

EFEITOS CRÔNICOS DE DIFERENTES TIPOS DE EXERCÍCIO FÍSICO SOBRE PARÂMETROS COMPORTAMENTAIS EM UM MODELO EXPERIMENTAL DE NEUROINFLAMAÇÃO

MARINA KRAUSE WEYMAR¹; NICOLE GOMES GONZALES²;
MATHEUS PINTANEL SILVA DE FREITAS³; NATAN FETER⁴; AIRTON JOSÉ
ROMBALDI⁵

¹*Universidade Federal de Pelotas – ninaweymar98@gmail.com*

²*Faculdade Anhanguera Educacional Pelotas – nicolegomesgonzales@yahoo.com.br*

³*Faculdade Anhanguera Educacional Pelotas – matheus.pintanel@hotmail.com*

⁴*Universidade Federal de Pelotas - natanfeter@hotmail.com*

⁵*Universidade Federal de Pelotas - ajrombaldi@gmail.com*

1. INTRODUÇÃO

Segundo O'Callagan, Sriram e Miller (2008), a neuroinflamação é caracterizada por uma degeneração no sistema nervoso central (SNC) em que ocorrem significativas perdas nas estruturas e funções neuronais, as quais resultam em desequilíbrios funcionais e mentais.

Esses desequilíbrios afetam especialmente adultos de meia idade e idosos (HOFF & MOBBS, 2010) e podem levar a ocorrência de inúmeras doenças degenerativas (AHMED et al., 2018). Nesse sentido, o exercício físico tem atuado positivamente na prevenção e tratamento dessas patologias (SPIELMAN et al., 2016). Em virtude da complexidade dessas doenças e pelo alto grau invasivo causado pelas enfermidades, os modelos animais têm sido amplamente utilizados para estudar neuroinflamação (MIX et al., 2010; HOOGLAND, et al., 2015).

Neste cenário, a neuroinflamação induzida por lipopolissacarídeos (LPS) é um dos modelos mais utilizados pelos pesquisadores em razão do baixo custo de aquisição dessa toxina e pela alta efetividade na indução da inflamação (HOOGLAND et al., 2015). Essa toxina simula a ocorrência de um ataque inflamatório no organismo dos animais.

Como forma de avaliar a eficácia de abordagens interventivas com uso do LPS, além dos aspectos comumente avaliados nos estudos, a realização dos testes clínicos que avaliam parâmetros comportamentais dos animais, como mobilidade e memória, têm o intuito de encontrar novas abordagens terapêuticas para doenças neurodegenerativas como a esclerose múltipla, esclerose lateral amiotrófica, mal de Parkinson, mal de Alzheimer, entre outras, de modo a melhorar ou prevenir danos físicos e neurológicos causados por essas patologias (BUDDEBERG et al., 2004).

Dentre os testes comportamentais mais utilizados pelos pesquisadores, destacam-se o de campo aberto e de memória de reconhecimento de objetos, para avaliar, respectivamente, alterações comportamentais e memória de animais induzidos à neuroinflamação por LPS.

Diante disso, o objetivo do presente estudo foi investigar comparar os efeitos de seis semanas de treinamento intermitente de alta intensidade e treinamento contínuo de intensidade moderada sobre parâmetros comportamentais de camundongos da espécie C57BL/6 com neuroinflamação induzida por LPS.

2. METODOLOGIA

Foi realizada uma intervenção de seis semanas com 30 camundongos fêmeas (110 dias de idade), da linhagem C57BL/6, os quais foram divididos aleatoriamente em três grupos experimentais, contendo 10 animais cada: controle (GC; n=10), exercício intermitente de alta intensidade (GHIIT; n=10) e exercício contínuo de intensidade moderada (GCON; n=10). A intensidade dos exercícios dos grupos GHIIT e GCON foi baseada no estudo de Schefer & Talan (1996).

Os animais do grupo GHIIT se exercitaram baseados em uma adaptação do protocolo descrito em Afzalpour et al. (2015), em esteira própria para roedores marca Bonther®, composta por dez baias para camundongos, com uma faixa de velocidade e inclinação variando de 10 a 100 cm/s e -10 a 10 graus. Os animais iniciaram seus treinamentos da seguinte forma: nos dias ímpares, realizaram quatro esforços de 30 segundos de duração a uma intensidade correspondente a 100% da $\text{vVO}_{2\text{max}}$ com base no estudo de Schefer & Talan (1996), separados por intervalos de 60 segundos. Alternadamente, nos dias pares, os animais se exercitaram realizando três esforços de três minutos a uma intensidade correspondente a 90% da $\text{vVO}_{2\text{max}}$, separados por intervalos de 60 segundos. Todos os intervalos foram realizados de forma ativa a 68% da $\text{vVO}_{2\text{max}}$ em ambas intensidades.

Os camundongos do grupo GCON também se exercitaram baseados em uma adaptação do protocolo descrito em Afzalpour et al. (2015), em esteira própria para roedores. O treinamento iniciou a uma intensidade de 80% da $\text{vVO}_{2\text{max}}$ com duração de 20 minutos ininterruptos. O princípio da sobrecarga foi exercido pelo aumento do tempo e dos esforços nos grupos GCON e GHIIT, respectivamente. Os animais do grupo controle também foram expostos ao mesmo estresse de manipulação que os demais grupos, porém sem realizar exercício.

Anteriormente ao início do treinamento, os grupos foram familiarizados com a corrida numa esteira motorizada própria para roedores, com uma sessão de caminhada contínua de 30 minutos, sendo, os primeiros 15 minutos, a uma velocidade de 10 m/min e o restante a uma velocidade de 16 m/min. O treinamento ocorreu durante cinco dias na semana (de segunda à sexta-feira) por seis semanas.

Quarenta e oito horas após a última sessão de treinamento, os animais receberam uma injeção intraperitoneal contendo 250 µg/kg de LPS proveniente da bactéria *Escherichia coli* (055:B5) obtida pela Sigma-Aldrich Chemical Co. (St. Louis, MO, EUA), de forma a induzir neuroinflamação nos mesmos (SPARKMAN et al., 2005a, 2005b; KRANJAC et al., 2013).

Os animais foram submetidos ao teste de memória de reconhecimento de objetos, o qual foi realizado conforme o estudo de Mello et al. (2008). Os escores coletados foram digitados no programa Excel®, versão 2013 e, após a checagem para a ocorrência de erros, transferidos para o software estatístico STATA 12.0. Inicialmente foi utilizado o teste de Shapiro-wilk para verificar a distribuição das variáveis, e o teste de Bartlet para verificar a homogeneidade das variâncias. Foi utilizada ANOVA de uma entrada com post-hoc de Bonferroni para avaliação entre os grupos. O nível de significância adotado foi de $p<0,05$. O projeto de pesquisa foi submetido ao Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal de Pelotas, sob o número 9086-2016.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dos 30 animais que iniciaram no estudo, dois foram excluídos por refugarem a corrida, totalizando um número total de 28 animais para análise final (grupo sedentário: n=10; grupo contínuo: n=9; e grupo HIIT: n=9).

Segundo os dados do presente estudo, os animais do grupo HIIT apresentaram um percentual de exploração maior do que o grupo contínuo [$F(2,25)=5,01$, $p=0,01$], sendo que a média do percentual de exploração do HIIT foi mais que o dobro do grupo contínuo (63,12% contra 25,29%, respectivamente).

Os achados desse estudo confirmaram os dados da literatura que demonstram que o exercício físico é capaz de melhorar a memória. Piao e colaboradores (2013) verificaram que animais com traumatismo craniano, que realizaram atividade física de forma aguda na roda livre, apresentaram uma melhora na memória no teste de reconhecimento de objetos, quando comparado ao grupo sedentário. Do mesmo modo, Griffin et al. (2009) constataram que ratos Wistar machos submetidos à um protocolo de uma semana de exercício contínuo de intensidade moderada na esteira apresentaram maior exploração no teste de reconhecimento de objetos no período teste em comparação ao treino, indicando que o exercício induziu melhorias na performance dos animais neste aspecto.

No que se refere ao exercício intermitente de alta intensidade, especificamente, não há, até o presente momento, nenhum estudo publicado na literatura que tenha utilizado esse protocolo de treinamento, com animais submetidos ao LPS, em que os pesquisadores tenham investigado os impactos na memória através do teste de memória de reconhecimento de objetos, o que destaca a relevância e ineditismo do presente trabalho.

4. CONCLUSÕES

Pode-se concluir com o presente estudo, que seis semanas de treinamento intermitente de alta intensidade promoveu melhoras significativas na memória de camundongos fêmeas da linhagem C57BL/6 submetidos à neuroinflamação por LPS.

Estudos adicionais são necessários a fim de elucidar os mecanismos pelos quais o exercício intermitente de alta intensidade modula a memória dos animais e de que forma esses estudos contribuem para a prevenção e atenuação dos sintomas causados por doenças neurodegenerativas em roedores.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AFZALPOUR, M.E. et al. Comparing interval and continuous exercise training regimens on neurotrophic factors in rat brain. **Physiology & Behavior**, Elmsford, v. 147, n. 78–83, 2015.
- AHMED, R. M. et al. Physiological changes in neurodegeneration — mechanistic insights and clinical utility. **Nature Reviews Neurology**, v. 14, p. 259–271, 2018.
- BUDDEBERG, B. S. et al. Behavioral testing strategies in a localized animal model of multiple sclerosis. **Journal of Neuroimmunology**, Amsterdam, v. 153, p. 158–170, 2004.

- GRiffin E. W. et al. Exercise Enhances Hippocampal-Dependent Learning in the Rat: Evidence for a BDNF-Related Mechanism. **Hippocampus**, New York, v. 19, p. 973–980, 2009.
- HOFF, P. R.; MOBBS, C. V. (eds): **Handbook of the neuroscience of aging**. Elsevier/Academic Press, Amsterdam, p. 1-53, 2010.
- HOOGLAND, I. C. M.; HOUBOLT, C.; WESTERLOO, D. J. V.; GOOL, W. A. V.; BEEK, D. V. Systemic inflammation and microglial activation: systematic review of animal experiments. **Journal of Neuroinflammation**, London, v. 12, p. 1-13, 2015.
- KRANJAC, D. et al. Peripheral administration of D-cycloserine rescues memory consolidation following bacterial endotoxin exposure. **Behavioural Brain Research**, Amsterdam, v. 243, p. 38–43, 2013.
- MELLO, P. B. et al. Effects of acute and chronic physical exercise and stress on different types of memory in rats. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 80, n. 2, p. 301-309, 2008.
- MIX, E. et al. Animal models of multiple sclerosis—Potentials and limitations. **Progress in Neurobiology**, Oxford, v. 92, p. 386–404, 2010.
- PIAO; C. S. Faden. Late exercise reduces neuroinflammation and cognitive dysfunction after traumatic brain injury. **Neurobiology of Disease**, Orlando, v. 54, p. 252–263, 2013.
- SCHEFER, V.; TALAN, M. I. Oxygen consumption in adult aged C57BL/6J mice during acute treadmill exercise of different intensity. **Experimental Gerontology**, Oxford, v. 31, n. 3, p. 387-392, 1996.
- SPARKMAN, N. L. et al. Effects of intraperitoneal lipopolysaccharide on Morris maze performance in year-old and 2-month-old female C57BL/6J mice. **Behav Brain Res**, Amsterdam, v. 159, p. 145–151, 2005.
- SPARKMAN, N. L. et al. Bacterial endotoxin-induced behavioral alterations in two variations of the Morris water maze. **Physiology & Behavior**, Elmsford, v. 86, pp. 244–251, 2005.
- SPARKMAN, N. L. et al. Peripheral lipopolysaccharide administration impairs two-way active avoidance conditioning in C57BL/6J mice. **Physiology & Behavior**, Elmsford, v. 85, p. 278–288, 2005.
- SPIELMAN, L. J.; LITTLE, J. P.; KLEGERISA, A. Physical activity and exercise attenuate neuroinflammation in neurological diseases. **Brain Research Bulletin**, Phoenix, v. 125, p. 19–29, 2016.