

NEUROPROTEÇÃO DO EXERCÍCIO FÍSICO DE FORÇA VERSUS EXERCÍCIO FÍSICO DE CORRIDA NA DOENÇA DE ALZHEIMER

Laissa Jesus¹

Alexandre Garcia²

Felipe Pivetta Carpes³

Pâmela Billig Mello Carpes⁴

Helen Lidiane Schimdt⁵

Resumo:

O envelhecimento populacional mundial acentuou as manifestações de determinadas patologias, entre elas a Doença de Alzheimer (DA). A DA é uma doença neurodegenerativa com implicações cognitivas cujo o mecanismo envolve deposição de placas amiloides e estresse oxidativo. O exercício físico é amplamente investigado como neuroprotetor em doenças do sistema nervoso, no entanto pouco se sabe sobre o papel do exercício físico de força sobre a memória em modelos específicos, como em modelos animais da DA. Assim, o objetivo desse estudo foi investigar os efeitos do exercício físico de força sobre a memória, estresse oxidativo e sistema colinérgico em modelos de neuroinflamação por injeção de β -amiloide no hipocampo comparando com o exercício aeróbico. Para isso, 60 ratos Wistar machos foram divididos inicialmente em 3 grupos de acordo com a modalidade de treinamento e controle. Enquanto o grupo controle não recebeu nenhum tipo de intervenção, os grupos de treinamento de força e de corrida treinaram 8 semanas, 3 vezes por semana, sendo o treino de força com carga progressiva e adaptada semanalmente de acordo com um teste de carga máxima. Já, no exercício aeróbico, os ratos treinaram em uma sessão de 40 minutos entre 50 e 60% da capacidade aeróbica obtida no teste indireto de volume máximo de oxigênio. Depois de 8 semanas de treinamento, os ratos foram subdivididos de acordo com a injeção de β -amiloide (Alzheimer) ou salina (Controle) quando eram submetidos a uma cirurgia estereotáxica para mimetização da DA. Após 10 dias foram realizados testes de comportamento, e memória de reconhecimento de objetos seguidos de eutanásia, dissecação do cérebro para retirada do hipocampo e análises bioquímicas de radicais livres por DCFH, peroxidação lipídica por TBARS, capacidade antioxidante total por FRAP e atividade da acetilcolinesterase. Nossos resultados mostraram que o exercício físico de força tem benefício sobre a memória de reconhecimento de objetos, tanto de curta duração quanto de longa duração. Adicionalmente, o exercício físico de corrida tem efeitos benéficos sobre parâmetros oxidativos no hipocampo de ratos submetidos a injeção de β -amiloide. No entanto, é necessário mais estudos que investiguem outros tipos de memórias, pois é consenso na

literatura que o exercício físico aeróbico de forma geral traz benefícios cognitivos.

Palavras-chave: memória; força muscular, exercício aeróbico, envelhecimento, estresse oxidativo,

Modalidade de Participação: Iniciação Científica

NEUROPROTEÇÃO DO EXERCÍCIO FÍSICO DE FORÇA VERSUS EXERCÍCIO FÍSICO DE CORRIDA NA DOENÇA DE ALZHEIMER

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

² Iniciação Científica. alexandregarcia16@gmail.com. Co-autor

³ Professor. felipecarpes@gmail.com. Co-autor

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

⁵ Pós Doutoranda. helen_lidiane@yahoo.com.br. Co-orientador

NEUROPROTEÇÃO DO EXERCÍCIO FÍSICO DE FORÇA VERSUS EXERCÍCIO FÍSICO DE CORRIDA NA DOENÇA DE ALZHEIMER

1 INTRODUÇÃO

O envelhecimento populacional mundial acentuou as manifestações de determinadas patologias, entre elas a Doença de Alzheimer (DA) (MASTERS et al., 2015). Segundo a organização mundial de saúde (OMS), em 2050, 135,5 milhões de pessoas serão afetadas pela DA que, atualmente, acomete 3.5 milhões. A DA foi descrita pela primeira vez por *Alois Alzheimer* em 1906 que já caracterizou como uma doença neurodegenerativa com implicações cognitivas e neuropsiquiátricas (HIPPIUS; NEUNDÖRFER, 2003). Durante seus três estágios de desenvolvimento, há déficit progressivo de memória seguido de incapacitação e morte. Geralmente, entre o diagnóstico e o óbito decorrem oito anos o que resulta em um custo mundial anual de US\$ 604 bilhões (MASTERS et al., 2015). Por isso, investigar estratégias que visem proteger os déficits de memória e consequentemente melhorar a qualidade de vida dos pacientes e familiares é muito importante.

Dentro dos mecanismos envolvidos na DA, estão à formação de placas amiloides, conhecidas também como placas senis. Essa formação se dá a partir da degradação da proteína precursora amiloide em um peptídeo β -amiloide os quais formam agregados que depositam no meio extracelular (ANDREEVA; LUKIW; ROGAEV, 2017). A deposição das placas amiloides levam a redução do número de sinapses e, consequentemente, a uma perda seletiva de neurônios colinérgicos, em regiões específicas do cérebro, como o hipocampo (GHASEMI et al., 2014). Esse mecanismo está acompanhado pelo aumento em espécies reativas de oxigênio e diminuição da capacidade (PRADO LIMA et al., 2018).

O exercício físico é uma das estratégias mais investigadas como neuroprotetor. No nosso grupo de pesquisa, já observamos seus benefícios sobre a memória em modelos animais da DA (PRADO LIMA et al., 2018), de isquemia reperusão (SCHIMIDT et al., 2014), de privação materna (NEVES et al., 2015), bem como na persistência da memória (VARGAS et al., 2017). No entanto, pesquisas envolvendo o exercício físico e sistema nervoso, estão mais direcionadas ao exercício físico aeróbico, existindo poucos estudos em relação ao exercício físico de força e seu papel em doenças do sistema nervoso. Pacientes com DA têm perda muscular associada ao envelhecimento e que se acentua com a inatividade física correspondente a doença, o que pode ter consequências como déficits de equilíbrio, coordenação e maior risco de quedas. Assim, o exercício com o objetivo de ganho de força e manutenção ou aumento de massa muscular, é recomendado para essa população (MENANT et al., 2016; PIZZIGALLI et al., 2011). Dessa forma, o objetivo desse estudo foi investigar os benefícios do exercício físico de força sobre a memória e sobre parâmetros bioquímicos no hipocampo comparando com o exercício aeróbico em ratos modelos de DA.

2 METODOLOGIA

2.1 Animais e Desenho Experimental

Foram utilizados 60 ratos *Wistar* machos, com dois meses de idade, obtidos a partir do biotério central da Universidade Federal de Santa Maria. Todos os cuidados com os animais foram seguidos segundo o Guia dos Institutos Nacionais de Saúde para o Cuidado e Uso de Animais de Laboratório (NIH, 1996). Esse estudo foi aprovado pelo Comitê de Uso e Cuidados com Animais da Universidade Federal do Pampa (Nº01/2015). Os animais foram inicialmente divididos em 3 grupos de acordo com o tipo de treinamento, os ratos que não treinavam foram considerados o grupo controle. Depois de 8 semanas de treinamento os ratos

foram subdivididos de acordo com a injeção de β -amiloide (Alzheimer) ou salina (Controle) quando eram submetidos a uma cirurgia estereotáxica para mimetização da DA. Após 10 dias foram realizados testes de comportamento e memória seguidos de eutanásia, dissecação do cérebro para retirada do hipocampo e análises bioquímicas (figura 1).

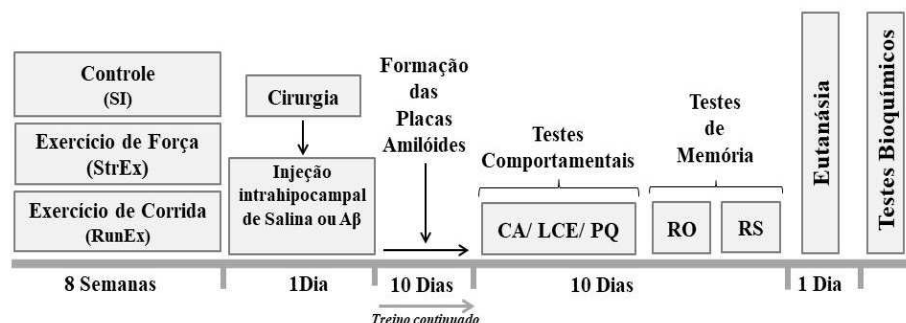


Figura 1 - Fluxograma do desenho experimental. Foram realizados oito semanas de treinamento físico, seguido da cirurgia para mimetização da DA com injeção de β -amiloide ($A\beta$). Passado dez dias da cirurgia, foram realizados os testes comportamentais de campo aberto (CA), labirinto em cruz elevado (LCE) e placa quente (PQ).

2.2 Protocolo de Exercício de Força

Os ratos realizaram exercício físico de escalada com carga progressiva, durante oito semanas, três vezes por semana, em dias intercalados. Na primeira semana, a carga de treino utilizada correspondeu a 50% do peso corporal do animal. Nas semanas seguintes, foram realizados testes de carga máxima (TCM) no primeiro dia de treino da semana para adaptação das cargas e logo eram realizadas oito sessões de escalada, com carga de 50%, 75%, 90% e 100% da carga máxima (SOUZA et al., 2014).

2.3 Protocolo de Exercício de Corrida

Após uma semana de habituação na esteira, os ratos praticaram o exercício de corrida em uma esteira ergométrica própria para ratos durante oito semanas, três vezes por semana sempre no mesmo turno, por 40 minutos e a uma intensidade de 60 – 70% do volume máximo de oxigênio medido de forma indireta (SCHIMIDT et al., 2014).

2.4 Cirurgia

Depois de oito semanas de treinamento, os ratos foram anestesiados (75 mg/kg de ketamina e 10 mg/kg de xylazina), *i.p* submetidos a cirurgia estereotáxica para injeção de 2 μ l de solução salina ou proteína β amiloide (fragmento 25-35) na região CA1 do hipocampo (PAXINOS; WATSON; EMSON, 1980).

2.5 Testes Comportamentais e de Memória

Após dez dias de cirurgia, foram realizados testes comportamentais para atividade exploratória e locomotora: Teste do campo aberto (BENETTI et al., 2009); Ansiedade: Labirinto em cruz elevado (PELLOW et al., 1985); Avaliação da sensibilidade periférica: Hot Plate (GREEN, 1953). Foi realizado o teste de memória de reconhecimento de objetos para memória de curta duração e de longa duração (MELLO et al., 2008).

2.6 Análises Bioquímicas

Os ratos foram eutanasiados 24 horas após os testes de memória, os cérebros dessecados e os hipocampus isolados para análises da peroxidação lipídica pela formação de espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) (OHKAWA; OHISHI; YAGI, 1979).

Análise dos níveis de produção de espécies reativas de oxigênio (EROs), por meio do uso de uma sonda lipossolúvel, 2,7 – diclorodihidrofluoresceína diacetato (DCFH-DA) (LOETCHUTINAT et al., 2005). Análise da capacidade antioxidante total será avaliada pelo método de redução do ferro (FRAP) (BENZIE; STRAIN, 1996) e atividade da enzima acetilcolinesterase (ELLMAN et al., 1961).

2.7 Análise Estatística

Foram verificado a distribuição de dados usando o teste Shapiro-Wilk. Os testes comportamentais controles foram comparados usando ANOVA de uma via. Os testes de memória foram analisados considerando uma média teórica do tempo total de exploração de 50%. Os testes bioquímicos foram analisados por ANOVA de duas vias com pos hoc Tukey. O nível de significância foi fixado em 0.05 para todas as análises.

3 RESULTADOS e DISCUSSÃO

Na figura 2 estão representados, o ganho progressivo de força (figura 2A) e de capacidade aeróbica (figura 2B) ao longo das oito semanas de treinamento, para grupos de treinamento de força e treinamento de corrida. Os resultados confirmam que os protocolos de treinamento induziram a uma adaptação na condição física dos animais, o que é essencial para modular processos mnemônicos (LOPRINZI; E; K, 2018).

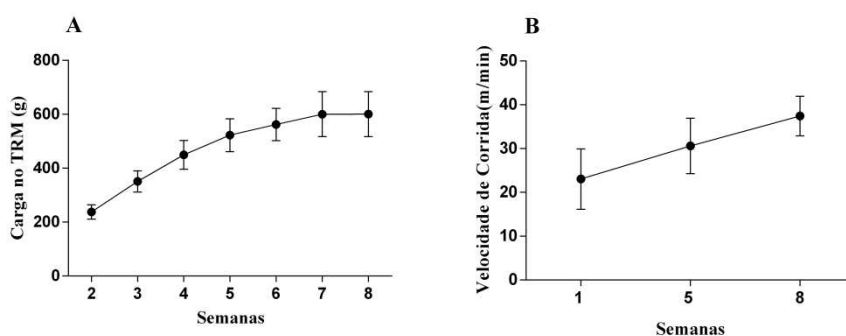


Figura 2 - Progressão das cargas nos testes de carga máxima (exercício de força) (A) e VO2 indireto (exercício de corrida) (B).

A injeção de β -amiloide prejudicou a memória de reconhecimento de objetos tanto de curta, quanto de longa duração (figura 3). Apenas o exercício de força foi capaz de preservar essas memórias. O exercício físico de corrida diminuiu EROs em relação ao grupo com injeção de β -amiloide sem intervenção (figura 4A). A injeção de β -amiloide aumentou a peroxidação lipídica (figura 4B), e as duas modalidades de exercício físico protegeram a esse dano.

A injeção de β -amiloide também diminuiu a capacidade antioxidante total (figura 4C), no entanto apenas o exercício de corrida foi capaz de prevenir essa queda. Adicionalmente, o nosso modelo de DA também diminuiu a atividade da enzima AchE (figura 4D) e apenas o exercício de força foi capaz de atuar prevenindo essa diminuição.

Em estudos anteriores do nosso grupo de pesquisa, observamos um papel neuroprotetor do exercício físico de corrida na memória em modelos com déficit cognitivo (NEVES et al., 2015; SCHIMIDT et al., 2014), assim não podemos descartar os efeitos benéficos também da modalidade aeróbica.

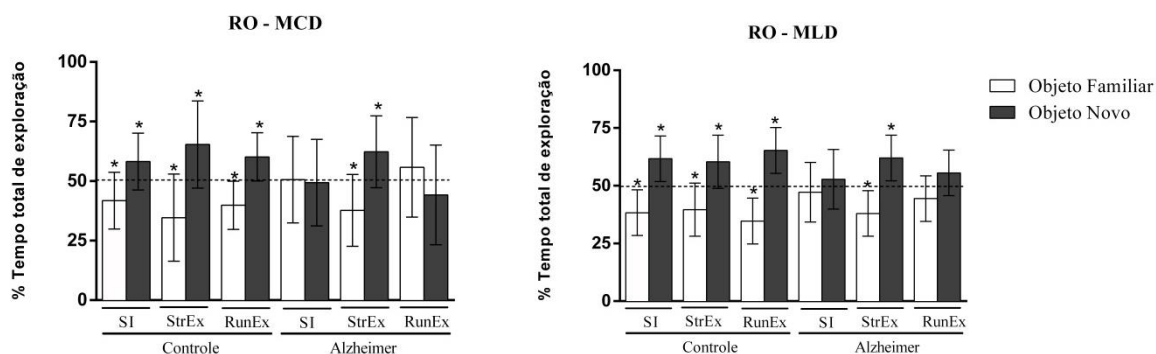


Figura 3 – Teste de Reconhecimento de Objetos (RO) na Memória de Curta Duração (MCD) e Memória de longa duração (MLD). SI= sem intervenção; StrEx= exercício de força; RunEx= exercício de corrida; Controle= grupos com injeção de salina no hipocampo; Alzheimer= grupos com injeção de β -amiloide no hipocampo; (*<0.05, teste one-sample considerando média teórica de 50%) .

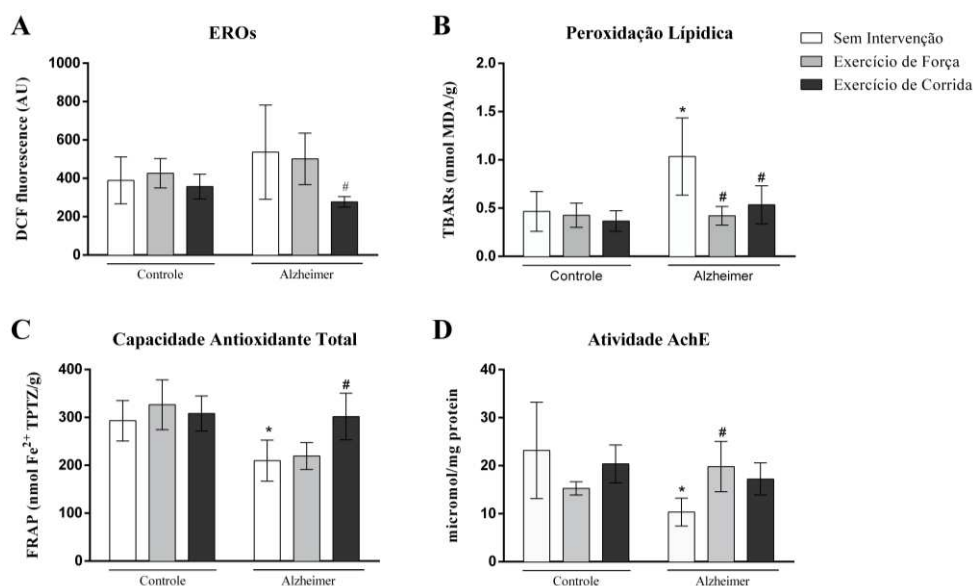


Figura 4 – Espécies Reativas de Oxigênio (EROs) (A), peroxidação lipídica(B), capacidade antioxidante total (C) e atividade da acetilcolinesterase (D) no hipocampo de ratos com injeção de salina (controle) e β -amiloide (Alzheimer); * p <0.5= diferença entre o controle sem intervenção; # p <0.5= diferença do Alzheimer sem intervenção.

Todavia, com o presente estudo podemos observar mecanismos distintos de neuroproteção entre as duas modalidades. Enquanto o exercício de corrida parece atuar sobre parâmetros de estresse oxidativo, o exercício físico de força atua sobre o sistema colinérgico.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A partir dos nossos resultados foi possível alcançar nosso objetivo principal, demonstrando que o exercício físico de força também tem benefícios sobre a memória. No entanto, estudos adicionais devem ser realizados buscando investigar diferentes tipos de memórias, modalidades de exercício físico que combinem exercício de força e exercício aeróbico, bem como explorar outros mecanismos colinérgicos envolvidos na neuroproteção induzida pelo exercício de força.

REFERÊNCIAS

- ANDREEVA, T. V.; LUKIW, W. J.; ROGAEV, E. I. Biological basis for amyloidogenesis in Alzheimer's disease. **Biochemistry (Moscow)**, v. 82, n. 2, p. 122-139, 2017/02/01 2017.
- BENETTI, F. et al. Early postnatal maternal deprivation in rats induces memory deficits in adult life that can be reversed by donepezil and galantamine. **Int J Dev Neurosci**, v. 27, n. 1, p. 59-64, Feb 2009
- BENZIE, I. F.; STRAIN, J. J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. **Anal Biochem**, v. 239, n. 1, p. 70-6, Jul 15 1996.
- ELLMAN, G. L. et al. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. **Biochem Pharmacol**, v. 7, p. 88-95, Jul 1961.
- GHASEMI, R. et al. Repeated intra-hippocampal injection of beta-amyloid 25-35 induces a reproducible impairment of learning and memory: considering caspase-3 and MAPKs activity. **Eur J Pharmacol**, v. 726, p. 33-40, Mar 5 2014.
- GREEN, A. F. ANALGESIC AND OTHER PROPERTIES OF 3: 3-DITHIENYLALKENYLAMINES. **British Journal of Pharmacology and Chemotherapy**, v. 8, n. 1, p. 2-9, 1953.
- HIPPIUS, H.; NEUNDÖRFER, G. The discovery of Alzheimer's disease. **Dialogues in Clinical Neuroscience**, v. 5, n. 1, p. 101-108, 2003.
- LOETCHUTINAT, C. et al. Spectrofluorometric determination of intracellular levels of reactive oxygen species in drug-sensitive and drug-resistant cancer cells using the 2',7'-dichlorofluorescein diacetate assay. **Radiat Phys Chem**, v. 72, n. 2-3, p. 323-331, 2005.
- LOPRINZI, P. D.; E, F.; K, E. M. Resistance exercise and episodic memory function: a systematic review. **Clinical Physiology and Functional Imaging**, v. 0, n. 0, 2018.
- MASTERS, C. L. et al. Alzheimer disease. **Nature Reviews Disease Primers**, v. 1, p. 15056, 2015.
- MELLO, P. B. et al. Effects of acute and chronic physical exercise and stress on different types of memory in rats. **An Acad Bras Cienc**, v. 80, n. 2, p. 301-9, Jun 2008.
- MENANT, J. C. et al. Strength measures are better than muscle mass measures in predicting health-related outcomes in older people: time to abandon the term sarcopenia? **Osteoporos Int**, Jul 9 2016.
- NEVES, B.-H. et al. Physical exercise prevents short and long-term deficits on aversive and recognition memory and attenuates brain oxidative damage induced by maternal deprivation. **Physiology & Behavior**, v. 152, p. 99-105, 2015/12/01/ 2015.
- OHKAWA, H.; OHISHI, N.; YAGI, K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. **Anal Biochem**, v. 95, n. 2, p. 351-8, Jun 1979.
- PAXINOS, G.; WATSON, C. R.; EMSON, P. C. AChE-stained horizontal sections of the rat brain in stereotaxic coordinates. **J Neurosci Methods**, v. 3, n. 2, p. 129-49, Dec 1980.
- PELLOW, S. et al. Validation of open:closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. **J Neurosci Methods**, v. 14, n. 3, p. 149-67, Aug 1985.
- PIZZIGALLI, L. et al. Prevention of falling risk in elderly people: the relevance of muscular strength and symmetry of lower limbs in postural stability. **J Strength Cond Res**, v. 25, n. 2, p. 567-74, Feb 2011.
- PRADO LIMA, M. G. et al. Environmental enrichment and exercise are better than social enrichment to reduce memory deficits in amyloid beta neurotoxicity. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 115, n. 10, p. E2403, 2018.
- SCHMIDT, H. L. et al. Memory deficits and oxidative stress in cerebral ischemia-reperfusion: neuroprotective role of physical exercise and green tea supplementation. **Neurobiol Learn Mem**, v. 114, p. 242-50, Oct 2014.
- SOUZA, M. V. C. et al. Resistance training improves body composition and increases matrix metalloproteinase 2 activity in biceps and gastrocnemius muscles of diet-induced obese rats. **Clinics**, v. 69, p. 265-270, 2014.
- VARGAS, L. S. et al. One-single physical exercise session after object recognition learning promotes memory persistence through hippocampal noradrenergic mechanisms. **Behav Brain Res**, v. 329, p. 120-126, Jun 30 2017.