



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ  
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA  
FACULDADE DE MEDICINA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MÉDICAS**

**ROBSON SALVIANO DE MATOS**

**EFEITOS DO EXERCÍCIO FÍSICO NOS PARÂMETROS COMPORTAMENTAIS,  
NA INFLAMAÇÃO, NA PERMEABILIDADE DA BARREIRA  
HEMATOENCEFÁLICA E NA EXPRESSÃO DE FNDC5/IRISINA HIPOCAMPAL  
DE CAMUNDONGOS ADULTOS JOVENS E IDOSOS PRIVADOS DO SONO**

**FORTALEZA**

**2024**

ROBSON SALVIANO DE MATOS

EFEITOS DO EXERCÍCIO FÍSICO NOS PARÂMETROS COMPORTAMENTAIS, NA  
INFLAMAÇÃO, NA PERMEABILIDADE DA BARREIRA HEMATOENCEFÁLICA E  
NA EXPRESSÃO DE FNDC5/IRISINA HIPOCAMPAL DE CAMUNDONGOS  
ADULTOS JOVENS E IDOSOS PRIVADOS DO SONO

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas, da Faculdade de Medicina, da Universidade Federal do Ceará, como parte dos requisitos para obtenção do grau de Doutor em Ciências Médicas.

Área de Concentração: Biomedicina

Orientadora: Profa. Dra. Veralice Meireles Sales de Bruin

FORTALEZA

2024

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal do Ceará  
Sistema de Bibliotecas

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

---

M382e Matos, Robson Salviano de.

Efeitos do exercício físico nos parâmetros comportamentais, na inflamação, na permeabilidade da barreira hematoencefálica e na expressão de fndc5/irisina hipocampal de camundongos adultos jovens e idosos privados do sono / Robson Salviano de Matos. – 2024.

106 f. : il. color.

Tese (doutorado) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas, Fortaleza, 2024.

Orientação: Profa. Dra. Veralice Meireles Sales de Bruin.

1. Exercício físico. 2. Irisina. 3. Comportamento. 4. Privação do sono. 5. Cérebro. I. Título.

CDD 610

---

ROBSON SALVIANO DE MATOS

EFEITOS DO EXERCÍCIO FÍSICO NOS PARÂMETROS COMPORTAMENTAIS, NA  
INFLAMAÇÃO, NA PERMEABILIDADE DA BARREIRA HEMATOENCEFÁLICA E  
NA EXPRESSÃO DE FNDC5/IRISINA HIPOCAMPAL DE CAMUNDONGOS  
ADULTOS JOVENS E IDOSOS PRIVADOS DO SONO

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas, da Faculdade de Medicina, da Universidade Federal do Ceará, como parte dos requisitos para obtenção do grau de Doutor em Ciências Médicas.

Área de Concentração: Biomedicina

Orientadora: Profa. Dra. Veralice Meireles Sales de Bruin

Aprovada em: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_\_\_

BANCA EXAMINADORA

---

Prof(a). Dra. Veralice Meireles Sales de Bruin (Orientadora)  
Universidade Federal do Ceará – UFC

---

Prof. Dr. Reinaldo Barreto Oriá – Universidade Federal do Ceará – UFC

---

Prof(a). Dra. Cristina Figueiredo Sampaio Façanha - Unichristus - Ceará

---

Prof. Dr. André Lima Queiroz – Broad Institute of Harvard and MIT - Cambridge

---

Prof. Dr. Daniel Vieira Pinto - Universidade Nilton Lins - Amazonas

A Deus.

Aos meus familiares e amigos.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço, primeiramente, a Deus.

Ao meu amado filho, João Luiz, e minha esposa, Larissa, pelo carinho, incentivo, parceria, amor e paciência.

Aos meus pais, Luiz e Maria, pelos ensinamentos e apoio em todos os momentos da minha vida. Aos meus irmãos, Brenda e Rodrigo pela parceria.

À Professora Dra. Veralice Meireles Sales de Bruin, pela orientação durante o mestrado e doutorado.

Ao Professor Dr. Reinaldo Barreto Oriá, pelo apoio e disponibilidade.

Aos meus amigos, Daniel Pinto, André Queiroz, Júlio César, Gabriela Matos e Tyciane Souza, pela parceria e disponibilidade em vários momentos da pesquisa.

Ao professor Dr. Pedro Bruin e aos amigos do Laboratório do Sono, Paulo Nunes, Anderson Ramos, Bruna Rafaele, Felipe Rocha, Evanice Avelino, Girleudo Coutinho, Thiago Daniele e Messias Filho. Aos colegas do Biotério, Augusto Oliveira e Wesley Ribeiro, que foram importantes durante parte dos experimentos.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas, secretárias Lucélia, Rita e Ivone, além de todos os professores vinculados ao PPGCM.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro.

## RESUMO

O exercício físico oferece vários benefícios para a saúde do cérebro, no entanto, ainda são incertos os mecanismos que justificam as alterações cerebrais, relacionadas ao exercício, em condição de privação do sono (PS). Além disso, ainda não são claros os efeitos diferenciais em indivíduos, sejam, adultos jovens ou idosos. A irisina, um hormônio ligado ao exercício físico, desempenha um importante papel fisiológico e provável benefício associado ao exercício. Esse estudo tem por objetivo determinar os efeitos do exercício físico sobre parâmetros comportamentais, inflamação, permeabilidade da barreira hematoencefálica (BHE) e expressão de FNDC5/irisina em camundongos, adultos jovens e idosos, privados de sono. Foram utilizados camundongos *Swiss*, machos, sendo 48 adultos jovens (3 meses) e 48 idosos (18 meses). Os animais foram distribuídos em oito grupos (n=12 cada): controle (adulto jovem e idoso), exercício físico (adulto jovem e idoso), PS (adulto jovem e idoso) e exercício físico+PS (adulto jovem e idoso). Após oito semanas, foram realizados os testes de memória de trabalho, comportamento depressivo e de ansiedade. Logo após, foram coletadas amostras de sangue e tecido cerebral (hipocampo). O exercício físico melhorou a memória de trabalho ( $p=0,01$ ) e o comportamento semelhante à depressão ( $p=0,002$ ) nos animais adultos jovens. Nos animais idosos, o exercício reduziu o comportamento semelhante à depressão ( $p<0,0001$ ) e ansiedade ( $p<0,006$ ). Os níveis plasmáticos de TNF e IL-6 foram superiores em ambos os grupos submetidos a PS ( $p<0,05$ ). A expressão de albumina hipocampal apresentou-se reduzida nos grupos exercício e exercício prévio à PS ( $p<0,05$ ). A expressão de FNDC5/irisina hipocampal foi maior nos grupos exercício e exercício prévio à PS ( $p<0,05$ ). O presente estudo mostra que, em animais adultos jovens e idosos, a PS associa-se a alterações comportamentais, inflamação e aumento da permeabilidade da BHE. Por outro lado, o exercício prévio à PS aumenta a expressão de FNDC5/irisina, reduz os níveis inflamatórios e permeabilidade da BHE.

**Palavras-chave:** exercício físico; irisina; comportamento; privação do sono; cérebro.

## ABSTRACT

Exercise offers several benefits for brain health. To date, it is not fully clarified how exercise modifies brain alterations in the presence of sleep deprivation (SD). Furthermore, the differential effects concerning young and old animals are still unclear. Irisin, a hormone related to exercise, plays an important physiological role and may be associated with the benefits of exercise. This study aims to determine the effects of physical exercise on behavioral parameters, inflammation, permeability of the blood-brain barrier (BBB) and expression of FNDC5/irisin in sleep-deprived mice, both, young and old. Male Swiss mice were used, 48 young adults (3 months) and 48 old mice (18 months). Animals were distributed into eight groups (n=12 each): control (young adult and elderly), exercise (young adult and elderly), SD (young adult and elderly), and physical exercise + SD (young adult and elderly). Working memory, depressive and anxiety behavior tests were performed and, shortly after, blood and hippocampus were collected. Exercise improved working memory ( $p=0.01$ ) and depression-like behavior ( $p=0.002$ ) in young adult animals. In old animals, exercise reduced depression-like behavior ( $p<0.0001$ ) and anxiety ( $p<0.006$ ). Plasma levels of TNF and IL-6 were higher in the SD groups ( $p<0.05$ ). Hippocampal albumin expression was reduced in the exercise and exercise groups prior to SD ( $p<0.05$ ). The expression of hippocampal FNDC5/irisin was higher in the exercise and exercise groups prior to SD ( $p<0.05$ ). The present study shows that, in young and old mice, SD is associated with behavioral changes, inflammation and increased BBB permeability. On the other hand, exercise prior to SD increases the expression of FNDC5/irisin, reduces inflammatory levels and BBB permeability.

**Keywords:** physical exercise; irisin; behavior; sleep deprivation; brain.



## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Figura esquemática da barreira hematoencefálica.....	22
Figura 2 - Estrutura de FNDC5 e formação da irisina.....	30
Figura 3 - Papel neuroprotetor do exercício físico na barreira hematoencefálica.....	32
Figura 4 - Desenho do estudo para os animais adultos jovens e idosos nos grupos controle, submetidos ao exercício físico, somente submetidos à privação de sono e submetidos a exercício prévio à privação do sono, respectivamente.....	38
Figura 5 - Esteira rolante motorizada com oito camundongos <i>Swiss</i> .....	39
Figura 6 - Modelo de privação do sono em plataformas múltiplas.....	41
Figura 7 - Modelo do teste labirinto em Y.....	42
Figura 8 - Equação matemática para avaliação da memória de trabalho.....	42
Figura 9 - Modelo do teste de suspensão de cauda.....	43
Figura 10 - Modelo do teste labirinto em cruz elevado.....	45
Figura 11 - Avaliação da memória de trabalho através do teste Labirinto em Y (Y-MAZE) nos grupos adultos jovens controle, EXE, PS e EXE+PS antes e após a PS. (a,b) percentual de alternância espontânea; (c,d) número de entradas em cada braço.....	48
Figura 12 - Avaliação da memória de trabalho através do teste Labirinto em Y (Y-MAZE) nos grupos idosos controle, EXE, PS e EXE+PS. (a) percentual de alternância espontânea; (b) número de entradas em cada braço.....	49
Figura 13 - Avaliação do comportamento depressivo através do teste de Suspensão de Cauda ( <i>Tail Suspension</i> ) nos grupos adultos jovens controle, EXE, PS e EXE+PS.....	50

Figura 14 - Avaliação do comportamento depressivo através do teste de Suspensão de Cauda ( <i>Tail Suspension</i> ) nos grupos idosos controle, EXE, PS e EXE+PS.....	51
Figura 15 - Avaliação do comportamento semelhante à ansiedade através do teste de Labirinto em Cruz Elevado ( <i>Elevated Plus Maze Test</i> ) nos grupos adultos jovens controle, EXE, PS e EXE+PS antes e após a PS.....	53
Figura 16 - Avaliação do comportamento semelhante à ansiedade através do teste de Labirinto em Cruz Elevado ( <i>Elevated Plus Maze Test</i> ) nos grupos idosos controle, EXE, PS e EXE+PS.....	54
Figura 17 - Avaliação da concentração plasmática de TNF nos grupos adultos jovens controle, EXE, PS e EXE+PS.....	55
Figura 18 - Avaliação da concentração plasmática de TNF nos grupos idosos controle, EXE, PS e EXE+PS.....	55
Figura 19 - Avaliação da concentração plasmática de IL-6 nos grupos adultos jovens controle, EXE, PS e EXE+PS .....	56
Figura 20 - Avaliação da concentração plasmática de IL-6 nos grupos idosos controle, EXE, PS e EXE+PS.....	57
Figura 21 - Avaliação dos níveis proteicos de albumina nos grupos adultos jovens controle, EXE, PS e EXE+PS.....	58
Figura 22 - Avaliação dos níveis proteicos de albumina nos grupos idosos controle, EXE, PS e EXE+PS .....	59
Figura 23 - Avaliação dos níveis proteicos de FNDC5 nos grupos adultos jovens controle, EXE, PS e EXE+PS.....	60

Figura 24 - Avaliação dos níveis proteicos de FNDC5 nos grupos idosos controle, EXE, PS e EXE+PS.....61

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Protocolo de treinamento em esteira rolante.....	40
Tabela 2 - Dados descritivos (média $\pm$ EPM) da avaliação da memória de trabalho através do teste Labirinto em Y ( <i>Y-MAZE</i> ), nos grupos adultos jovens controle, EXE, PS e EX+PS antes e após a PS.....	48
Tabela 3 - Dados descritivos (média $\pm$ EPM) da avaliação da memória de trabalho através do teste Labirinto em Y ( <i>Y-MAZE</i> ), nos grupos idosos controle, EXE, PS e EX+PS.....	49
Tabela 4 - Dados descritivos (média $\pm$ EPM) da avaliação do comportamento depressivo, nos grupos adultos jovens controle, EXE, PS e EX+PS antes e após a PS.....	51
Tabela 5 - Dados descritivos (média $\pm$ EPM) da avaliação do comportamento depressivo, nos grupos idosos controle, EXE, PS e EX+PS.....	52
Tabela 6 - Dados descritivos (média $\pm$ EPM) da avaliação do comportamento semelhante à ansiedade através do Labirinto em Cruz Elevado, nos grupos adultos jovens controle, EXE, PS e EX+PS antes e após a PS.....	53
Tabela 7 - Dados descritivos (média $\pm$ EPM) da avaliação do comportamento semelhante à ansiedade através do Labirinto em Cruz Elevado, nos grupos idosos controle, EXE, PS e EX+PS.....	54
Tabela 8 - Dados descritivos (média $\pm$ EPM) da avaliação dos níveis plasmáticos de TNF nos grupos adultos jovens e idosos controle, EXE, PS e EXE+PS.....	56
Tabela 9 - Dados descritivos (média $\pm$ EPM) da avaliação dos níveis plasmáticos de IL-6 nos grupos adultos jovens e idosos controle, EXE, PS e EXE+PS.....	57

Tabela 10 - Dados descritivos (média  $\pm$  EPM) da avaliação de albumina hipocampal nos grupos adultos jovens e idosos controle, EXE, PS e EXE+PS.....59

Tabela 11 - Dados descritivos (média  $\pm$  EPM) da avaliação de FNDC5 hipocampal nos grupos adultos jovens e idosos controle, EXE, PS e EXE+PS.....61

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

5-HT	serotonina
Ach	acetilcolinas
ANOVA	análise de variância
AVC	acidente vascular cerebral
AVCi	acidente vascular cerebral isquêmico
BHE	barreira hematoencefálica
BDNF	fator neurotrófico derivado do cérebro
BSA	<i>bovine serum albumin</i> (albumina sérica bovina)
cm	centímetros
DCPV	doenças cerebrais de pequenos vasos
DCV	doenças cardiovasculares
DVC	doenças vasculares cerebrais
EPI's	equipamentos de proteção individual
EPM	erro padrão da média
EROs	espécies reativas de oxigênio
ERN	espécies reativas de nitrogênio
EXE	exercício
EXE+PS	exercício físico + privação do sono
FNDC5	<i>Fibronectin Type III Domain Containing 5</i> (fibronectina tipo III contendo a proteína 5)
GABA	<i>Gamma-AminoButyric Acid</i> (ácido gama-aminobutírico)
h	horas
HDL-C	colesterol da lipoproteína de alta densidade
HIP	hemorragia cerebral intraparenquimatosa
HSA	hemorragia subaracnóide
IL-15	Interleucina 15
IL-6	interleucina 6
IL-8	Interleucina 8
LCE	labirinto em cruz elevado
m/min	metros por minuto
n	número amostral

N1	estágio 1 do N-REM
N2	estágio 2 do N-REM
N3	estágio 3 do NREM
NE	noradrenalina
N-REM	<i>non rapid eye movement</i> (ausência de movimentos oculares)
PGC-1 $\alpha$	co-ativador gama 1 alfa do receptor ativado por proliferador de peroxissoma
PS	privação do sono
PVDF	polivinilideno
REM	<i>rapid eye movement</i> (presença de movimentos oculares)
SNC	sistema nervoso central
TBS-T	<i>Tris-buffered saline</i> (tampão de lavagem)
TNF	fator de necrose tumoral alfa
UFC	universidade federal do ceará
ZT	<i>zeitgeber</i> (marcador de tempo)

## SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	16
2	REVISÃO DA LITERATURA.....	17
2.1	Neurobiologia do sono.....	17
2.2	Privação do sono.....	19
2.3	Efeitos da privação do sono no cérebro.....	21
2.4	Doença vascular cerebral.....	24
2.4.1	<i>Doença vascular cerebral e o envelhecimento.....</i>	25
2.4.2	<i>Doença vascular cerebral e a privação do sono.....</i>	26
2.4.3	<i>Doença vascular cerebral e o sedentarismo.....</i>	27
2.5	Exercício físico aeróbio e seus benefícios sobre a barreira hematoencefálica.....	28
2.6	O exercício físico e a irisina.....	29
2.7	Efeitos da irisina no cérebro .....	31
3	JUSTIFICATIVA.....	34
4	OBJETIVOS.....	35
4.1	Objetivo geral.....	35
4.2	Objetivos específicos.....	35
5	MATERIAIS E MÉTODOS.....	36
5.1	Kits e anticorpos.....	36
5.2	Equipamentos e materiais.....	36
5.3	Animais.....	37
5.4	Procedimentos experimentais.....	37
5.5	Protocolo de exercício físico em esteira rolante.....	38
5.6	Protocolo experimental de privação do sono.....	40
5.7	Testes comportamentais.....	41
5.7.1	<i>Teste de memória de trabalho - Labirinto em Y.....</i>	41
5.7.2	<i>Teste de sintomas depressivos-símile - Suspensão de cauda.....</i>	43
5.7.3	<i>Avaliação da ansiedade - Labirinto em cruz elevado.....</i>	43
5.8	Coleta das amostras.....	45
5.9	Avaliação das alterações neuroquímicas e séricas.....	45



5.9.1	<i>Quantificação de proteínas por Western Blot</i> .....	45
5.9.2	<i>Ensaio imunoenzimático ELISA</i> .....	46
5.10	Análise estatística.....	46
6	RESULTADOS.....	47
6.1	Teste do labirinto em Y.....	47
6.2	Teste de suspensão de cauda.....	50
6.3	Teste do labirinto em cruz elevado.....	52
6.4	Avaliação dos marcadores do inflamatórios.....	55
6.4.1	<i>Níveis plasmáticos de TNF</i> .....	55
6.4.2	<i>Níveis plasmáticos de IL-6</i> .....	56
6.5	Expressão proteica de albumina no hipocampo.....	57
6.6	Expressão proteica de FNDC5 no hipocampo.....	60
7	DISCUSSÃO.....	62
8	CONCLUSÕES.....	71
	REFERÊNCIAS.....	72
	ANEXO A - CARTA DE APROVAÇÃO DA COMISSÃO DE ÉTICA PARA USO ANIMAL.....	93
	ANEXO B - PUBLICAÇÃO RELACIONADA AO TEMA DA PESQUISA.....	95
	ANEXO C - OUTRAS PUBLICAÇÕES.....	96
	ANEXO D - PUBLICAÇÕES RELACIONADAS À TESE COM O ORIENTADOR SUBMETIDOS PARA APROVAÇÃO EM PERIÓDICOS.....	100

## 1 INTRODUÇÃO

É bem reconhecido que um sono de excelência, com boa qualidade e duração, é necessário para a manutenção de diversas funções, como, a energia, o humor, a capacidade de aprendizado, a consolidação da memória, o desempenho cerebral, a plasticidade neuronal e a regeneração de tecidos (Li, 2021; Sippel *et al.*, 2020; Takeuchi *et al.*, 2018; Tyagi *et al.*, 2023).

Na atualidade, é possível constatar que mudanças nos hábitos de sono, como dificuldade para iniciar e manter o sono, sonolência excessiva diurna e redução do tempo total de sono são frequentes (Krystal *et al.*, 2021; Rubin *et al.*, 2023). De maneira geral, a privação de sono (PS) pode estar relacionada a condições fisiológicas ou patológicas resultando em impactos agudos e crônicos, tanto nas atividades da vida diária, quanto no desenvolvimento de enfermidades (Garcia *et al.*, 2021; Liew *et al.*, 2021; Palma; Si *et al.*, 2024).

A PS envolve a supressão ou eliminação de parte do sono (Abrams, 2015; Chernyshev, 2023). Essa condição clínica provoca distúrbios de certas funções celulares, que podem resultar em danos de comportamentais, neurobiológicos e metabólicos (Periasamy *et al.*, 2015; Pires *et al.*, 2015; Si *et al.*, 2024; Yusugaki *et al.*, 2023; Zhang *et al.*, 2024).

Nesse contexto, estratégias para minimizar os efeitos deletérios da PS são cada vez mais estudadas. A literatura mostra que mudanças nos hábitos de sono e no estilo de vida podem ser pronunciadas e permanentes (Baranwal; Phobe; Siegel, 2023; Kinoshita *et al.*, 2020). Tem sido mostrado que o exercício físico regular oferece benefícios para funções cognitivas, comportamentais e do sono. Mais especificamente, o exercício físico contribui para melhoria significativa na saúde cerebral, no humor, na capacidade de memória, na arquitetura do sono, na qualidade do sono e na qualidade de vida (Chan *et al.*, 2019; Dolezal *et al.*, 2017; Guskowska *et al.*, 2022; Nowacka-Chmielewska *et al.*, 2022). Deve ser considerado que esses efeitos podem ser idade dependente.

Diante do exposto, neste estudo, foi considerada a hipótese de que a irisina, uma miocina liberada durante o exercício, pode ser uma das responsáveis pela promoção de melhorias nos aspectos comportamentais. A irisina pode ainda atenuar a inflamação e a permeabilidade da BHE em um modelo de PS. Atualmente, diversos

estudos comprovam os efeitos positivos do exercício físico. Estudos sobre a influência da idade mais idosa sobre tais mecanismos ainda não foram totalmente estudados.

## 2 REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 Neurobiologia do sono

Em situações mais propensas ao sono, particularmente à noite, neurônios do núcleo pré-óptico ventrolateral hipotalâmico liberam neurotransmissores inibitórios, especialmente o ácido gama-aminobutírico (GABA) e galanina. A ação desses mediadores na inibição dos neurônios do sistema ascendente excitatórios relacionados à vigília e excitação, como os histaminérgicos, facilitam a transição vigília-sono (Saper *et al.*, 2017).

O sono é um estado complexo reversível essencial para a sobrevivência e que envolve padrões específicos de atividade cerebral. Várias regiões anatômicas do sistema nervoso participam do controle do estado vigília-sono. De forma resumida, o prosencéfalo basal está envolvido na promoção da atividade cortical. O sistema reticular, formado por neurônios que se estendem do bulbo até o hipotálamo posterior, participa na manutenção da vigília. O tálamo exerce modulação do ciclo vigília-sono. Regiões do hipotálamo, como o núcleo supraquiasmático, interagem com o cérebro, glândula hipofisária e sistema autônomo em um sistema complexo. Portanto, várias regiões cerebrais influenciam o ciclo vigília-sono (Falup-Pecurariu *et al.*, 2021).

A regulação do ciclo vigília-sono é realizada através de neuromediadores ou neurotransmissores, como a serotonina (5-HT), noradrenalina (NE), histamina, hipocretina, acetilcolina (ACh), dopamina e glutamato, que são conhecidos por exercerem importantes papéis no mecanismo de despertar. Os neuromediadores GABA e galanina apresentam ação inversa (Falup-Pecurariu *et al.*, 2021; Kiehn *et al.*, 2023).

Define-se o dormir como a ausência da vigília. O ciclo normal do sono humano é formado por dois estados que se alternam, sono N-REM (*Non-rapid eye movement*) e sono REM (*Rapid Eye Movement*).

O sono N-REM é dividido em três estágios/fases: N1, N2 e N3, e acredita-se que está envolvido na “limpeza” do cérebro, como a plasticidade sináptica, consolidação da memória e depuração de metabólitos cerebrais (Chauvette; Seigneur;

Timofeev, 2012; Mcadonald; Cote, 2021). No estágio de transição (N1), o sono é leve e tem curta duração. O estágio de sono N2 é caracterizado pela redução da atividade cerebral. Nessa fase, ocorrem as ondas do sono, mais profundas que o N1, mas ainda é considerado sono leve. Na fase de sono profundo (N3) ocorrem as ondas deltas, que são maiores e lentas. Considera-se que nesse estágio ocorre a regeneração física (Boyce *et al.*, 2016).

O Sono REM caracteriza-se pela presença de movimentos oculares rápidos (REM). Tal atividade pode ser registrada através de eletroencefalograma e eletromiograma (Boyce *et al.*, 2016). Durante a fase de sono REM, é comum a ocorrência dos sonhos. O sono REM também tem papel importante na consolidação da memória. Nessa fase, a atividade cerebral é intensa e comparável à vigília. Em linhas gerais, o corpo permanece mais relaxado, com a redução do tônus muscular. Os movimentos oculares manifestam-se durante o sono REM (Boyce *et al.*, 2016; Fattal *et al.*, 2023).

Um outro sistema importante e profundamente ligado ao sono é o ritmo circadiano. Trata-se de uma regulação rítmica de diversos sistemas que configuram um relógio biológico. O ritmo circadiano em humanos tem uma duração de 24 horas e exerce influência sobre vários processos fisiológicos e comportamentais, como regulação dos hormônios, a temperatura corporal, o sono e a vigília (Takahashi, 2017).

Portanto, o ritmo circadiano e o sono estão intimamente relacionados. O núcleo supraquiasmático é o marcapasso circadiano. Essa estrutura recebe informações provenientes do sistema visual, a partir do trato retino-hipotalâmico, possibilitando a sincronização com os ciclos de claro-escuro. Essa sincronização é fundamental um alinhamento do ritmo com as condições do ambiente e a alternância entre a vigília e o sono (Mieda, 2020).

Existe uma variação circadiana nos níveis plasmáticos dos neurotransmissores. A dopamina e noradrenalina, por exemplo, ambos neurotransmissores excitatórios, apresentam níveis mais baixos durante o sono quando comparado à vigília (Holst; Landolt, 2018). Dessa forma, o relógio circadiano parece influenciar a liberação desses neurotransmissores (Kim; Reed, 2021). Outras substâncias apresentam níveis mais altos durante o sono, como ocorre com a melatonina, hormônio fundamental na regulação do sono e dos ritmos circadianos. A administração pode auxiliar na indução do sono, inibir a vigília e alterar as fases do relógio circadiano (Cajochen; Kräuchi; Wirz-Justice, 2003; Holst; Landolt, 2018).

O ritmo circadiano também influencia a arquitetura do sono, regulando os estágios e a duração do sono ao longo da noite (Tabuchi *et al.*, 2021). Deve ser lembrado que a exposição à luz regula o ritmo circadiano e particularmente o ritmo do sono, interferindo no seu início, duração e estabilidade (Tähkämö; Partonen; Personen, 2019).

## 2.2 Privação do sono

O sono é fundamental para a manutenção de uma boa qualidade de vida, sendo tão importante quanto o alimento e a água para o corpo humano. De forma contrária, a sua ausência pode gerar diversos efeitos nocivos ao organismo. A PS é um problema crescente na sociedade moderna, onde as demandas da vida cotidiana, como a rotina de trabalho (trabalho por turnos), estudos e compromissos sociais, muitas vezes competem com o tempo destinado ao sono. Além disso, problemas de saúde, como o estresse e ansiedade afetam o sono (Boivin; Boudreau, 2014; Liu *et al.*, 2016).

As investigações sobre a PS datam desde o século passado. Desde então, numerosos estudos têm sido desenvolvidos acerca do assunto. A PS é uma condição comum que acomete cerca de 20% da população adulta, tornando-se um problema de saúde pública. Insônia ou má-qualidade do sono caracterizam-se pela redução da duração do sono, assim como pelo sono de baixa qualidade, que pode ocorrer tanto de forma aguda, por uma noite, quanto de forma crônica (noites consecutivas) (Hirshkowitz *et al.*, 2015).

A PS tem sido associada a consequências físicas e de saúde. Um indivíduo sonolento está mais suscetível ao envolvimento em acidentes domésticos, trânsito e de trabalho, assim como na tomada de decisão. A memória e a concentração também podem ser prejudicadas. Evidências mostram que um dia de PS pode provocar alterações na coordenação de movimentos de forma semelhante à ingestão de álcool. Isso explica, em parte, o aumento do risco de acidentes associados à PS (Durmer; Dinges, 2005; Kim *et al.*, 2015).

No mesmo sentido, estudos mostram que indivíduos que dormem menos de seis horas por noite têm uma probabilidade maior de desenvolver doenças vasculares cerebrais (DVC). Observa-se também um risco aumentado de obesidade, relacionado à alteração nos níveis dos hormônios grelina e leptina; de diabetes, por conta da

resistência maior à insulina; comprometimento cognitivo; mudanças no comportamento, como ansiedade e depressão; redução da qualidade de vida autorrelatada; osteoporose, maior risco de desenvolvimento de câncer colorretal e de mama e aumento do risco de doenças cardiovasculares (DCV). Observa-se também um aumento na mortalidade (Cappuccio *et al.*, 2010; Huang *et al.*, 2022).

A PS também acarreta consequências para a saúde mental. A ausência de sono correlaciona-se com transtornos de humor, comportamento depressivo e ansiedade. Existe uma associação evidente entre a privação crônica do sono e aumento do risco de desenvolver ou agravar esses distúrbios psicopatológicos (Cao *et al.*, 2024; Riemann *et al.*, 2020). Além disso, o sono tem grande importância no processamento de emoções e memórias. Evidências indicam que na fase do sono REM, o cérebro reorganiza-se e guarda informações, auxiliando no enfrentamento das vivências diárias (Pace-Schott; Germain; Milad, 2015).

A PS pode impactar significativamente as pessoas de diferentes faixas etárias. Observa-se que alguns sintomas da PS são observados tanto nas crianças quanto nos adultos. Alguns desses sintomas são a sonolência diurna, bocejos frequentes, cochilos em situações e horários não habituais, tais como, assistindo televisão, lendo algo como passageiro de carro ou transporte público, alterações do humor, prejuízos na concentração e irritabilidade (Hirshkowitz *et al.*, 2015).

Nas crianças, a falta de sono resulta em distúrbios do crescimento, devido a prejuízos na produção do hormônio do crescimento (GH), potencialmente afetado pela ausência ou redução do sono profundo (Tham; Schneider; Broekman, 2017). O sono insuficiente também pode ocasionar alterações em hormônios que regulam a saciedade, contribuindo para o aumento do peso corporal (Anton-Paduraru; Teslariu; Mocanu, 2016). Nessa faixa etária, observa-se aumento da irritabilidade e hiperatividade, além de redução do desempenho acadêmico secundários aos prejuízos para a memória e concentração (Berger *et al.*, 2020; Molcho-Haimovich *et al.*, 2023; Tso *et al.*, 2019).

Nos jovens, a PS também gera consequências, como alterações hormonais e impactos negativos no rendimento escolar e relação social. Os efeitos mais comuns nesse grupo são os distúrbios de humor, como a depressão e ansiedade, e o declínio no desempenho escolar, uma vez que a PS prejudica a capacidade de concentração, memória e aprendizagem (Felsó *et al.*, 2023; Hysing *et al.*, 2016).

Na fase adulta, a falta de sono afeta a saúde física e mental, aumentando a probabilidade de desenvolver doenças crônicas. O diabetes, hipertensão e doenças cardíacas são condições crônicas associadas à PS (Antza *et al.*, 2022; Tobaldini *et al.*, 2017). Após a quarta década de vida, é comum que a duração dos estágios do sono seja alterada. Por exemplo, os estágios profundos são diminuídos, o que pode provocar efeitos deletérios importantes no dia seguinte, como prejuízos cognitivos e comportamentais (Dorffner; Vitr; Anderer, 2014). Nessa população em específico, a PS pode acelerar o declínio cognitivo e agravar problemas de saúde já existentes (Ma *et al.*, 2020).

No ser humano em geral, apenas uma noite de privação parcial de sono ativa expressões gênicas em células sanguíneas mononucleares consistentes com acúmulo de danos que podem alterar o ciclo celular, sendo suficiente para acelerar o envelhecimento celular de um idoso. Os achados do estudo relacionam casualmente a PS à etiologia do envelhecimento biológico e reforça a hipótese de que a PS contribui para aumentar o risco de doenças (Carroll *et al.*, 2016).

### **2.3 Efeitos da privação do sono no cérebro**

O sono favorece a plasticidade sináptica e manutenção da força sináptica. Portanto, um dos tecidos mais acometidos pela PS é o cérebro. O comprometimento da plasticidade sináptica e a redução da força sináptica leva a prejuízos das habilidades cognitivas, como a memória, aprendizado e a atenção (Tudor *et al.*, 2016; Vecsey *et al.*, 2015). Estudos mostram que após uma tarefa de aprendizado, mesmo poucas horas de PS associam-se a prejuízo na formação e consolidação da memória. O desempenho de tarefas que necessita de atenção é reduzido de forma proporcional ao tempo acordado acumulado (Hudson; Van Dongen; Honn, 2020).

O hipocampo, uma estrutura cerebral de papel fundamental no armazenamento de memórias e no desenvolvimento do aprendizado, é particularmente vulnerável à PS (Havekes; Abel, 2017). O córtex pré-frontal, região relacionada à atenção e execução de tarefas, é particularmente alterado com a PS e especialmente quando esta ocorre de forma aguda (Whitney; Hinson; Nusbaum, 2019).

As alterações no tecido cerebral após a PS podem manifestar-se de diversas maneiras, como mudanças no humor, piora dos transtornos psiquiátricos e

comprometimento do comportamento em neurodegenerativas e nas síndromes demenciais (Cote *et al.*, 2013; Lewis *et al.*, 2017).

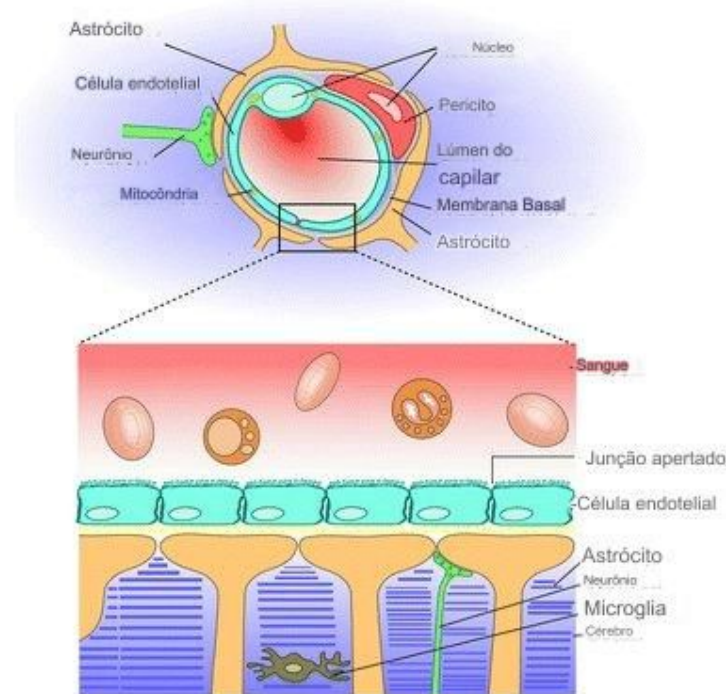
Tem sido observado, que de forma microscópica, uma estrutura cerebral comprometida pela PS é a barreira hematoencefálica (BHE). O dano na BHE pode ser a base fisiopatológica para causa e/ou agravamentos dessas doenças e pode estar associado à PS (Bean; Ciesla 2021; Dudek *et al.*, 2020; Nation *et al.*, 2019; Sabia *et al.*, 2021).

A BHE é uma estrutura física reguladora, controlando a passagem de substâncias do sangue para o cérebro, impedindo e protegendo de agentes nocivos, possíveis causadores de doenças (Larsen; Martin; Byrne, 2014). Disfunções na BHE podem resultar em desregulação iônica e interferir na homeostase de sinalização. A penetração indesejável de células e moléculas que afetam o sistema imunológico pode causar declínio dos neurônios e danos à função cerebral (Zhao *et al.*, 2023).

A BHE é formada principalmente por células endoteliais, células murais, células imunes, células da glia e células neurais que, em conjunto, colaboram para construir a unidade neurovascular (Figura 1). Quando a BHE está saudável e operante, isso indica que essas estruturas estão íntegras e, portanto, a permeabilidade paracelular é reduzida (Matsuoka *et al.*, 2022; Mcconnell; Mishra, 2022).



Figura 1 - Figura esquemática da barreira hematoencefálica



Fonte: Nair, Ramaiyan e Sukumaran (2018), adaptado.

As células endoteliais são células epiteliais escamosas simples que compõem as paredes dos vasos sanguíneos. No sistema nervoso, essas células controlam com precisão a passagem de moléculas, íons e células do sangue para o cérebro. As células endoteliais têm portanto características e propriedades únicas em relação às células epiteliais de outros tecidos (Matsuoka *et al.*, 2022).

Outro componente da BHE são as células musculares lisas. Essas, por sua vez, fazem parte das células murais e circundam os grandes vasos e os perícitos. Os perícitos, por sua vez, são células encontradas na superfície do tubo endotelial microvascular e recobrem as paredes endoteliais da microvasculatura (Halaidych; Mummery; Orlova, 2019). A membrana basal circunda o tubo vascular e possui funções relacionadas aos processos de sinalização vascular, além de fornecerem uma barreira adicional (Leclech; Natale; Barakat, 2020).

De maneira geral, a PS aumenta a permeabilidade da BHE. Com o aumento da permeabilidade da BHE, substâncias que normalmente seriam impedidas de alcançar o cérebro passam a entrar, como é o caso da albumina. Geralmente, o aumento da permeabilidade ocorre por danos causados nas proteínas de barreira (He *et al.*, 2014).

A PS pode levar à ativação do sistema imunológico cerebral, resultando em inflamação do tecido. A inflamação nada mais é do que uma resposta do organismo, como forma de defesa, contra a entrada de elementos agressores, como as substâncias patogênicas. Além disso, durante a resposta inflamatória, pode ocorrer um aumento da produção de radicais livres, espécies reativas de oxigênio (EROs) e espécies reativas de nitrogênio (ERN), gerando um desequilíbrio entre a produção e remoção dessas espécies reativas. Tal sequência agrava o estresse oxidativo e os danos secundários à BHE (Zielinski *et al.*, 2014.; Zhang *et al.*, 2014).

Estudos adicionais mostram que prejuízos na função neurovascular, alterações na regulação do fluxo sanguíneo cerebral e comprometimento da barreira protetora podem ser secundários à PS (Attwell *et al.*, 2010; Wu *et al.*, 2023). Além dos prejuízos causados pela PS na BHE, o envelhecimento pode afetar tanto a integridade da barreira quanto à sua função. As evidências indicam que o envelhecimento torna a BHE mais permeável, facilitando a entrada de substâncias nocivas e aumentando o risco de danos cerebrais (Knox *et al.*, 2022).

As proteínas de junção desempenham um papel fundamental na manutenção da integridade da BHE. Com a idade, a expressão e a função dessas proteínas podem diminuir, comprometendo a capacidade da BHE de funcionar como uma barreira eficaz (Erdő; Denes, De Lange, 2017; Errede *et al.*, 2023). Com o envelhecimento, ocorre um aumento na inflamação crônica em todo o corpo, incluindo o sistema nervoso central (SNC). Tal inflamação pode também afetar a BHE, tornando-a mais permeável e suscetível a danos (Bowman *et al.*, 2018).

Com o passar dos anos, ocorre também uma diminuição do transporte eficiente de nutrientes essenciais para o cérebro através da BHE. Essa redução da oferta de nutrientes ao cérebro pode contribuir negativamente para a função cerebral (Pan *et al.*, 2011). Em resumo, as alterações na BHE associadas ao envelhecimento podem colaborar para o desenvolvimento de doenças neurodegenerativas, como a doença de Alzheimer (Sweeney *et al.*, 2018).

## **2.4 Doença vascular cerebral**

A doença vascular cerebral (DVC) é uma condição frequente que afeta os vasos sanguíneos cerebrais e manifesta-se por um fluxo sanguíneo cerebral alterado e lesão neurológica secundária (Chen *et al.*, 2022). A DVC pode ser classificada em

acidente vascular cerebral isquêmico (AVCi), acidente vascular cerebral com hemorragia cerebral intraparenquimatosa secundária (HIP) e hemorragia subaracnoide (HSA) ou meníngea (Feigin *et al.*, 2014).

O AVC é uma das principais causas de DVC, sendo uma das principais origens de óbito global e a terceira causa de invalidez. É importante notar que fatores de risco como hipertensão arterial, diabetes, tabagismo, obesidade, sedentarismo e envelhecimento podem aumentar significativamente o risco de desenvolvimento de DVC (Yuan *et al.*, 2023). De todos os fatores de risco, a idade avançada se apresenta com o maior peso nas DVC (Yousufuddin; Young, 2019).

De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), milhões de pessoas morrem por acidente vascular cerebral (AVC), sendo o AVC isquêmico o mais comum, com cerca 1,1 milhão de indivíduos. Atualmente, as doenças cerebrais de pequenos vasos (DCPV) são as principais responsáveis pelos AVCs (Lam *et al.*, 2023). A DCPV é uma condição crônica e progressiva que afeta as arteríolas, capilares e pequenas veias que irrigam a substância branca e as estruturas profundas da substância cinzenta, sendo uma condição caracterizada por uma variedade de sintomas clínicos e alterações cerebrais específicas (Cuadrado-Godia *et al.*, 2018; Li *et al.*, 2018).

O AVC pode ser definido como um déficit neurológico advindo de uma lesão cerebral focal aguda e iniciada por uma causa vascular (Campbell; Khatri, 2020). O AVC pode ser hemorrágico ou isquêmico. O segundo é causado por oclusão arterial e é mais prevalente (Campbell *et al.*, 2019). Apesar de menos prevalente, o AVC hemorrágico é responsável por uma maior morbidade e mortalidade, principalmente por conta da deterioração súbita da consciência e disfunção neurológica (Montaño; Hanley; Hemphill, 2021).

A DCPV caracteriza-se por danos às pequenas artérias, arteríolas, capilares e pequenas veias cerebrais (Markus; Erik de Leeuw, 2023). Essa doença é a principal causa vascular de comprometimento motor e do equilíbrio, bem como por alterações de condições comportamentais e.g. depressão e apatia (Lam *et al.*, 2023). Apesar da relevância e intensa preocupação com as DCPV, as condutas preventivas ou terapêuticas são limitadas. Alterações do estilo de vida, como exercício físico regular e modificações dos hábitos alimentares são, atualmente, recomendadas para a prevenção e terapia (Gao *et al.*, 2022).

### **2.4.1 Doença vascular cerebral e o envelhecimento**

A expectativa de vida tem aumentado gradualmente no último século e, paralelamente, tem sido observado um aumento acelerado de doenças associadas ao envelhecimento, como as doenças degenerativas, doenças cardiovasculares (DCV) e cerebrovasculares. A idade avançada influencia negativamente essas doenças pelo efeito natural do envelhecimento, assim como pelo aumento dos fatores de risco (Izzo *et al.*, 2018).

O AVC é a segunda causa de óbito mundial, assim como também a segunda causa de demência, e a principal causa de incapacidade motora adquirida em adultos. Após 55 anos de idade, estima-se que o risco de AVC dobre a cada década (Markus; Pereira; Cloud, 2016). Essa faixa etária ainda é responsável por dois terços da morbimortalidade associadas ao AVC (Yousufuddin; Young, 2019).

Em pacientes idosos, o curso geralmente mais grave do AVC pode ser secundário a uma deficiência motora prévia e a presença de demência. Essas condições são frequentes no idosos e contribuem para uma morbidade mais grave (Busl *et al.*, 2013; Denti *et al.*, 2010). Também, uma maior ineficiência da rede arterial leptomeníngea pode colaborar para a menor resistência à isquemia (Arsava *et al.*, 2014). Mais ainda, a redução da neuroplasticidade, com o avançar da idade, compromete o potencial de recuperação funcional pós-AVC (Ribo *et al.*, 2014).

Com o envelhecimento, ocorrem mudanças na estrutura e funcionamento dos vasos sanguíneos e seus principais componentes, como o endotélio vascular e parede arterial média. Essas transformações levam a uma redução da capacidade vasodilatadora do endotélio vascular. Os componentes da parede arterial também passam por um decaimento lento observando-se aumento dos depósitos de cálcio e hipertrofia secundária, o que caracteriza a rigidez vascular comum em pessoas idosas (Ungvari *et al.*, 2020).

Essas alterações aumentam o risco de DCV (Izzo *et al.*, 2018). A aterosclerose, uma condição em que ocorre o acúmulo de placas de gordura nas paredes das artérias, inclusive no cérebro, aumenta a chance de DVC no idoso. Dado o enrijecimento da parede arterial, também denominada arteriosclerose, a pressão arterial costuma aumentar tornando-se um fator de risco adicional para a DVC (Mozos, Lascu; Glicor, 2018).

### **2.4.2 Doença vascular cerebral e a privação do sono**

Nos últimos anos, estudos têm avaliado o impacto do sono nos desfechos da saúde e da doença (Ferrie *et al.*, 2011; Leng *et al.*, 2015). Trabalhos anteriores apresentaram a relação entre a curta duração do sono e o aumento dos riscos de AVC, doenças coronarianas, síndrome metabólica e outras doenças (Leng *et al.*, 2015; Tobaldini *et al.*, 2017; Xi *et al.*, 2014). A PS e alguns distúrbios do sono, insônia e apneia obstrutiva do sono, por exemplo, aumentam o risco de DCV. Essas condições influenciam também doenças cardiovasculares, como a hipertensão, obesidade e o diabetes. Tais comorbidades associadas aumentam o risco e gravidade da DCV (Belloir; Makarem; Shechter, 2022; Calhoun; Harding, 2010; Hargens *et al.*, 2013; Li *et al.*, 2021).

Alguns mecanismos comuns explicam a associação entre a PS e o aumento do risco de DCV. Sendo o sono fundamental na regulação da pressão arterial, a PS pode provocar uma hipertensão sustentada, dessa forma, contribuindo para o aumento do risco da DCV (Makarem *et al.*, 2021). A PS associa-se a processos inflamatórios e a inflamação crônica pode contribuir para aterosclerose (Motivala *et al.*, 2011). No mesmo sentido, a PS pode levar a alterações da função endotelial, afetando a distensibilidade dos vasos. A complacência ou capacidade de distensão dos vasos é essencial para permitir o fluxo sanguíneo adequado e prevenir doenças vasculares (Cherubini *et al.*, 2021).

É fundamental ressaltar que a associação entre a PS e DCV é complexa e multifatorial, sendo afetada por vários aspectos do modo de vida. Dessa forma, apesar de algumas evidências sugerirem uma possível associação entre a PS e o aumento do risco de DCV, mais estudos são necessários para entender os mecanismos subjacentes e a extensão dessa relação. Além disso, respostas individuais à PS podem variar individualmente (Minkel *et al.*, 2014; Van Dongen; Vitellaro; Dinges, 2005).

### **2.4.3 Doença vascular cerebral e o sedentarismo**

A inatividade física e o comportamento sedentário no cotidiano dos indivíduos é crescente. Os termos inatividade física e o comportamento sedentário não são a mesma coisa. A inatividade física pode ser definida como níveis insuficientes de

atividade física, de acordo com as recomendações da OMS (Leão; Knuth; Meucci, 2020). Já o comportamento sedentário, é definido como qualquer comportamento em que o gasto energético seja igual ou inferior a 1,5 equivalentes metabólicos da tarefa (MET) nas posições sentada, reclinada ou deitada em repouso (Vähä-Ypyä *et al.*, 2018).

Nas doenças crônicas, como a DVC, o sedentarismo é um fator de risco importante (Lavie *et al.*, 2019). É sabido que a inatividade física e o comportamento sedentário aumentam as chances do desenvolvimento dos AVC's isquêmico e hemorrágico. O sedentarismo contribui ainda para outras doenças, como a hipertensão arterial, o diabetes mellitus e a obesidade, que também colaboram para a ocorrência de eventos cerebrovasculares (Babaeva *et al.*, 2018; Same *et al.*, 2016; Wang *et al.*, 2022).

Indivíduos que utilizam dispositivos eletrônicos de forma excessiva e/ou trabalham sentados por período prolongado, possuem maior risco de DVC em comparação com indivíduos fisicamente mais ativos (Hooker *et al.*, 2022). Uma das explicações dessa relação direta entre o sedentarismo e DVC pode ser o fato de que indivíduos fisicamente inativos apresentam maiores prejuízos na saúde vascular, como disfunção endotelial, inflamação sistêmica e dislipidemia, fatores esses que colaboram para o desenvolvimento de aterosclerose e outras condições vasculares a nível cerebral (Daniele; Lucas; Rendeiro, 2022; Hamburg *et al.*, 2007; Nosova *et al.*, 2014).

O estilo de vida saudável, como a realização frequente de exercícios físicos, é capaz de reduzir consideravelmente os riscos de um AVC. Deve ser considerado que o exercício físico regular pode reduzir o risco de AVC a partir da sua atuação sobre fatores de risco, como a hipertensão arterial, dislipidemia, diabetes, consumo de álcool e de cigarro (Izquierdo *et al.*, 2021; Lee *et al.*, 2003).

Além disso, o exercício eleva o colesterol da lipoproteína de alta densidade (HDL-C) e melhora a plasticidade e função endotelial das artérias coronárias (Chiriaco *et al.*, 2022; Franczyk *et al.*, 2023). Segundo dados anteriores, indivíduos altamente ou moderadamente ativos apresentam menor incidência ou mortalidade por AVC quando comparado às pessoas com reduzido nível de atividade física (Diep *et al.*, 2010; Ghozy *et al.*, 2022).

## 2.5 Exercício físico aeróbio e seus benefícios sobre a barreira hematoencefálica

Uma boa aptidão cardiorrespiratória é, indiscutivelmente, uma das medidas mais importantes para a saúde geral. De forma contrária, uma baixa condição cardiorrespiratória é um fator de risco para morbidade e mortalidade por DCV. Nesse sentido, a atividade física e inatividade física apresentam-se como moduladores ambientais da aptidão cardiorrespiratória (Appelqvist-Schmidlechner *et al.*, 2020; Hussain *et al.*, 2018).

O exercício físico melhora, de maneira não invasiva, a saúde mental, tais como, em casos de depressão, ansiedade e doenças neurodegenerativas (Garvey *et al.*, 2023; Guo *et al.*, 2022). Além dos benefícios gerais proporcionados pelo exercício físico, estudos têm demonstrado seus múltiplos efeitos sobre a BHE. Tem sido registrada uma melhora no transporte de insulina, melhora da permeabilidade da BHE e, maior proteção contra danos causados por substâncias de abuso. Secundariamente, observa-se uma melhora do comprometimento cognitivo associado ao comprometimento da BHE induzida por hipoperfusão cerebral crônica e também em danos na BHE potencialmente secundários a obesidade (Brown *et al.*, 2022; Malkiewicz *et al.*, 2020; Malkiewicz *et al.*, 2019).

Esses achados sugerem um papel fundamental do exercício na manutenção da integridade e função da BHE. Dessa forma, o exercício pode contribuir na prevenção e tratamento de doenças neuroinflamatórias e também em condições onde há comprometimento cognitivo (Malkiewicz *et al.*, 2019).

No mesmo sentido, o exercício físico afeta a inflamação e melhora a função endotelial, justamente por elevar o fluxo sanguíneo, que por sua vez, leva ao aumento do estresse de cisalhamento e, conseqüentemente, estímulo da liberação de óxido nítrico. O exercício melhora o equilíbrio de redução-oxidação no SNC, a partir da regulação positiva das moléculas antioxidantes endógenas (Małkiewicz *et al.*, 2019).

O treinamento regular pode reduzir os níveis de citocinas inflamatórias no cérebro, como a IL-6 e TNF (Chupel *et al.*, 2018; Su *et al.*, 2022). Tais citocinas à inflamação sistêmica de baixo grau. Sabe-se que mesmo a inflamação sistêmica de baixo grau pode afetar a BHE (Grimm *et al.*, 2016). Vale ressaltar que o exercício reduz a inflamação através de uma redução da liberação de citocinas inflamatórias pela musculatura esquelética. A musculatura exercitada aumenta a liberação das

citocinas anti-inflamatórias IL-1ra e IL-10, que por sua vez reduzem os níveis de citocinas pró-inflamatórias, como TNF, IL-1 e IL-6 (Su *et al.*, 2022).

Apesar do exercício agudo de alta intensidade provocar um pico na atividade das células inflamatórias e nas concentrações plasmáticas da proteína C-reativa (PCR), o exercício crônico de intensidade submáxima induz mecanismos adaptativos que, a longo prazo, neutralizam a inflamação. Essas alterações podem ser mensuradas a partir da redução dos níveis de PCR, IL-6 e TNF. Ao mesmo tempo observa-se elevação dos níveis de citocinas anti-inflamatórias, como a interleucina-10 (IL-10) (Docherty *et al.*, 2022).

O exercício é também capaz de reduzir a expressão de receptores *Toll-like*, na superfície de monócitos. Esses receptores podem ser mediadores na inflamação sistêmica (Wu; Hu; Chen, 2020). Dessa forma, a função muscular, a inflamação e o exercício físico estão intrinsicamente ligados (Docherty *et al.*, 2022).

## 2.6 O exercício físico e a irisina

As células musculares, também chamadas de miócitos, são responsáveis por produzir miocinas em resposta à contração do músculo esquelético. Essas miocinas apresentam-se aumentadas na corrente sanguínea após o exercício (Boström *et al.*, 2012; Carson, 2017). Os efeitos benéficos do exercício podem ser parcialmente atribuídos às miocinas (Di Liegro *et al.*, 2019).

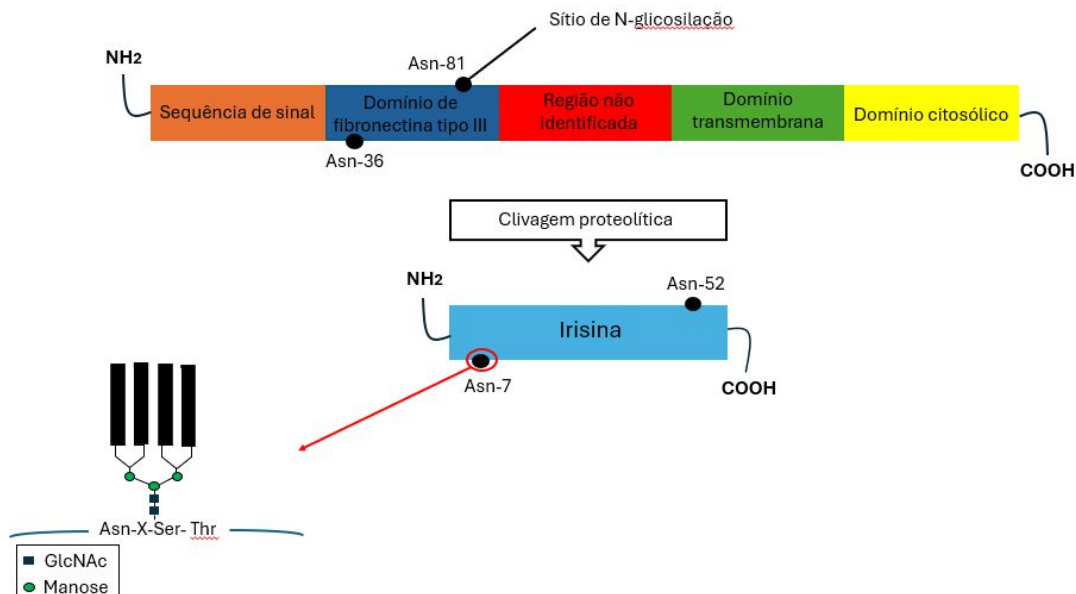
As miocinas, citocinas e peptídeos produzidos pelas fibras musculares durante o exercício, fazem a comunicação entre a musculatura esquelética e alguns órgãos (Severinsen; Pedersen, 2020). Existem receptores de miocinas em vários tecidos, como músculo, coração, fígado, pâncreas, células imunes e cérebro. A IL-15, IL-8, BDNF, dentre outras, são exemplos de miocinas sintetizadas na musculatura esquelética. Além dessas, mais recentemente, foi identificada a irisina (Boström *et al.*, 2012).

A irisina é um fragmento de uma proteína da membrana celular chamada de fibronectina tipo III de domínio, contendo a proteína 5 (FNDC5). A FNDC5 é formada por 209 aminoácidos, que contém uma sequência N-terminal composta por 29 aminoácidos, um domínio de fibronectina tipo III (94 aminoácidos), uma região não identificada (29 aminoácidos), um domínio transmembrana (19 aminoácidos) e uma região C-terminal (39 aminoácidos). A FNDC5 é uma proteína N-glicosada contendo



oligosacarídeos ligados a asparagina na sequência ASn-X-ser/Thr, em que o X é algum aminoácido, com exceção da prolina. A porção N-terminal é clivada para produção de irisina, que é liberada na circulação. A irisina possui dois sítios de N-glicosilação nas posições Asn-7 e Asn-52 (Figura 2) (Panati *et al.*, 2018).

Figura 2 - Estrutura de FNDC5 e formação da irisina.



Fonte: Korta, Pocheć e Mazur-Biały (2019), adaptado.

Os prováveis locais de N-glicosilação são marcados como pontos pretos. Asn- asparagina; GlcNAc- N-acetilglucosamina; Ser- serina; Thr - treonina; X- qualquer aminoácido exceto prolina.

A FNDC5, uma glicoproteína transmembrana do músculo esquelético, expressa-se no coração e cérebro (Boström *et al.*, 2012). A expressão da FNDC5 é regulada pelo co-ativador gama 1 alfa do receptor ativado pelo proliferador de peroxissoma (PGC-1 $\alpha$ ), que, por sua vez, é induzido pelo exercício físico. A clivagem do FNDC5 na porção ectodomínio libera o fragmento solúvel de irisina (Wang *et al.*, 2022).

Evidências têm mostrado que a irisina promove mudanças no tecido adiposo, sendo capaz de converter gordura branca em gordura marrom (Boström *et al.*, 2012). A irisina está envolvida na melhora da tolerância à glicose, reduzindo a resistência à insulina (Li *et al.*, 2019). Também contribui para uma regulação do comportamento depressivo, a partir da ativação da via PGC-1 $\alpha$  e-FNDC5/irisina no hipocampo. Tem sido relatada uma promoção do fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) em

algumas regiões cerebrais, (Wang; Pan, 2016), uma proliferação de osteoblastos (Chen *et al.*, 2020), e também benefícios para o SNC através de aumento da neurogênese (Jodeiri Farshbaf; Alviña 2021; Piya *et al.*, 2014). Além disso, também desempenha importante papel na regulação de fatores de risco na doença de Alzheimer, influenciando positivamente a neurogênese hipocampal, reduzindo a inflamação e o envelhecimento (Panati; Suneetha; Narala, 2016; Waseem *et al.*, 2021).

Vale ressaltar que apesar de ser encontrada no pâncreas, testículos, fígado e estômago, a irisina é secretada principalmente pelos músculos esqueléticos (Korta; Pocheć; Mazur-Biały, 2019). O exercício físico, juntamente com o PGC-1 $\alpha$ , são os responsáveis por induzir a sua secreção (Waseem *et al.*, 2021). A PGC-1 $\alpha$  regula genes em resposta às condições nutricionais e fisiológicas no tecido adiposo marrom, musculatura esquelética, tecido cardíaco e hepático (Norheim *et al.*, 2014).

Os níveis de irisina circulante, hepáticos, cardíacos e cerebrais são maiores em indivíduos fisicamente ativos. De forma contrária, seus níveis são menores nos indivíduos sedentários e menos ativos. O exercício de longa duração aumenta a expressão de PGC-1 $\alpha$ , inclusive na musculatura esquelética. Observa-se então, uma melhora dos parâmetros metabólicos, como a produção de FNDC5 e subsequente clivagem e secreção de irisina (Kahraman, 2018; Moreno-Navarrete *et al.*, 2013).

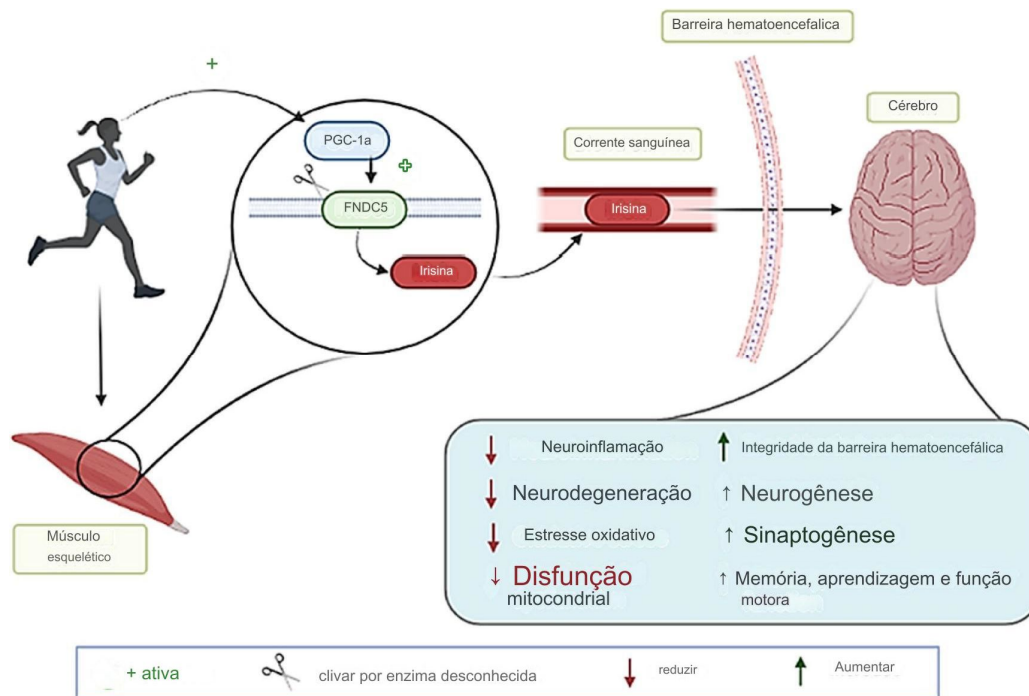
## **2.7 Efeitos da irisina no cérebro**

O exercício físico, através da contração muscular, induz a expressão de irisina no cérebro, sendo notavelmente observada no hipocampo, córtex frontal e líquido cefalorraquidiano. Acredita-se que essa proteína seja responsável pelo efeito neuroprotetor no exercício físico (Boström *et al.*, 2012; Isalam *et al.*, 2021; Lourenço *et al.*, 2019; Maekawa *et al.*, 2018; Wang *et al.*, 2022; Wrann *et al.*, 2013).

Os exercícios aeróbios e resistidos induzem na musculatura esquelética a ativação de PGC-1 $\alpha$ , um coativador transcricional, modulador do metabolismo celular, envolvido na biogênese da mitocôndria e no metabolismo oxidativo. Esse, por sua vez, ativa o FNDC5 que é clivado por uma enzima ainda desconhecida para liberar irisina circulante, que então atinge o cérebro perpassando a BHE e manifestando o seu efeito neuroprotetor (Sadier *et al.*, 2024) (Figura 3). Ao induzir a expressão de FNDC5 no

hipocampo, a irisina parece alterar a expressão gênica em células gliais e neurônios. A irisina influencia o desenvolvimento neuronal de células tronco embrionárias, ativando o BDNF e outros genes que protegem o sistema nervoso (Wrann, 2015).

Figura 3 - Papel neuroprotetor do exercício físico na barreira hematoencefálica



Fonte: adaptado de SADIÉ *et al.* (2024).

Evidências anteriores têm mostrado o papel protetor da irisina na BHE. Estudos mostram que a irisina pode atenuar a neuroinflamação e o estresse oxidativo, reduzindo a quantidade de micróglia ativada, a ativação dos astrócitos e a expressão de IL-6 e TNF- (Pignataro *et al.*, 2021). Tudo isso se reflete na manutenção da integridade da barreira e redução do dano cerebral em diversas condições de modelos animais (Guo *et al.*, 2021; Guo 2019).

Em modelos de traumatismo cranioencefálico, a irisina reduziu a disfunção da BHE, promovendo a expressão da proteína desacopladora 2 (UCP-2) na membrana mitocondrial dos neurônios, atenuando danos mitocondriais e aliviando a resposta inflamatória e do estresse oxidativo (Guo *et al.*, 2021). No mesmo sentido, em um modelo de isquemia-reperfusão cerebral, o tratamento com irisina reduziu o dano cerebral e protegeu a BHE. Tal efeito pode ser justificado a partir da regulação da expressão e atividade da metaloproteinase nove (MPP-9), que aumenta a

permeabilidade da BHE (Guo *et al.*, 2019). Esses achados sugerem o papel neuroprotetor dessa miocina na preservação da integridade e função da BHE em condições patológicas. Evidências recentes sugerem que a irisina periférica atravessa a BHE e atinge áreas cerebrais ligada à cognição (Islam *et al.*, 2021).

Estudos têm mostrado que os níveis de FNDC5/irisina hipocampal apresentouse reduzido em modelos de estresse crônico (Babaei *et al.*, 2021; Wu *et al.* 2021). Outros estudos também relataram que a depressão após o AVC ou doença coronariana associou-se à redução da irisina plasmática (Han *et al.*, 2019; Tu *et al.*, 2018). Atualmente, apesar dessas evidências, ainda não se sabe como a irisina se comporta no cérebro privado de sono.

### 3 JUSTIFICATIVA

A PS associa-se a manifestação de diversas condições clínicas e patológicas. O exercício físico crônico, uma estratégia eficaz e de baixo custo, pode ser benéfico frente aos efeitos deletérios da PS. O exercício potencialmente melhora a saúde cerebral, o humor, a memória, o sono e a qualidade de vida. Atualmente, os mecanismos que justificam os benefícios do exercício não são totalmente compreendidos. Além disso, ainda não estão claras as ações diferenciais do exercício em indivíduos jovens e idosos.

A irisina, um hormônio produzido pelo músculo esquelético, após o exercício físico, associa-se a vários efeitos biológicos. No cérebro, ela é capaz de melhorar a cognição, a aprendizagem e a memória. Até o momento, não se conhece amplamente a ação dessa molécula. Particularmente, não se sabe sobre a influência do exercício em jovens comparados a idosos e na presença da PS. Torna-se então importante investigar os efeitos do exercício físico crônico sobre as alterações comportamentais, os marcadores inflamatórios, a permeabilidade da barreira hematoencefálica e a expressão de FNDC5/irisina hipocampal. Serão analisadas as diferenças entre animais jovens e idosos e a influência da privação do sono.

## **4 OBJETIVOS**

### **4.1 Objetivo geral**

Avaliar os efeitos do exercício físico crônico sobre parâmetros comportamentais, inflamação, permeabilidade da barreira hematoencefálica e expressão da FNDC5/irisina hipocampal em camundongos adultos jovens e camundongos idosos, privados do sono.

### **4.2 Objetivos específicos**

Em camundongos adultos jovens, idosos e controles, submetidos a: exercício físico, privação de sono e exercício físico + privação de sono, avaliar:

- ✓ Memória espacial de trabalho
- ✓ Comportamento semelhante à depressão
- ✓ Comportamento semelhante à ansiedade
- ✓ Níveis plasmáticos das citocinas TNF e IL-6
- ✓ Expressão proteica de albumina e FNDC5 no hipocampo

## 5 MATERIAIS E MÉTODOS

### 5.1 Kits e anticorpos

- Kit ELISA Duo-Set TNF (R&D Systems, Minesota, EUA);
- Kit ELISA Duo-Set IL-6 (R&D Systems, Minesota, EUA);
- Anticorpo Anti-Beta actina, EP1123Y, *Rabbit monoclonal* (Millipore Corporation, EUA);
- Anticorpo Anti-Rabbit IgG (ab191866, abcam, Cambridge);
- Anticorpo Anti-albumin, #4929 (Cell Signaling, Massachusetts, EUA);
- Anticorpo Anti-FNDC5 (ab131390, abcam, Cambridge);

### 5.2 Equipamentos e materiais

- Balança analítica bioprecisa (Shimadzu, Brasil);
- Centrífuga refrigerada para tubos (Cientec, Brasil);
- Criotubos, 2,0ml;
- Equipamentos de proteção individual (EPI's): avental de algodão, propé (proteção para os pés), touca, máscara e luvas de nitrila;
- Espectrofotômetro (Beckman Coulter, EUA);
- Fotodocumentador para western blot;
- Geladeira e freezer ThermoScientific (-80°C);
- Instrumental cirúrgico;
- Lanceta plástica;
- Placas de petri;
- Ponteiras para pipetas;
- Ração para camundongos (Presence-Labina®);
- Sacos plásticos com símbolo de contaminante;
- Tubos de polipropileno para centrífuga;
- Tubos Eppendorfs, 1,5ml;
- Tubos Falcons, 15 e 50ml;
- Vidraria: béqueres, pipetas manuais e tubos de ensaio;
- Vórtex Maxi Mix II;
- Espectrofotômetro UV-Visible (Shimadzu UV-260, Tóquio, Japão);

- Esteira Modelo Insight® (Equipamento, Pesquisa e Educação-Co., Brasil);
- Labirinto em cruz elevada;
- Labirinto em Y;
- Microplacas de 96 poços;
- Vidraria: béqueres, pipetas manuais e tubos de ensaio.
- Leitor de placa de ELISA;
- Aparatos para corrida e transferência para a técnica de *western blot*;
- Aparato para o protocolo de PS (tanque e plataformas).

### 5.3 Animais

Os experimentos deste estudo foram aprovados pela Comissão de Ética em Cuidados com Animais da Universidade Federal do Ceará (UFC), Brasil (protocolo número 8974250719). O estudo seguiu as Diretrizes do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA).

Inicialmente, noventa e seis camundongos (*Mus musculus*, da linhagem *Swiss*, 25-30g) machos provenientes do Biotério Setorial, Departamento de Fisiologia e Farmacologia da UFC, foram acomodados em estantes ventiladas, numa sala do próprio biotério, com temperatura controlada, ciclo claro/escuro normal de 12 horas e alojados em caixas de polipropileno (n=6 em cada caixa), contendo raspas de madeira, como forração, água e ração *ad libitum*. Posteriormente, foi feita a solicitação de mais 24 camundongos para compor o grupo idoso, pois, especificamente no que diz respeito aos animais idosos, a perda por morte e outras comorbidades associadas ao envelhecimento é relativamente comum (Accardi; Caruso, 2017; Ferruci; Fabbri, 2018; Leonardi *et al.*, 2018).

Todas as precauções foram tomadas com a finalidade de reduzir o sofrimento e diminuir o número de animais utilizados.

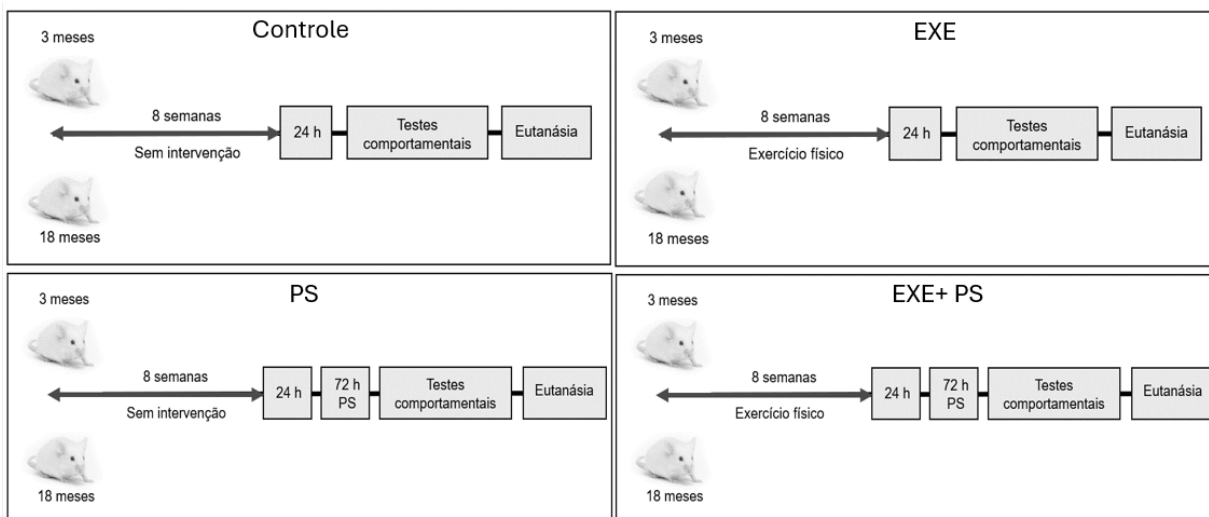
### 5.4 Procedimentos experimentais

O experimento foi dividido em duas etapas. Na primeira etapa foram utilizados camundongos adultos jovens (3 meses de idade; n= 48). Na segunda etapa, foram utilizados camundongos idosos (18 meses de idade; n=48). Todos os animais foram distribuídos aleatoriamente em oito grupos experimentais (n=12 animais/cada). O



estudo envolveu então, os seguintes grupos: controle adulto jovem, controle idoso, exercício físico adulto jovem (EXE) (exercício em esteira por 8 semanas), exercício físico idoso (EXE) (exercício em esteira por 8 semanas), privação de sono (PS) (72 horas de PS REM) adulto jovem, privação de sono (PS) (72 horas de PS REM) idoso, e combinação exercício físico + PS adulto jovem e idoso (exercício em esteira por 8 semanas seguido de 72 horas de PS REM). Todos os grupos (com e sem intervenção) tiveram um intervalo de 24 horas logo após as oito semanas, com a finalidade de manter o padrão temporal do experimento. Esse período foi estabelecido baseado na condição dos animais do grupo EXE+PS, pois já vinham de um treino em esteira exaustivo por 60 min e seria por demais estressante submeter esses animais ao protocolo de PS logo em seguida. O desenho do estudo está apresentado abaixo (Figura 4):

Figura 4 - Desenho do estudo para os animais adultos jovens e idosos nos grupos controle, submetidos ao exercício físico, somente submetidos à privação de sono e submetidos a exercício prévio à privação do sono, respectivamente.



Fonte: Elaborada pelos autores.

## 5.5 Protocolo de exercício físico em esteira rolante

Os animais foram familiarizados na esteira motorizada de oito canais (Model Insight® -Equipamento, Pesquisa e Educação-Co., Brasil) (Figura 5). O exercício foi realizado durante o dia, das 11h às 13h (zeitgeber - ZT 6 e 7), de segunda à sexta, baseado no estudo de Daniele *et al.* (2017).

Figura 5 - Esteira rolante motorizada com oito camundongos Swiss.



Fonte: Elaborada pelos autores.

Inicialmente, os animais foram submetidos ao protocolo de adaptação durante 1 semana (5 sessões de treino com tempo total de 10 min/sessão e velocidade fixa de 3 m/min). Os animais relutantes em se exercitar durante a fase de adaptação, foram excluídos do estudo (cerca de 10%). Vinte e quatro horas após a semana de adaptação, os animais foram submetidos ao teste de esforço máximo (TEM) para definição da carga de trabalho. O referido teste baseou-se no teste de capacidade aeróbica máxima de Ferreira *et al.* (2007). O teste utilizou uma velocidade inicial de 6 m/min e um incremento de 3 m/min a cada três minutos até a exaustão que foi estabelecida quando o camundongo encostava-se na parte posterior da baia da esteira, por pelo menos cinco vezes em um minuto. A velocidade máxima atingida por cada animal foi anotada para determinação da carga de trabalho e uso no protocolo de treinamento. Dois dias após o TEM, iniciou-se o treinamento em esteira. A intensidade do treinamento foi de 60% da velocidade máxima ( $V_{m\acute{a}x}$ ) atingida no TEM, de acordo com a classificação proposta por Howley (2001): muito leve, menor que 20% da  $V_{m\acute{a}x}$ ; leve, entre 20-39% da  $V_{m\acute{a}x}$ ; moderada, de 40-60% da  $V_{m\acute{a}x}$ ; intensa, de 61-84% da  $V_{m\acute{a}x}$ ; muito intensa, igual ou superior a 85% da  $V_{m\acute{a}x}$ ; máxima, com 100% da  $V_{m\acute{a}x}$ . O protocolo de treinamento foi adaptado do estudo de Tsai *et al.* (2018) (Tabela 1).

Tabela 1 - Protocolo de treinamento em esteira rolante.

Semana	Velocidade (m/min)	Duração (min)
1ª semana		
(familiarização - Segunda à Sexta)	03	10
Sábado (TEM)	06 até a exaustão	
	segunda-feira	20
	terça-feira	60% V <sub>máx</sub> do TEM
2ª semana	quarta-feira	40
	quinta-feira	50
	sexta-feira	60
3ª semana	60% V <sub>máx</sub> do TEM	60
4ª semana	60% V <sub>máx</sub> do TEM	60
5ª semana	60% V <sub>máx</sub> do TEM	60
Sábado (reteste TEM)	06 até a exaustão	
6ª semana	60% V <sub>máx</sub> do TEM	60
7ª semana	60% V <sub>máx</sub> do TEM	60
8ª semana	60% V <sub>máx</sub> do TEM	60

TEM- teste de esforço máximo; V<sub>máx</sub>- velocidade máxima; min- minutos; m/min- metros por minuto; %- porcentagem.

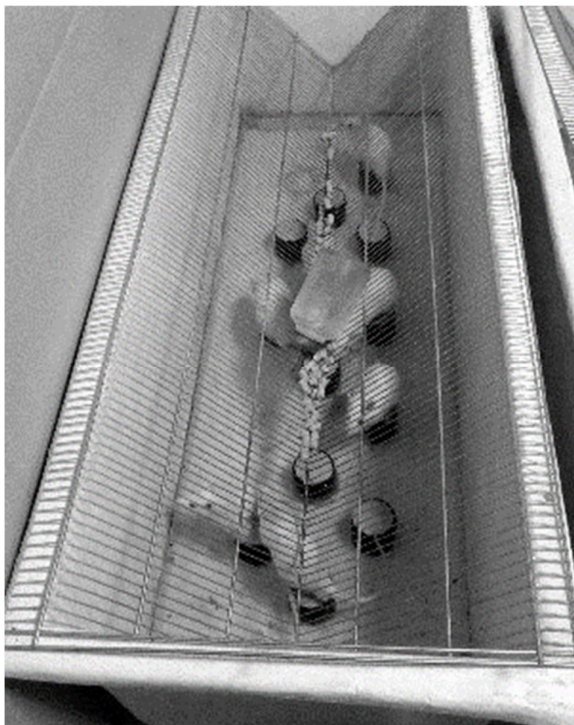
Com a finalidade de reduzir o estresse relacionado ao treino, nenhum estímulo elétrico ou sonoro foi empregado no presente estudo. Apenas um leve toque na cauda dos camundongos foi utilizado para incentivá-los a correr, quando necessário.

## 5.6 Protocolo experimental de privação do sono

No presente estudo, foi utilizado o método de 72 horas de PS REM adaptado do teste de plataformas múltiplas originalmente desenvolvido para ratos (Nunes; Tufik, 1994) (Figura 6). Cinco camundongos foram submetidos a esse método por vez, sendo colocados em tanques de 41x34x16,5cm, preenchidos com água, contendo 14 plataformas de 3 cm de diâmetro cada, com a água até 1 cm abaixo da superfície de

cada plataforma. Nesse modelo, os animais têm a capacidade de se locomover no tanque pulando de uma plataforma para outra, evitando assim o isolamento social. Durante todo o período de PS, os camundongos tiveram acesso à ração e água *ad libitum*.

Figura 6 - Modelo de privação do sono em plataformas múltiplas



Fonte: Kamali *et al.* (2016).

## 5.7 Testes comportamentais

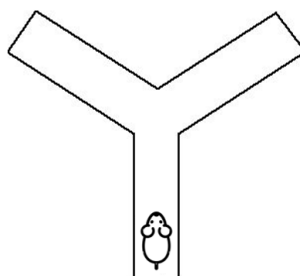
A ordem dos testes comportamentais durante o experimento foi a seguinte: Inicialmente os animais fizeram o teste de memória de trabalho no labirinto em Y, logo em seguida fizeram o teste de ansiedade no labirinto em cruz elevado e, para finalizar, realizaram o teste de suspensão de cauda.

### 5.7.1 Teste de memória de trabalho - Labirinto em Y

A memória de trabalho, também chamada de memória operacional, foi testada utilizando o labirinto em forma de Y (*Y-maze*) (Figura 7). Nesse experimento, cada animal foi colocado individualmente no labirinto, em forma de Y, com os três braços

idênticos, nos quais eles tendem a alternar entre os diferentes ambientes (Sarter; Bodewitz; Stephens, 1988). O labirinto em Y é formado por três braços (16 cm de altura x 5 cm de largura x 40 cm de comprimento).

Figura 7 - Modelo do teste labirinto em Y.



Fonte: Elaborada pelos autores.

Para a análise da capacidade de memorização, os braços foram designados com os números um, dois e três. O camundongo foi introduzido no labirinto e, durante oito minutos, o número de cada braço no qual o animal adentrou foi observado. Foi contabilizado como acerto cada vez que o animal entrou em três braços diferentes sem repetição. O desempenho do teste foi apresentado em forma de porcentagem e calculado usando a seguinte equação matemática (Figura 8):

Figura 8 - Equação matemática para avaliação da memória de trabalho

$$\text{Alternâncias espontâneas (\%)} = \frac{\text{Número de acertos}}{\text{Número total de entradas} - 2} \times 100$$

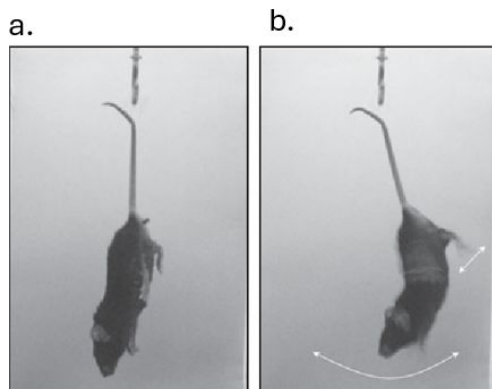
Fonte: Sarter, Bodewitz e Stephens (1988).

A eficácia desse experimento pode ser comprovada pela elevada frequência de alternância nos grupos, o que sugere que os animais conseguem lembrar em qual braço do labirinto entraram por último e, assim, manter uma alternância consistente. Após cada sessão do teste, o labirinto foi limpo e higienizado com álcool a 70% e seco com papel toalha para remoção de quaisquer pistas olfativas.

### 5.7.2 Teste de sintomas depressivo-símile – Suspensão de cauda

O teste para avaliação do comportamento semelhante à depressão seguiu a metodologia descrita por Steru *et al.* (1985). Esse teste é frequentemente utilizado nas pesquisas experimentais básicas como forma de avaliação de atividade antidepressiva (El Yacoubi *et al.*, 2001). Todos os animais foram mantidos em isolamento acústico e visual, em seguida suspensos a uma altura de 60 cm acima do solo segurando-os pela extremidade da cauda, cerca de 1 cm de distância da base (Figura 9). A medição do tempo total de imobilidade do rato foi registrada durante um período com duração de 5 minutos. A imobilidade dos animais foi registrada somente quando eles se mantinham suspensos passivamente e completamente sem movimento (Cryan, Mombereau, Vassout, 2005) (FIGURA 9.; a. imobilidade; b. movimentação do corpo e/ou patas). Neste modelo, os animais quando submetidos a determinados períodos de estresse tendem a desenvolver uma postura imóvel, caracterizando um comportamento semelhante à depressão.

Figura 9 - Figura esquemática do teste de suspensão de cauda.



Fonte: Berocoso *et al.* (2013).

### 5.7.3 Avaliação da ansiedade - Labirinto em cruz elevado

O Labirinto em Cruz Elevado (LCE) foi desenvolvido a partir do estudo de Pellow *et al.* (1985) em ratos, e validado por Lister (1987) em camundongos. Esse labirinto é composto por dois braços abertos opostos (30x5x25cm) e dois fechados (30x5x25cm), também opostos, formando uma cruz grega (Figura 10) (Lister, 1987; Pellow *et al.*, 1985).

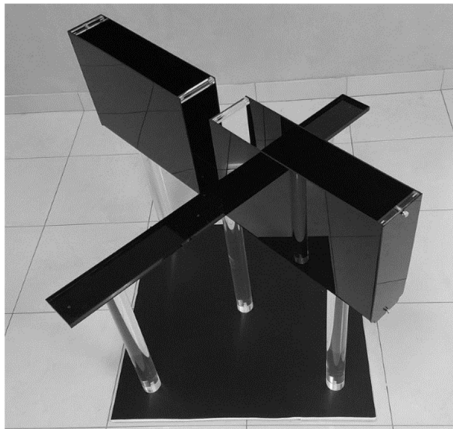
Todos os braços estão ligados por uma plataforma central de 5cm x 5cm. Cada braço tem 30 cm de comprimento por 6 cm de largura, e estão situados a uma altura de 31 cm do chão. Cada camundongo, individualmente, é colocado no centro do labirinto, virado para um dos braços fechados, permitindo-se que explore livremente o aparelho por 5 minutos. Durante este período, os tempos gastos explorando os braços abertos e fechados, bem como o número de vezes que entra com as quatro patas em cada braço. Após o término da avaliação com um tempo de 5 min em cada experimento, o LCE é limpo com álcool a 70% e seco com papel toalha para remoção de quaisquer pistas olfativas. Os resultados são expressos como a média percentual de entradas em relação ao tempo total do experimento (300 segundos).

São então anotados os seguintes critérios como forma de avaliar o comportamento:

- Número de entradas nos braços abertos: refere-se ao momento em que o animal entra nos braços abertos com todas as patas.
- Tempo de permanência nos braços abertos: refere-se ao tempo de permanência nos braços abertos, em segundos.
- Número de entradas nos braços fechados: refere-se ao momento em que o animal entra nos braços fechados com todas as patas.
- Tempo de permanência nos braços fechados: refere-se ao tempo de permanência nos braços fechados, em segundos.

Neste experimento, os animais que foram privados do sono tendem a evitar os braços abertos, mostrando uma preferência por ficar nos braços fechados. Um aumento seletivo nos parâmetros relacionados aos braços abertos (entradas e tempo) mostra um efeito ansiolítico, e o inverso para comportamentos ansiogênicos.

Figura 10 - Figura esquemática do teste de labirinto em cruz elevado.



Fonte: Ari *et al.* (2019).

## 5.8 Coleta das amostras

Os animais foram eutanasiados por decapitação após a oitava semana do experimento e foram coletados o hipocampo e o plasma sanguíneo. O tecido cerebral foi congelado, imediatamente após a coleta em nitrogênio líquido e, logo após, em freezer  $-80^{\circ}$ , para as análises de *western blot*. O sangue, após separação do plasma, foi armazenado em freezer  $-80^{\circ}$  para posterior ensaio imunoenzimático de ELISA.

## 5.9 Avaliação das alterações neuroquímicas e séricas

### 5.9.1 Quantificação de proteínas por *Western Blot*

As amostras de hipocampo foram descongeladas e transferidas para outro tubo junto com tampão de RIPA para homogeneização. Logo após, foram centrifugadas e o sobrenadante foi transferido para um novo tubo. A quantificação de proteína utilizou o Kit BCA - *Thermo Fisher*®. Após a quantificação, foram realizadas misturas do tampão de amostra, água destilada e hipocampo. Logo após, seguiu-se o banho-maria em  $100^{\circ}$  por 5 minutos. A concentração das proteínas foi determinada por ensaio colorimétrico (Bradford, 1976).



De forma simplificada, as amostras foram pipetadas no gel de acrilamida, de acordo com a concentração padronizada das proteínas. Em seguida foi feita a corrida. Logo após a corrida, foi realizada a etapa de transferência para uma membrana de nitrocelulose. Foi iniciada então, a etapa de bloqueio com leite em pó (5%) para o caso da ALBUMINA (Anti-Albumin antibody, #4949, cell signaling). Um bloqueio com *bovine serum albumin* (BSA) foi realizado para o FNDC5 (Anti-FNDC5 antibody ab131390, abcam) (5%), ambos por 1h 30 min. Em seguida foram realizadas as lavagens (TBS-T, 3x10 minutos) e incubação com anticorpo secundário (Anti-rabbit antibody ab191866, abcam), por 1h. Foram feitas novas lavagens (TBS-T, 3x10 minutos) e incubação *overnight* com os anticorpos primários (Anti-Albumina e Anti-FNDC5). Por fim, as membranas foram lavadas (TBS-T, 3x10 minutos) e embebidas com solução composta de Luminol e Peróxido e fotodocumentadas (Gel Doc XR+ Gel Documentation System, Bio-Rad).

### **5.9.2. Ensaio imunoenzimático ELISA**

O sangue foi coletado imediatamente após a decapitação dos animais e armazenado no eppendorf. Em seguida, foi centrifugado a 3500 rpm por 10 minutos, o plasma coletado foi, logo após, congelado em freezer -80° para posterior análise de fator de necrose tumoral (TNF) (Mouse TNF-alpha DuoSet ELISA, R&D Systems, cat# DY410) e interleucina-6 (IL-6) (Mouse IL-6 DuoSet ELISA, R&D Systems, cat# DY406). A placa foi sensibilizada com anticorpo de captura e permaneceu *overnight*. No dia seguinte, foram feitas as etapas de acordo com o protocolo disposto no kit específico para cada anticorpo e proposto pelo fabricante R&D Systems.

### **5.10 Análise estatística**

As medidas descritivas foram exibidas na forma de média ( $\pm$  erro padrão). Todos os dados foram submetidos à análise de normalidade e homogeneidade de variância. A técnica de análise de variância (ANOVA) foi usada, seguida do teste pós-análise de Tukey, para contrastar resultados entre múltiplos conjuntos de dados e comparações entre pares. Para comparação entre dois grupos, foi utilizado o teste T de *Student* pareado e não pareado, quando pertinente.

O procedimento de análise estatística foi conduzido por meio do software GraphPad Prisma 5.03 (San Diego, USA). O nível de significância estatística foi estabelecido em  $p < 0,05$ .

## 6 RESULTADOS

Os animais adultos jovens, após a primeira semana de adaptação, apresentaram uma velocidade entre 20-22 m/min no *reteste* exaustivo. A velocidade utilizada para os treinos da segunda à quinta semana foi de 12-13 m/min. No final da quinta semana, a velocidade do *reteste* exaustivo foi de 23-24 m/min, com velocidade de treino variando de 14-15 m/min da sexta até a oitava semana.

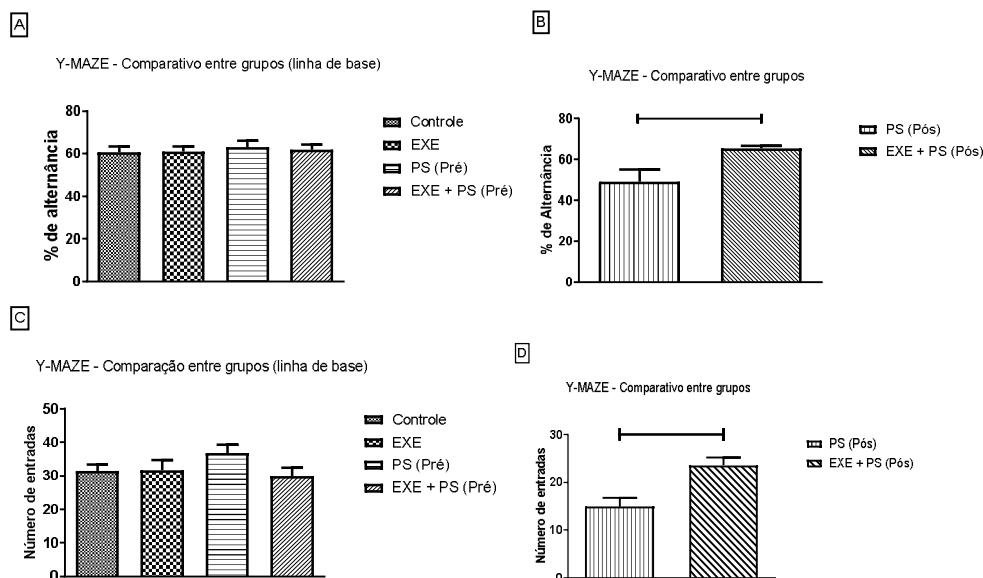
Os animais idosos, após a primeira semana de adaptação, apresentaram a velocidade entre 15-16 m/min no *reteste* exaustivo. A velocidade utilizada atingida pelos animais ao final do teste exaustivo, foi entre 15-16 m/min. A velocidade utilizada para os treinos da segunda à quinta semana foi de 9-10 m/min. No final da quinta semana, a velocidade do *reteste* exaustivo foi de 17-18 m/min, com velocidade de treino variado de 10-11 m/min da sexta à oitava semana.

### 6.1 Teste do labirinto em Y

A memória de reconhecimento espacial foi investigada, através do teste do labirinto em Y. Respectivamente, a Figura 11 apresenta a avaliação da memória de trabalho a partir de gráficos e a tabela 2 apresenta os dados descritivos. Os grupos de adultos jovens, controle, EXE, PS e EXE+os estão representados

Os animais adultos jovens não apresentaram diferenças na linha de base para o percentual de alternância entre os braços e número de entradas (Figura 11A, 11C e Tabela 2). O grupo exercício físico prévio à PS apresentou maior percentual de alternâncias ( $p=0,01$ ) e maior número de entradas ( $p=0,003$ ) nos braços quando comparado ao grupo PS (Figura 11B, 11D e Tabela 2).

Figura 11 - Avaliação de memória de trabalho através do teste Labirinto em Y (Y-MAZE) nos grupos adultos jovens controle, EXE, PS e EXE+PS antes e após a PS. (a,b) percentual de alternância espontânea; (c,d) número de entradas em cada braço.



Os valores foram expressos pela média  $\pm$  EPM. Teste Anova seguido do teste de Tukey (Figuras 9A e 9C) e teste T de *Student* não pareado (Figuras 9B e 9D). Animais por grupo (n=9-10). \*\*p=0,01  
\*\*\*p=0,003.

Tabela 2 - Dados descritivos (média  $\pm$  EPM) da avaliação da memória de trabalho através do teste Labirinto em Y (Y-MAZE), nos grupos adultos jovens controle, EXE, PS e EX+PS antes e após a PS.

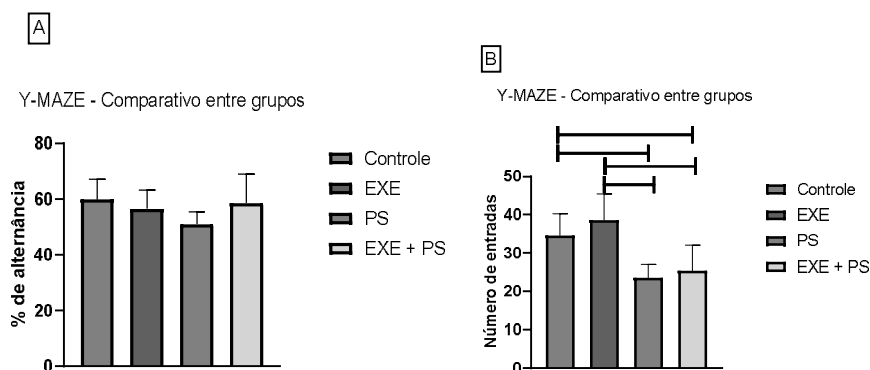
Grupos	Nº de entradas na linha de base	Nº de entradas após a PS	% de alternância espontânea na linha de base	% de alternância espontânea após a PS
<b>Controle</b>	31,50 $\pm$ 1,94		60,75 $\pm$ 2,47	
<b>EXE</b>	31,70 $\pm$ 3,03		61,01 $\pm$ 2,20	
<b>PS</b>	36,73 $\pm$ 2,49 <sup>x</sup>	14,90 $\pm$ 1,79 <sup>a</sup>	63,01 $\pm$ 3,09	49,08 $\pm$ 5,98 <sup>b</sup>
<b>EXE+PS</b>	29,91 $\pm$ 2,56 <sup>z</sup>	23,50 $\pm$ 1,69	61,77 $\pm$ 2,60	65,39 $\pm$ 1,37

<sup>a</sup>p=0,003 comparado ao grupo EXE+PS pelo teste t de *Student* não pareado. <sup>b</sup>p=0,01 comparado ao grupo EXE+PS pelo teste t não pareado. <sup>x,z</sup>p<0,05 comparado ao grupo PS e EXE+PS, respectivamente, após a privação pelo teste t-pareado. Animais por grupo (n=9-10).

A Figura 12 apresenta a avaliação da memória de trabalho a partir de gráficos. A tabela 3 apresenta os dados descritivos. Ambas nos grupos idosos controle, EXE, PS e EXE+PS.

Nos animais idosos não foram registradas diferenças entre os animais privados do sono e exercitados previamente à PS em relação ao percentual de alternância e número de entradas nos braços (Figura 12A e 12B). Os grupos PS e exercício físico prévio a PS apresentaram menor número de entradas nos braços que os demais grupos ( $p < 0,05$ ) (Tabela 3).

Figura 12 - Avaliação de memória de trabalho através do teste Labirinto em Y (Y-MAZE) nos grupos idosos controle, EXE, PS e EXE+PS. (a) percentual de alternância espontânea; (b) número de entradas em cada braço.



Os valores foram expressos pela média  $\pm$  EPM. <sup>a</sup> $p < 0,05$ , ANOVA seguido de Tukey

Tabela 3 - Dados descritivos (média  $\pm$  EPM) da avaliação da memória de trabalho através do teste Labirinto em Y (Y-MAZE), nos grupos idosos controle, EXE, PS e EX+PS antes.

Grupos	% de alternância espontânea	Nº de entradas
<b>Controle</b>	59,89 $\pm$ 2,39	34,53 $\pm$ 2,13 <sup>a</sup>
<b>EXE</b>	56,48 $\pm$ 2,29	38,55 $\pm$ 2,06 <sup>b</sup>
<b>PS</b>	51,08 $\pm$ 1,82	23,57 $\pm$ 1,30
<b>EXE+PS</b>	58,73 $\pm$ 4,21	25,43 $\pm$ 2,54

<sup>a</sup> $p < 0,05$  comparado ao grupo PS e EXE+PS. <sup>b</sup> $p < 0,05$  comparado ao grupo PS e EXE+PS pelo teste ANOVA seguido de Tukey. Animais por grupo (n=8-10).

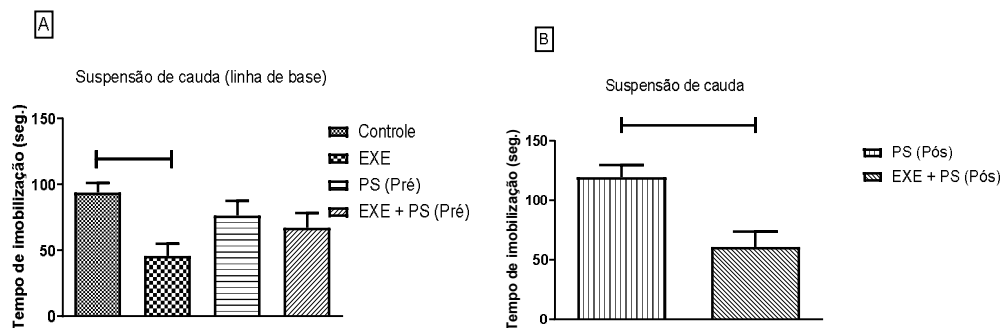
## 6.2 Teste de suspensão de cauda

O teste de suspensão de cauda é considerado uma medida de avaliação do comportamento semelhante à depressão.

A figura 13 apresenta a avaliação do comportamento depressivo a partir de gráficos. A tabela 4 apresenta os dados descritivos. Ambas nos grupos adultos jovens controle, EXE, PS e EXE+PS.

Nos animais adultos jovens houve diferença na linha de base entre os grupos controle e exercício em relação ao tempo de imobilização ( $p=0,006$ ) (Figura 13A e Tabela 4). O grupo PS permaneceu mais tempo em imobilização que o grupo exercício físico prévio à PS ( $p=0,002$ ) (Figura 13B e Tabela 4).

Figura 13 - Avaliação do comportamento depressivo-símile através do teste de Suspensão de Cauda (*Tail Suspension*) nos grupos adultos jovens controle, EXE, PS e EXE+PS antes e após a PS.



Os valores foram expressos pela média  $\pm$  EPM. Teste ANOVA seguido do teste de Tukey (Figura 11A) e teste T de *Student* não pareado (Figuras 11B). Animais por grupo (n=9-10)

Tabela 4 - Dados descritivos (média  $\pm$  EPM) da avaliação do comportamento depressivo-símile, nos grupos adultos jovens controle, EXE, PS e EX+PS antes e após a PS.

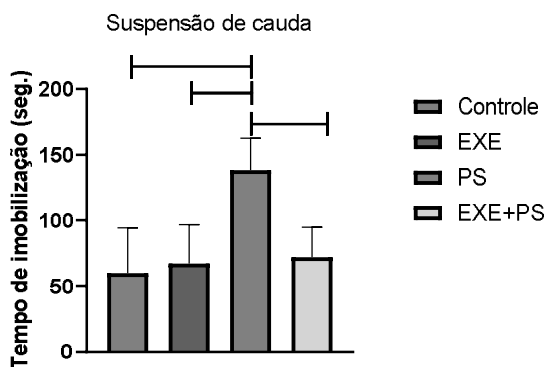
Grupos	Tempo (seg.) de imobilização na linha de base	Tempo (seg.) de imobilização após a PS
Controle	93,92 $\pm$ 7,14 <sup>a</sup>	
EXE	46,00 $\pm$ 8,97	
PS	76,67 $\pm$ 10,92	119,3 $\pm$ 10,38 <sup>b</sup>
EXE+PS	67,45 $\pm$ 10,93	60,73 $\pm$ 12,87

<sup>a</sup>p=0,006 comparado ao grupo EXE pelo teste ANOVA. <sup>b</sup>p=0,002 comparado ao grupo EXE+PS pelo test T de *Student* não pareado. Animais por grupo (n=9-10)

A Figura 14 apresenta a avaliação do comportamento depressivo a partir de gráficos. A tabela 5 apresenta os dados descritivos. Ambas nos grupos idosos controle, EXE, PS e EXE+PS.

Nos animais idosos, o grupo PS permaneceu por mais tempo em imobilização quando comparado aos demais grupos ( $p < 0,05$ ) (Tabela 5). O grupo exercício prévio à PS reduziu o tempo de imobilização quando comparado à PS ( $P < 0,0001$ ) (Figura 14).

Figura 14 - Avaliação do comportamento depressivo através do teste de Suspensão de Cauda (*Tail Suspension*) nos grupos idosos controle, EXE, PS e EXE+PS.



Os valores foram expressos pela média  $\pm$  EPM. Teste Anova seguido de Tukey. Animais por grupo (n=8-10)

Tabela 5 - Dados descritivos (média  $\pm$  EPM) da avaliação do comportamento depressivo, nos grupos idosos controle, EXE, PS e EX+PS antes e após a PS.

Grupos	Tempo de imobilização
Controle	59,67 $\pm$ 14,18 <sup>a</sup>
EXE	67 $\pm$ 11,28 <sup>b</sup>
PS	138,2 $\pm$ 8,13
EXE+PS	72,29 $\pm$ 8,56 <sup>c,x</sup>

<sup>a,b,c</sup>p<0,05 comparado ao grupo PS pelo teste ANOVA seguido do teste de Tukey. <sup>x</sup>p<0,0001 comparado ao grupo PS pelo teste t de *Student* não pareado. Animais por grupo (n=8-10).

### 6.3 Teste do labirinto em cruz elevado

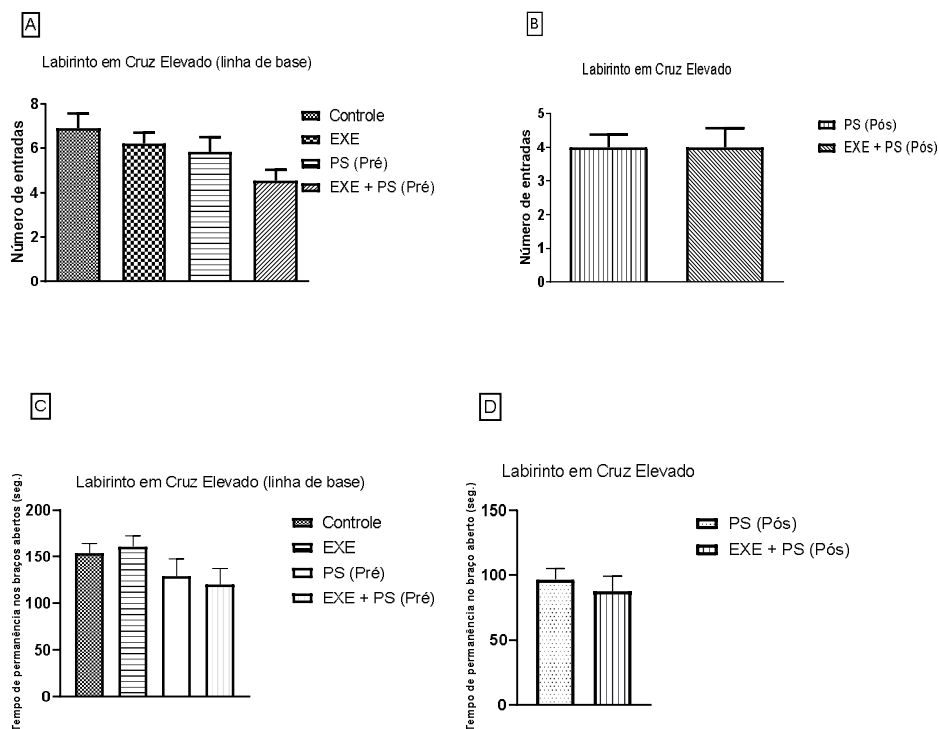
Nós investigamos, a partir do teste de labirinto em cruz elevado, o comportamento semelhante à ansiedade.

A Figura 15 apresenta a avaliação do comportamento ansiogênico a partir de gráficos. A tabela 6 apresenta os dados descritivos. Ambas nos grupos adultos jovens controle, EXE, PS e EXE+PS.

Nos animais adultos jovens não houve diferença entre os animais na linha de base e nem após o experimento para o número de entradas e tempo de permanência nos braços abertos (Figura 15A-15D e Tabela 6).



Figura 15 - Avaliação do comportamento semelhante à ansiedade através do teste de Labirinto em Cruz Elevado (*Elevated Plus Maze Test*) nos grupos adultos jovens controle, EXE, PS e EXE+PS antes e após a PS.



Os valores foram expressos pela média  $\pm$  EPM. Teste ANOVA seguido do teste de Tukey (Figuras 13A e 13C) e teste T de *Student* não pareado (Figuras 13B e 13D). Animais por grupo (n=9-10)

Tabela 6 - Dados descritivos (média  $\pm$  EPM) da avaliação do comportamento semelhante à ansiedade através do Labirinto em Cruz Elevado, nos grupos adultos jovens controle, EXE, PS e EX+PS antes e após a PS.

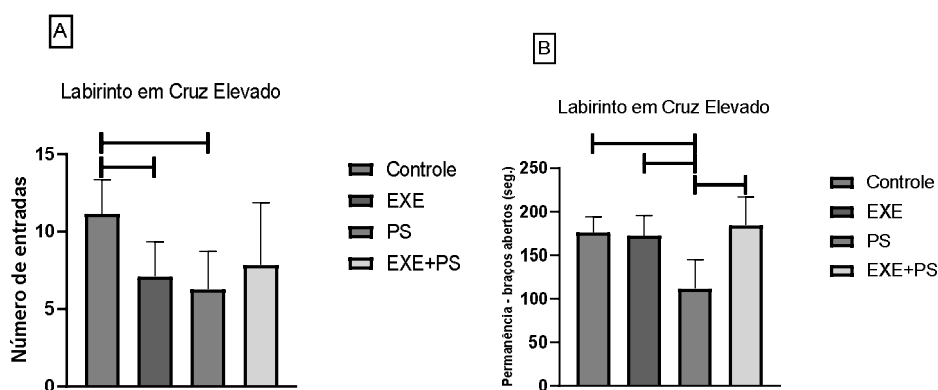
Grupos	Nº de entradas na linha de base	Nº de entradas após a PS	Tempo de permanência nos braços abertos na linha de base	Tempo de permanência nos braços abertos após a PS
<b>Controle</b>	6,917 $\pm$ 0,64		153,8 $\pm$ 10,06	
<b>EXE</b>	6,20 $\pm$ 0,51		161,1 $\pm$ 10,9	
<b>PS</b>	5,83 $\pm$ 0,67	4,00 $\pm$ 0,38	129,3 $\pm$ 18,57	96,67 $\pm$ 8,45
<b>EXE+PS</b>	4,54 $\pm$ 0,47	4,00 $\pm$ 0,57	120,4 $\pm$ 16,72	87,43 $\pm$ 11,61

Teste ANOVA seguido do teste de Tukey. Animais por grupo (n=9-10).

A Figura 16 apresenta a avaliação do comportamento ansiogênico a partir de gráficos. A tabela 6 apresenta os dados descritivos. Ambas nos grupos idosos controle, EXE, PS e EXE+PS.

Os animais idosos dos grupos PS e EXE tiveram menos entradas que o grupo controle ( $p < 0,05$ ) (Tabela 7). Os animais do grupo PS tiveram menor tempo de permanência nos braços abertos que os grupos controle e PS ( $p < 0,05$ ) (Tabela 7). Além disso, o grupo PS permaneceu menos tempo nos braços abertos que o grupo exercício prévio à PS ( $P = 0,006$ ) (Figura 16B).

Figura 16 - Avaliação do comportamento semelhante à ansiedade através do teste de Labirinto em Cruz Elevado (*Elevated Plus Maze Test*) nos grupos idosos controle, EXE, PS e EXE+PS.



Os valores foram expressos pela média  $\pm$  EPM. Teste Anova seguido de Tukey. Animais por grupo ( $n = 8-10$ )

Tabela 7 - Dados descritivos (média  $\pm$  EPM) da avaliação do comportamento semelhante à ansiedade através do Labirinto em Cruz Elevado, nos grupos idosos controle, EXE, PS e EX+PS.

Grupos	Nº de entradas	Tempo de permanência nos braços abertos
Controle	11,13 $\pm$ 0,78 <sup>a</sup>	175,9 $\pm$ 6,46 <sup>b</sup>
EXE	7,1 $\pm$ 0,70	172,1 $\pm$ 7,88 <sup>c</sup>
PS	6,28 $\pm$ 0,91	111,9 $\pm$ 12,32
EXE+PS	7,83 $\pm$ 1,64	184,5 $\pm$ 16,29 <sup>d</sup>

<sup>a</sup> $p < 0,05$  comparado ao grupo EXE e PS em relação ao número de entradas. <sup>b,c,d</sup> $p < 0,05$  comparado ao grupo PS em relação ao tempo de permanência. ANOVA seguido do teste de Tukey. Animais por grupo ( $n = 8-10$ ).

## 6.4 Avaliação dos marcadores inflamatórios

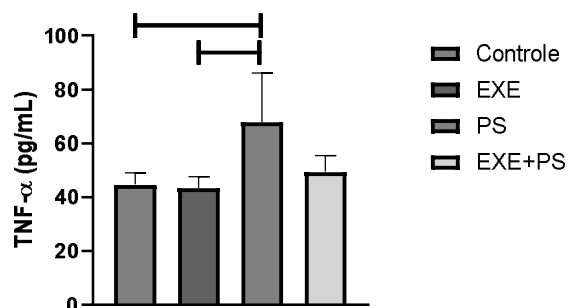
A avaliação da inflamação sistêmica foi realizada a partir das dosagens plasmáticas de TNF e *IL-6*.

### 6.4.1 Níveis plasmáticos de TNF

Nos animais adultos jovens, a PS causou aumento significativo nos níveis plasmáticos de TNF quando comparado grupos controle e EXE ( $p < 0,05$ ) (Tabela 8) e uma tendência quando comparado ao exercício prévio à PS ( $p = 0,055$ ) (Figura 17).

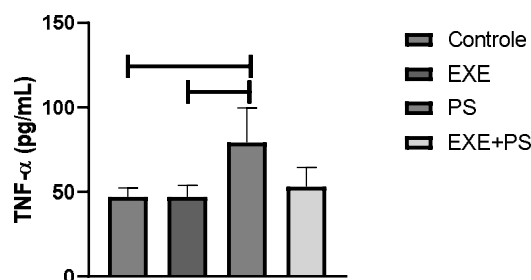
Nos animais idosos, os níveis plasmáticos de TNF foram superiores no grupo PS que nos grupos controle e EXE ( $p < 0,05$ ) (Tabela 8) e uma tendência quando comparado ao grupo exercício prévio à PS ( $p = 0,052$ ) (Figura 18).

Figura 17 - Avaliação da concentração plasmática de TNF nos grupos adultos jovens controle, EXE, PS e EXE+PS.



Os níveis plasmáticos de TNF foram avaliados por ELISA. Os valores foram expressos pela média  $\pm$  EPM. Para análise estatística foi utilizado o teste Anova seguido de Tukey. Animais por grupo (n=6).

Figura 18 - Avaliação da concentração plasmática de TNF nos grupos idosos controle, EXE, PS e EXE+PS.



Os níveis plasmáticos de TNF foram avaliados por ELISA. Os dados são apresentados como média  $\pm$  EPM. Para análise estatística foi utilizado o teste Anova seguido de Tukey. Animais por grupo (n=6).

Tabela 8 - Dados descritivos (média  $\pm$  EPM) da avaliação dos níveis plasmáticos de TNF nos grupos controle, EXE, PS e EXE+PS, referente aos animais adultos jovens e idosos.

Grupos	Níveis plasmáticos de TNF nos animais adultos jovens	Níveis plasmáticos de TNF nos animais idosos
Controle	44,61 $\pm$ 1,54	47,03 $\pm$ 1,94
EXE	43,37 $\pm$ 1,64	47,02 $\pm$ 2,56
PS	67,84 $\pm$ 9,08 <sup>a</sup>	79,18 $\pm$ 8,33 <sup>b</sup>
EXE+PS	49,35 $\pm$ 2,73	53,37 $\pm$ 5,59

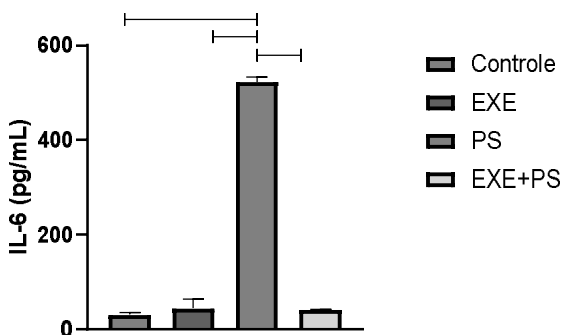
<sup>a</sup>p<0,05 comparado aos comparado aos grupos controle e exercício. <sup>b</sup>p<0,05 comparado aos grupos controle e exercício. ANOVA seguido do teste de Tukey. Animais por grupo (n=6).

#### 6.4.2 Níveis plasmáticos de IL-6

Nos animais adultos jovens, a PS causou aumento significativo nos níveis plasmáticos de IL-6 quando comparado aos grupos controle (p<0,05) e EXE (p<0,05) (Tabela 9), assim como em relação ao grupo EXE+PS (p=0,007) (Figura 19).

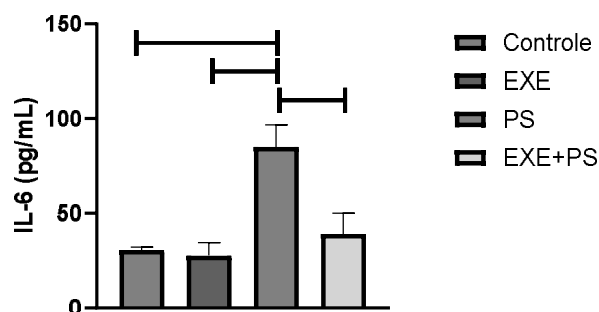
Nos animais idosos, a PS gerou aumento dos níveis plasmáticos de IL-6 quando comparado aos grupos controle (p<0,05) e EXE (p<0,05) (Tabela 9), assim como em relação ao grupo EXE+PS (p=0,02) (Figura 20).

Figura 19 - Avaliação da concentração plasmática de IL-6 nos grupos adultos jovens controle, EXE, PS e EXE+PS.



Os níveis plasmáticos de IL-6 foram avaliados por ELISA. Os dados são apresentados como média  $\pm$  EPM. Para análise estatística foi utilizado o teste Anova seguido de Tukey. Animais por grupo (n=6).

Figura 20 - Avaliação da concentração plasmática de IL-6 nos grupos idosos controle, EXE, PS e EXE+PS.



Os níveis plasmáticos de IL-6 foram avaliados por ELISA. Os dados são apresentados como média ± EPM. Para análise estatística foi utilizado o teste Anova seguido de Tukey. Animais por grupo (n=6).

Tabela 9 - Dados descritivos (média ± EPM) da avaliação dos níveis plasmáticos de IL-6 nos grupos controle, EXE, PS e EXE+PS, referente aos animais adultos jovens e idosos.

Grupos	Níveis plasmáticos de IL-6 nos animais adultos jovens	Níveis plasmáticos de TNF nos animais idosos
Controle	30,97 ± 1,76	30,55 ± 0,64
EXE	44,26 ± 7,31	27,66 ± 3,05
PS	523,30 ± 9,81 <sup>a</sup>	84,79 ± 11,83 <sup>b</sup>
EXE+PS	40,71 ± 1,35	39,06 ± 10,82

<sup>a</sup>p<0,05 comparado aos demais grupos. <sup>b</sup>p<0,05 comparado aos demais grupos. ANOVA seguido do teste de Tukey. Animais por grupo (n=6).

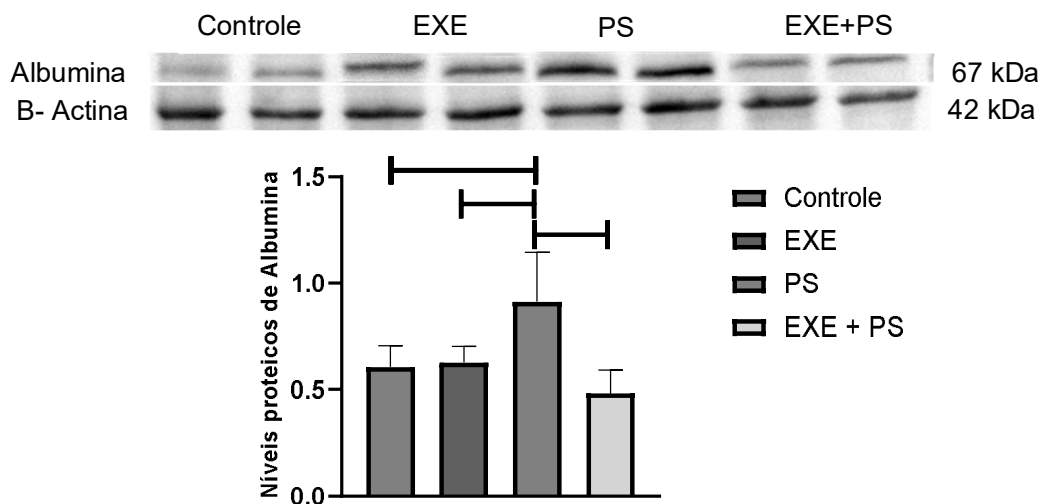
## 6.5 Expressão proteica de albumina no hipocampo

Para avaliar alterações na BHE, medimos a expressão proteica de albumina no hipocampo, uma vez que esta proteína transportada pelo sangue não cruza o BHE em condições normais.

Nos animais adultos jovens, a expressão proteica de albumina no hipocampo reduziu significativamente no grupo EXE prévio à PS quando comparado ao grupo PS (p=0,003) (Figura 21 e Tabela 10).

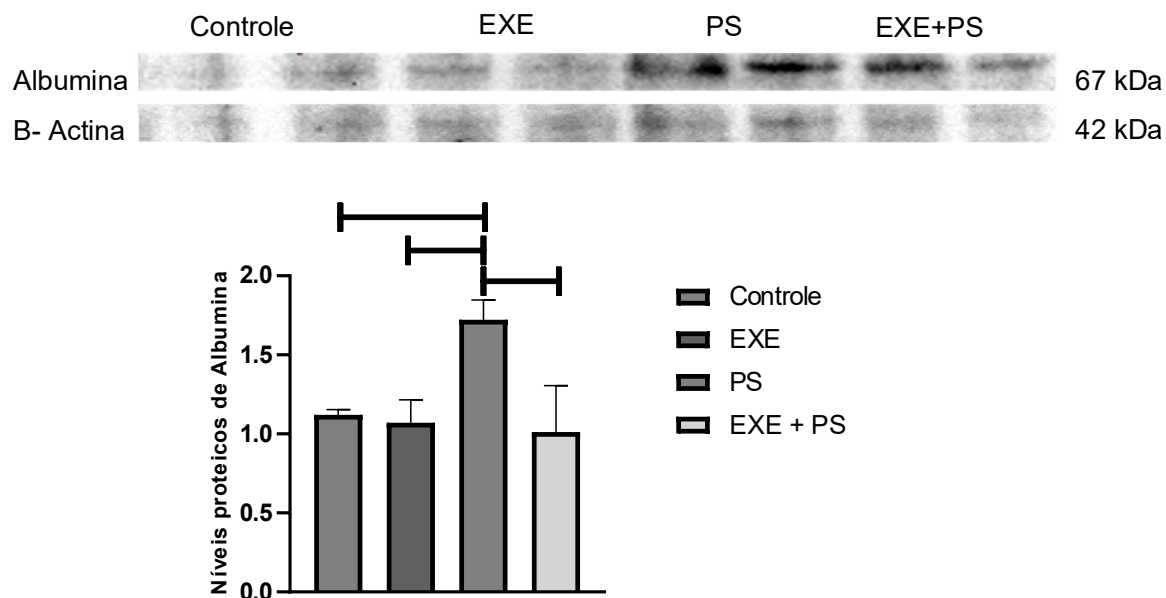
Nos animais idosos, a expressão proteica de albumina no hipocampo reduziu significativamente no grupo EXE prévio à PS quando comparado ao grupo PS ( $p=0,03$ ) (Figura 22 e Tabela 10).

Figura 21 - Avaliação dos níveis proteicos de albumina nos grupos adultos jovens controle, EXE, PS e EXE+PS.



A expressão proteica de albumina foi avaliada por Western Blotting. Os dados são apresentados como média  $\pm$  EPM da expressão proteica de albumina relativo a  $\beta$ -actina. Para análise estatística foi utilizado o teste Anova seguido de Tukey. Animais por grupo ( $n=6$ ).

Figura 22 - Avaliação dos níveis proteicos de albumina nos grupos idosos controle, EXE, PS e EXE+PS.



A expressão proteica de albumina foi avaliada por Western Blotting. Os dados são apresentados como média  $\pm$  EPM da expressão proteica de albumina relativo a  $\beta$ -actina. Para análise estatística foi utilizado o teste Anova seguido de Tukey. Animais por grupo (n=6).

Tabela 10 - Dados descritivos (média  $\pm$  EPM) da avaliação de albumina hipocampal nos grupos controle, EXE, PS e EXE+PS, referente aos animais adultos jovens e idosos

Grupos	Níveis plasmáticos de albumina nos animais adultos jovens	Níveis plasmáticos de albumina nos animais idosos
<b>Controle</b>	0,60 $\pm$ 0,05	1,12 $\pm$ 0,02
<b>EXE</b>	0,62 $\pm$ 0,03	1,07 $\pm$ 0,10
<b>PS</b>	0,91 $\pm$ 0,11 <sup>a</sup>	1,72 $\pm$ 0,08 <sup>b</sup>
<b>EXE+PS</b>	0,48 $\pm$ 0,04	1,01 $\pm$ 0,14

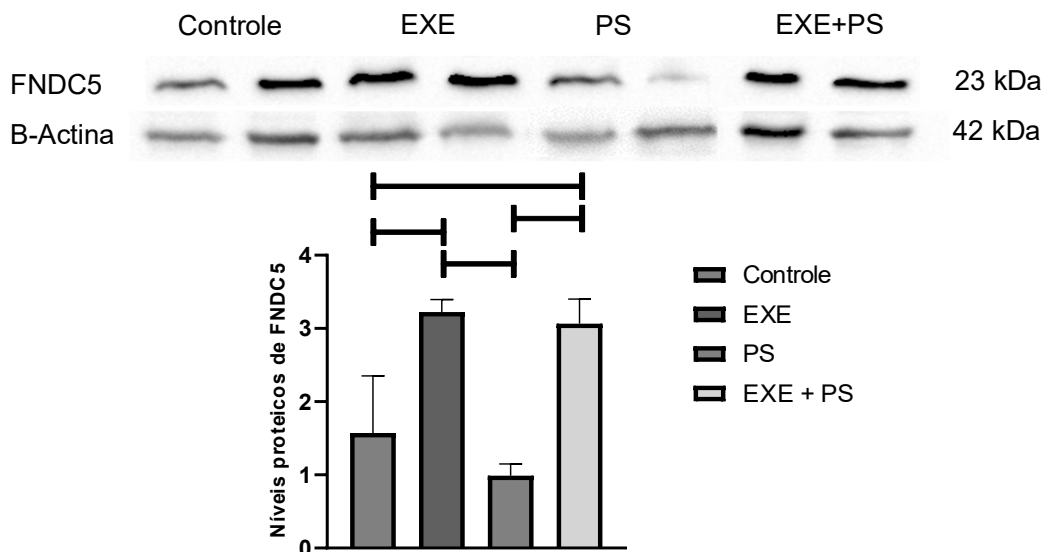
<sup>a</sup>p<0,05 comparado aos demais grupos. <sup>b</sup>p<0,05 comparado aos demais grupos. ANOVA seguido do teste de Tukey. Animais por grupo (n=6).

## 6.6 Expressão proteica de FNDC5 no hipocampo

A irisina é um fragmento da proteína transmembrana contendo domínio tipo III (FNDC5). Nos animais adultos jovens, a expressão proteica de FNDC5 hipocampal foi menor no PS quando comparado aos grupos EXE ( $p=0,009$ ) e EXE+PS ( $p=0,002$ ) (Figura 23 e Tabela 11). Além disso, os níveis de FNDC5 foram menores nos grupos controle quando comparado aos grupos EXE ( $p<0,05$ ) e EXE+PS ( $p=0,05$ ) (Figura 23 e Tabela 11).

Nos animais idosos, a expressão proteica de FNDC5 foi maior nos grupos EXE e EXE+PS quando comparado ao grupo PS ( $p<0,05$ ) (Figura 24 e Tabela 11).

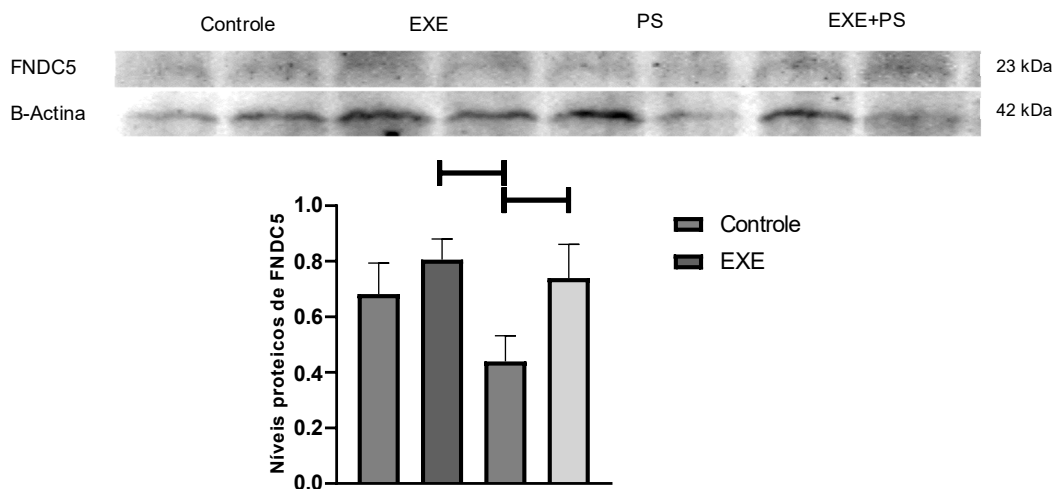
Figura 23 - Avaliação dos níveis proteicos de FNDC5 nos grupos adultos jovens controle, EXE, PS e EXE+PS.



A expressão proteica de FNDC5 foi avaliada por Western Blotting. Os dados são apresentados como média  $\pm$  EPM da expressão proteica de FNDC5 relativo a  $\beta$ -actina. Para análise estatística foi utilizado o teste Anova seguido de Tukey. Animais por grupo ( $n=6$ ).



Figura 24 - Avaliação dos níveis proteicos de FNDC5 nos grupos idosos controle, EXE, PS e EXE+PS.



A expressão proteica de FNDC5 foi avaliada por Western Blotting. Os dados são apresentados como média  $\pm$  EPM da expressão proteica de FNDC5 relativo a  $\beta$ -actina. Para análise estatística foi utilizado o teste Anova seguido de Tukey. Animais por grupo (n=6).

Tabela 11 - Dados descritivos (média  $\pm$  EPM) da avaliação de FNDC5 hipocampal nos grupos controle, EXE, PS e EXE+PS, referente aos animais adultos jovens e idosos.

Grupos	Níveis plasmáticos de FNDC5 nos animais adultos jovens	Níveis plasmáticos de FNDC5 nos animais idosos
<b>Controle</b>	1,57 $\pm$ 0,45	0,68 $\pm$ 0,06
<b>EXE</b>	3,22 $\pm$ 0,12 <sup>a</sup>	0,80 $\pm$ 0,05 <sup>c</sup>
<b>PS</b>	0,98 $\pm$ 0,09	0,43 $\pm$ 0,06
<b>EXE+PS</b>	3,06 $\pm$ 0,23 <sup>b</sup>	0,73 $\pm$ 0,06 <sup>d</sup>

<sup>a</sup>p<0,05 comparado aos grupos controle e PS. <sup>b</sup>p<0,05 comparado aos grupos controle e PS. <sup>c,d</sup>p<0,05 comparado ao grupo PS. ANOVA seguido do teste de Tukey. Animais por grupo (n=6).

## 7 DISCUSSÃO

O trabalho atual avalia os efeitos da PS e do exercício físico sobre a memória de trabalho, memória espacial, ansiedade e sintomas depressivos. Foram avaliados os efeitos da PS em animais jovens e animais idosos. Foram estudados também a influência do exercício físico prévio sobre as alterações associadas a PS nas diferentes faixas etárias.

Deve ser ressaltado que até a presente data, este estudo é o primeiro que investiga os efeitos do exercício físico aeróbio crônico sobre o comportamento, parâmetros inflamatórios, permeabilidade da BHE e a expressão de FNDC5/irisina hipocampal em roedores adultos jovens e idosos privados de sono.

O sono manifesta-se de forma diferenciada na infância, adolescência, em adultos e em idosos. A PS é uma condição frequente na sociedade atual e reconhecidamente compromete diversos aspectos da saúde. Alterações do humor, comprometimento da memória redução do desempenho cognitivo em geral e redução da atenção são alguns aspectos graves que necessitam de atenção (Vaseghi *et al.*, 2021). A forma como a PS afeta as diferentes faixas etárias ainda é objeto de investigação (Acosta-Peña *et al.*, 2015; Schwarz *et al.*, 2018).

O exercício físico parece atuar na contramão dos efeitos deletérios da PS. Modelos experimentais podem auxiliar a mensurar os impactos da os. O reconhecimento dos efeitos benéficos na PS já foi reconhecido, porém os mecanismos envolvidos não estão de todo esclarecidos.

No presente trabalho, o exercício físico melhorou a memória e o comportamento análogo à depressão, nos animais adultos jovens privados de sono. Nos animais idosos, o exercício físico prévio à PS reduziu o comportamento semelhante à depressão e ansiedade. Além disso, o exercício reduziu os níveis de marcadores de inflamação e permeabilidade da BHE de animais privados de sono, sugerindo uma possível relação da FNDC5/irisina nesses efeitos benéficos do exercício físico.

A memória espacial de trabalho avaliada a partir do teste labirinto em Y revelou um maior percentual de alternância espontânea entre os braços e esse achado relaciona-se com um melhor desempenho da memória. Dessa forma, em concordância com outras investigações, no presente estudo, o exercício físico reduziu

os danos na memória dos animais adultos jovens privados de sono (Gibbons *et al.*, 2014; Xiong *et al.*, 2015).

Estudos anteriores têm demonstrado, de forma consistente, que o exercício físico tem efeitos positivos na função cognitiva e saúde do cérebro (Liang *et al.*, 2021). Indivíduos fisicamente ativos, de diferentes faixas etárias, apresentam melhor desempenho cognitivo e escolar que indivíduos sedentários (Álvarez-Bueno *et al.*, 2017; Carta *et al.*, 2021; Diederich *et al.*, 2017).

Em pesquisas animais, os efeitos benéficos do exercício podem ser evidenciados a partir de testes revelando aumento da neurogênese, alterações de desempenho em testes comportamentais (Baek *et al.*, 2016). De forma contrária, a PS prejudica o desempenho cognitivo, tais como, a consolidação da memória espacial de trabalho (Peng *et al.*, 2020; Santisteban *et al.*, 2019).

Em adultos jovens, melhores níveis de atividade física relacionam-se positivamente com o desempenho acadêmico, as medidas de atenção, a resolução de problemas e a memória de trabalho (Felez-Nobrega *et al.*, 2017; Niedermeier *et al.*, 2022). Ambos, adultos e idosos, exercitados regularmente apresentam benefícios nas funções executivas, na atenção, memória e velocidade de processamento em comparação com indivíduos sedentários (Noguera *et al.*, 2019; Zhang *et al.*, 2023).

Essa melhora do desempenho de diversas funções relacionadas ao exercício físico tem sido relacionada a fatores diversos como, aumento do fluxo sanguíneo sistêmico, prevenção da redução do volume cerebral associado à idade, liberação de fatores neurotróficos e incremento na neurogênese. Em consonância com o aumento da neurogênese, em animais exercitados, observa-se um aumento da contagem de novos neurônios hipocámpais (Briken *et al.*, 2014; Colcombe *et al.*, 2006; Lee *et al.*, 2013; Okamoto *et al.*, 2021; Young; Valaris; Wrann, 2019). O exercício físico regular também se associa à elevação da sobrevivência dos neurônios, maior resistência à lesão cerebral, proliferação de sinapses, maior plasticidade e vascularização cerebral, que resultam em aumento do aprendizado e manutenção da boa função cognitiva (Hamilton; Rhodes, 2015).

Tem sido sugerido que o exercício físico prolongado apresenta ação protetora quando realizado antes do evento da PS. Uma das justificativas para tal achado é ancorada na plasticidade sináptica e nos mecanismos da regulação do estresse oxidativo, em que o exercício crônico melhora o sistema de defesa antioxidante

(Garcia-Giménez; Cánovas-Cervera; Pallardó, 2024; Hao; Yang; Xu; 2019; Rajizadeh *et al.*, 2020).

No presente trabalho, nos animais idosos, o exercício físico não foi capaz de mitigar os prejuízos causados pela PS em relação à memória espacial de trabalho. Um estudo analisou os efeitos da privação crônica de sono sobre a neurodegeneração tendo em consideração o fator idade em um modelo de Alzheimer. Nesse trabalho, os distúrbios do sono comprometeram as funções de memória, particularmente em camundongos idosos (Klimenko *et al.*, 2023). Esses achados ressaltam a profunda influência da PS nos processos de memória em modelos animais.

De fato, o envelhecimento é complexo e associa-se a um declínio progressivo esperado de diversas funções. A função cognitiva, uma das mais essenciais, entre outras, apresenta um declínio com o envelhecimento. Isso pode ser, em parte, explicado pelas alterações observadas em estruturas e funções cerebrais, como identificado no hipocampo (Bettio; Rajendran; Gil-Mohapel, 2017; Culig; Chu; Bohr, 2022).

Estudos anteriores mostraram como a PS interrompe a sinalização do AMP cíclico no hipocampo. Tal alteração afeta o processo de energia e transcrição celular e secundariamente compromete a conectividade neuronal, particularmente na região hipocampal CA1. Esses achados reforçam as consequências neurobiológicas da PS sobre os processos de memória a nível molecular e celular (Havekes; Vecsey; Abel, 2012). Mais ainda, a idade pode também reduzir os efeitos do exercício aeróbico na neurogênese, comprometendo, entre outras, a memória espacial (Balbim *et al.*, 2024; Creer *et al.*, 2010; Morgan *et al.*, 2018).

Prejuízos cognitivos que comumente ocorrem no envelhecimento pode ser somado aos efeitos deletérios potenciais associados à PS. Pode-se elaborar que o exercício adiciona um efeito preventivo ou protetor contra a perda cognitiva. Em situações extremas, pode ocorrer maior dano neuronal ao longo do tempo, assim como uma redução da eficiência das redes neurais. Tais alterações estruturais podem impactar na plasticidade sináptica e formação de novas memórias, limitando a eficácia do exercício físico em prevenir satisfatoriamente os déficits na memória (Raven *et al.*, 2018; Rosenzweig; Barnes, 2003).

Além disso, outra possível explicação pode ser o fato de que o exercício iniciou-se de forma tardia no grupo idoso, onde algumas alterações estruturais já estão instaladas. Pode-se presumir que o exercício de curta duração pode produzir menor

adaptação que o protocolo de exercício ao longo da vida. Estudos em modelos animais idosos mostram que quanto mais duradouro é o exercício, maiores benefícios ele trará para a saúde em geral (Belaya *et al.*, 2018; Marosi *et al.*, 2012; Silva *et al.*, 2022).

Embora o exercício físico seja benéfico para a saúde cerebral e a função cognitiva, sua capacidade de atenuar os efeitos negativos da PS na memória espacial de trabalho em animais idosos pode ser limitada. A interação entre o exercício, a privação do sono e a memória é um campo complexo que requer maior investigação para elucidar completamente os mecanismos envolvidos e as possíveis estratégias para otimizar a saúde cerebral em condições de PS.

De todo modo, os resultados do presente estudo, em relação a nenhuma mudança na memória de trabalho em animais idosos privados do sono, não desmerecem os benefícios do exercício em relação às adaptações comportamentais, celulares e moleculares confirmada em vários estudos envolvendo idosos (Kobilo *et al.*, 2014).

Os sintomas semelhantes à depressão foram avaliados pelo teste de suspensão de cauda, em que o tempo que o animal fica imobilizado é interpretado como comportamento depressivo. Ou seja, o comportamento depressivo é quantificado pelo tempo de imobilização. O exercício físico foi capaz de prevenir os sintomas depressivos provocados pela PS nos animais adultos jovens e idosos. Em concordância com esse achado, o estudo de Daniele *et al.* (2017), em animais adultos jovens, mostrou que no modelo de privação total e parcial de sono, o exercício foi capaz de aumentar os níveis de serotonina no estriado. Tal achado foi associado aos efeitos antidepressivos do exercício.

Em estudos clínicos, de forma semelhante aos achados em modelos experimentais animais, o sono de baixa qualidade e reduzida duração associa-se a piora do comportamento depressivo e elevado risco de suicídio (Matsumoto *et al.*, 2016). Vale ressaltar que o exercício físico é eficaz tanto para indivíduos, com ou sem comorbidades, além de ser benéfico para aqueles com graus diversos de síndrome depressiva (Noetel *et al.*, 2024)

De fato, o exercício regular é um meio não farmacológico eficaz no tratamento da depressão e com potencial efeito protetor. O exercício associa-se a melhorias na saúde mental, como observado nos animais, em testes comportamentais semelhante a depressão (Liu *et al.*, 2023; Luo *et al.*, 2020).

O exercício favorece a liberação de neurotransmissores, como a serotonina e as endorfinas. O exercício também se associa ao surgimento de novos neurônios na região do hipocampo, uma estrutura particularmente ligada à função de memória e, de forma importante, conectada a outras regiões cerebrais atuantes no controle do humor (Lin; Kuo, 2013; Nokia *et al.*, 2016). Além disso, através da redução da liberação do cortisol, o exercício pode modular a resposta ao estresse, presente na PS (Beserra *et al.*, 2018). Mecanismos neurobiológicos, como a liberação de fatores neurotróficos e a redução da inflamação cerebral podem também contribuir para os efeitos antidepressivos do exercício (Ignácio *et al.*, 2019; Ren; Xiao, 2023).

No presente estudo, a avaliação do comportamento semelhante à ansiedade foi feita a partir do teste do labirinto em cruz elevada (Pellow *et al.*, 1985). No protocolo utilizado, avalia-se o tempo de permanência e o número de entrada nos braços abertos e fechados. Aceita-se que nesse teste, um menor número de entradas e permanência nos braços abertos deve ser interpretado como um maior comportamento de ansiedade.

Curiosamente, apenas os animais adultos jovens exercitados previamente à PS não foram capazes de reduzir as alterações no comportamento semelhante à ansiedade. Essa não modificação do comportamento ansioso está de acordo com estudos anteriores (Daniele *et al.*, 2017; Novati *et al.*, 2011; Zielinski *et al.*, 2013). De forma contrária, outros estudos com camundongos adultos jovens submetidos ao treinamento em esteira e privados do sono mostraram redução no nível de ansiedade (Tai *et al.*, 2020; Schoenfeld *et al.*, 2016). Quando se trata dos efeitos da PS em relação ao comportamento semelhante à ansiedade, estudos não são conclusivos. As evidências sugerem o que o exercício físico crônico pode não ser capaz de prevenir completamente tais efeitos danosos e outros mecanismos, ainda não estabelecidos, podem estar envolvidos.

Estudos indicam que a PS pode levar a manifestações de comportamento semelhantes à ansiedade, juntamente com outros efeitos adversos, como déficits cognitivos, estresse oxidativo, disfunção mitocondrial e neuroinflamação (Chanana; Kumar, 2016; Zhang *et al.*, 2023). Além disso, o sono insuficiente tem sido associado ao aumento dos níveis de corticosterona e alterações na exploração em testes de ansiedade em modelos animais (González-Castañeda *et al.*, 2016). Embora o exercício físico seja conhecido por seus efeitos positivos na saúde mental, como a redução dos níveis de ansiedade em modelos animais (Daniele *et al.*, 2017), quando

se trata da interação entre exercício físico, privação do sono e ansiedade, os resultados podem ser mais complexos.

Uma das possíveis explicações para a não alteração nos parâmetros de ansiedade se deve às limitações do modelo utilizado no presente estudo. De acordo com alguns autores, o aumento do número de entradas e/ou tempo de permanência nos braços abertos nos animais adultos pode ser justificado por um comportamento tipo mania e não pelo efeito ansiolítico (Kirshenbaum *et al.*, 2011).

Apesar do achado do presente estudo, o exercício pode ser considerado um tratamento promissor e acessível para indivíduos com ansiedade. Ainda nesse sentido, parece existir uma relação inversa entre o exercício e sintomas de ansiedade (Stonerock *et al.*, 2015).

Em relação aos idosos, o exercício prévio à PS apresentou efeito ansiolítico. O envelhecimento e a PS frequentemente associam-se a sintomas de ansiedade, justificando-se pelas mudanças neurobiológicas, saúde em geral, processos cognitivos e emocionais. Mesmo assim, o exercício físico crônico preveniu os efeitos danosos da PS, estando de acordo com o observado por Morgan *et al.* (2018).

No mesmo sentido, o estudo de Ibrahim *et al.* (2023), com humanos, destacou os benefícios de um programa de exercícios nos parâmetros de sono, qualidade de vida e bem-estar psicológico de idosos. Isso indica que intervenções de exercícios podem contribuir para o bem-estar geral e potencialmente mitigar os efeitos negativos dos distúrbios do sono na saúde mental da população idosa. Além disso, a pesquisa de Zielinski *et al.* (2013) revelou que a restrição crônica moderada do sono levou ao aumento dos níveis de ansiedade em camundongos, enquanto o treinamento físico teve o efeito oposto.

Esse efeito protetor do exercício pode ser justificado pela regulação de neurotransmissores, como a serotonina e o GABA (D'ascola *et al.*, 2018; Maddock *et al.*, 2016; Yuan *et al.*, 2015). Sabe-se que a serotonina desempenha um papel crucial na regulação do humor, emoção e ansiedade (Bintari *et al.*, 2022). Além disso, mecanismos gabaérgicos também foram implicados a efeitos protetores de certas intervenções contra o comportamento semelhante à ansiedade associado a PS (Zhou *et al.*, 2021).

Também foi relatado que neuropeptídeos neutralizam o comportamento semelhante à ansiedade induzido pela PS. Tal achado reitera o envolvimento de sistemas de neurotransmissores na regulação da ansiedade (Xie *et al.*, 2018). Tais

descobertas sugerem que o exercício pode impactar positivamente os níveis de neurotransmissores associados à ansiedade.

No presente estudo, os animais adultos jovens e idosos privados do sono e previamente exercitados, apresentaram níveis proteicos de albumina hipocampal reduzidos quando comparado aos animais apenas privados do sono. De forma importante, isso mostra um efeito protetor do exercício na redução da permeabilidade da BHE, mesmo em condições adversas. Esse achado no atual estudo justifica o efeito protetor do exercício no desenvolvimento de DCV (Viktorisson *et al.*, 2024; Zhou *et al.*, 2024).

Em consonância com o aumento da permeabilidade da BHE nos animais privados do sono, observou-se o aumento da expressão plasmática das citocinas TNF e IL-6 nos grupos adultos e idosos privados do sono, e uma redução dos níveis de IL-6 nos grupos exercitados previamente à PS.

A BHE é uma estrutura fundamental para o SNC, sendo uma potente barreira seletiva entre o sangue circulante e o tecido cerebral. Disfunções na BHE ocorrem secundariamente a diversas condições, incluindo lesões cerebrais traumáticas, AVC, infecções no tecido cerebral, doenças degenerativas e exercício agudo de alta intensidade. Outras condições de PS, tais como insônia crônica, entre outras, associam-se a maior risco de DCV (Che *et al.*, 2021; Roh *et al.*, 2017). A expressão de albumina no hipocampo parece estar intrinsecamente ligada a mudanças na permeabilidade da BHE mediadas por vários fatores, como mediadores inflamatórios, microRNAs e danos nas proteínas que formam a barreira (Li *et al.*, 2021). Em condições de cérebro saudável, a albumina se encontra em níveis baixos, por conta da eficiência da BHE (Montagne *et al.*, 2016).

Sabe-se que o envelhecimento pode produzir alterações morfofuncionais na BHE expressas com o aumento do vazamento de IgG no parênquima cerebral, redução da cobertura dos pericitos e diminuição das proteínas juncionais (Errede *et al.*, 2023). Além disso, evidências mostram que a PS aumenta a permeabilidade da BHE juntamente com o aumento de marcadores inflamatórios, como os níveis de interleucinas (Carasso, 2009; He *et al.*, 2014; Venancio; Suchecki, 2015). Isso pode mostrar um risco aumentado de DCV, doenças neurodegenerativas e uma consequente redução de capacidades motoras e cognitivas.

É bem estabelecido na literatura que a PS produz aumentos significativos dos níveis plasmáticos de citocinas pró-inflamatórias, como TNF e IL-6, de forma



semelhante ao que foi observado no presente estudo (Shearer *et al.*, 2001; Thompson *et al.*, 2022; Yang *et al.*, 2023). Em consonância, estudos anteriores mostraram que diferentes protocolos de duração da PS induziram uma resposta inflamatória que manteve níveis elevados de citocinas mesmo após uma longa duração (Cao *et al.*, 2024; Wang *et al.*, 2021; Yehuda *et al.*, 2009). Deve ser lembrado que tais citocinas estão aumentadas também em regiões cerebrais, como o córtex frontal e o hipocampo (Cao *et al.*, 2024; Chennaoui *et al.*, 2015).

De forma contrária, o exercício físico crônico reduz as elevações de algumas citocinas pró-inflamatórias induzidas pela privação total do sono em animais adultos, tanto a nível cerebral, quanto a nível periférico. Neste trabalho, os estudos se concentraram em modelos de privação total do sono, especialmente em animais adultos (Chennaoui *et al.*, 2015)

Evidências indicam que o exercício físico crônico ativa vias anti-inflamatórias, reduz o estresse oxidativo e tem um potencial papel de supressão aos danos da BHE (Malkiewicz *et al.*, 2019). O impacto do exercício sobre a inflamação tem recebido importante atenção dos últimos anos. Recentemente, de forma importante, o músculo esquelético foi identificado como órgão endócrino, produzindo diversos fatores metabólicos e influenciando benéficamente a inflamação sistêmica e a função de órgãos como o cérebro (Pedersen *et al.*, 2012).

Além disso, o exercício físico regular parece aumentar a expressão de proteínas da junção celular, como a claudina-5 e a ocludina, ambas de fundamental importância na integridade da BHE. O exercício físico crônico não apenas promove a força e a manutenção de junções de oclusão na BHE, como também protege contra a perda da integridade da barreira induzida por danos (Paton *et al.*, 2023)

O exercício físico também eleva a produção de fatores neurotróficos, resultando num papel protetor da barreira (Malkiewicz *et al.*, 2020). Modelos animais relacionam o papel relevante de neurotrofinas que podem mediar os efeitos do exercício na saúde e no desempenho do cérebro, dentre eles, o BDNF, presente em altas concentrações no hipocampo, especialmente após o exercício aeróbico crônico (Heisz *et al.*, 2017).

O atual estudo mostra que a expressão de FNDC5 no hipocampo, uma proteína muscular induzida pelo exercício físico, que é clivada e secretada como irisina, foi maior nos grupos de adultos e idosos exercitados submetidos à PS quando comparado aos grupos privados do sono. Esse achado, até a presente data, não foi ainda descrito na literatura relacionada.

O músculo esquelético exercitado é capaz de secretar uma proteína chamada PGC-1 $\alpha$ , e os fatores regulados por essa proteína auxiliam na formação do hormônio irisina. Inicialmente, estudos foram focados para uma avaliação do papel da irisina no metabolismo, particularmente no tecido adiposo (Boström *et al.*, 2012). Nos últimos anos, outros trabalhos investigaram o papel da irisina em diversas situações e tecidos, assim como aprofundaram o seu papel no sistema nervoso (Ho; Wang, 2021; Jodeiri Farshbaf; Alviña, 2021; Yang *et al.*, 2019).

Evidências mostram que o exercício aeróbio pode aumentar a expressão da irisina no hipocampo de camundongos (Guo *et al.*, 2021; Lourenço *et al.*, 2019). Como foi aqui demonstrado, dadas as evidências de aumento de FNDC5/irisina no tecido cerebral, sugere-se um possível papel neuroprotetor para a irisina. Tal evidência, possivelmente, compõe um dos mecanismos que explicam, em parte, o benefício do exercício sobre o cérebro.

Deve ser ressaltado que há também uma relação entre o BDNF e a irisina e isso tem sido objeto de investigação em diversas pesquisas. Estudos mostram que o FNDC5/irisina pode aumentar a produção de BDNF, contribuindo para o aprendizado (Kim; Song, 2018). Sugere-se que a relação FNDC5/irisina, via PGC-1 $\alpha$ , ativada por meio de exercícios físicos, aumenta os níveis de BDNF no hipocampo, melhorando assim a memória espacial (Kaur, 2023). Também se destaca o papel do FNDC5/irisina na promoção da neurogênese hipocampal e da função de memória por meio da modulação dos níveis de BDNF (Jo; Song, 2021). Além disso, estudos relataram que um aumento dos níveis sistêmicos de irisina pode induzir a expressão hipocampal de BDNF e outros reguladores da função hipocampal (Natalicchio *et al.*, 2019).

Um ponto forte deste estudo é o desenho experimental, que permitiu investigar os efeitos do exercício em diferentes faixas etárias, utilizando um número amostral importante. O estudo foi conduzido em um ambiente favorável e controlado, o que reduziu as perdas dos animais que naturalmente ocorrem pelo próprio envelhecimento ou pelos protocolos de PS e exercício forçado. A principal limitação do presente estudo foi a mensuração de poucos parâmetros relacionados aos danos da BHE. Outra possível limitação foi a não inclusão de um grupo com faixa etária intermediária, o que possibilitaria o acompanhamento ao longo da vida, além da aplicação de um protocolo de exercício crônico de longo prazo para o grupo idoso e aplicação de diferentes intensidades de exercício físico.

Os efeitos benéficos do exercício aqui demonstrados, estão em consonância com a literatura. O efeito protetor sobre a BHE e o papel da FNDC5/irisina aqui demonstrado mostram a participação da estrutura muscular em órgãos distantes e essenciais como o cérebro. O presente estudo também destaca o benefício do exercício como uma abordagem não farmacológica para aliviar o comportamento semelhante à depressão e ansiedade, assim como também, propiciar efeitos protetores na memória espacial de trabalho. Os achados que mostram a proteção da BHE pelo exercício são fundamentais e corroboram dados epidemiológicos que mostram que o exercício físico se associa a uma redução importante da DCV (Viktorisson *et al.*, 2024). Estudos adicionais são importantes e podem verificar outros mecanismos relacionados aos efeitos neuroprotetores do exercício físico interagindo com a OS e a DCV.

## 8 CONCLUSÕES

O presente estudo mostrou que a PS induz alterações comportamentais, inflamação e aumento da permeabilidade da BHE em animais adultos jovens e idosos.

O exercício físico crônico prévio à PS melhorou a memória de trabalho e o comportamento semelhante à depressão nos animais adultos jovens.

Nos animais idosos, o exercício prévio à PS reduziu o comportamento semelhante à depressão e ansiedade.

Além disso, o exercício prévio à PS reduziu os níveis inflamatórios, a permeabilidade da BHE e aumentou a expressão de FNDC5/irisina nos animais adultos jovens e idosos.

## REFERÊNCIAS

ACOSTA-PEÑA, Eva et al. Sleep deprivation induces differential morphological changes in the hippocampus and prefrontal cortex in young and old rats. **Synapse**, v. 69, n. 1, p. 15-25, 2015.

ABRAMS, Robert M. Sleep deprivation. **Obstetrics and Gynecology Clinics**, v. 42, n. 3, p. 493-506, 2015.

ACCARDI, G.; CARUSO, C. Updates in pathobiology: causality and chance in ageing, age-related diseases and longevity. In: Updates in pathobiology: causality and chance in ageing, age-related diseases and longevity. **UNIPAPRESS**, 2017. p. 13-23.

ÁLVAREZ-BUENO, Celia et al. Academic achievement and physical activity: a meta-analysis. **Pediatrics**, v. 140, n. 6, 2017.

ANTON-PADURARU, Dana-teodora; TESLARIU, Oana; MOCANU, Veronica. Influence of sleep on obesity in children. **The Medical-Surgical Journal**, v. 120, n. 2, p. 239-243, 2016.

ANTZA, Christina et al. The links between sleep duration, obesity and type 2 diabetes mellitus. **Journal of Endocrinology**, v. 252, n. 2, p. 125-141, 2022.

APPELQVIST-SCHMIDLECHNER, Kaija et al. Muscular and cardiorespiratory fitness are associated with health-related quality of life among young adult men. **BMC Public Health**, v. 20, p. 1-8, 2020.

ARI, Csilla et al. Elevated plus maze test combined with video tracking software to investigate the anxiolytic effect of exogenous ketogenic supplements. **JoVE (Journal of Visualized Experiments)**, n. 143, p. e58396, 2019.

ARSAVA, Ethem Murat et al. The detrimental effect of aging on leptomeningeal collaterals in ischemic stroke. **Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases**, v. 23, n. 3, p. 421-426, 2014.

ATTWELL, David et al. Glial and neuronal control of brain blood flow. **Nature**, v. 468, n. 7321, p. 232-243, 2010.

BABAEI, Ayyub et al. The effectiveness of continuous and interval exercise preconditioning against chronic unpredictable stress: Involvement of hippocampal PGC-1 $\alpha$ /FNDC5/BDNF pathway. **Journal of Psychiatric Research**, v. 136, p. 173-183, 2021.

BABAEVA, Zarina et al. The modified risk factors of ischemic stroke. **Journal of Clinical Medicine of Kazakhstan**, v. 4, n. 50, p. 15-20, 2018.

BAEK, Seung-Soo. Role of exercise on the brain. **Journal of exercise rehabilitation**, v. 12, n. 5, p. 380, 2016.

BALBIM, Guilherme Moraes et al. Aerobic exercise training effects on hippocampal volume in healthy older individuals: a meta-analysis of randomized controlled trials. **Geroscience**, v. 46, n. 2, p. 2755-2764, 2024.

BARANWAL, Navya; PHOEBE, K. Yu; SIEGEL, Noah S. Sleep physiology, pathophysiology, and sleep hygiene. **Progress in cardiovascular diseases**, v. 77, p. 59-69, 2023.

BEAN, Christian AL; CIESLA, Jeffrey A. Naturalistic partial sleep deprivation leads to greater next-day anxiety: The moderating role of baseline anxiety and depression. **Behavior therapy**, v. 52, n. 4, p. 861-873, 2021.

BELAYA, Irina et al. Long-term exercise protects against cellular stresses in aged mice. **Oxidative medicine and cellular longevity**, v. 2018, n. 1, p. 2894247, 2018.

BELLOIR, Joseph; MAKAREM, Nour; SHECHTER, Ari. Sleep and circadian disturbance in cardiovascular risk. **Current cardiology reports**, v. 24, n. 12, p. 2097-2107, 2022.

BERGER, Rebecca H. et al. Sleep duration moderates the association between children's temperament and academic achievement. In: **Moving Forward in the Study of Temperament and Early Education Outcomes**. Routledge, 2020. p. 6-22.

BESERRA, Ana Heloisa Nascimento et al. Can physical exercise modulate cortisol level in subjects with depression? A systematic review and meta-analysis. **Trends in psychiatry and psychotherapy**, v. 40, p. 360-368, 2018.

BETTIO, Luis EB; RAJENDRAN, Luckshi; GIL-MOHAPEL, Joana. The effects of aging in the hippocampus and cognitive decline. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 79, p. 66-86, 2017.

BINTARI, Maylani Putri et al. Effects of a 4-Week Moderate-Intensity Swimming Exercise Increase Serotonin Levels in Mice (*Mus musculus*). **Internasional Journal of Research Publications**, v. 93, n. 1, p. 238-244, 2022.

BOSTRÖM, Pontus et al. A PGC1- $\alpha$ -dependent myokine that drives brown-fat-like development of white fat and thermogenesis. **Nature**, v. 481, n. 7382, p. 463-468, 2012.

BOUDREAU, Ryan L. et al. Transcriptome-wide discovery of microRNA binding sites in human brain. **Neuron**, v. 81, n. 2, p. 294-305, 2014.

BOWMAN, Gene L. et al. Blood-brain barrier breakdown, neuroinflammation, and cognitive decline in older adults. **Alzheimer's & Dementia**, v. 14, n. 12, p. 1640-1650, 2018.

BOYCE, Richard et al. Causal evidence for the role of REM sleep theta rhythm in contextual memory consolidation. **Science**, v. 352, n. 6287, p. 812-816, 2016.

BRIKEN, S. et al. Effects of exercise on fitness and cognition in progressive MS: a randomized, controlled pilot trial. **Multiple Sclerosis Journal**, v. 20, n. 3, p. 382-390, 2014.

BROWN, Caitlin et al. Insulin blood-brain barrier transport and interactions are greater following exercise in mice. **Journal of Applied Physiology**, v. 132, n. 3, p. 824-834, 2022.

BUSL, Katharina M. et al. Prestroke dementia is associated with poor outcomes after reperfusion therapy among elderly stroke patients. **Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases**, v. 22, n. 6, p. 718-724, 2013.

CAJOCHEN, Christian; KRÄUCHI, K.; WIRZ-JUSTICE, A. Role of melatonin in the regulation of human circadian rhythms and sleep. **Journal of Neuroendocrinology**, v. 15, n. 4, p. 432-437, 2003.

CALHOUN, David A.; HARDING, Susan M. Sleep and hypertension. **Chest**, v. 138, n. 2, p. 434-443, 2010.

CAMPBELL, B. C. V.; KHATRI, P. Khatri P. Stroke. **Lancet**, v. 396, n. 10244, p. 129-142, 2020.

CAMPBELL, Bruce CV et al. Ischaemic stroke. **Nature reviews Disease primers**, v. 5, n. 1, p. 70, 2019.

CAO, Dandan et al. Effects of sleep deprivation on anxiety-depressive-like behavior and neuroinflammation. **Brain Research**, v. 1836, p. 148916, 2024.

CAPPUCCIO, Francesco P. et al. Sleep duration and all-cause mortality: a systematic review and meta-analysis of prospective studies. **Sleep**, v. 33, n. 5, p. 585-592, 2010.

CARROLL, Judith E. et al. Partial sleep deprivation activates the DNA damage response (DDR) and the senescence-associated secretory phenotype (SASP) in aged adult humans. **Brain, behavior, and immunity**, v. 51, p. 223-229, 2016.

CARTA, Mauro Giovanni et al. Moderate exercise improves cognitive function in healthy elderly people: Results of a randomized controlled trial. **Clinical practice and epidemiology in mental health: CP & EMH**, v. 17, p. 75, 2021.

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. 263115, 2017.

CHAN, John SY et al. Special issue—therapeutic benefits of physical activity for mood: a systematic review on the effects of exercise intensity, duration, and modality. **The Journal of psychology**, v. 153, n. 1, p. 102-125, 2019.

CHANANA, Priyanka; KUMAR, Anil. GABA-BZD receptor modulating mechanism of Panax quinquefolius against 72-h sleep deprivation induced anxiety like behavior: possible roles of oxidative stress, mitochondrial dysfunction and neuroinflammation. **Frontiers in neuroscience**, v. 10, p. 84, 2016.

CHAUVETTE, Sylvain; SEIGNEUR, Josée; TIMOFEEV, Igor. Sleep oscillations in the thalamocortical system induce long-term neuronal plasticity. **Neuron**, v. 75, n. 6, p. 1105-1113, 2012.

CHE, Tingting et al. The association between sleep and metabolic syndrome: a systematic review and meta-analysis. **Frontiers in Endocrinology**, v. 12, p. 773646, 2021.

CHEN, Zhihao et al. Recombinant irisin prevents the reduction of osteoblast differentiation induced by stimulated microgravity through increasing  $\beta$ -catenin expression. **International journal of molecular sciences**, v. 21, n. 4, p. 1259, 2020.

CHENNAOUI, M. et al. Effects of exercise on brain and peripheral inflammatory biomarkers induced by total sleep deprivation in rats. *Journal of Inflammation*, v. 12, p. 1-10, 2015.

CHERNYSHEV, Oleg Y. Sleep deprivation and its consequences. **CONTINUUM: Lifelong Learning in Neurology**, v. 29, n. 4, p. 1234-1252, 2023

CHERUBINI, Joshua M. et al. Sleep deprivation and endothelial function: reconciling seminal evidence with recent perspectives. **American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology**, v. 320, n. 1, p. H29-H35, 2021.

CHIRIACÒ, Martina et al. Endothelial Function and Physical Exercise: A Key to Cardiovascular Protection?. **Exercise, sports and hypertension**, p. 43-54, 2022.

CHUPEL, Matheus Uba et al. Exercise and taurine in inflammation, cognition, and peripheral markers of blood-brain barrier integrity in older women. **Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism**, v. 43, n. 7, p. 733-741, 2018.

COLCOMBE, Stanley J. et al. Aerobic exercise training increases brain volume in aging humans. **The Journals of Gerontology Series A: Biological Sciences and Medical Sciences**, v. 61, n. 11, p. 1166-1170, 2006.

CRYAN, John F.; MOMBÉREAU, Cedric; VASSOUT, Annick. The tail suspension test as a model for assessing antidepressant activity: review of pharmacological and genetic studies in mice. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 29, n. 4-5, p. 571-625, 2005.

CUADRADO-GODIA, Elisa et al. Cerebral small vessel disease: a review focusing on pathophysiology, biomarkers, and machine learning strategies. **Journal of stroke**, v. 20, n. 3, p. 302, 2018.



CULIG, Luka; CHU, Xixia; BOHR, Wilhelm A. Neurogenesis in aging and age-related neurodegenerative diseases. **Ageing research reviews**, v. 78, p. 101636, 2022.

DANIELE, Alessio; LUCAS, Samuel JE; RENDEIRO, Catarina. Detrimental effects of physical inactivity on peripheral and brain vasculature in humans: Insights into mechanisms, long-term health consequences and protective strategies. **Frontiers in Physiology**, v. 13, p. 998380, 2022.

DANIELE, Thiago Medeiros et al. Effects of exercise on depressive behavior and striatal levels of norepinephrine, serotonin and their metabolites in sleep-deprived mice. **Behavioural brain research**, v. 332, p. 16-22, 2017.

D'ASCOLA, Angela et al. Changes in plasma 5-HT levels and equine leukocyte SERT expression in response to treadmill exercise. **Research in veterinary science**, v. 118, p. 184-190, 2018.

DENTI, Licia et al. The poor outcome of ischemic stroke in very old people: a cohort study of its determinants. **Journal of the American Geriatrics Society**, v. 58, n. 1, p. 12-17, 2010.

DIEDERICH, Kai et al. Effects of different exercise strategies and intensities on memory performance and neurogenesis. **Frontiers in behavioral neuroscience**, v. 11, p. 47, 2017.

DIEP, Lien et al. Association of physical activity level and stroke outcomes in men and women: a meta-analysis. **Journal of women's health**, v. 19, n. 10, p. 1815-1822, 2010.

DI LIEGRO, Carlo Maria et al. Physical activity and brain health. **Genes**, v. 10, n.9, p. 720, 2019.

DOCHERTY, Sophie et al. The effect of exercise on cytokines: implications for musculoskeletal health: a narrative review. **BMC Sports Science, Medicine and Rehabilitation**, v. 14, n. 1, p. 5, 2022.

DOLEZAL, Brett A. et al. Interrelationship between sleep and exercise: a systematic review. **Advances in preventive medicine**, v. 2017, 2017.

DORFFNER, Georg; VITR, Martin; ANDERER, Peter. The effects of aging on sleep architecture in healthy subjects. In: **GeNeDis 2014: Geriatrics**. Cham: Springer International Publishing, 2014. p. 93-100.

DUDEK, Katarzyna A. et al. Molecular adaptations of the blood–brain barrier promote stress resilience vs. depression. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 117, n. 6, p. 3326-3336, 2020.

DURMER, Jeffrey S.; DINGES, David F. Neurocognitive consequences of sleep deprivation. In: **Seminars in neurology**. Copyright© 2005 by Thieme Medical Publishers, Inc., 333 Seventh Avenue, New York, NY 10001, USA., 2005. p. 117-129.

EL YACOUBI, M. et al. Adenosine A2A receptor antagonists are potential antidepressants: evidence based on pharmacology and A2A receptor knockout mice. **Br J Pharmacol**, v. 134, n. 1, p. 68-77, 2001.

ERDŐ, Franciska; DENES, László; DE LANGE, Elizabeth. Age-associated physiological and pathological changes at the blood–brain barrier: A review. **Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism**, v. 37, n. 1, p. 4-24, 2017.

ERREDE, Mariella et al. Effect of aging on the blood-brain barrier. **Italian Journal of Anatomy and Embryology**, v. 127, n. S1, p. 18-20, 2023.

FALUP-PECURARIU, Cristian et al. Neurobiology of sleep. **Experimental and Therapeutic Medicine**, v. 21, n. 3, p. 1-1, 2021.

FATTAL, Deema et al. Vivid dreams are associated with a high percentage of REM sleep: a prospective study in veterans. **Journal of clinical sleep medicine**, v. 19, n. 9, p. 1661-1668, 2023.

FEIGIN, Valery L. et al. Global Burden of Diseases, Injuries, and Risk Factors Study 2010 (GBD 2010) and the GBD Stroke Experts Group. Global and regional burden of stroke during 1990-2010: findings from the global burden of disease study 2010. **Lancet**, v. 383, n. 9913, p. 245-54, 2014.

FELEZ-NOBREGA, Mireia et al. The association of context-specific sitting time and physical activity intensity to working memory capacity and academic achievement in young adults. **The European Journal of Public Health**, v. 27, n. 4, p. 741-746, 2017.

FELSŐ, Regina et al. Total sleep deprivation decreases saliva ghrelin levels in adolescents. **Journal of Sleep Research**, v. 32, n. 2, p. e13746, 2023.

FERREIRA, Julio CB et al. Maximal lactate steady state in running mice: effect of exercise training. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**, v. 34, n. 8, p. 760-765, 2007.

FERRIE, Jane E. et al. Sleep epidemiology—a rapidly growing field. **International journal of epidemiology**, v. 40, n. 6, p. 1431-1437, 2011.

FERRUCCI, Luigi; FABBRI, Elisa. Inflammaging: chronic inflammation in ageing, cardiovascular disease, and frailty. **Nature Reviews Cardiology**, v. 15, n. 9, p. 505-522, 2018.

FRANCZYK, Beata et al. The impact of aerobic exercise on HDL quantity and quality: a narrative review. **International journal of molecular sciences**, v. 24, n. 5, p. 4653, 2023.

GAINE, Marie E.; CHATTERJEE, Snehajyoti; ABEL, Ted. Sleep deprivation and the epigenome. **Frontiers in neural circuits**, v. 12, p. 14, 2018.

GAO, Yue et al. Cerebral small vessel disease: Pathological mechanisms and potential therapeutic targets. **Frontiers in aging neuroscience**, v. 14, p. 961661, 2022.

GARCÍA, Aída et al. Sleep deprivation effects on basic cognitive processes: which components of attention, working memory, and executive functions are more susceptible to the lack of sleep?. **Sleep Science**, v. 14, n. 2, p. 107, 2021.

GARCÍA-GIMÉNEZ, José Luis; CÁNOVAS-CERVERA, Irene; PALLARDÓ, Federico V. Oxidative stress and metabolism meet epigenetic modulation in physical exercise. **Free Radical Biology and Medicine**, v.213, p.123-137, 2024.

GARVEY, Loretta et al. The perceptions of mental health clinicians integrating exercise as an adjunct to routine treatment of depression and anxiety. **International Journal of Mental Health Nursing**, v. 32, n. 2, p. 502-512, 2023.

GIBBONS, Trisha E. et al. Voluntary wheel running, but not a diet containing (-)-epigallocatechin-3-gallate and  $\beta$ -alanine, improves learning, memory and hippocampal neurogenesis in aged mice. **Behavioural brain research**, v. 272, p. 131-140, 2014.

GONZALEZ-CASTAÑEDA, Rocio E. et al. Sex-related effects of sleep deprivation on depressive-and anxiety-like behaviors in mice. **Experimental Animals**, v. 65, n. 1, p. 97-107, 2016.

GHOZY, Sherief et al. Physical activity level and stroke risk in US population: A matched case–control study of 102,578 individuals. **Annals of clinical and translational neurology**, v. 9, n. 3, p. 264-275, 2022.

GRIMM, Amandine; FRIEDLAND, Kristina; ECKERT, Anne. Mitochondrial dysfunction: the missing link between aging and sporadic Alzheimer's disease. **Biogerontology**, v. 17, p. 281-296, 2016.

GUO, Peipei et al. Effects of irisin on the dysfunction of blood–brain barrier in rats after focal cerebral ischemia/reperfusion. **Brain and behavior**, v. 9, n. 10, p. e01425, 2019.

GUO, Peipei et al. Irisin rescues blood-brain barrier permeability following traumatic brain injury and contributes to the neuroprotection of exercise intraumatic brain injury. **Oxidative medicine and cellular longevity**, v. 2021, 2021.

GUO, Yuhuai et al. Multi-omics studies reveal ameliorating effects of physical exercise on neurodegenerative diseases. **Frontiers in Aging Neuroscience**, v. 14, p. 1026688, 2022.

GUSZKOWSKA, Monika et al. Nordic walking combined with simple cognitive exercises improves older women ability to select visual stimuli proportionally to the increase in physical fitness. **Acta Kinesiologica**, 16 (1), p. 93-98, 2022.

HALAIDYCH, V.; MUMMERY, Christine L.; ORLOVA, Valeria V. Quantifying Ca<sup>2+</sup> signaling and contraction in vascular pericytes and smooth muscle cells. **Biochemical and biophysical research communications**, v. 513, n. 1, p. 112-118, 2019.

HAMBURG, Naomi M. et al. Physical inactivity rapidly induces insulin resistance and microvascular dysfunction in healthy volunteers. **Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology**, v. 27, n. 12, p. 2650-2656, 2007.

HAMILTON, Gilian F.; RHODES, Justin S. Exercise regulation of cognitive function and neuroplasticity in the healthy and diseased brain. **Progress in molecular biology and translational science**, v. 135, p. 381-406, 2015.

HAN, Wenxiu et al. Alterations of irisin, adropin, preptin and BDNF concentrations in coronary heart disease patients comorbid with depression. **Annals of translational medicine**, v. 7, n. 14, 2019.

HAO, Ling; YANG, Rong; XU, Hanrong. Effects of exercise of equal intensity on working memory and BDNF protein expression in the prefrontal cortex in rats with different degrees of sleep deprivation. **International journal of clinical and experimental medicine**, v. 12, n. 9, p. 11490-11496, 2019.

HARGENS, Trent A. et al. Association between sleep disorders, obesity, and exercise: a review. **Nature and science of sleep**, p. 27-35, 2013.

HAVEKES, Robbert; VECSEY, Christopher G.; ABEL, Ted. The impact of sleep deprivation on neuronal and glial signaling pathways important for memory and synaptic plasticity. **Cellular signalling**, v. 24, n. 6, p. 1251-1260, 2012.

HE, Junyun et al. Sleep restriction impairs blood–brain barrier function. **Journal of Neuroscience**, v. 34, n. 44, p. 14697-14706, 2014.

HEISZ, Jennifer J. et al. 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.

HIRSHKOWITZ, Max et al. National Sleep Foundation's sleep time duration recommendations: methodology and results summary. **Sleep health**, v. 1, n. 1, p. 40-43, 2015.

HO, Ming-Yun; WANG, Chao-Yung. Role of irisin in myocardial infarction, heart failure, and cardiac hypertrophy. **Cells**, v. 10, n. 8, p. 2103, 2021.

HOLST, Sebastian C.; LANDOLT, Hans-Peter. Sleep-wake neurochemistry. **Sleep medicine clinics**, v. 13, n. 2, p. 137-146, 2018.

HOOKER, Steven P. et al. Association of accelerometer-measured sedentary time and physical activity with risk of stroke among US adults. **JAMA network open**, v. 5, n. 6, p. e2215385-e2215385, 2022.

HOWLEY, Edward T. Type of activity: resistance, aerobic and leisure versus occupational physical activity. **Medicine and science in sports and exercise**, v. 33, n. 6 Suppl, p. S364-9; discussion S419, 2001.

HUANG, Yi-Ming et al. Sleep duration and risk of cardio-cerebrovascular disease: A dose-response meta-analysis of cohort studies comprising 3.8 million participants. **Frontiers in Cardiovascular Medicine**, v. 9, p. 907990, 2022.

HUDSON, Amanda N.; VAN DONGEN, Hans PA; HONN, Kimberly A. Sleep deprivation, vigilant attention, and brain function: a review. **Neuropsychopharmacology**, v. 45, n. 1, p. 21-30, 2020.

HUSSAIN, Nasir et al. Impact of cardiorespiratory fitness on frequency of atrial fibrillation, stroke, and all-cause mortality. **The American journal of cardiology**, v. 121, n. 1, p. 41-49, 2018.

HYSING, Mari et al. Sleep patterns and insomnia among adolescents: a population-based study. **Journal of sleep research**, v. 22, n. 5, p. 549-556, 2013.

IBRAHIM, Fatma M. et al. Effect of a Home-Based Simplified Tai Chi Exercise Program on Sleep Quality, Daytime Sleepiness, Quality of Life, and Psychological Well-Being in Egyptian Older Adults: A Quasi-Experimental Study. **Biological Research For Nursing**, v. 26, n. 2, p. 202-218, 2024.

IGNÁCIO, Zuleide M. et al. Physical exercise and neuroinflammation in major depressive disorder. **Molecular neurobiology**, v. 56, n. 12, p. 8323-8335, 2019.

ISLAM, Mohammad R. et al. Exercise hormone irisin is a critical regulator of cognitive function. **Nature Metabolism**, v. 3, n. 8, p. 1058-1070, 2021.

IZQUIERDO, Mikel et al. International exercise recommendations in older adults (ICFSR): expert consensus guidelines. **The journal of nutrition, health & aging**, v. 25, n. 7, p. 824-853, 2021.

IZZO, Carmine et al. The impact of aging on cardio and cerebrovascular diseases. **International journal of molecular sciences**, v. 19, n. 2, p. 481, 2018.

JO, Danbi; SONG, Juhyun. Irisin acts via the PGC-1 $\alpha$  and BDNF pathway to improve depression-like behavior. **Clinical Nutrition Research**, v. 10, n. 4, p. 292, 2021

JODEIRI FARSHBAF, Mohammad; ALVIÑA, Karina. Multiple roles in neuroprotection for the exercise derived myokine irisin. **Frontiers in aging neuroscience**, v. 13, p. 649929, 2021.

KAHRAMAN, Cemil. The Relationship Between High-Fat Diet and Fibronectin Type III Domain Containing Protein 5 mRNA Expression. **Anatolian Clinic the Journal of Medical Sciences**, v. 23, n. 1, p. 1-5, 2018.

KAMALI, Ali Mohammad et al. Methodological aspects of REM sleep-deprivation and stereological protocols in the brain-stem respiratory nuclei. **Journal of Advanced Medical Sciences and Applied Technologies**, v. 2, n. 3, p. 283-286, 2016.

KAUR, Brahmleen. Protocol for Exploring the Role of Irisin in the Enhancement of Spatial Learning Mediated by Aerobic Physical Exercise in Adult Mice. **Undergraduate Research in Natural and Clinical Science and Technology Journal**, v. 7, p. 1-8, 2023.

KIEHN, Jana-Thabea et al. Circadian clocks in the regulation of neurotransmitter systems. **Pharmacopsychiatry**, v. 56, n. 03, p. 108-117, 2023.

KIM, Oh Yoen; SONG, Juhyun. The role of irisin in Alzheimer's disease. **Journal of clinical medicine**, v. 7, n. 11, p. 407, 2018.

KIM, Ruby; REED, Michael C. A mathematical model of circadian rhythms and dopamine. **Theoretical Biology and Medical Modelling**, v. 18, p. 1-15, 2021.

KIM, So Young et al. Sleep deprivation is associated with bicycle accidents and slip and fall injuries in Korean adolescents. **PLoS One**, v. 10, n. 8, p. e0135753, 2015.

KINOSHITA, Shunsuke et al. Does improvement in health-related lifestyle habits increase purpose in life among a health literate cohort?. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 17, n. 23, p. 8878, 2020.

KIRSHENBAUM, Greer S. et al. Mania-like behavior induced by genetic dysfunction of the neuron-specific Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase  $\alpha$ 3 sodium pump. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 108, n. 44, p.18144-18149, 2011.

KLIMENKO, Maria O. et al. Contribution of chronic sleep deprivation to age-related neurodegeneration in a mouse model of familial Alzheimer's disease (5xFAD). **Neurology International**, v. 15, n. 3, p. 778-791, 2023.

KNOX, Emily G. et al. The blood-brain barrier in aging and neurodegeneration. **Molecular Psychiatry**, v. 27, n. 6, p. 2659-2673, 2022.

KOBILLO, Tali et al. AMPK agonist AICAR improves cognition and motor coordination in young and aged mice. **Learning & memory**, v. 21, n. 2, p. 119-126, 2014.

KORTA, Paulina; POCHEĆ, Ewa; MAZUR-BIAŁY, Agnieszka. Irisin as a multifunctional protein: implications for health and certain diseases. **Medicina**, v.55, n. 8, p. 485, 2019.

KRYSTAL, Andrew D. Challenges in Managing Insomnia in Older People. **The Journal of Clinical Psychiatry**, v. 82, n. 4, p. E120008BR3C-EI20008BR3C, 2021.

LAM, Bonnie Yin Ka et al. The global burden of cerebral small vessel disease in low- and middle-income countries: A systematic review and meta-analysis. **International Journal of Stroke**, v. 18, n. 1, p. 15-27, 2023.

LARSEN, Jessica M; MARTIN, Douglas R; BYRNE, Mark E. Recent advances in delivery through the blood-brain barrier. **Current topics in medicinal chemistry**, v. 14, n. 9, p. 1148-1160, 2014.

LAVIE, Carl J. et al. Sedentary behavior, exercise, and cardiovascular health. **Circulation research**, v. 124, n. 5, p. 799-815, 2019.

LEÃO, Otávio Amaral de Andrade; KNUTH, Alan Goularte; MEUCCI, Rodrigo Dalke. Sedentary behavior in elderly residents from the rural area in Southern Brazil. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 23, p. e200008, 2020.

LECLECH, Claire; NATALE, Carlo F.; BARAKAT, Abdul I. The basement membrane as a structured surface—role in vascular health and disease. **Journal of cell science**, v. 133, n. 18, p. jcs239889, 2020.

LEE, Chong Do; FOLSOM, Aaron R.; BLAIR, Steven N. Physical activity and stroke risk: a meta-analysis. **Stroke**, v. 34, n. 10, p. 2475-2481, 2003.

LEE, Min Chul et al. Voluntary resistance running induces increased hippocampal neurogenesis in rats comparable to load-free running. **Neuroscience letters**, v. 537, p. 6-10, 2013.

LEONARDI, Giulia C. et al. Ageing: from inflammation to cancer. **Immunity & Ageing**, v. 15, n. 1, p. 1, 2018.

LENG, Yue et al. Sleep duration and risk of fatal and nonfatal stroke: a prospective study and meta-analysis. **Neurology**, v. 84, n. 11, p. 1072-1079, 2015.

LI, Muchen. Selectivity in sleep-dependent memory consolidation. **Journal of Student Research**, v. 10, n. 4, 2021.

LI, Hui et al. miR-539 Targeting SNAI2 Regulates MMP9 Signaling Pathway and Affects Blood-Brain Barrier Permeability in Cerebrovascular Occlusive Diseases: A Study Based on Head and Neck Ultrasound and CTA. **Journal of Healthcare Engineering**, v. 2021, n. 1, p. 5699025, 2021.

LI, Qian et al. Cerebral small vessel disease. **Cell transplantation**, v. 27, n. 12, p. 1711-1722, 2018.

LI, Xiaodan et al. Construction of a *Pichia pastoris* strain efficiently secreting irisin and assessment of its bioactivity in HepG2 cells. **International journal of biological macromolecules**, v. 124, p. 60-70, 2019.

LI, Xiaoyu et al. Associations of sleep-disordered breathing and insomnia with incident hypertension and diabetes. The Hispanic Community Health Study/Study of Latinos. **American journal of respiratory and critical care medicine**, v. 203, n. 3, p. 356-365, 2021.

LIANG, Juan et al. Physical exercise promotes brain remodeling by regulating epigenetics, neuroplasticity and neurotrophins. **Reviews in the Neurosciences**, v. 32, n. 6, p. 615-629, 2021.

LIEW, Siaw Cheok; AUNG, Thidar. Sleep deprivation and its association with diseases-a review. **Sleep medicine**, v. 77, p. 192-204, 2021.

LIN, Tzu-Wei; KUO, Yu-Min. Exercise benefits brain function: the monoamine connection. **Brain sciences**, v. 3, n. 1, p. 39-53, 2013.

LISTER, Richard G. The use of a plus-maze to measure anxiety in the mouse. **Psychopharmacology**, v. 92, p. 180-185, 1987.

LIU, Ruilian et al. Effects of aerobic exercise on depression-like behavior and TLR4/NLRP3 pathway in hippocampus CA1 region of CUMS-depressed mice. **Journal of affective disorders**, v. 341, p. 248-255, 2023.

LIU, Yong. Prevalence of healthy sleep duration among adults—United States, 2014. **MMWR. Morbidity and mortality weekly report**, v. 65, 2016.

LOURENCO, Mychael V. et al. Exercise-linked FNDC5/irisin rescues synaptic plasticity and memory defects in Alzheimer's models. **Nature medicine**, v. 25, n.1, p. 165-175, 2019.

LUO, Jia et al. Impacts of aerobic exercise on depression-like behaviors in chronic unpredictable mild stress mice and related factors in the AMPK/PGC-1 $\alpha$  pathway. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 17, n. 6, p. 2042, 2020.

MA, Yanjun et al. Association between sleep duration and cognitive decline. **JAMA network open**, v. 3, n. 9, p. e2013573-e2013573, 2020.

MACDONALD, Kevin J.; COTE, Kimberly A. Contributions of post-learning REM and NREM sleep to memory retrieval. **Sleep medicine reviews**, v. 59, p. 101453, 2021.

MADDOCK, Richard J. et al. Acute modulation of cortical glutamate and GABA content by physical activity. **Journal of Neuroscience**, v. 36, n. 8, p. 2449- 2457, 2016.

MAEKAWA, Takahiro et al. Electrically evoked local muscle contractions cause an increase in hippocampal BDNF. **Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism**, v. 43, n. 5, p. 491-496, 2018.



MAKAREM, Nour et al. Effect of sleep disturbances on blood pressure. **Hypertension**, v. 77, n. 4, p. 1036-1046, 2021.

MAŁKIEWICZ, Marta A. et al. Blood-brain barrier permeability and physical exercise. **Journal of neuroinflammation**, v. 16, p. 1-16, 2019.

MAŁKIEWICZ, Marta A. et al. Substances of abuse and the blood brain barrier: Interactions with physical exercise. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 119, p. 204-216, 2020.

MARKUS, Hugh S.; DE LEEUW, Frank Erik. Cerebral small vessel disease: recent advances and future directions. **International Journal of Stroke**, v. 18, n. 1, p. 4-14, 2023.

MARKUS, Hugh; PEREIRA, Anthony; CLOUD, Geoffrey. **Stroke medicine**. Oxford University Press, 2016.

MATSUOKA, Ryota L. et al. Historical and current perspectives on blood endothelial cell heterogeneity in the brain. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 79, n. 7, p. 372, 2022.

MCCONNELL, Heather L.; MISHRA, Anusha. Cells of the blood–brain barrier: an overview of the neurovascular unit in health and disease. **The Blood-Brain Barrier: Methods and Protocols**, p. 3-24, 2022.

MIEDA, Michihiro. Neural mechanisms underlying the central circadian clock of the suprachiasmatic nucleus. **Brain and Nerve= Shinkei Kenkyu no Shinpo**, v. 72, n. 11, p. 1143-1150, 2020.

MINDEL, Jared et al. Sleep deprivation potentiates HPA axis stress reactivity in healthy adults. **Health Psychology**, v. 33, n. 11, p. 1430, 2014.

MOLCHO-HAIMOVICH, Alona et al. Sleep disturbances are associated with irritability in ASD children with sensory sensitivities. **Journal of neurodevelopmental disorders**, v. 15, n. 1, p. 21, 2023.

MONTAGNE, Axel et al. Blood-brain barrier breakdown in the aging human hippocampus. **Neuron**, v. 85, n. 2, p. 296-302, 2015.

MONTAÑO, Arturo; HANLEY, Daniel F.; HEMPHILL III, J. Claude. Hemorrhagic stroke. **Handbook of clinical neurology**, v. 176, p. 229-248, 2021.

MORENO-NAVARRETE, José María et al. Irisin is expressed and produced by human muscle and adipose tissue in association with obesity and insulin resistance. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 98, n. 4, p. E769-E778, 2013.

MORGAN, Julie A. et al. The effects of aerobic exercise on depression-like, anxiety-like, and cognition-like behaviours over the healthy adult lifespan of C57BL/6 mice. **Behavioural brain research**, v. 337, p. 193-203, 2018.

MAROSI, K. et al. Long-term exercise treatment reduces oxidative stress in the hippocampus of aging rats. **Neuroscience**, v. 226, p. 21-28, 2012.

MOTIVALA, Sarosh J. Sleep and inflammation: psychoneuroimmunology in the context of cardiovascular disease. **Annals of Behavioral Medicine**, v. 42, n. 2, p. 141-152, 2011.

MOZOS, I.; LASCU, A.; GLIGOR, S. Blood Pressure Variables, Smoking Status, Sedentary Lifestyle And Obesity As Predictors Of Increased Arterial Stiffness And Early Arterial Ageing In Middle-aged Study Participants. **Journal of Hypertension**, v. 36, p. e244, 2018.

NAIR, Keerthi GS; RAMAIYAN, Velmurugan; SUKUMARAN, Sathesh Kumar. Enhancement of drug permeability across blood brain barrier using nanoparticles in meningitis. **Inflammopharmacology**, v. 26, n. 3, p. 675-684, 2018.

NATALICCHIO, Annalisa et al. Irisin increases the expression of anorexigenic and neurotrophic genes in mouse brain. **Diabetes/Metabolism Research and Reviews**, v. 36, n. 3, p. e3238, 2020.

NATION, Daniel A. et al. Blood–brain barrier breakdown is an early biomarker of human cognitive dysfunction. **Nature medicine**, v. 25, n. 2, p. 270-276, 2019.

NIEDERMEIER, Josie et al. Relationships among exercise, mindfulness, mental health, and academic achievement among prelicensure nursing students. **Nurse Educator**, v. 47, n. 3, p. 184-189, 2022.

NOETEL, Michael et al. Effect of exercise for depression: systematic review and network meta-analysis of randomised controlled trials. **bmj**, v. 384, 2024.

NOGUERA, Carmen et al. Ten years younger: Practice of chronic aerobic exercise improves attention and spatial memory functions in ageing. **Experimental gerontology**, v. 117, p. 53-60, 2019.

NOKIA, Miriam S. et al. Physical exercise increases adult hippocampal neurogenesis in male rats provided it is aerobic and sustained. **The Journal of physiology**, v. 594, n. 7, p. 1855-1873, 2016.

NORHEIM, Frode et al. The effects of acute and chronic exercise on PGC-1 $\alpha$ , irisin and browning of subcutaneous adipose tissue in humans. **The FEBSjournal**, v. 281, n. 3, p. 739-749, 2014.

NOSOVA, Emily V. et al. Short-term physical inactivity impairs vascular function. **Journal of Surgical Research**, v. 190, n. 2, p. 672-682, 2014.

NOVATI, Arianna et al. Chronic sleep restriction causes a decrease in hippocampal volume in adolescent rats, which is not explained by changes in glucocorticoid levels or neurogenesis. **Neuroscience**, v. 190, p. 145-155, 2011.

NOWACKA-CHMIELEWSKA, Marta et al. Running from stress: neurobiological mechanisms of exercise-induced stress resilience. **International journal of molecular sciences**, v. 23, n. 21, p. 13348, 2022.

NUNES JR, G. P.; TUFIK, S. Validation of the modified multiple platform method (MPM) of paradoxical sleep deprivation in rats. **Sleep Res**, v. 23, n. 1, 1994.

OKAMOTO, Masahiro et al. High-intensity intermittent training enhances spatial memory and hippocampal neurogenesis associated with BDNF signaling in rats. **Cerebral Cortex**, v. 31, n. 9, p. 4386-4397, 2021.

PACE-SCHOTT, Edward F.; GERMAIN, Anne; MILAD, Mohammed R. Sleep and REM sleep disturbance in the pathophysiology of PTSD: the role of extinction memory. **Biology of mood & anxiety disorders**, v. 5, p. 1-19, 2015.

PAN, Weihong et al. Cytokine signaling modulates blood-brain barrier function. **Current pharmaceutical design**, v. 17, n. 33, p. 3729-3740, 2011.

PANATI, Kalpana et al. Expression, purification and biological characterisation of recombinant human irisin (12.5 kDa). **Journal of Genetic Engineering and Biotechnology**, v. 16, n. 2, p. 459-466, 2018.

PANATI, K.; SUNEETHA, Y.; NARALA, V. R. Irisin/FNDC5-An updated review. **European Review for Medical & Pharmacological Sciences**, v. 20, n. 4, 2016.

PATON, Sam EJ et al. Barrier–environment interactions along the gut–brain axis and their influence on cognition and behaviour throughout the lifespan. **Journal of Psychiatry and Neuroscience**, v. 48, n. 3, p. E190-E208, 2023.

PEDERSEN, Bente K.; FEBBRAIO, Mark A. Muscles, exercise and obesity: skeletal muscle as a secretory organ. **Nature Reviews Endocrinology**, v. 8, n. 8, p. 457-465, 2012.

PELLOW, Sharon et al. Validation of open: closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. **Journal of neuroscience methods**, v. 14, n. 3, p. 149-167, 1985.

PENG, Ziyi et al. Effect of sleep deprivation on the working memory-related N2-P3 components of the event-related potential waveform. **Frontiers in neuroscience**, v. 14, p. 469, 2020

PERIASAMY, Srinivasan et al. Sleep deprivation-induced multi-organ injury: role of oxidative stress and inflammation. **Excli Journal**, v. 14, p. 672, 2015.

PIGNATARO, Patrizia et al. FNDC5/Irisin system in neuroinflammation and neurodegenerative diseases: update and novel perspective. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 4, p. 1605, 2021.

PIRES, Gabriel Natan; TUFIK, Sergio; ANDERSEN, Monica Levy. Sleep deprivation and anxiety in humans and rodents—Translational considerations and hypotheses. **Behavioral neuroscience**, v. 129, n. 5, p. 621, 2015.

PIYA, Milan K. et al. The identification of irisin in human cerebrospinal fluid: influence of adiposity, metabolic markers, and gestational diabetes. **American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism**, v. 306, n. 5, p. E512-E518, 2014.

RAJIZADEH, Mohammad Amin et al. Voluntary exercise modulates learning & memory and synaptic plasticity impairments in sleep deprived female rats. **Neuroscience**, v. 202, p. 252-266, 2012.

RAVEN, Frank et al. The role of sleep in regulating structural plasticity and synaptic strength: implications for memory and cognitive function. **Sleep Medicine Reviews**, v. 39, p. 3-11, 2018.

REN, Jianchang; XIAO, Haili. Exercise for mental well-being: Exploring neurobiological advances and intervention effects in depression. **Life**, v. 13, n.7, p. 1505, 2023.

RIBO, Marc et al. Age-adjusted infarct volume threshold for good outcome after endovascular treatment. **Journal of NeuroInterventional Surgery**, v. 6, n. 6, p. 418-422, 2014.

RIEMANN, Dieter et al. Sleep, insomnia, and eexpression. **Neuropsychopharmacology**, v. 45, n. 1, p. 74-89, 2020.

ROH, Hee-Tae et al. Effect of exercise intensity on neurotrophic factors and blood–brain barrier permeability induced by oxidative–nitrosative stress in male college students. **International journal of sport nutrition and exercise metabolism**, v. 27, n. 3, p. 239-246, 2017.

ROSENZWEIG, Ephron S.; BARNES, Carol A. Impact of aging on hippocampal function: plasticity, network dynamics, and cognition. **Progress in neurobiology**, v. 69, n. 3, p. 143-179, 2003.

RUBIN, Alexandra et al. The extent of sleep deprivation and daytime sleepiness in young adults. **Health Psychology Research**, v. 11, 2023.

SAADATI, Hakimeh et al. Exercise improves learning and memory impairments in sleep deprived female rats. **Physiology & behavior**, v. 138, p. 285-291, 2015.

SABIA, Séverine et al. Association of sleep duration in middle and old age with incidence of dementia. **Nature Communications**, v. 12, n. 1, p. 2289, 2021.

SADIER, Najwane Said et al. Irisin: An unveiled bridge between physical exercise and a healthy brain. **Life Sciences**, v. 339, p. 122393, 2024.

- SALARI, Maryam et al. The compensatory effect of regular exercise on long-term memory impairment in sleep deprived female rats. **Behavioural processes**, v. 119, p. 50-57, 2015.
- SAME, Robert V. et al. Relationship between sedentary behavior and cardiovascular risk. **Current cardiology reports**, v. 18, p. 1-7, 2016.
- SANTISTEBAN, Jose Arturo et al. Cumulative mild partial sleep deprivation negatively impacts working memory capacity but not sustained attention, response inhibition, or decision making: a randomized controlled trial. **Sleep health**, v. 5, n. 1, p. 101-108, 2019.
- SAPER, Clifford B.; FULLER, Patrick M. Wake–sleep circuitry: an overview. **Current opinion in neurobiology**, v. 44, p. 186-192, 2017.
- SARTER, Martin; BODEWITZ, Geert; STEPHENS, David N. Attenuation of scopolamine-induced impairment of spontaneous alternation behaviour by antagonist but not inverse agonist and agonist  $\beta$ - carbolines. **Psychopharmacology**, v. 94, p. 491-495, 1988.
- SCHOENFELD, Timothy J. et al. Anxiolytic actions of exercise in absence of new neurons. **Hippocampus**, v. 26, n. 11, p. 1373-1378, 2016.
- SCHWARZ, Johanna et al. Does sleep deprivation increase the vulnerability to acute psychosocial stress in young and older adults?. **Psychoneuroendocrinology**, v. 96, p. 155-165, 2018.
- SEVERINSEN, Mai Charlotte Krogh; PEDERSEN, Bente Klarlund. Muscle–organ crosstalk: the emerging roles of myokines. **Endocrine reviews**, v. 41, n. 4, p. 594-609, 2020.
- SHEARER, William T. et al. Soluble TNF receptor 1 and IL-6 plasma levels in humans subjected to the sleep deprivation model of spaceflight. **Journal of allergy and clinical immunology**, v. 107, n. 1, p. 165-170, 2001.
- SI, Qingying et al. Systematic Metabolic Profiling of Mice with Sleep-Deprivation. **Advanced Biology**, v. 8, n. 2, p. 2300413, 2024.
- SILVA, Mónica Garcia et al. Long-term aerobic training improves mitochondrial and antioxidant function in the liver of Wistar rats preventing hepatic age-related function decline. **Biology**, v. 11, n. 12, p. 1750, 2022.
- SIPPEL, Daniel et al. Disruption of NREM sleep and sleep-related spatial memory consolidation in mice lacking adult hippocampal neurogenesis. **Scientific reports**, v. 10, n. 1, p. 16467, 2020.
- STERU, L. et al. The tail suspension test: a new method for screening antidepressants in mice. **Psychopharmacology** (Berl), v. 85, n. 3, p. 367-70, 1985.

STONEROCK, Gregory L. et al. Exercise as treatment for anxiety: systematic review and analysis. **Annals of behavioral medicine**, v. 49, n. 4, p. 542-556, 2015.

SU, Xiaoyun et al. The effects of aerobic exercise combined with resistance training on inflammatory factors and heart rate variability in middle-aged and elderly women with type 2 diabetes mellitus. **Annals of Noninvasive Electrocardiology**, v. 27, n. 6, p. e12996, 2022.

SWEENEY, Melanie D. et al. Blood-brain barrier: from physiology to disease and back. **Physiological reviews**, v. 99, n. 1, p. 21-78, 2018.

TABUCHI, Masashi et al. Light/clock influences membrane potential dynamics to regulate sleep states. **Frontiers in Neurology**, v. 12, p. 625369, 2021.

TÄHKÄMÖ, Leena; PARTONEN, Timo; PESONEN, Anu-Katriina. Systematic review of light exposure impact on human circadian rhythm. **Chronobiology international**, v. 36, n. 2, p. 151-170, 2019.

TAI, Feng et al. Treadmill exercise ameliorates chronic REM sleep deprivation-induced anxiety-like behavior and cognitive impairment in C57BL/6J mice. **Brain research bulletin**, v. 164, p. 198-207, 2020.

TAKAHASHI, Joseph S. Transcriptional architecture of the mammalian circadian clock. **Nature Reviews Genetics**, v. 18, n. 3, p. 164-179, 2017.

TAKEUCHI, Hikaru et al. Shorter sleep duration and better sleep quality are associated with greater tissue density in the brain. **Scientific reports**, v. 8, n. 1, p. 5833, 2018.

THAM, Elaine KH; SCHNEIDER, Nora; BROEKMAN, Birit FP. Infant sleep and its relation with cognition and growth: a narrative review. **Nature and science of sleep**, p. 135-149, 2017.

THOMPSON, Kayla I. et al. Acute sleep deprivation disrupts emotion, cognition, inflammation, and cortisol in young healthy adults. **Frontiers in behavioral neuroscience**, v. 16, p. 945661, 2022.

TOBALDINI, Eleonora et al. Sleep, sleep deprivation, autonomic nervous system and cardiovascular diseases. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 74, p. 321-329, 2017.

TSAI, Sheng-Feng et al. Long-term moderate exercise rescues age-related decline in hippocampal neuronal complexity and memory. **Gerontology**, v. 64, n. 6, p. 551-561, 2018.

TSO, Winnie et al. Early sleep deprivation and attention-deficit/hyperactivity disorder. **Pediatric research**, v. 85, n. 4, p. 449-455, 2019.

TU, Wen-Jun et al. Decreased level of irisin, a skeletal muscle cell-derived myokine, is associated with post-stroke depression in the ischemic stroke population. **Journal of Neuroinflammation**, v. 15, p. 1-10, 2018.

TYAGI, M. et al. The Impact Of Sleep On Physical And Mental Health: Importance Of Healthy Sleep Habits. **Georgian medical news**, n. 339, p. 89-94, 2023.

UNGVARI, Zoltan et al. Mechanisms of vascular aging, a geroscience perspective: JACC focus seminar. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 75, n. 8, p. 931-941, 2020.

VÄHÄ-YPYÄ, H. et al. Reliable recognition of lying, sitting, and standing with a hip-worn accelerometer. **Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports**, v. 28, n. 3, p. 1092-1102, 2018.

VAN DONGEN, Hans PA; VITELLARO, Kristen M.; DINGES, David F. Individual differences in adult human sleep and wakefulness: Leitmotif for a research agenda. **Sleep**, v. 28, n. 4, p. 479-498, 2005.

VASEGHI, Salar et al. Inconsistent effects of sleep deprivation on memory function. **EXCLI journal**, v. 20, p. 1011, 2021.

VENANCIO, Daniel Paulino; SUCHECKI, Deborah. Prolonged REM sleep restriction induces metabolic syndrome-related changes: mediation by pro-inflammatory cytokines. **Brain, Behavior, and Immunity**, v. 47, p. 109-117, 2015.

VIKTORISSON, Adam et al. Domain-Specific Physical Activity and Stroke in Sweden. **JAMA Network Open**, v. 7, n. 5, p. e2413453-e2413453, 2024.

WANG, Sisi; PAN, Jiyang. Irisin ameliorates depressive-like behaviors in rats by regulating energy metabolism. **Biochemical and biophysical research communications**, v. 474, n. 1, p. 22-28, 2016.

WANG, Yao et al. Irisin ameliorates neuroinflammation and neuronal apoptosis through integrin  $\alpha$ V $\beta$ 5/AMPK signaling pathway after intracerebral hemorrhage in mice. **Journal of Neuroinflammation**, v. 19, n. 1, p. 82, 2022.

WANG, Xintong et al. Melatonin ameliorates anxiety-like behaviors induced by sleep deprivation in mice: Role of oxidative stress, neuroinflammation, autophagy and apoptosis. **Brain research bulletin**, v. 174, p. 161-172, 2021.

WANG, Zhongting et al. Sedentary behavior and the risk of stroke: A systematic review and dose-response meta-analysis. **Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases**, v. 32, n. 12, p. 2705-2713, 2022.

WASEEM, Rashid et al. Multispectroscopic and molecular docking insight into elucidating the interaction of irisin with Rivastigmine tartrate: A combinational therapy approach to fight Alzheimer's disease. **ACS omega**, v. 6, n. 11, p. 7910-7921, 2021.

- WHITNEY, Paul; HINSON, John M.; NUSBAUM, Amy T. A dynamic attentional control framework for understanding sleep deprivation effects on cognition. **Progress in brain research**, v. 246, p. 111-126, 2019.
- WRANN, Christiane D. et al. Exercise induces hippocampal BDNF through a PGC-1 $\alpha$ /FNDC5 pathway. **Cell metabolism**, v. 18, n. 5, p. 649-659, 2013.
- WRANN, Christiane D. FNDC5/Irisin—their role in the nervous system and as a mediator for beneficial effects of exercise on the brain. **Brain plasticity**, v. 1, n. 1, p. 55-61, 2015.
- WU, Yan et al. Effects of repeated sleep deprivation on brain pericytes in mice. **Scientific Reports**, v. 13, n. 1, p. 12760, 2023.
- WU, Yanbing; HU, Xiaohai; CHEN, Lili. Chronic resistance exercise improves functioning and reduces toll-like receptor signaling in elderly patients with postoperative deconditioning. **Journal of Manipulative and Physiological Therapeutics**, v. 43, n. 4, p. 371-383, 2020.
- WU, Yanqin et al. Curcumin relieves chronic unpredictable mild stress-induced depression-like behavior through the PGC-1 $\alpha$ /FNDC5/BDNF pathway. **Behavioural Neurology**, v. 2021, 2021.
- XI, Bo et al. Short sleep duration predicts risk of metabolic syndrome: a systematic review and meta-analysis. **Sleep medicine reviews**, v. 18, n. 4, p. 293-297, 2014.
- XIE, Jun-Fan et al. Neuropeptide S counteracts paradoxical sleep deprivation-induced anxiety-like behavior and sleep disturbances. **Frontiers in Cellular Neuroscience**, v. 12, p. 64, 2018.
- XIE, Lulu et al. Sleep drives metabolite clearance from the adult brain. **Science**, v. 342, n. 6156, p. 373-377, 2013.
- XIONG, J. Y. et al. Long-term treadmill exercise improves spatial memory of male APP<sup>swe</sup>/PS1<sup>dE9</sup> mice by regulation of BDNF expression and microglia activation. **Biology of sport**, v. 32, n. 4, p. 295-300, 2015.
- YANG, Deng-Fa et al. Acute sleep deprivation exacerbates systemic inflammation and psychiatry disorders through gut microbiota dysbiosis and disruption of circadian rhythms. **Microbiological Research**, v. 268, p. 127292, 2023.
- YANG, Ning et al. Role of irisin in Chinese patients with hypothyroidism: an interventional study. **Journal of International Medical Research**, v. 47, n. 4, p. 1592-1601, 2019.
- YASUGAKI, Shinnosuke et al. Bidirectional relationship between sleep and depression. **Neuroscience Research**, v.262023.



YEHUDA, Shlomo et al. REM sleep deprivation in rats results in inflammation and interleukin-17 elevation. **Journal of Interferon and Cytokine Research**, v. 29, n. 7, p. 393-398, 2009.

YOUNG, Michael F.; VALARIS, Sophia; WRANN, Christiane D. A role for FNDC5/Irisin in the beneficial effects of exercise on the brain and in neurodegenerative diseases. **Progress in cardiovascular diseases**, v. 62, n.2, p. 172-178, 2019.

YOUSUFUDDIN, Mohammed; YOUNG, Nathan. Aging and ischemic stroke. **Aging** (Albany NY), v. 11, n. 9, p. 2542, 2019.

YUAN, Huiqi et al. Ceramide in cerebrovascular diseases. **Frontiers in Cellular Neuroscience**, v. 17, p. 1191609, 2023.

YUAN, Ti-Fei et al. Neural mechanisms of exercise: anti-depression, neurogenesis, and serotonin signaling. **CNS & Neurological Disorders-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-CNS & Neurological Disorders)**, v.14, n. 10, p. 1307-1311, 2015.

ZAGAAR, Munder et al. Regular treadmill exercise prevents sleep deprivation-induced disruption of synaptic plasticity and associated signaling cascade in the dentate gyrus. **Molecular and Cellular Neuroscience**, v. 56, p. 375-383, 2013.

ZHANG, Jing et al. Extended wakefulness: compromised metabolics in and degeneration of locus ceruleus neurons. **Journal of Neuroscience**, v. 34, n.12, p. 4418-4431, 2014.

ZHANG, Minggang et al. Effects of exercise interventions on cognitive functions in healthy populations: A systematic review and meta-analysis. **Ageing Research Reviews**, v. 92, p. 102116, 2023.

ZHANG, Qin et al. Alterations of sleep deprivation on brain function: A coordinate-based resting-state functional magnetic resonance imaging meta-analysis. **World Journal of Psychiatry**, v. 14, n. 2, p. 315, 2024.

ZHANG, Yue-Ming et al. Subsequent maternal sleep deprivation aggravates neurobehavioral abnormalities, inflammation, and synaptic function in adult male mice exposed to prenatal inflammation. **Frontiers in Behavioral Neuroscience**, v. 17, p. 1226300, 2023.

ZHAO, Yao et al. The role of Ferroptosis in blood–brain barrier injury. **Cellular and Molecular Neurobiology**, v. 43, n. 1, p. 223-236, 2023.

ZHOU, J. et al. Relationship between physical activity and the risk of morbidity of cerebrovascular disease in Sichuan Province: a prospective study. **Zhonghua liu xing bing xue za zhi= Zhonghua liuxingbingxue zazhi**, v. 45, n. 6, p. 787-793, 2024.

ZHOU, Yong-Sheng et al. Regular aerobic exercise attenuates pain and anxiety in mice by restoring serotonin-modulated synaptic plasticity in the anterior cingulate cortex. **Medicine and science in sports and exercise**, v. 54, n. 4, p. 566, 2022.

ZIELINSKI, Mark R. et al. Chronic sleep restriction elevates brain interleukin-1 beta and tumor necrosis factor-alpha and attenuates brain-derived neurotrophic factor expression. **Neuroscience letters**, v. 580, p. 27-31, 2014.

ZIELINSKI, Mark R. et al. Influence of chronic moderate sleep restriction and exercise training on anxiety, spatial memory, and associated neurobiological measures in mice. **Behavioural brain research**, v. 250, p. 74-80, 2013.

## ANEXO A - CARTA DE APROVAÇÃO DA COMISSÃO DE ÉTICA PARA USO ANIMAL



**UNIVERSIDADE  
FEDERAL DO CEARÁ**

**Comissão de Ética no  
Uso de Animais**

### CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "Efeitos do exercício físico sobre o comportamento e atividades das sirtuínas em camundongos privados de sono", protocolada sob o CEUA nº 8974250719 (00001251), sob a responsabilidade de **Veralice Meireles Sales de Bruin e equipe; Robson Salviano de Matos** - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal do Ceará (CEUA-UFC) na reunião de 10/09/2019.

We certify that the proposal "Effects of physical exercise on the behavior and activities of sirtuins in sleep-deprived mice", utilizing 96 Heterogenics mice (96 males), protocol number CEUA 8974250719 (00001251), under the responsibility of **Veralice Meireles Sales de Bruin and team; Robson Salviano de Matos** - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the Federal University of Ceará (CEUA-UFC) in the meeting of 09/10/2019.

Finalidade da Proposta: **Pesquisa (Acadêmica)**

Vigência da Proposta: de **08/2019 a 04/2021**

Área: **Departamento de Medicina Clínica**

Origem: **Biotério Central da UFC**

Espécie: **Camundongos heterogênicos**

sexo: **Machos**

idade: **3 a 6 semanas**

N: **96**

Linagem: **Swiss**

Peso: **13 a 30 g**

Local do experimento: Os experimentos serão realizados no laboratório do sono e ritmos biológicos e no pré-clínico. Ambos localizados no bloco de biomedicina, UFC, Porangabussu.

Fortaleza, 10 de setembro de 2019

Prof. Dr. Alexandre Havt Bindá  
Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais  
Universidade Federal do Ceará

Profa. Dra. Camilla Ferreira Roncari  
Vice-Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais  
Universidade Federal do Ceará



Ilmo(a). Sr(a).  
Responsável: Veralice Meireles Sales De Bruin  
Área: Departamento De Medicina Clínica

Título da proposta: "Efeitos do exercício físico sobre o comportamento e atividades das sirtuínas em camundongos privados de sono".

**Parecer Consubstanciado da Comissão de Ética no Uso de Animais UFC (ID 000234)**

A Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal do Ceará, no cumprimento das suas atribuições, analisou e **APROVOU** a Emenda (versão de 06/fevereiro/2020) da proposta acima referenciada.

Resumo apresentado pelo pesquisador: \*1. Qual o local de realização do estudo? Resp: Os experimentos serão realizados no laboratório do sono e ritmos biológicos e no pré-clínico. Ambos localizados no bloco de biomedicina, UFC, Porangabussu. 2. Qual o número de animais utilizados até o momento? Especificar o número de animais por linhagem e gênero. Resp: Nenhum até o momento. 3. Resumo da metodologia desenvolvida. Resp: - Serão utilizados 96 camundongos (*Mus musculus*, da linhagem Swiss) machos, provenientes do Biotério Central, UFC. Os animais serão acomodados numa sala com temperatura controlada, ciclo claro/escuro normal de 12 horas e alojados em caixas de polipropileno (390 x 320 x 170 mm<sup>3</sup>), contendo raspas de madeira, como forração, e com água e comida ad libitum durante todo o experimento. - Grupos experimentais e desenho do estudo O experimento será dividido em duas etapas. Na primeira etapa serão utilizados camundongos jovens (2-3 meses de idade; n= 48). Na segunda etapa serão utilizados camundongos idosos (18-22 meses de idade; n=48). Os animais (jovens e idosos) serão distribuídos aleatoriamente em quatro grupos experimentais (n=12 animais/cada): controle, exercício físico, privação de sono (PS), e combinação exercício físico + PS. a) GRUPO CONTROLE: camundongos sem nenhuma intervenção b) GRUPO EXERCÍCIO FÍSICO: camundongos submetidos ao exercício físico (corrida em esteira rolante) por 8 semanas. c) GRUPO PRIVAÇÃO DO SONO (PS): camundongos serão submetidos ao protocolo de privação de sono REM por 72 horas. d) GRUPO EXERCÍCIO FÍSICO + PRIVAÇÃO DE SONO: camundongos serão, inicialmente, submetidos ao exercício físico (corrida em esteira rolante) por 8 semanas e logo em seguida (24 horas após a última sessão de exercício) serão submetidos à privação de sono REM por 72 horas. - Procedimentos: 3.3 Protocolo de exercício físico em esteira rolante 3.3.1 Teste prévio para seleção dos animais 3.3.2 Protocolo de treinamento aeróbico 3.4 Protocolo experimental de privação do sono experimental 3.5 Medidas de avaliação 3.5.1 Parâmetros comportamentais 3.5.1.1 Teste de memória de trabalho - Labirinto em Y (Y-maze) 3.5.1.2 Teste de desespero comportamental ? Nado forçado 3.5.1.3 Avaliação da ansiedade ? Labirinto em cruz elevado (Elevated plus-maze) 3.6 Coleta das amostras 3.7 Avaliação das alterações neuroquímicas 3.7.1 Quantificação de proteínas por Western Blot 3.7.2 Imunohistoquímica 3.8 Avaliação dos marcadores de estresse oxidativo 4. Apresentação dos resultados parciais obtidos. Resp: Nenhum resultado parcial 5. Modificações na composição da equipe. ( ) Sim (X) Não [Se sim, insira aqui as informações.] 6. Pedido de novos animais. (X) Sim ( ) Não [Se sim, insira aqui as informações.] Justificativas para solicitação de mais animais Nosso estudo utilizará, inicialmente, 96 animais (48 jovens e 48 idosos), como descrito detalhadamente na metodologia do projeto já aprovado. Entretanto, solicitamos a adição de mais 24 animais para compor o grupo dos idosos, pois existe uma grande probabilidade de perdas (doenças e morte) acentuadas dos animais decorrentes do próprio envelhecimento. O envelhecimento é um processo biológico caracterizado pela perda progressiva das funções celulares e de renovação de tecidos, devido a fatores genéticos, epigenéticos, ambientais e casuais (ACCARDI, G.; CARUSO, 2017). O envelhecimento é um processo que aumenta gradualmente a vulnerabilidade do organismo à doença e a morte. Inúmeras evidências mostram diversas patologias relacionadas ao envelhecimento, incluindo o câncer, doenças cardiovasculares, diabetes, etc. Uma das principais marcas do processo do envelhecimento é representada pela inflamação, tanto no sangue quanto em boa parte dos tecidos. Essa condição prediz maior risco cardiovascular, fragilidade, multimorbidade, declínio da função física e cognitiva, e até a morte (FERRUCCI; FABBRI, 2018). Além disso, a inflamação influencia processos de envelhecimento e desenvolvimento de tumores (LEONARDI, 2018). ACCARDI, G.; CARUSO, C. Updates in pathobiology: causality and chance in ageing, age-related diseases and longevity. In: Updates in pathobiology: causality and chance in ageing, age-related diseases and longevity. UNIPAPRESS, 2017. p. 13-23. FERRUCCI, Luigi; FABBRI, Elisa. Inflammageing: chronic inflammation in ageing, cardiovascular disease, and frailty. *Nature Reviews Cardiology*, v. 15, n. 9, p. 505-522, 2018. LEONARDI, Giulia C. et al. Ageing: from inflammation to cancer. *Immunity & Ageing*, v. 15, n. 1, p. 1, 2018. 7. Modificações na metodologia proposta inicialmente. ( ) Sim (X) Não [Se sim, insira aqui as informações.] 8. Modificações no cronograma de atividades. (X) Sim ( ) Não [Se sim, insira aqui as informações.] O estudo estava previsto iniciar com a coleta e análise de dados no mês de novembro de 2019. Entretanto, como o biotério passou por uma pequena reforma no final do ano de 2019, resolvemos solicitar os animais apenas no início de 2020. Dessa forma, a previsão de coleta e análise dos dados passará para junho de 2020, alterando sucintamente o andamento do cronograma inicial. Término previsto para Agosto 2022. 9. Outros. [Insira aqui informações complementares para justificar sua solicitação, caso seja necessário.]\*.



## ANEXO B - PUBLICAÇÃO RELACIONADA AO TEMA DA PESQUISA



Behavioural Brain Research

Volume 383, 6 April 2020, 112488



## Exercise effects on brain and behavior in healthy mice, Alzheimer's disease and Parkinson's disease model—A systematic review and meta-analysis

Thiago Medeiros da Costa Daniele<sup>a,b,c,1,1</sup> , Pedro Felipe Carvalhede Bruin<sup>a,b,c,1</sup>

Robson Salviano de Matos<sup>a,b,c,1</sup> , Gabriela Sales de Bruin<sup>c,1</sup>

Cauby Maia Chaves Junior<sup>c,d</sup> , Veralice Meireles Sales de Bruin<sup>a,b,c</sup>

Show more

Add to Mendeley Share Cite

<https://doi.org/10.1016/j.bbr.2020.112488>

[Get rights and content](#)

### Abstract

This systematic review and meta-analysis examines how exercise modifies brain and behavior in healthy mice, dementia (D) and Parkinson disease (PD) models. A search was performed on the Medline and Scopus electronic databases (2008–2019). Search terms were “mice”, “brain”, “treadmill”, “exercise”, “physical exercise”. In the total, 430 were found but only 103 were included. Animals  $n = 1,172$ ; exercised 4–8 weeks (Range 24 h to 32 weeks), 60 min/day (Range 8–120 min per day), and 10/12 m/min (Range 0.2 m/min to 36 m/min). Hippocampus, cerebral cortex, striatum and whole brain were more frequently investigated. Exercise improved learning and memory. Meta-analysis showed that exercise increased: cerebral BDNF in health ( $n = 150$ ;  $z = 5.8$ , CI 3.43–12.05;  $p < 0.001$  I<sup>2</sup> = 94.3 %), D ( $n = 124$ ;  $z = 4.18$ , CI = 2.22–9.12;  $p < 0.001$ ; I<sup>2</sup> = 93.7 %) and PD ( $n = 16$   $z = 4.26$ , CI 5.03–48.73  $p < 0.001$  I<sup>2</sup> = 94.8 %). TrkB improved in health ( $n = 84$   $z = 5.49$ , CI 3.8–17.73  $p < 0.001$ , I<sup>2</sup> = 0.000) and PD ( $n = 22$ ;  $z = 3.1$ , CI = 2.58–67.3,  $p < 0.002$  I<sup>2</sup> = 93.8 %). Neurogenesis increased in health ( $n = 68$ ;  $z = 7.08$ , CI 5.65–21.25  $p < 0.001$ ; I<sup>2</sup> 17.58) and D model ( $n = 116$ ;  $z = 4.18$ , CI 2.22–9.12  $p < 0.001$  I<sup>2</sup> 93.7 %). Exercise augmented amyloid clearance ( $n = 166$ ;  $z = 7.51$  CI = 4.86–14.85,  $p < 0.001$  I<sup>2</sup> = 58.72) and reduced amyloid plaques in D models ( $n = 49$ ;  $z = 4.65$ , CI = 3.94–15.3  $p < 0.001$  I<sup>2</sup> = 0.000). In conclusion, exercise improved brain and behavior, neurogenesis in healthy and dementia models, reduced toxicity and cerebral amyloid. Evidence regarding inflammation, oxidative stress and energy metabolism were scarce. Studies examining acute vs chronic exercise, extreme training and the durability of exercise benefit were rare. Vascular or glucose metabolism changes were seldom reported.

## ANEXO C - OUTRAS PUBLICAÇÕES

Brazilian Journal of Medical and Biological Research (2021) 54(11): e11215, <https://doi.org/10.1590/1414-431X2021e11215>  
ISSN 1414-431X Research Article



1/10

## Acute blockade of endogenous melatonin by Luzindole, with or without peripheral LPS injection, induces jejunal inflammation and morphological alterations in Swiss mice

R.S. Matos<sup>1,2</sup>, R.B. Oriá<sup>3,4</sup>, P.F.C. Bruin<sup>1</sup>, D.V. Pinto<sup>3</sup>, A.F.S.C. Viana<sup>2</sup>, F.A. Santos<sup>2</sup>,  
A.S.G. Duarte<sup>4</sup>, and V.M.S. Bruin<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratório de Sono e Ritmos Biológicos, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, CE, Brasil

<sup>2</sup>Laboratório de Produtos Naturais, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, CE, Brasil

<sup>3</sup>Laboratório da Biologia da Cicatrização, Ontogenia e Nutrição de Tecidos, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, CE, Brasil

<sup>4</sup>Departamento de Morfologia, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, CE, Brasil

### Abstract

This study investigated the acute blockade of endogenous melatonin (MLT) using Luzindole with or without systemic lipopolysaccharide (LPS) challenge and evaluated changes in inflammatory and oxidative stress markers in the mouse jejunum. Luzindole is an MT1/MT2 MLT receptor antagonist. Both receptors occur in the small intestine. Swiss mice were treated with either saline (0.35 mg/kg, ip), Luzindole (0.35 mg/kg, ip), LPS (1.25 mg/kg, ip), or Luzindole + LPS (0.35 and 1.25 mg/kg, ip, respectively). Jejunum samples were evaluated regarding intestinal morphometry, histopathological crypt scoring, and PAS-positive villus goblet cell counting. Inflammatory Iba-1, interleukin (IL)-1 $\beta$ , tumor necrosis factor (TNF)- $\alpha$ , nuclear factor (NF)- $\kappa$ B, myeloperoxidase (MPO), and oxidative stress (NP-SHs, catalase, MDA, nitrate/nitrite) markers were assessed. Mice treated with Luzindole, LPS, and Luzindole + LPS showed villus height shortening. Crypt damage was worse in the LPS group. Luzindole, LPS, and Luzindole + LPS reduced the PAS-goblet cell labeling and increased Iba-1-immunolabelled cells compared to the saline group. Immunoblotting for IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , and NF- $\kappa$ B was greater in the Luzindole group. The LPS-challenged group showed higher MPO activity than the saline and Luzindole groups. Catalase was reduced in the Luzindole and Luzindole + LPS groups compared to saline. The Luzindole group showed an increase in NP-SHs, an effect related to compensatory GSH activity. The acute blockade of endogenous MLT with Luzindole induced early changes in inflammatory markers with altered intestinal morphology. The other non-detectable deleterious effects of Luzindole may be balanced by the unopposed direct action of MLT in immune cells bypassing the MT1/MT2 receptors.

Key words: Luzindole; Melatonin; LPS; Inflammation; Oxidative stress; Intestine

### Introduction

Melatonin (5-methoxy-N-acetyltryptamine, MLT) is an ancestral indoleamine, widely present in mammals and other living beings as plants. Its widespread presence suggests an important role in tissue homeostasis. MLT was first identified in the brain, being produced primarily by the pineal gland, with its secretion being regulated by the medial geniculate body (1).

However, MLT is also produced by enterochromaffin cells of the digestive mucosa, and previous evidence has indicated a higher concentration of MLT in the gastrointestinal tract (about 400 times greater) than in the pineal gland. Indeed, that tissue can be one of the main

sites responsible for maintaining the plasma levels of MLT. In the gastrointestinal tract, MLT plays an important role in regulation of motility and anti-inflammatory responses (2).

The mechanisms of action of MLT are largely mediated by its MT receptors (3). MLT and its receptors MT1/MT2 are highly expressed in the small intestine. MT1 is mainly found in the cytoplasm of epithelial tuft cells, goblet cells, and enterocytes. The most prominent MT2 expression is found in lining epithelium, particularly in the enterocyte nucleus and cytoplasm throughout the gastrointestinal tract, with the strongest expression seen in the large

Correspondence: R.S. Matos: <[robsonmatos.ef@gmail.com](mailto:robsonmatos.ef@gmail.com)>

Received March 2, 2021 | Accepted June 22, 2021

Braz J Med Biol Res | doi: 10.1590/1414-431X2021e11215

## Cardiovascular Responses to Unilateral, Bilateral, Upper, and Lower Limbs Resistance Exercise

[JEAN L. S. DE OLIVEIRA](#),<sup>1,†</sup> [LEONARDO C. R. LIMA](#),<sup>2,†</sup> [RENAN V. BARRETO](#),<sup>2,†</sup> [WITALO KASSIANO](#),<sup>3,†</sup>  
[JOSÉ DE OLIVEIRA VILAR NETO](#),<sup>4,†</sup> [JÚLIO CÉSAR CHAVES NUNES FILHO](#),<sup>5,†</sup> [TÚLIO BANJA](#),<sup>4,†</sup>  
[ROBSON SALVIANO DE MATOS](#),<sup>4,†</sup> and [CLÁUDIO DE O. ASSUMPTIÃO](#)<sup>6,†</sup>

► [Author information](#) ► [Copyright and License information](#) ► [PMC Disclaimer](#)

### Abstract

[Go to:](#) ►

The effects of different resistance exercises on cardiovascular responses remain elusive. Therefore, the present study aimed to investigate acute cardiovascular responses to unilateral and bilateral upper and lower limb resistance exercise. Young healthy males ( $n = 22$ ;  $26.9 \pm 5.4$  years,  $170.0 \pm 6.0$  cm,  $77.0 \pm 10.8$  kg) participated in the present study. Four experimental sessions were carried out, each consisting of one of the four exercises: unilateral and bilateral knee extension, unilateral and bilateral biceps curl. Cardiovascular responses (heart rate; HR, systolic blood pressure; SBP, and rate-pressure product; RPP) were measured at rest and after each of the three sets in each resistance exercise. All sets were performed until concentric muscle failure with a rest interval of two min. The HR, SBP, and RPP progressively increased during all sessions with uni- and bilateral exercises of the lower and upper limbs. Importantly, bilateral exercises, mainly of the lower limbs, induced greater increases in HR, and RPP than unilateral exercises of the upper and lower limbs. Regarding SBP, bilateral knee extension exercise induced greater increases than unilateral biceps curl. From a practical standpoint, exercise professionals may consider prescribing unilateral upper and lower limb exercises to alleviate cardiovascular stress, because even when performed until concentric muscle failure, this exercise mode seems to induce lower cardiovascular demand during the resistance training session.

**Keywords:** Strength training, hemodynamic responses, blood pressure, rate-pressure product





# Serum and Urinary Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin Are Not Associated With Serum Redox Parameters in Amateur Athletes After an Ultramarathon

## OPEN ACCESS

### Edited by:

Nalini Santanam,  
Marshall University Joan C. Edwards  
School of Medicine, United States

### Reviewed by:

Daniel Rojas-Valverde,  
National University of Costa Rica,  
Costa Rica  
Mathias Pousset,  
Centre Hospitalier Universitaire  
de Nancy, France  
Mathias Steinhilber,  
Charité – Universitätsmedizin Berlin

### \*Correspondence:

Adriano César Carneiro Loureiro  
adriano.loureiro@uic.br  
Gabriella Fontenele Nocrato  
gabri.fontenele@hotmail.com

### Specialty section:

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

Received: 08 November 2021

Accepted: 31 January 2022

Published: 17 March 2022

### Citation:

Loureiro ACC, Nocrato GF,  
Correia ALL, de Matos RS,  
Ribeiro JCCN, Daher EDF, Pinto FHM,  
de Oliveira AC, Ceccatto VM,  
Fortunato RS and de Carvalho DP  
(2022) Serum and Urinary Neutrophil  
Gelatinase-Associated Lipocalin Are  
Not Associated With Serum Redox  
Parameters in Amateur Athletes After  
an Ultramarathon.  
Front. Physiol. 13:811514.  
doi: 10.3389/fphys.2022.811514

Adriano César Carneiro Loureiro<sup>1\*</sup>, Gabriella Fontenele Nocrato<sup>1\*</sup>,  
André Luis Lima Correia<sup>1</sup>, Robson Salviano de Matos<sup>2</sup>,  
Júlio César Chaves Nunes Filho<sup>2</sup>, Elisabeth De Francesco Daher<sup>2</sup>,  
Flávio Henrique Macedo Pinto<sup>3</sup>, Aniclécio Cunha de Oliveira<sup>1</sup>,  
Vanía Marilande Ceccatto<sup>1</sup>, Rodrigo Soares Fortunato<sup>4</sup> and Denise Pires de Carvalho<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Superior Institute of Biomedical Sciences, Ceará State University, Fortaleza, Brazil, <sup>2</sup> Department of Clinical Medicine at the Federal University of Ceará, Ceará Federal University, Fortaleza, Brazil, <sup>3</sup> Treatment and Integration Center of the Being, Fortaleza, Brazil, <sup>4</sup> Carlos Chagas Filho Biophysics Institute, Rio de Janeiro Federal University, Rio de Janeiro, Brazil

**Objective:** To evaluate the relationship between oxidative stress and NGAL levels in blood and urine of amateur athletes after participating in a 100 km ultramarathon.



**Methodology:** The sample was composed of seven athletes, submitted to anthropometric assessment, cardiopulmonary exercise test, collection of urine and blood, measurement of body weight. The rate of perceived exertion (RPE), competition duration, heart rate (HR), energy expenditure and oxygen consumption ( $\dot{V}O_2$ ) were also measured during the event. The energy consumption during the race was verified at its end. The analyses were based on the means (M) and respective standard deviations (SD), with statistical significance set at 5% ( $p < 0.05$ ). Paired *t*-test was used for comparison between the periods before and after the competition, and Pearson's correlation coefficient was used to measure the linear correlation between quantitative variables.

**Results:** Body mass index (BMI) of the sample was  $25.75 \text{ kg/m}^2 \pm 3.20$ , body fat percentage  $18.54\% \pm 4.35\%$  and  $\dot{V}O_{2\text{max}}$   $48.87\% \pm 4.78$ . Glucose, cortisol, and neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) ( $p < 0.01$ ) as well as glutathione peroxidase (GPx) active were higher after the race when compared to basal values. Moreover, lactate, creatinine, microalbuminuria, and glomerular filtration rate (GFR) ( $p < 0.001$ ) were also higher after the race. After the competition, there was a significant correlation only between serum NGAL and creatinine, which was classified as strong and positive ( $r: 0.77; p < 0.05$ ). There was a significant reduction ( $p < 0.05$ ) of body weight after the event ( $72.40 \text{ kg} \pm 9.78$ ) compared to before it ( $73.98 \text{ kg} \pm 10.25$ ). In addition, we found an increase of RPE ( $p < 0.001$ ) after the race. The competition lasted  $820.60 \text{ min} (\pm 117.00)$ , with a  $127.85 \text{ bpm} (\pm 12.02)$



REVIEW ARTICLE

**Anabolic androgenic steroid-induced hypogonadism, a reversible condition in male individuals? A systematic review**

José de Oliveira Vilar Neto , Carlos Alberto da Silva, Carlos Antônio Bruno da Silva, Daniel V. Pinto, Juan de Sá Roriz Caminha, Robson S. de Matos, Júlio C. C. Nunes Filho, Felipe R. Alves ... See all authors 

First published: 22 April 2021 | <https://doi.org/10.1111/and.14062> | Citations: 1

[Read the full text >](#)

 PDF  TOOLS  SHARE

## Abstract

The anabolic–androgenic steroids (AAS) are clinically used as an androgen replacement, in hypogonadism treatment, to induce puberty, and also in the treatment of chronic degenerative diseases. The AAS use out of clinical context is becoming massively, being used merely for aesthetic reasons. AAS abuse may cause severe disarrangement on the HPG axis and generate a significant decrease in testosterone synthesis and secretion by the testes. This review aims to evaluate whether the hypogonadism induced by AAS abuse is reversible and under what circumstances the reversibility is possible. For this, PRISMA guidelines and several databases are used between July and September 2020. Altogether, this systematic review identified and analysed 179 cases of AAS users. Of these, 168 cases had the hypogonadism clearly diagnosed and proven to be linked exclusively to AAS abuse. However, between these 168 cases, only 38 cases presented fully known outcomes and among these, merely in 4, the hypogonadism was completely reversible (2 based on drug therapy) with HPG axis recovery. In conclusion, this review presents evidences that AAS-induced hypogonadism is a seriously underestimated problem, and in the majority of cases, full recovery is very difficult to succeed.

**ANEXO D - PUBLICAÇÕES RELACIONADAS À TESE COM O ORIENTADOR  
SUBMETIDOS PARA APROVAÇÃO EM PERIÓDICOS**

1. EFFECTS OF CHRONIC TREADMILL ON MEMORY, ANXIETY-LIKE BEHAVIOR AND DEPRESSION OF YOUNG AND ELDERLY SLEEP-DEPRIVED MICE. Revista: *Behavioural Brain Research*
  
2. HOW PHYSICAL EXERCISE MODIFIES THE EFFECTS OF SLEEP DEPRIVATION IN RODENTS BEHAVIOR AND CEREBRAL TISSUE - A SYSTEMATIC REVIEW AND META-ANALYSIS. Revista: *Current Alzheimer Disease*