

ESTIMULAÇÃO COGNITIVA E EXERCÍCIO FÍSICO ATENUAM OS DÉFICITS DE APRENDIZAGEM RELACIONADOS À DOENÇA DE ALZHEIMER

Luiza Lopes¹

Alexandre Garcia²

Caroline Bitencourt Soares³

Pamela Billig Mello Carpes⁴

Letícia Rossi Daré⁵

Resumo:

Introdução: A Doença de Alzheimer (DA) é a mais frequente das doenças crônicas degenerativas relacionadas à idade. Sua causa está relacionada, entre outros fatores, com o acúmulo de proteína beta-amiloide (a) no sistema nervoso central, acarretando em déficits cognitivos e de memória. Na busca por terapias capazes de frear a doença, pesquisadores apontam que o exercício físico tem se mostrado eficaz em reduzir os déficits, promovendo a neurogênese, aumento dos níveis de neurotransmissores e ainda, induzindo a neuroplasticidade. Outra alternativa não farmacológica que parece ter um importante papel no tratamento de doenças crônicas degenerativas é a estimulação cognitiva, a qual estudos recentes sugerem que intervenções cognitivas podem melhorar os déficits observados na DA. Assim, este estudo teve como objetivo analisar os efeitos destas intervenções no tratamento da DA utilizando um modelo animal de neurotoxicidade induzida pela proteína a, com a perspectiva de contribuir para o desenvolvimento de estratégias terapêuticas da doença. **Metodologia:** Foram utilizados 72 ratos Wistar machos, divididos em seis grupos: Controle; Doença de Alzheimer (DA); Exercício Físico (EF); EF + DA; Exercício Cognitivo (EC); e EC + DA. Os animais foram submetidos à cirurgia estereotáxica para a injeção de salina nos grupos controle e, a nos grupos DA, para mimetizar a doença. Animais dos grupos EF e EF+DA foram submetidos ao protocolo de exercício físico, em esteira; e os grupos EC e EC+DA foram submetidos ao exercício cognitivo, através do Labirinto de Barnes. Para avaliar a memória dos animais, foi utilizado o teste de Reconhecimento de Objetos (RO), seguido pelos testes de controle comportamentais (Campo Aberto e Labirinto em Cruz Elevado). **Resultados e Discussão:** Nossos resultados confirmam que o exercício pode, além de melhorar a memória, reverter o déficit mnemônico induzido pela beta amiloide. Adicionalmente, demonstramos que a estimulação cognitiva é capaz de reduzir os déficits induzidos pela injeção de a, corroborando com estudos que demonstraram que o exercício melhora o desempenho da memória de longo prazo, potencializa a neurogênese no hipocampo e as funções cognitivas, identificando o uso destas estratégias como potenciais terapêuticos no

tratamento da DA. Conclusões: Nesse sentido, a estimulação cognitiva, assim como o exercício físico crônico, configuram-se como alternativas não farmacológicas eficazes no tratamento da DA, capazes de reduzir os déficits de aprendizado induzidos pela a, contribuindo para a melhora da qualidade de vida dos portadores dessa doença.

Palavras-chave: Doença de Alzheimer, exercício físico, exercício cognitivo

Modalidade de Participação: Iniciação Científica

ESTIMULAÇÃO COGNITIVA E EXERCÍCIO FÍSICO ATENUAM OS DÉFICITS DE APRENDIZAGEM RELACIONADOS À DOENÇA DE ALZHEIMER

¹ Aluno de graduação. freitaaslopes@gmail.com. Autor principal

² Aluno da Graduação. alexandregarcia16@gmail.com. Co-autor

³ Aluna da Graduação. carolinebitencourt.s@gmail.com. Co-autor

⁴ Docente. pamelacarpes@unipampa.edu.br. Orientador

⁵ Aluna de Pós-Graduação. leticiadare@unipampa.edu.br. Co-orientador

ESTIMULAÇÃO COGNITIVA E EXERCÍCIO FÍSICO ATENUAM OS DÉFICITS DE APRENDIZAGEM RELACIONADOS À DOENÇA DE ALZHEIMER

1 INTRODUÇÃO

Em decorrência do envelhecimento populacional, houve um aumento na incidência das doenças crônicas degenerativas relacionadas à idade (CARAMELLI; BARBOSA, 2002). A mais frequente delas, a Doença de Alzheimer (DA), é caracterizada por déficits cognitivos decorrentes de um processo neurodegenerativo progressivo e irreversível que acarreta no comprometimento da memória, raciocínio, entre outras funções cognitivas. Suas causas estão relacionadas, entre outros fatores, com o acúmulo de proteína beta-amiloide (β a) no sistema nervoso central (ALKAM et al., 2007); hiperfosforilação da proteína tau e/ou redução dos níveis de neurotransmissores centrais.

Atualmente não existe um tratamento definitivo que possa curar ou reverter a DA. Pesquisadores têm focado seus estudos na busca por terapias que possam frear o avanço da doença. O exercício físico tem se mostrado eficaz na redução dos déficits associados ao envelhecimento, assim como na promoção de neurogênese (VAN PRAAG et al., 2005). Evidências de estudos em humanos e em animais sugerem que o exercício físico tem um efeito indutor da neuroplasticidade, muitas vezes, promovendo uma melhor função cognitiva (HÖTTING; RÖDER, 2013). Os mecanismos pelos quais o exercício traz benefícios para a memória também incluem o aumento dos níveis de neurotransmissores, como serotonina, noradrenalina e acetilcolina (LISTA; SORRENTINO, 2010) e o aumento da liberação de fatores neurotróficos (LAFENETRE et al., 2010).

Outra alternativa não farmacológica que parece ter um importante papel no tratamento e regressão de doenças degenerativas é a estimulação cognitiva. Achados recentes sugerem que intervenções cognitivas podem melhorar os déficits observados na DA (MARTINEZ-CORIA et al., 2015) e podem modular a excitabilidade de neurônios, induzindo mudanças na plasticidade sináptica e capacidade de aprendizagem (SEHGAL et al., 2013).

A maioria dos estudos com estas intervenções, no entanto, aborda seus efeitos preventivos. Neste estudo, tivemos como objetivo analisar os efeitos destas intervenções no tratamento da DA utilizando um modelo animal de neurotoxicidade induzida pela proteína beta-amiloide, com a perspectiva de contribuir para o desenvolvimento de estratégias terapêuticas da doença.

2 METODOLOGIA

Foram utilizados 72 ratos Wistar machos com 90 dias de vida, divididos em seis grupos experimentais: (a) Controle; (b) Doença de Alzheimer (DA); (c) Exercício Físico (EF); (d) EF + DA; (e) Exercício Cognitivo (EC); (f) EC + DA.

Para mimetizar uma das principais características da DA, foi realizada infusão intrahipocampal bilateral (2 μ l) da proteína β a através da cirurgia estereotáxica. Os grupos sham (controle), foram submetidos à cirurgia, mas receberam o mesmo volume de solução salina (veículo). Após 10 dias de recuperação cirúrgica, tempo necessário para a formação e agregação de placas induzida pela injeção da β a, foram iniciados os protocolos de exercício físico e cognitivo. Posteriormente, foram realizados os testes comportamentais.

Para estimulação cognitiva, os animais foram submetidos ao protocolo do Labirinto de Barnes (LB) adaptado de Barnes (1979). Os animais foram habituados e treinados, durante 4

semanas, diariamente. A tarefa consistiu na colocação do animal no centro de uma plataforma circular, com buracos na sua circunferência e na aplicação de um estímulo luminoso que motivou o animal a escapar para uma caixa escura escondida debaixo de um desses buracos. O animal deveria, ao longo da tarefa, utilizar pistas espaciais disponíveis nas paredes laterais da sala do treino, para encontrar o buraco correto, no qual havia o refúgio. Foi avaliada a latência para encontro do refúgio e o número de buracos errados até que o animal encontrasse o buraco alvo. A cada semana, o local do refúgio era modificado e o animal precisava desenvolver flexibilidade cognitiva para aprender a nova localização do refúgio.

O protocolo de exercício físico foi realizado em uma esteira rolante motorizada própria para ratos, três vezes por semana por 30 minutos, durante 4 semanas, com uma intensidade equivalente a 60-70% do consumo máximo de oxigênio (VO_2) medido de forma indireta (CECHETTI; WORM; ELSNER et al., 2012). Uma semana antes da realização desse protocolo, os animais foram sujeitos a outros dois protocolos: de adaptação ao exercício, no qual foram habituados à esteira por 2 dias, 10 minutos por dia com uma velocidade de 2-5m/min e, ao “protocolo do bom corredor”, no qual correram durante 3 dias consecutivos, 10 minutos por dia com uma velocidade de 8m/min e foram avaliados quanto ao nível de treinabilidade, que determinou quais animais compuseram os grupos exercício físico (ARIDA; SCORZA; SILVA et al., 2011).

Para avaliar a memória de curta e de longa duração, foi utilizado o teste de Reconhecimento de Objetos (RO), que se baseia no tempo de exploração de dois objetos em um contexto ambiental conhecido (VIVINETTO; SUÁREZ; RIVAROLA, 2013). Esse teste foi realizado em um aparato (caixa) de madeira, onde os animais foram habituados 20 minutos por dia, durante 4 dias. No 5º dia, cada animal foi submetido ao treino de aprendizagem, no qual se colocaram dois objetos (A e B) para livre exploração pelo rato durante 5 minutos. Para avaliar a memória de curta duração, 3 horas depois do treino de aprendizagem, os animais foram recolocados no aparato, porém, um dos objetos foi substituído por um objeto novo (A e C). Vinte e quatro horas, um dos objetos foi novamente substituído por um objeto novo (A e D). Em caso de aprendizagem, espera-se que, no teste, o animal explore mais o objeto novo. Foi contabilizado o tempo de exploração para cada objeto em ambos os testes.

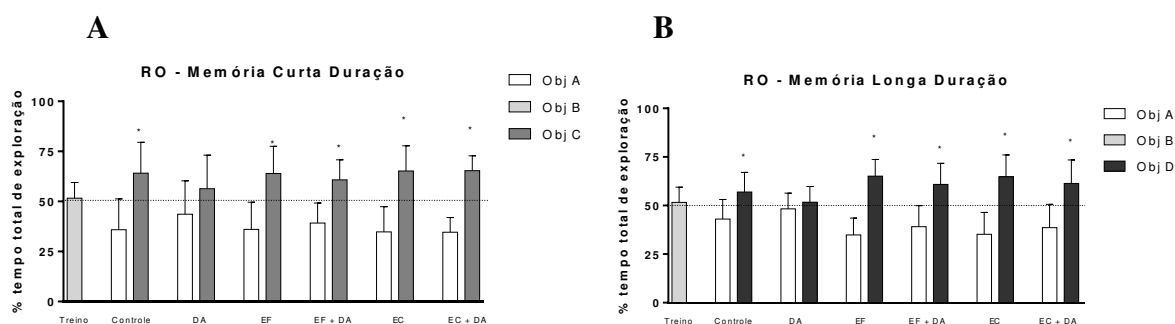
Foram realizados testes de controle comportamental para garantir que alterações em outras funções comportamentais não interferissem nos resultados dos testes de memória desses animais. Para isso, foi utilizado o Campo Aberto (CA), que consiste na colocação do animal em uma caixa de madeira, com a base dividida em 12 quadrantes, onde o mesmo possa se deslocar livremente durante 5 minutos e então, são contabilizados o número de cruzamentos pelos quadrantes e o número de elevações que o animal executa nesse tempo, a fim de avaliar sua capacidade locomotora e exploratória (MELLO et al., 2008). Adicionalmente, realizamos o teste de Labirinto em Cruz Elevado (LCE), que consiste em uma plataforma em forma de cruz, com dois braços abertos e dois fechados, para avaliar o estado de ansiedade dos animais, que são colocados no centro de interseção dos braços para livre exploração da plataforma durante 5 minutos (BEVILAQUA et al., 2003). Foram contabilizados os números de entradas e o tempo de permanência do animal nos braços abertos e fechados. O esperado é que quanto mais ansioso ele estiver, permaneça mais tempo nos braços fechados.

Os resultados dos testes de RO foram convertidos em percentual do tempo total de exploração e aplicado teste *t de* uma amostra, considerando uma média teórica de 50%. Todos os experimentos foram aprovados pelo Comitê de Ética para Uso de Animais da Unipampa (CEUA), sobre o parecer número 014/2017.

3 RESULTADOS e DISCUSSÃO

De acordo com os dados obtidos no teste de RO (Fig. 1A), podemos observar que o grupo Alzheimer (DA), ao contrário do grupo Controle, não foi capaz de formar a memória de curta duração, pois não houve diferença significativa na exploração dos objetos (familiar e novo) (grupo Controle $p=0,0127$; DA $p=0,2126$). Já o exercício físico foi capaz de evitar o déficit de aprendizagem induzido pela injeção de β a (Fig. 1A, grupo EF + DA; $p=0,0049$), fato que também pode ser observado nos grupos submetidos ao EC (Fig. 1A, grupo EC + DA; $p=0,001$). Na Fig. 1B, referente à memória de longa duração, observamos que o grupo DA não foi capaz de consolidar a memória 24h após o treino, o que acontece nos grupos controle (grupo Controle $p=0,0454$; DA $p=0,4751$). Da mesma forma que na memória de curta duração, o exercício físico e a estimulação cognitiva foram capazes de evitar o déficit de aprendizagem induzido pela injeção de β a (Fig. 1B, grupo EF + DA e EC + DA; $p=0,0075$; $p=0,0073$, respectivamente).

Figura. 1. DA prejudica a memória de curta e longa duração na tarefa de RO. EF e EC melhoram os deficits de memória, tanto em animais sham quanto DA. Dados apresentados em média e desvio padrão da porcentagem do tempo total de exploração aos objetos (* $P < 0,05$ no teste t uma amostra, considerando a média teórica de 50% ($n=12$ por grupo). Controle, DA (Alzheimer); EF (exercício físico); EF + DA; EC (Exercício cognitivo); EC + DA.



Estudos têm demonstrado que o exercício melhora o desempenho da memória de longo prazo, potencializa a neurogênese no hipocampo e as funções cognitivas (CASTILLA-ORTEGA et al., 2013). Kramer e Erickson (2007) e, Erickson et al. (2009) acreditam que a atividade física aeróbia induz a proliferação e a proteção celular, bem como promove a plasticidade sináptica. Nossos resultados confirmam que o exercício pode, além de melhorar a memória, reverter o déficit mnemônico induzido pela beta amiloide.

Adicionalmente, nossos resultados demonstraram que a estimulação cognitiva é capaz de reduzir os déficits induzidos pela injeção de β a, efeito que pode ser explicado pelo estudo de Lima et al. (2018) que verificou que esta intervenção reduz os danos causados pelo estresse oxidativo relacionados à injeção de β a. Além disso, de acordo com Zatorre, Fields e Johansen-Berg (2012), evidências indicam que o treinamento cognitivo é capaz de induzir mudanças nos sistemas de neurotransmissão, como o sistema colinérgico (LIMA et al., 2018).

Dados epidemiológicos e clínicos sugerem que o exercício repetido e o enriquecimento cognitivo e social podem retardar as deficiências cognitivas associadas ao envelhecimento e às doenças neurodegenerativas (MARTINEZ-CORIA et al., 2015), identificando o uso destas estratégias como potenciais terapêuticos no tratamento da DA.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Sabendo que a cognição é essencial para a funcionalidade humana, assim como a independência para realizar as atividades de vida diárias, o comprometimento das funções

cognitivas é um fator crítico que tem forte impacto na qualidade de vida geral e na incapacidade relacionada à Doença de Alzheimer. Nesse sentido, a estimulação cognitiva, assim como o exercício físico crônico configuram-se como alternativas não farmacológicas eficazes no tratamento da DA, capazes de reduzir os déficits de aprendizado induzidos pela β , contribuindo para a melhora da qualidade de vida dos portadores dessa doença.

REFERÊNCIAS

ALKAM, T.; NITTA, A.; MIZOGUCHI, H. et al. Um limpador natural de peroxinitritos, ácido rosmarínico, protege contra o comprometimento da memória induzido por A β 25-35. **Behav Brain Res**. 2007; 180: 139–145.

ARIDA, R.M.; SCORZA, F.A.; SILVA, S.G. et al. Exercise paradigms to study brain injury recovery in rodents. **Am J Phys Med Rehabil**. 2001, 90, 452-465.

BARNES, C.A. Memory deficits associated with senescence: A neurophysiological and behavioral study in the rat. *J. Comp. Physiol. Psychol.* 1979; 93:74–104.

BEVILAQUA, L.R.; ROSSATO, J.I.; MEDINA, J.H. et al. Src kinase activity is required for avoidance memory formation and recall. **Behavioral Pharmacology**. 2003, 14: pp. 649-652.

CARAMELLI, P.; BARBOSA, M. T. Como diagnosticar as quatro causas mais frequentes de demência?. **Revista Brasileira de Psiquiatria**, 2002; 24 (Supl I): 7-10.

CASTILLA-ORTEGA; ROSELL-VALLE, C.; PEDRAZA, C. et al. Exercício voluntário seguido de estresse crônico aumenta notavelmente os neurônios maduros hipocâmpais adultos e previne déficits induzidos pelo estresse na memória 'o que quando o onde'. **Neurobiologia da Aprendizagem e Memória**, 109C (2013), pp. 62 – 73.

CECHETTI, F.; WORM, P. V.; ELSNER, V. R. et al. Forced treadmill exercise prevents oxidative stress and memory deficits following chronic cerebral hypoperfusion in the rat. **Neurobiol Learn Mem**, (2012) 97, 90-96.

ERICKSON, K.I.; PRAKASH, R.S.; VOSS, M.W. et al. Aerobic fitness is associated with hippocampal volume in elderly humans. *Hippocampus*. **In press**, 2009.

HÖTTING, K.; RÖDER, B. Beneficial effects of physical exercise on neuroplasticity and cognition. **Behav. Neurosci**, 37 (2013) 2243-2257.

KRAMER, A.F.; ERICKSON, K.I. Capitalizing on cortical plasticity: influence of physical activity on cognition and brain function. **Trends Cogn Sci**. 2007;11(8):342-8.

LAFENETRE, P.; LESKE, O.; MAHOGEMEIE, Z. et al. O exercício pode resgatar o comprometimento da memória de reconhecimento em um modelo com neurogênese hipocâmpal adulta reduzida. *Frente. Behav. Neurosci.*, 3 (2010), p.34.

LIMA, M.G.P.; SCHIMIDT, H.L.; GARCIA, A. et al. O enriquecimento ambiental e o exercício são melhores que o enriquecimento social para reduzir os déficits de memória na neurotoxicidade da beta-amilóide. **Proceedings da Academia Nacional de Ciências**. Mar 2018, 115 (10) E2403-E2409.

MARTINEZ-CORIA, H; YEUNG, S.T.; AGER, R.R. et al. Repeated cognitive stimulation alleviates memory impairments in an Alzheimer's disease mouse model. **Brain Res Bull.** Jul. 2015.

MELLO, P.B.; BENETTI, F.; CAMMAROTA, M. et al. Effects of acute and chronic physical exercise and stress on different types of memory in rats. *An. Acad. Bras. Ciênc.* 2008; 80(2): 301-309.

OKSANA, K. B.; LIPINA, T.; VUKOBRADOVIC, I. et al. Assessment of social interaction behaviors (2011). **J Vis Exp.** 2011; (48): 2473.

VAN, PRAAG, H.; SHUBERT, T.; ZHAO, C. et al. Exercício Melhora a Aprendizagem e a Neurogênese do Hipocampo em Ratos Idosos. **Journal of Neuroscience**, 2005, 25 (38) 8680-8685; DOI:10.1523/JNEUROSCI.1731-05.2005.

VIVINETTO, A.L.; SUÁREZ, M M.; RIVAROLA, M A. Neurobiological effects of neonatal maternal separation and post-weaning environmental enrichment. **Behavioural Brain Research**, 2013; 240:110–118.

SHORS, T.J.; MIESEGAES, G.; BEYLIN A. et al. Neurogênese no adulto está envolvida na formação de memórias traço. **Nature**, 2001; 410 : 372 -376.

SEHGAL, M.; SONG, C.; EHLERS, V.L. et al. Learning to learn - intrinsic plasticity as a metaplasticity mechanism for memory formation. **Neurobiol Learn Mem**, 105 (2013), pp. 186–199.

ZATORRE, R. J.; FIELDS, R. D.; JOHANSEN-BERG, H. Plasticity in gray and white: neuroimaging changes in brain structure during learning. **Nat. Neurosci.** 2012, 15, 528–536.