of neurotrophin mRNAs in target tissues and peripheral nerves of aged rats. **Neuroscience letters**, v. 273, n. 3, p. 187-190, 1999.

MOUSAVI, Kambiz; JASMIN, Bernard J. BDNF is expressed in skeletal muscle satellite cells and inhibits myogenic differentiation. **Journal of Neuroscience**, v. 26, n. 21, p. 5739-5749, 2006.

NELSON, Miriam E. et al. Physical activity and public health in older adults: recommendation from the American College of Sports Medicine and the American Heart Association. **Circulation**, v. 116, n. 9, p. 1094, 2007.

NILWIK, Rachel et al. The decline in skeletal muscle mass with aging is mainly attributed to a reduction in type II muscle fiber size. **Experimental gerontology**, v. 48, n. 5, p. 492-498, 2013.

NOBLE, Emily E. et al. The lighter side of BDNF. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 300, n. 5, p. R1053-R1069, 2011.

OGBORN, Daniel I.; GARDINER, Phillip F. Effects of exercise and muscle type on BDNF, NT-4/5, and TrkB expression in skeletal muscle. **Muscle & Nerve: Official Journal of the American Association of Electrodiagnostic Medicine**, v. 41, n. 3, p. 385-391, 2010.

OMURA, Takao et al. Different expressions of BDNF, NT3, and NT4 in muscle and nerve after various types of peripheral nerve injuries. **Journal of the Peripheral Nervous System**, v. 10, n. 3, p. 293-300, 2005.

ORGANIZATION, W. H. **Global health and Aging**. World Health Organization, 2019

PARADIES, Giuseppe et al. Mitochondrial dysfunction in brain aging: role of oxidative stress and cardiolipin. **Neurochemistry international**, v. 58, n. 4, p. 447-457, 2011.

PARNOW, Abdolhossein et al. Effects of endurance and resistance training on calcitonin gene-related peptide and acetylcholine receptor at slow and fast twitch skeletal muscles and sciatic nerve in male wistar rats. **International journal of peptides**, v. 2012, 2012.

PEDERSEN, Bente Klarlund et al. Role of myokines in exercise and metabolism. **Journal of applied physiology**, 2007.

PEDERSEN, Bente Klarlund. Physical activity and muscle–brain crosstalk. **Nature Reviews Endocrinology**, v. 15, n. 7, p. 383, 2019.

PERSONIUS, Kirkwood E.; PARKER, Sara D. TrkB expression at the neuromuscular junction is reduced during aging. **Muscle & nerve**, v. 47, n. 4, p. 532-538, 2013.

PETERSON, Mark D. et al. Resistance exercise for muscular strength in older adults: a meta-analysis. **Ageing research reviews**, v. 9, n. 3, p. 226-237, 2010.

PETRELLA, John K. et al. Potent myofiber hypertrophy during resistance training in humans is associated with satellite cell-mediated myonuclear addition: a cluster analysis. **Journal of applied physiology**, v. 104, n. 6, p. 1736-1742, 2008.

PIETRELLI, Adriana et al. Aerobic exercise prevents age-dependent cognitive decline and reduces anxiety-related behaviors in middle-aged and old rats. **Neuroscience**, v. 202, p. 252-266, 2012.

RADAK, Zsolt et al. Redox-regulating sirtuins in aging, caloric restriction, and exercise. **Free radical biology and medicine**, v. 58, p. 87-97, 2013.

ROSENBERG, Irwin H. Sarcopenia: origins and clinical relevance. **The Journal of nutrition**, v. 127, n. 5, p. 990S-991S, 1997.

SAKUMA, Kunihiro; YAMAGUCHI, Akihiko. The recent understanding of the neurotrophin's role in skeletal muscle adaptation. **BioMed Research International**, v. 2011, 2011.

SCHIAFFINO, Stefano; REGGIANI, Carlo. Fiber types in mammalian skeletal muscles. **Physiological reviews**, v. 91, n. 4, p. 1447-1531, 2011.

SCHNYDER, Svenia; HANDSCHIN, Christoph. Skeletal muscle as an endocrine organ: PGC-1 α , myokines and exercise. **Bone**, v. 80, p. 115-125, 2015.

SCOPEL, Denise et al. Exercise intensity influences cell injury in rat hippocampal slices exposed to oxygen and glucose deprivation. **Brain research bulletin**, v. 71, n. 1-3, p. 155-159, 2006.

SEENE, Teet; KAASIK, Priit. Role of myofibrillar protein catabolism in development of glucocorticoid myopathy: aging and functional activity aspects. **Metabolites**, v. 6, n. 2, p. 15, 2016.

SHARPLES, Adam P.; STEWART, Claire E.; SEABORNE, Robert A. Does skeletal muscle have an 'epi'-memory? The role of epigenetics in nutritional programming, metabolic disease, aging and exercise. **Aging cell**, v. 15, n. 4, p. 603-616, 2016.

SHIBAYAMA, Eiichi; KOIZUMI, Hirotaka. Cellular localization of the Trk neurotrophin receptor family in human non-neuronal tissues. **The American journal of pathology**, v. 148, n. 6, p. 1807, 1996.

SILVA, Maria da Graça da; BOEMER, Magali Roseira. The experience of aging: a phenomenological perspective. **Revista Latino-americana de Enfermagem**, v. 17, n. 3, p. 380-386, 2009

SIMÓ, A. et al. BDNF-TrkB signaling coupled to nPKCepsilon and cPKCbeta modulate the phosphorylation of the exocytotic protein Munc18-1 during synaptic activity at the neuromuscular junction. **Front Mol Neurosci** 11: 207. 2018.

SNIJDERS, T. et al. Satellite cells in human skeletal muscle plasticity. **Front Physiol.** p 283, 2015

SPINDLER, Christiano et al. Paternal physical exercise modulates global DNA methylation status in the hippocampus of male rat offspring. **Neural regeneration research**, v. 14, n. 3, p. 491, 2019.

SUNDSTRUP, Emil et al. Positive effects of 1-year football and strength training on mechanical muscle function and functional capacity in elderly men. **European journal of applied physiology**, v. 116, n. 6, p. 1127-1138, 2016.

TARAWAN, Vita Murniati et al. Alteration of autophagy gene expression by different intensity of exercise in gastrocnemius and soleus muscles of Wistar rats. **Journal of sports science & medicine**, v. 18, n. 1, p. 146, 2019.

TAO, Lichan et al. Exercise for the heart: signaling pathways. **Oncotarget**, v. 6, n. 25, p. 20773, 2015.

THOMPSON, Paul D. et al. Exercise and physical activity in the prevention and treatment of atherosclerotic cardiovascular disease: a statement from the Council on Clinical Cardiology (Subcommittee on Exercise, Rehabilitation, and Prevention) and the Council on Nutrition, Physical Activity, and Metabolism (Subcommittee on Physical Activity). **Circulation**, v. 107, n. 24, p. 3109-3116, 2003.

TSENG, Benjamin Y. et al. Masters athletes exhibit larger regional brain volume and better cognitive performance than sedentary older adults. **Journal of Magnetic Resonance Imaging**, v. 38, n. 5, p. 1169-1176, 2013.

VANG, Pangdra et al. Diaphragm muscle sarcopenia into very old age in mice. **Physiological reports**, v. 8, n. 1, p. e14305, 2020.

VILELA, Thais Ceresér et al. Aerobic and strength training induce changes in oxidative stress parameters and elicit modifications of various cellular components in skeletal muscle of aged rats. **Experimental gerontology**, v. 106, p. 21-27, 2018.

WALSH, Jeremy J. et al. Neurotrophic growth factor responses to lower body resistance training in older adults. **Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism**, v. 41, n. 3, p. 315-323, 2016.

WANG, Tao et al. Effect of exercise training on the FNDC5/BDNF pathway in spontaneously hypertensive rats. **Physiological Reports**, v. 7, n. 24, p. e14323, 2019.

WAYNE, P. Walsh J. Taylor-Piliae R., Wells R., Papp K., Donovan N., Yeh G. Efecto del Tai Chi en el rendimiento cognitivo en adultos mayores: revisión sistemática y meta-análisis. **JAG**, v. 62, n. 1, p. 25-39, 2014.

WILLIAMS, James S.; FERRIS, Lee T. Effects of endurance exercise training on brain-derived neurotrophic factor. **Journal of Exercise Physiology**, v. 15, n. 4, p. 11-7, 2012.

WILKINSON, Daniel J.; PIASECKI, M.; ATHERTON, Philip J. The age-related loss of skeletal muscle mass and function: Measurement and physiology of muscle fibre atrophy and muscle fibre loss in humans. **Ageing research reviews**, v. 47, p. 123-132, 2018.

YAMAMOTO, M. et al. Expression of mRNAs for neurotrophic factors (NGF, BDNF, NT-3, and GDNF) and their receptors (p75 NGFR, TrkA, TrkB, and TrkC) in the adult human peripheral nervous system and nonneural tissues. **Neurochemical research**, v. 21, n. 8, p. 929-938, 1996.

YANG, H. T.; OGILVIE, Robert W.; TERJUNG, Ronald L. Heparin increases exercise-induced collateral blood flow in rats with femoral artery ligation. **Circulation research**, v. 76, n. 3, p. 448-456, 1995.

YANG, Feng et al. Pro-BDNF-induced synaptic depression and retraction at developing neuromuscular synapses. **Journal of Cell Biology**, v. 185, n. 4, p. 727-741, 2009.

YIN, Hang; PRICE, Feodor; RUDNICKI, Michael A. Satellite cells and the muscle stem cell niche. **Physiological reviews**, v. 93, n. 1, p. 23-67, 2013.

YU, Tao et al. Dynamic expression and the role of BDNF in exercise-induced skeletal muscle regeneration. **International Journal of Sports Medicine**, v. 38, n. 13, p. 959-966, 2017.

ZAMPIERI, Sandra et al. Physical exercise in aging: nine weeks of leg press or electrical stimulation training in 70 years old sedentary elderly people. **European journal of translational myology**, v. 25, n. 4, p. 237, 2015.

ZHANG, Lianqin; MORRIS, Keith J.; NG, Yuk-Chow. Fiber type-specific immunostaining of the Na⁺, K⁺-ATPase subunit isoforms in skeletal muscle: age-associated differential changes. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease**, v. 1762, n. 9, p. 783-793, 2006.

ZOLADZ, J. A.; PILC, A. The effect of physical activity on the brain derived neurotrophic factor: from animal to human studies. **Journal of physiology and pharmacology**, v. 61, n. 5, p. 533-41, 2010.