

EFEITOS DE DIFERENTES MODELOS DE EXERCÍCIO FÍSICO NO SISTEMA COLINÉRGICO E MEMÓRIA DECLARATIVA: RESULTADOS DO ESTUDO CORTEX

MIGUEL GOLIVA DIAS¹; NATAN FETER²; LUIZA SPOHR³; MATHEUS PINTANEL FREITAS⁴; NICOLE GOMES GONZALES⁵; AIRTON JOSÉ ROMBALDI⁶

¹Escola Superior de Educação Física/UFPel – miggoliva@hotmail.com

²Escola Superior de Educação Física/UFPel – natanfeter@hotmail.com

³Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos/UFPel - luizaspohr@hotmail.com

⁴Faculdade Anhanguera Pelotas – matheus.pintanel@hotmail.com

⁵Faculdade Anhanguera Pelotas - nicolegomesgonzales@yahoo.com.br

⁶Escola Superior de Educação Física/UFPel – ajrombaldi@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

A acetilcolinesterase (AchE), enzima responsável pela hidrólise da acetilcolina, tem papel fundamental na função cognitiva, por atuar na regulação das sinapses colinérgicas (SUDHA et al., 1995). Ainda, os neurônios colinérgicos possuem um estreito envolvimento com a memória e aprendizado devido à projeção de axônios ao hipocampo, e o aumento da atividade da AchE nessa região e no córtex cerebral afeta a disponibilidade de acetilcolina na fenda sináptica, levando a deterioração dessas importantes funções cognitivas (SINGH, 1985).

Assim, esse estudo objetivou analisar os efeitos de diferentes modelos de exercício físico, assim como a atividade física, na atividade da AchE e sua relação com aspectos da memória.

2. METODOLOGIA

Oitenta camundongos C57BL/6 fêmeas (60 dias de idade), pesando 20-24 g, foram utilizados no estudo. Os roedores foram alojados em gaiolas com quatro animais por gaiola, com exceção do grupo de roda de corrida (RW), onde foram alojados individualmente, a fim de evitar qualquer dominância por um animal em relação a utilização da roda (HEINLA, 2018). Todos os animais foram divididos aleatoriamente em cinco grupos (n=16 por grupo): SED: grupo sedentário; MICT: treinamento contínuo de intensidade moderada; HIIT: treinamento intervalado de alta intensidade; RW: roda de corrida; RT: treinamento de resistência.

Os grupos MICT e HIIT foram familiarizados com uma esteira motorizada para camundongos durante cinco dias, 10 minutos por dia a 10 metros por minuto (m/min). Os animais foram motivados a correr por estimulação elétrica (1,0mA) posicionada no final de cada faixa. Os camundongos do grupo RT foram familiarizados com uma escada vertical inclinada (85°) em três ocasiões durante a primeira semana. Nem o grupo RW nem SED tiveram período de familiarização. Todos os protocolos de intervenção iniciaram no segundo dia após o período de familiarização e duraram seis semanas.

O grupo MICT realizou o protocolo de treinamento em 5 dias por semana, sendo cada sessão compostas por 1 minuto de aquecimento e 1 minuto de desaquecimento a 16 m/min. Após o aquecimento, os camundongos desse

grupo correram a 17m/min por 20 minutos. Após cada sessão, o volume de exercício foi aumentado em 2 minutos por sessão até o máximo de 60 minutos.

Para o grupo HIIT, o protocolo iniciou com dois esforços de 3 minutos a 25 m/min, com 60 segundos de descanso a 16 m/min entre os esforços. Nas sessões seguintes, os animais alternaram entre esforços de longa (3 minutos) e curta (30 segundos) duração, com período de repouso constante (16 m/min por 1 minuto).

As sessões de treinamento do grupo RT ocorreram 3 vezes por semana e iniciaram-se com escaladas com 50, 75 e 90% da carga máxima (CM) prévia. Na última sessão de cada semana, uma nova carga máxima foi estabelecida. Entre as escaladas, os animais descansavam por 90 segundos em uma câmara fechada localizada no topo da escada.

Os roedores do grupo RW foram alojados em gaiolas equipadas com roda de corrida adaptada, que estavam disponíveis para os animais durante o período do estudo (6 semanas). As rodas possuíam dois hardwares que diariamente coletavam e armazenavam informações sobre a velocidade média de cada animal, expressa em quilômetros por hora (km/h), e a distância percorrida por cada animal relatada em quilômetros (Km). O grupo SED não teve acesso a nenhum tipo de treinamento físico ou equipamento relacionado ao exercício em suas gaiolas.

A atividade da AchE foi determinada por método espectrofotométrico (ELLMAN, 1961). A enzima dos homogeneizados cerebrais (40-50 µg de proteína) foi pré-incubada por 2 minutos. A reação foi iniciada pela adição de 0,8 mM de AcSCh. A atividade enzimática é expressa em µmol AcSCh/h/mg de proteína.

O teste de campo aberto foi utilizado para identificar incapacidades motoras que podem influenciar na tarefa de memória (BAILEY, 2009). Para avaliar a memória declarativa dos animais, o teste de reconhecimento de objetos (RO) foi utilizado (STEWART et al., 2011). Esse teste baseia-se na tendência natural dos roedores para investigar um novo objeto em vez de um familiar. A escolha de explorar o novo objeto reflete o uso de processos de memória de aprendizado e reconhecimento (BRYAN, 2009).

Os dados foram exportados para o software estatístico STATA 13.1. Os dados contínuos foram reportados em média e erro padrão. A diferença das médias entre os grupos foi verificada pela análise de variância com *post hoc* de Newman-Keuls, para variáveis com distribuição paramétrica, ou pelo teste de Kruskal-Wallis com *post hoc* de Dunn, para variáveis com distribuição não-paramétrica. O nível de significância adotado foi de $p<0.05$.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Através do teste de campo aberto, observou-se que os animais não apresentaram capacidade locomotora reduzida ($p=0.459$ entre os grupos). O grupo RT mostrou um aumento da atividade da AchE no córtex cerebral em comparação com os demais grupos, à exceção do HIIT. Curiosamente, o RT relatou o pior escore de RO entre todos os grupos. Embora o teste de RO envolva diferentes regiões cerebrais, como o córtex cerebral e o hipocampo, Broadbent e colaboradores (2010) relataram que ratos com lesão no hipocampo que realizaram o teste de RO não apresentaram deficit expressivo na memória de reconhecimento. Isso sugere que há estruturas, além do hipocampo, que devem ser capazes de modular esse aspecto da memória.

Além disso, a literatura estabeleceu que a alta atividade da AchE, uma característica da doença de Alzheimer, está relacionada ao déficit cognitivo,

especialmente devido a essa enzima catalisar a quebra do neurotransmissor acetilcolina (PEPEU, 2010). Essa quebra resulta em menor disponibilidade de acetilcolina na fenda sináptica, levando a significativas disfunções energéticas e sinápticas em importantes funções cognitivas, como a memória.

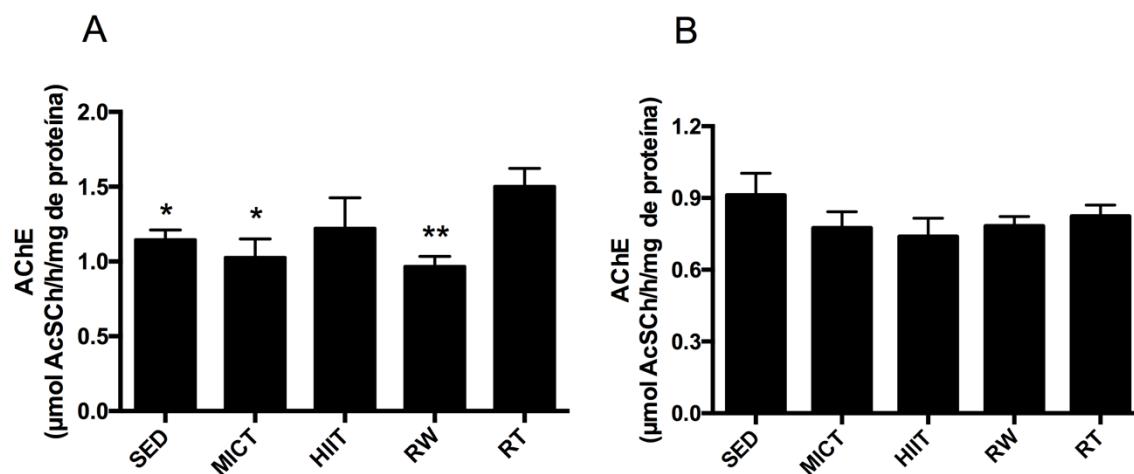


Figura 1. Efeitos da intervenção de 6 semanas na atividade da acetilcolinesterase (AChE) no córtex cerebral (A) e hipocampo (B) em camundongos fêmeas C57BL/6. Os dados são relatados como médias \pm SE. As diferenças foram verificadas usando ANOVA. *Denota diferença significativa para o grupo RT * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$.

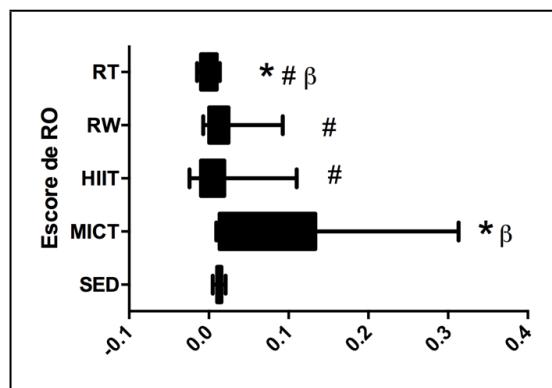


Figure 2. Dados do reconhecimento de objetos (OR). SED: grupo sedentário; MICT: treinamento contínuo de intensidade moderada; HIIT: treinamento intervalado de alta intensidade; RW: roda de corrida; RT: treinamento de resistência. As diferenças foram verificadas usando Kruskal-Wallis. * $p < 0,05$ comparado ao SED; #: $p < 0,05$ comparado ao MICT β: $p < 0,05$ comparado ao RW; φ: $p < 0,05$ comparado ao RT

Por outro lado, o grupo MICT apresentou o maior escore no teste de RO entre os grupos ($p < 0,001$). No entanto, não foi encontrada diferença significativa na atividade da AchE no hipocampo ou córtex cerebral desses animais. O MICT parece aumentar os níveis do fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF), o que leva a ativação de importantes vias de sinalização (PI3K/AKT e MAPK/ERK 1/2) para induzir à neurogênese e plasticidade sináptica (SMITH et al., 2010).

4. CONCLUSÕES

Desta forma, o RT parece induzir um aumento na atividade de AchE no córtex cerebral, levando a um deficit na memória de RO nos camundongos. Por outro lado, o MICT resultou na melhora da memória de trabalho de curto prazo, apesar de não afetar a atividade da AchE no córtex cerebral e hipocampo.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BAILEY, K., CRAWLEY, J. Anxiety-Related Behaviors in Mice, in: J.J. Buccafusco (Ed.), **Methods of Behavior Analysis in Neuroscience.**, 2nd ed., CRC Press/Taylor & Francis, Boca Raton (FL), USA, 2009.
- BROADBENT, N.J., GASKIN, S., SQUIRE, L.R., CLARK, R.E. Object recognition memory and the rodent hippocampus, **Learning and Memory.** v.17, p.5–11, 2010.
- BRYAN, K.J., LEE, H., PERRY, G., SMITH, M.A., CASADESUS, G., Transgenic Mouse Models of Alzheimer's Disease: Behavioral Testing and Considerations., in: J.J. Buccafusco (Ed.), **Methods of Behavior Analysis in Neuroscience.**, 2nd ed., CRC Press/Taylor & Francis, Boca Raton (FL), USA, 2009.
- ELLMAN, G.L. COURTNEY, K.D., ANDRES, V.J. FEATHER-STONE, R.M. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity., **Biochemical Pharmacology.** v.7, p.88–95, 1961.
- HASSELMO, M.E. The role of acetylcholine in learning and memory, **Current opinion in neurobiology.** v.16, p.710–715, 2006.
- HEINLA, I., ÅHLGREN, J., VASAR, E., VOIKAR, V. Behavioural characterization of C57BL/6N and BALB/c female mice in social home cage—Effect of mixed housing in complex environment, **Physiology and Behavior.** v.188, p.32–41, 2018.
- PEPEU, G., GIOVANNINI, M.G. Cholinesterase inhibitors and memory, **Chemico-biological interactions.** v.187, p.403–408, 2010.
- SINGH, J. A. I. P. A. U. L. Mechanism of action of insulin on acetylcholine-evoked amylase secretion in the mouse pancreas. **The Journal of physiology**, v.358, p.469-482, 1985.
- SMITH, P.J., BLUMENTHAL, J.A., HOFFMAN, B.M., COOPER, H., STRAUMAN, T.A., WELSH-BOHMER, K., BROWNDYKE, J.N. AND SHERWOOD, A. Aerobic exercise and neurocognitive performance: a meta-analytic review of randomized controlled trials. **Psychosomatic medicine**, v.72, p.239, 2010.
- STEWART, S., CACUCCI, F., LEVER, C. Which memory task for my mouse? A systematic review of spatial memory performance in the Tg2576 Alzheimer's mouse model., **Journal of Alzheimer's. Disease.** v.26, p.105–126, 2011.
- SUDHA, S., LAKSHMANA, M.K., PRADHAN, N. Changes in learning and memory, acetylcholinesterase activity and monoamines in brain after chronic

carbamazepine administration in rats, **Epilepsia**. v.36, p.416–422, 1995.