

Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Instituto de Ciências Básicas da Saúde

Departamento de Bioquímica

Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas: Bioquímica

**TESE DE DOUTORADO**

**O impacto da frequência do exercício físico sobre  
proteínas sinápticas e o comportamento de ratos durante  
a fase adulta e no envelhecimento.**

Marcelo Silveira da Costa

Orientador: Prof<sup>a</sup> Lisiane de Oliveira Porciúncula

Porto Alegre, setembro de 2012.

Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Instituto de Ciências Básicas da Saúde

Departamento de Bioquímica

Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas: Bioquímica

**O impacto da frequência do exercício físico sobre proteínas sinápticas e o comportamento de ratos durante a fase adulta e no envelhecimento.**

Tese de doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Básicas da Saúde – Bioquímica, como requisito para a obtenção do título de Doutor em Ciências Biológicas – Bioquímica.

Orientador: Prof<sup>ª</sup>. Lisiane de Oliveira Porciúncula.

**Porto Alegre, setembro de 2012.**

### CIP - Catalogação na Publicação

Costa, Marcelo

O impacto da frequência do exercício físico sobre proteínas sinápticas e o comportamento de ratos na fase adulta e no envelhecimento / Marcelo Costa. -- 2012.

125 f.

Orientadora: Lisiane Porciúncula.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas: Bioquímica, Porto Alegre, BR-RS, 2012.

1. Exercício físico. 2. neuroquímica. 3. ansiedade. 4. memória. 5. ratos. I. Porciúncula, Lisiane, orient. II. Título.

## AGRADECIMENTOS

À Professora Lisiane de Oliveira Porciúncula, que me acolheu e mostrou a cada dia o mundo da neurociência. Também me orientou muito com seus conselhos para a vida profissional. É uma pessoa muito incrível por sua garra, inteligência e amizade. Cada degrau que subi na minha vida desde a chegada neste departamento devo a esta admirável mulher. Agradeço de coração e alma a sua companhia. Em resumo, um exemplo profissional e pessoal a ser seguido!

Ao Professor Diogo de Souza que me abriu a porta para este mundo científico e, na época, totalmente desconhecido por mim. Só posso dizer que ele é o nosso pai no departamento.

Ao Professor Luis Portela “Roska” pelo incentivo.

A todos colegas do laboratório 26 e 28, que me receberam e me apoiaram desde o primeiro dia.

Aos meus grandes parceiros de experimentos: Sabrina Mioranza, Ana Paula Ardais Paulo Botton, Gabriela Fioreze e, logicamente, a Professora Lisiane.

Aos meus amigos que me compreenderam nas minhas longas e freqüentes ausências em nossos maravilhosos encontros.

Aos meus colegas e alunos na academia que trabalho que além de me apoiarem, tiveram que conviver com minhas enormes olheiras e expressão “sonolenta”.

Ao meu pai e minha mãe que me ensinaram e auxiliaram a batalhar pelo “pão nosso” de cada dia sempre com muita vontade e honestidade.

Com certeza não esqueci ninguém, pois não sou nada sem vocês.

Muito obrigado!

## **APRESENTAÇÃO**

Os resultados desta tese de doutorado estão apresentados na forma de artigo científico. As sessões de Materiais e Métodos, Resultados, Discussão e Referências Bibliográficas estão detalhadamente descritas em seus respectivos artigos.

As sessões de Introdução, Discussão, Conclusão e Perspectivas encontradas nesta tese apresentam interpretações e comentários gerais sobre os resultados presentes nos artigos científicos. As referências bibliográficas ao final desta tese representam as utilizadas nos itens supracitados.

Informações mais detalhadas estão disponíveis nos artigos científicos.

## SUMÁRIO

<b>Resumo.....</b>	<b>2</b>
<b>Abstract.....</b>	<b>3</b>
<b>Lista de abreviaturas.....</b>	<b>4</b>
<b>Parte I.....</b>	<b>5</b>
<b>1. Introdução.....</b>	<b>6</b>
1.1.A importância do exercício físico.....	6
1.2.O envelhecimento.....	11
1.3.Exercício físico e ansiedade.....	12
1.4.Exercício físico e memória.....	16
1.5.Exercício físico e neurotransmissão.....	19
1.6.Sistema adenosinérgico.....	21
1.7.O fator neurotrófico derivado do encéfalo (BDNF).....	25
<b>Parte II.....</b>	<b>30</b>
<b>2. Objetivos.....</b>	<b>31</b>
2.1.Objetivo geral.....	31
2.2.Objetivos específicos.....	31
<b>Parte III.....</b>	<b>32</b>
<b>Capítulo 1.....</b>	<b>33</b>
<b>Capítulo 2.....</b>	<b>41</b>
<b>Capítulo 3.....</b>	<b>52</b>
<b>Parte IV.....</b>	<b>83</b>
<b>3. Discussão.....</b>	<b>84</b>
<b>Parte V.....</b>	<b>91</b>
<b>4. Conclusões.....</b>	<b>92</b>
<b>Parte VI.....</b>	<b>95</b>
<b>5. Perspectivas.....</b>	<b>96</b>
<b>6. Referências bibliográficas.....</b>	<b>97</b>

## RESUMO

O exercício físico regular e/ou maiores níveis de atividade física tem contribuído para a redução do risco de doenças degenerativas e para melhorar a qualidade de vida. Estes benefícios são mais evidentes quando o corpo humano vai se tornando mais vulnerável, seja pelo processo natural de envelhecimento ou pelo acometimento de doenças. Entretanto, a quantidade adequada de exercícios físicos para a saúde e qualidade de vida ainda é muito discutida. Desta forma, o objetivo desta tese foi verificar o efeito da frequência semanal (1, 3 e 7 dias por semana) da corrida em esteira (20 minutos por sessão, intensidade moderada) em ratos durante a fase adulta e no envelhecimento. No primeiro trabalho foi observado um comportamento ansiogênico associado ao envelhecimento. Entretanto, a frequência de 1 dia por semana foi capaz de reverter esse efeito da idade. Todas as frequências de corrida em esteira causaram um aumento na ansiedade nos ratos adultos. Não encontramos nenhuma relação da ansiedade com o imunocontéudo hipocampal dos receptores de adenosina  $A_1$  e  $A_{2A}$ . Entretanto, o treinamento em esteira foi capaz de reverter o aumento no imunocontéudo do  $A_{2A}$  mediada pelo envelhecimento, sendo o efeito da corrida realizada 7 dias/semana mais pronunciado. Este efeito sobre o receptor  $A_{2A}$  pode estar associado aos aspectos neuroprotetores do exercício físico. No segundo trabalho, observamos que o exercício físico não afetou a memória de curta e longa duração nas tarefas de reconhecimento de objetos e esquivas inibitórias nos ratos adultos. Porém, as memórias de curta e longa duração foram prejudicadas pela idade na tarefa de reconhecimento de objetos, mas a corrida em esteira realizada 1 dia/semana reverteu esse efeito. A idade causou uma redução no desempenho da memória de curta duração na tarefa de esquivas inibitórias. A corrida realizada 1 dia/semana prejudicou as memórias de curta e longa duração nesta tarefa nos ratos de meia idade. A idade causou um aumento no imunocontéudo hipocampal de BDNF com uma concomitante redução de seu receptor, TrkB, o que está relacionado com o prejuízo cognitivo associado à idade. Foi encontrado um aumento no precursor do BDNF, pró-BDNF, com o treinamento realizado 7 dias por semana nos animais de meia idade, mas um ligeiro aumento no TrkB no grupo treinado 1 dia/semana poderia explicar a reversão do prejuízo da memória de reconhecimento associada à idade. Nos ratos adultos foi encontrado um aumento do pró-BDNF e do BDNF no grupo treinado 1 dia/semana e uma redução do TrkB em todos os grupos submetidos à corrida em esteira. Apesar destas alterações decorrentes do exercício físico nos ratos adultos não influenciarem no desempenho das tarefas de aprendizagem e memória, a redução do TrkB poderia ter contribuído para que os animais submetidos ao treinamento físico não apresentassem desempenhos cognitivos superiores ao grupo sedentário. Assim sendo, a frequência da corrida em esteira e a idade afetaram as respostas nas tarefas de memória e na adaptação neurotrófica no hipocampo. O trabalho 3 verificou o efeito de praticar exercício físico apenas um dia/semana até à exaustão versus 3 dias/semana em intensidade moderada em ratos adultos. A corrida em esteira causou um comportamento ansiogênico, independente do protocolo de exercício. A corrida realizada 1 dia/semana até à exaustão causou uma redução no comportamento exploratório e locomotor e um prejuízo na memória de reconhecimento. Desta forma, a prática de exercícios físicos apenas um dia/semana até à exaustão altera o comportamento e prejudica a memória. Em conclusão, esta tese mostra a importância do controle da frequência semanal do exercício físico para um melhor entendimento das respostas comportamentais e neuroquímicas mediadas pelo exercício físico crônico em diferentes idades.

## ABSTRACT

Physical exercise is considered an important alternative in reducing the risk of many diseases and improves the quality of life. These benefits are most evident when the body becomes more vulnerable, either through the natural process of aging or in the onset of neurodegenerative disease. However, the amount of exercise for these benefits is unknown. Thus, the objective of this study was to investigate the effect of treadmill running frequency (1, 3 and 7 days per week), 20 minutes per session at moderate intensity, in adult and middle-aged adults. In the first study, we observed an age-related anxiety. However, the frequency of 1 day/week reversed the age effect. All treadmill running frequencies caused an increase in anxiety-related behavior in adult rats. However, no correlation between anxiety-related behavior and hippocampal adenosine A<sub>1</sub> and A<sub>2A</sub> receptors densities was found. However, treadmill training reversed the age-related increase in the A<sub>2A</sub> receptor with the more pronounced effect in the treadmill running 7 days/week rats. This effect on the A<sub>2A</sub> receptor may be associated with neuroprotective aspects of physical exercise. In the second study, treadmill running was not affected the short and long-term memories in the object recognition and inhibitory avoidance tasks in adult rats. The short and long-term memories were affected by aging in the object recognition task, but treadmill running 1 day/week reversed this effect. Age caused a reduction in the performance of short-term memory in inhibitory avoidance task. In middle-aged rats, treadmill running 1 day/week worsened the short and long-term memories in this task. Age caused an increase in the hippocampal BDNF density with a concomitant reduction of its receptor, TrkB, which is correlated with age-related cognitive impairment. In middle-aged rats, an increase in the precursor of BDNF, pro-BDNF, was found in the treadmill running 7 days/week, but a slight increase in TrkB in the treadmill running 1 day/week could explain the reversal of age-related memory recognition impairment. In adult rat, we found an increase in pro-BDNF and BDNF in the treadmill running 1 day/week and a reduction of TrkB in all groups submitted to treadmill running. Despite these changes promoted by physical exercise in the adult rats does not influence the performance in the learning and memory tasks, reduced TrkB could have contributed to the animals submitted to exercise training did not show higher cognitive performance than the sedentary group. Thus, the treadmill running frequency and age affect responses in the memory tasks and in hippocampal neurotrophic adaptations. The third study investigated the effect of physical exercise just 1 day/week to exhaustion versus 3 days/week at moderate intensity in adult rats. The treadmill running caused anxiety-related behavior, independent of exercise protocol. The running 1 day/week to exhaustion caused a reduction in exploratory and locomotor behavior and impairment in recognition memory. Thus, the practice of exercises 1 day/week until exhaust, as seen in so-called "weekend athletes", changes the behavior and impairs memory. In conclusion, this thesis shows the importance to control exercise frequency for a better understanding of its responses in the CNS and behavior according to the age.



## LISTA DE ABREVIATURAS

**5'NT** – 5' nucleotidase

**A<sub>1</sub>** – Receptor de adenosina do tipo 1

**A<sub>2A</sub>** – Receptor de adenosina do tipo 2A

**A<sub>2B</sub>** – Receptor de adenosina do tipo 2B

**A<sub>3</sub>** – Receptor de adenosina do tipo 3

**AC** – Adenilato ciclase

**ADK** – Adenosina cinase

**AMP** – Adenosina monofosfato

**AMPc** – Adenosina monofosfato cíclico

**ATP** – Adenosina trifosfato

**AVC** – Acidente vascular encefálico

**BDNF** – Fator neurotrófico derivado do encéfalo

**D<sub>2</sub>** – Receptor de dopamina do tipo 2

**EctoN** - Ectonucleotidase

**ENT** – Transportador reverso de nucleosídeos

**FC<sub>máx</sub>** – Frequência cardíaca máxima

**IGF-I** – Fator de crescimento semelhante a insulina do tipo 1

**NGF** – Fator de crescimento neural

**NMDA** – N-metil-D-aspartato

**SNC** – Sistema Nervoso Central

**TrkB** – Receptor de tirosina cinase do tipo B

**VEGF** – Fator de crescimento endotelial vascular

**VO<sub>2máx</sub>** – Consumo máximo de oxigênio

## **PARTE I**

## **1. INTRODUÇÃO**

### **1.1. A importância do exercício físico**

A importância de manter um bom condicionamento físico retorna aos primórdios da humanidade. No período denominado Pré-Histórico o homem dependia de sua força, velocidade e resistência para sobreviver. Sua constante migração em busca de moradia e alimento fazia com que realizasse intermináveis caminhadas diárias, ao longo das quais lutava, caçava, corria e saltava, ou seja, era um ser extremamente ativo. Porém, foi na antiga Grécia, onde o culto pelo corpo e as constantes guerras foram importantes no desenvolvimento de ginásticas e métodos de preparação física. As atividades físicas desta época eram voltadas para o exibicionismo público, na preparação de gladiadores para a guerra ou para lutas em arenas (Pitanga, 2002). Deste então, a área do exercício e condicionamento físico foi ganhando grande importância na preparação de atletas, com o surgimento constante de métodos de prescrição de exercícios que foram capazes de derrubar recordes a cada olimpíada disputada pelo homem (Dantas, 1995).

Contudo, o exercício físico sistemático não tem sido parte somente da rotina de atletas, mas também de indivíduos que buscam saúde e bem estar. Este novo perfil de praticantes de exercícios físicos se deve ao fato da atividade física aumentada estar relacionada à redução de doenças cardiovasculares, diabetes, câncer e mortalidade em geral (Roberts e Barnard, 2005). Um dos primeiros estudos a encontrar essa relação foi realizado em Londres, entre 1930 e 1932, em que foram analisados os óbitos de diversas categorias de trabalhadores. Nesse estudo foi demonstrado que os trabalhadores que despendiam uma grande demanda energética em suas jornadas diárias, a incidência de mortalidade por doença cardiovascular, câncer e diabetes estava reduzida (Morris e Heady, 1953).

A partir deste levantamento londrino, houve um crescimento substancial no interesse em estudar os efeitos da atividade física sobre o organismo e sua relação com as

doenças crônico-degenerativas. Atualmente, têm sido utilizadas duas condições para avaliar os efeitos sobre a mortalidade e doenças crônico-degenerativas: comportamento sedentário, que é um conjunto de atividades realizadas com um dispêndio energético próximo do basal (1,0 a 1,5 METs), como, por exemplo, aquelas realizadas na posição sentada; e inatividade física, que é uma quantidade de atividade física inadequada para atingir as metas para a saúde, como, por exemplo, um acúmulo maior de 150 minutos por semana (Proper e col., 2011).

As doenças cardiovasculares representam a primeira causa de morte em homens e mulheres de países em desenvolvimento, sendo o aumento na inatividade física um dos maiores fatores de risco (Roberts e Barnard, 2005). Quando comparado a indivíduos fisicamente ativos, sedentários apresentam o dobro do risco de desenvolvimento destas doenças (Powell e colaboradores, 1987). Adicionalmente, atividades físicas mais intensas possuem um fator de proteção maior do que as atividades físicas mais leves (Archer e Blair, 2011). Desta forma, o simples aumento no nível de atividade física diária reduz o risco de doença cardiovascular e a inclusão em programas de exercícios físicos mais intensos apresentam um impacto ainda maior na redução desse risco (Blair e colaboradores, 1996; Lakka e colaboradores, 2001; Manson e colaboradores, 1991).

Outra forma de exercício físico é o treinamento de força, frequentemente chamado de musculação, que mostrou ser benéfico no tratamento e prevenção do *diabetes mellitus* (Ericksson e colaboradores, 1997). Os benefícios da atividade física na prevenção e tratamento não farmacológico do *diabetes mellitus* se devem em parte ao melhor controle glicêmico verificado com o exercício físico regular e intenso (Miller e colaboradores, 1984). Modificações no comportamento e no estilo de vida também são capazes de reduzir a incidência desta doença (DPP, 2002). O efeito protetor de um aumento do nível de atividade física sobre o sistema cardiovascular parece estar associado a um melhor controle

da glicemia, pressão arterial, perfil lipídico, oxidação lipídica e inflamação (Roberts e Barnard, 2005).

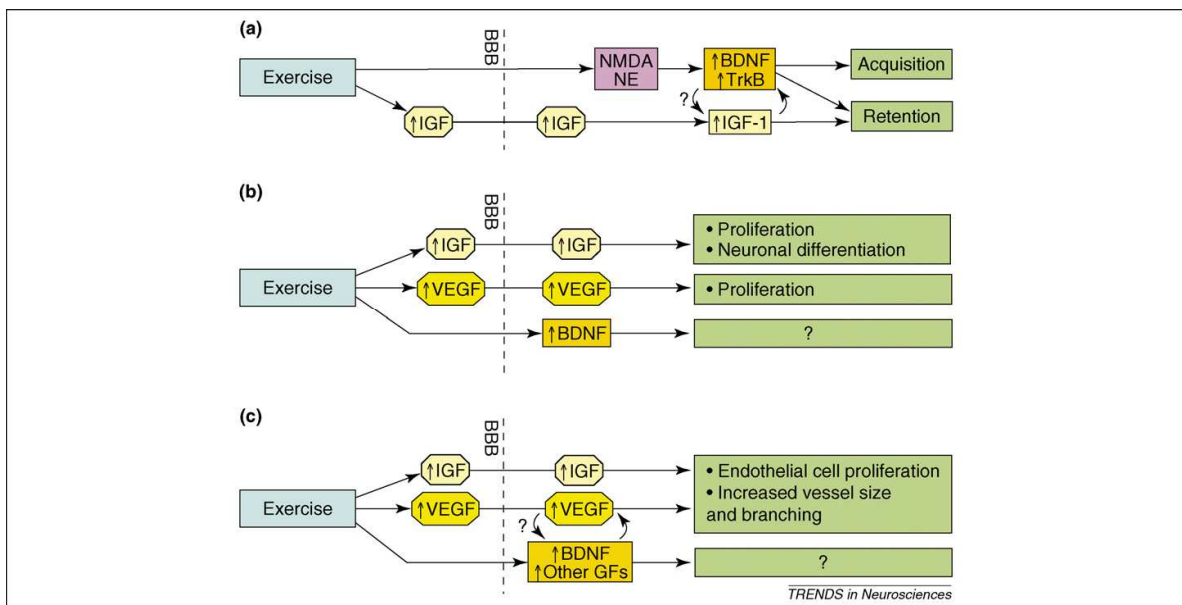
O câncer é uma doença com alto custo direto e indireto em seu tratamento, sendo a segunda maior causadora de morte (Arias e colaboradores, 2001). Similarmente as outras doenças crônico-degenerativas, a quantidade e intensidade das atividades físicas regulares reduzem o risco de desenvolvimento de câncer de cólon, próstata e pulmão (Thune e Furberg, 2001). Pessoas fisicamente ativas parecem manter os níveis de IGF-I (fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1) e hormônios sexuais dentro dos valores considerados normais e isto poderia explicar o menor risco de câncer em indivíduos fisicamente ativos (Roberts e Barnard, 2005).

Os efeitos do exercício físico sobre o sistema nervoso central (SNC) passaram a ser mais pesquisados quando houve um crescimento na população mundial de idosos e com isso um concomitante aumento nas doenças relacionadas ao envelhecimento do sistema nervoso central, como declínio cognitivo, depressão e ansiedade, e maior risco do desenvolvimento da doença de Parkinson e Alzheimer (Chen e colaboradores, 2005; Cotman e Berchtold, 2002; Hamer e Chida, 2009; Kramer e colaboradores, 2006; Larson e colaboradores, 2006; van Praag, 2009; Xu e colaboradores, 2010).

Em um estudo de coorte, Chen e colaboradores (2005) acompanharam 48574 homens e 77254 mulheres e compararam os casos de Parkinson com a atividade física. Concluíram que homens que praticavam exercícios vigorosos ao longo da vida reduziam em até 60 % o risco de desenvolvimento da doença de Parkinson. Além disso, estudos clínicos verificaram que o exercício físico é fundamental para melhorar a função motora, a deambulação e as tarefas diárias nos pacientes com a doença de Parkinson (Garber e Friedman, 2003; Goede e colaboradores, 2001).

O Alzheimer é outra doença neurodegenerativa associada à idade caracterizada pelo acúmulo de placas  $\beta$ -amilóide, perda neuronal, déficit na função colinérgica e deterioração cognitiva. Um dos fatores que podem reduzir o risco do aparecimento desta doença e melhorar o declínio cognitivo associado ao Alzheimer é o exercício físico regular (Pope e colaboradores, 2003).

Os possíveis efeitos benéficos do exercício físico regular sobre o SNC poderiam ser explicados por uma maior proteção contra o prejuízo causado por um aumento prolongado das espécies reativas de oxigênio (Ogonovszky e colaboradores, 2005; Radak e colaboradores, 2006), um aumento na neurogênese (During e Cao, 2006; Fabel e colaboradores, 2003; van Praag e colaboradores, 1999), aumento no fator neurotrófico derivado do encéfalo, do inglês *brain-derived neurotrophic factor* (BDNF), (Berchtold e colaboradores, 2005; Huang e colaboradores, 2006; Neeper e colaboradores, 1995; Vaynman e colaboradores, 2006) e maior vascularização encefálica (Isaacs e colaboradores, 1992). A figura 1 resume os possíveis mecanismos que fazem do exercício físico um fator essencial para a boa saúde do SNC.



**Figura 1. Mecanismos celulares propostos para os benefícios do exercício físico para o SNC.** (a) Aprendizagem e memória, (b) neurogênese e (c) vascularização. IGF-1, fator de crescimento semelhante a insulina 1; BDNF, fator de crescimento derivado do encéfalo; TrkB, receptor tirosina cinase do tipo B; VEGF, fator de crescimento endotelial vascular; NMDA, receptor N-metil-D-aspartato; NE, receptor de noradrenalina; GFs, fatores de crescimento (Cotman e colaboradores, 2007).

O aumento das doenças crônico-degenerativas nos países em desenvolvimento poderia ser explicado pela redução da demanda energética nas atividades de trabalho e lazer promovidas pela constante tecnologia aplicada para facilitar a vida do homem moderno (Arias e colaboradores, 2001; Powell e colaboradores, 1987; Sesso e colaboradores, 2000). Desta forma, o emprego de máquinas tecnológicas que tem aumentado a produção em muitos setores, reduziu o trabalho braçal do homem e contribuiu para a redução nos níveis de atividade física. Para compensar essa redução proporcionada pela evolução tecnológica, o homem moderno tem participado de programas de condicionamento físico visando a saúde e bem estar.

A recomendação de atividade física para manter e promover a saúde em indivíduos entre 18 e 65 anos de idade é de 30 minutos de exercício físico moderado na maioria dos dias da semana ou atividades vigorosas por pelo menos três vezes por semana. Exercícios aeróbicos e de fortalecimento devem fazer parte da rotina semanal para estimular os benefícios sobre todos os sistemas do corpo humano (Garber e colaboradores, 2011; Haskell e colaboradores, 2007). No entanto, a quantidade adequada e a intensidade dos exercícios físicos para promoção da saúde ainda é controversa. A participação em esportes e atividades físicas intensas, com frequência de apenas uma vez por semana, como visto nos dias de folga ou nos finais de semana, proporciona ganhos na aptidão cardiorrespiratória (Pollock e colaboradores, 1977; Ross e McGuire, 2011). Entretanto, uma participação irregular em esportes e programas de exercícios físicos, principalmente os de alta intensidade e volume aumentam os riscos de lesões músculo-esqueléticas, disfunções fisiológicas e até mesmo a ocorrência de morte súbita (Dahabreh e Paulus, 2011; Pollock e colaboradores, 1977; Souza-Rabbo e colaboradores, 2003). Por outro lado, o exercício físico excessivo sem controle dos estímulos e intervalos de recuperação adequados, contribui para transtornos comportamentais e lesões ortopédicas que prejudicam a

qualidade de vida e a saúde (Kuipers e Keizer, 1988; Rietjens e colaboradores, 2005). Desta forma, apesar das clássicas recomendações de exercício físico de muitas entidades mundiais, como o Colégio Americano de Medicina do Esporte (ACSM, 1998; 2009), ainda necessitamos de conhecimentos sobre a interação das variáveis: frequência, duração e intensidade sobre o comportamento, bem estar e o funcionamento de muitos sistemas fisiológicos, principalmente quando levamos em consideração a disponibilidade de tempo para a pessoa se exercitar e suas particularidades físicas e psicológicas.

## **1.2. O envelhecimento**

O envelhecimento, também chamado de senescência, pode ser conceituado como uma deterioração estrutural e funcional dos sistemas fisiológicos devido à incapacidade de adaptação celular ao longo dos anos, acarretando em maiores riscos de lesões e doenças crônicas (Balcombe e Sinclair, 2001; Lata e Alia, 2007). De acordo com o IBGE, a porcentagem de brasileiros com mais de 60 anos na década de 40 era de aproximadamente 4%. Os levantamentos atualizados apontam para 2020 uma estimativa de que 12% da população estará nessa faixa etária. Além do envelhecimento da população total, a proporção de pessoas com idade acima de 80 anos está aumentando substancialmente. No ano de 2007 a porcentagem deste grupo etário atingiu 1,4% da população brasileira, algo em torno de 1,6 milhões de pessoas.

O aumento da dependência nas tarefas cotidianas verificada nas pessoas com idade avançada está correlacionada com a redução do consumo máximo de oxigênio ( $VO_2max$ ) e da força muscular. Essa redução funcional é potencializada com o sedentarismo, aumentando muito o risco de quedas e as conseqüentes fraturas associadas à perda óssea. Contudo, um programa regular de exercícios físicos iniciado na juventude ou até mesmo na



terceira idade pode atenuar e, em alguns casos, reverter as reduções fisiológicas decorrentes do envelhecimento (ACSM, 2009; Frontera e colaboradores, 2001).

Assim como os demais sistemas do corpo humano, o sistema nervoso central também é afetado com o envelhecimento, acarretando em deterioração de muitas de suas funções (Riddle, 2007). Além disso, o envelhecimento é considerado o principal fator de risco para as doenças neurodegenerativas, tais como a Doença de Alzheimer (Ferri e colaboradores, 2005) e a doença de Parkinson (Schapira e Jenner, 2011). Como mencionado anteriormente, estudos epidemiológicos demonstram que a atividade física regular reduz o risco de desenvolvimento destas doenças (Chen e colaboradores, 2005; Hamer e Chida, 2009; Larson e colaboradores, 2006; Xu e colaboradores, 2010). A atrofia hipocampal e cortical, assim como o declínio cognitivo, características evidentes nos idosos, podem ser atenuadas com a inclusão ou manutenção de um alto nível de atividade física ao longo da vida (Hillman e colaboradores, 2008; Van Praag, 2009).

Parte dos efeitos positivos do exercício físico sobre o sistema nervoso central se deve ao aumento de fatores neurotróficos, como o BDNF, NGF e IGF-1 (Cotman e Berchtold, 2002; Farmer e colaboradores, 2004; Gomez-Pinilla e colaboradores, 2008; Neeper e colaboradores, 1995, 1996; Vaynman e colaboradores, 2004), que facilitam a formação de novos neurônios, promovem a plasticidade sináptica e aumentam o crescimento e a proteção da neurovasculatura (Chen e colaboradores, 1995; Creer e colaboradores, 2010; Farmer e colaboradores, 2004; Sonntag e colaboradores, 2005; Swain e colaboradores, 2003; Van Praag e colaboradores, 1999a,b, 2005), que estão alterados com o envelhecimento. Apesar de o exercício físico ser considerado um meio eficaz e de baixo custo na promoção de um envelhecimento com independência e saúde, ainda são necessários estudos para chegarmos à conclusão da quantidade ideal de exercícios físicos para pessoas idosas. Isso se torna particularmente relevante considerando que a prática

descontrolada de exercícios físicos aumenta os riscos de lesões ortopédicas nessa população (Frontera e colaboradores, 2001).

### **1.3. Exercício físico e ansiedade**

Com o avanço tecnológico, assim como as pressões sociais, políticas e econômicas, houve um crescimento nos distúrbios mentais. O ser humano pode experimentar basicamente três emoções principais, em resposta a uma situação ameaçadora: raiva dirigida para fora (o equivalente à cólera), raiva dirigida contra si mesmo (depressão) e ansiedade ou medo. A ansiedade é considerada um estado emocional transitório e que representa uma resposta à percepção de uma situação ameaçadora estando ou não presente o perigo real. Esse transtorno atinge a população geral, nas mais variadas categorias sócio-econômicas, com maior prevalência nas mulheres e, geralmente, em indivíduos acima de 18 anos de idade. Nas pessoas acima de 55 anos de idade a prevalência de ansiedade varia de 1,2 a 15%. Fatores genéticos, ambientais e de experiências vividas, durante o desenvolvimento da personalidade parecem estar associados à ansiedade clínica. Embora com custos elevados, o tratamento normalmente consiste de psicoterapia e farmacoterapia (Araújo e colaboradores, 2007; Bryant e colaboradores, 2008; Kyrios e colaboradores, 2011; Mello e colaboradores, 2005).

O exercício físico regular tem sido considerado uma estratégia de baixo custo que pode produzir efeitos antidepressivos e ansiolíticos, bem como proteger o organismo dos efeitos prejudiciais do estresse na saúde física e mental (Bhui e Fletcher, 2000; Dunn e colaboradores, 2001; Goodwin, 2003). Porém, os efeitos do exercício físico sobre a ansiedade, principalmente em roedores, não são consistentes (Burghardt e colaboradores, 2004; Fuss e colaboradores, 2010; Greenwood e colaboradores, 2006; Leasure e Jones,

2008; Pietropaolo e colaboradores, 2008; Van Hoomissen e colaboradores, 2004), sendo a diversidade metodológica aplicada nos estudos uma das causas desta controvérsia.

Morgan e colaboradores (1973) estudaram o efeito agudo de 15 minutos de corrida até a exaustão e concluíram que a ansiedade diminuía abaixo da linha basal imediatamente após a corrida, e permanecia diminuída por mais 20 minutos em homens considerados normais e com ansiedade neurótica. O'Connor e colaboradores (1995) demonstraram que as respostas de ansiedade ao exercício máximo dependem do nível de ansiedade que o indivíduo apresentava antes de iniciar um programa de exercício e do tempo de recuperação após esse exercício. Nos primeiros cinco minutos após o exercício, o nível de ansiedade é elevado e só diminui quando se atingem 10-15 minutos da sua realização. A intensidade em que o exercício físico deve ser realizado foi estudada por Raglin e Wilson (1996) em quinze adultos de ambos os sexos após 20 minutos de bicicleta ergométrica. Foi observado que intensidades elevadas aumentaram os níveis de ansiedade, permanecendo elevados por algumas horas após o término do exercício. O efeito crônico do exercício físico sobre a ansiedade foi estudado em indivíduos deficientes (Coyle e Santiago, 1995) submetidos a 12 semanas de treinamento físico. Os resultados demonstraram que o exercício aeróbio melhora a aptidão e diminui os sintomas depressivos. Esta redução pode ser o resultado de mecanismos fisiológicos e/ou comportamentais associados com exercício aeróbio. Um estudo conduzido por Lopes (2001) observou os efeitos de 8 semanas de exercício físico aeróbio nos níveis de serotonina e depressão em mulheres entre 50 e 72 anos. Os resultados indicaram que houve redução do percentual de gordura e dos níveis plasmáticos de serotonina, sugerindo que esta relação entre exercício físico e a mobilização de gordura proporciona as participantes uma melhora no estado de humor.

Após uma sistemática revisão da literatura, Herring e colaboradores (2010) concluíram que o exercício físico regular realizado por 30 minutos na maioria dos dias da

semana reduz a ansiedade em pacientes com doenças crônicas. Porém, uma revisão realizada por Rosenbaum e Sherrington (2011) demonstrou que uma variedade de frequências, durações e intensidades do exercício físico são capazes de proporcionar um bem estar mental.

Os estudos analisando os efeitos do exercício físico sobre comportamentos semelhantes à ansiedade em roedores apresentam redução (Greenwood e colaboradores, 2003), nenhum efeito (Pietropaolo e colaboradores, 2008) ou até mesmo aumento (Burghardt e colaboradores, 2004; Leasure e Jones, 2008; Van Hoomissen e colaboradores, 2004). Esta controvérsia pode ser atribuída aos protocolos de exercício físicos adotados. O exercício físico realizado em argolas, conhecido como voluntário é amplamente difundido no meio científico. Contudo, este tipo de exercício dificulta o controle da duração, intensidade e frequência com que o exercício é realizado pelo animal, ocorrendo uma enorme variabilidade em cada grupo estudado. O uso da esteira rolante tem crescido muito, principalmente pela facilidade de controlar todas as variáveis que podem influenciar nas respostas ao exercício físico. Apesar da corrida em esteira ser considerada mais estressante para o animal do que a corrida em argolas, Leasure e Jones (2008) mostraram que os níveis de corticosterona, considerado um marcador de estresse, não foi diferente entre os grupos que se exercitaram em argolas ou na esteira rolante após 8 semanas de treinamento. Neste mesmo estudo foi verificado um comportamento semelhante à ansiedade nos animais submetidos à corrida em esteira, supondo mais um efeito do exercício físico *per se* do que uma resposta ao estresse inerente à corrida em esteira.

Estudando os dois tipos de protocolo de exercício físico, Burghardt e colaboradores (2004) encontraram após 8 semanas de treinamento, um efeito semelhante à ansiedade nos ratos submetidos ao exercício voluntário (livre acesso) e nenhum efeito nos ratos submetidos ao exercício em esteira (5 dias por semana, 45 minutos por sessão, 20

metros/minutos com inclinação de 5%). Fuss e colaboradores (2010) também encontraram um comportamento semelhante à ansiedade em camundongos submetidos a 3 semanas de exercício voluntário. Fulk e colaboradores (2004) submeteram ratos a 10 semanas de corrida em esteira (5 dias por semana, 45 minutos por sessão com intensidade moderada) e encontraram um efeito ansiolítico do exercício físico.

Assim sendo, o uso de esteira em roedores para estudar os efeitos do exercício físico sobre a ansiedade pode contribuir para responder questões essenciais para a prescrição de programas de exercícios que sejam eficazes em combater ou melhorar os níveis de ansiedade que afeta a população moderna, dando ao profissional de educação física subsídios para prescrições cada vez mais individualizadas e eficazes.

#### **1.4. Exercício físico e memória**

A memória é a capacidade de adquirir, armazenar, conservar e recuperar informações ao longo da vida, sendo classificadas como declarativas e não declarativas. Podemos chamar a memória declarativa como aquela em que nos lembramos e podemos descrever algo, ou seja, depende de nossa consciência. Já a memória não declarativa é conhecida como memória motora, pois não dependemos da consciência para realizar tarefas aprendidas como escrever, caminhar ou andar de bicicleta. Também podemos classificar a memória de acordo com o seu tempo de duração. A memória de trabalho, também chamada de memória operacional, dura pouquíssimos minutos e é fundamental quando precisamos fazer algo muito rápido, como por exemplo, guardar o número de telefone de alguém até o momento de discar e, em seguida, esquecer. A memória de curta duração serve para leituras ou conversas, por exemplo, e dura até algumas horas. Estes dois tipos de memória não requerem modificação na expressão gênica ou síntese protéica, mas sim a atividade elétrica de neurônios localizados no córtex e hipocampo. O que guardamos e podemos lembrar por

muito tempo, como muitos dias, meses e até mesmo anos é chamado de memória de longa duração. Este tipo de memória envolve modificações gênicas e expressão protéica para conservar estruturalmente a informação referente a elas em sinapses modificadas em diversas regiões cerebrais (Izquierdo, 2011).

As fases de aquisição, consolidação e evocação da memória podem ser afetadas por muitos fatores dentre os quais a composição da dieta (Molteni e colaboradores, 2002a), estresse (Mello e colaboradores, 2008), fármacos (Mioranza e colaboradores, 2011), isquemia encefálica (Hodges e colaboradores, 1997), lesões em algumas regiões encefálicas (Aggleton e colaboradores, 2010; Hartman e colaboradores, 2005), Alzheimer e demências (Light, 1991) e o envelhecimento (Clark e colaboradores, 2006, van Praag, 2009). Desta forma, o estudo de alternativas que melhorem a capacidade de aprendizagem e memória de populações com desempenhos cognitivos afetados por alguma variável descrita acima se torna essencial.

O exercício físico tem sido considerado fundamental para a função cognitiva, sendo verificados os melhores desempenhos em tarefas de aprendizado e memória em humanos e animais submetidos a um treinamento físico ou com alto nível de atividade física (Berchtold e colaboradores, 2010; Colcombe e Kramer, 2003; Cotman e colaboradores, 2007; Kramer e colaboradores, 1999; Ruscheweyh e colaboradores, 2011; Winter e colaboradores, 2007). Além disso, estudos têm demonstrado que há uma estreita correlação entre a capacidade cardiorrespiratória e o desempenho cognitivo em humanos (Swardfager e colaboradores, 2010, 2011). Assim sendo, parece que para obter benefícios cognitivos o programa de exercício físico deve ser estruturado para provocar aumentos na capacidade cardiorrespiratória, controlando variáveis como distância, tempo, intensidade e frequência da atividade física, essenciais para aumentar a eficiência e reduzir os riscos do treinamento físico.

Entretanto, nem todos os estudos confirmam os efeitos benéficos do exercício físico sobre o desempenho cognitivo, principalmente em roedores. Essas diferenças podem estar relacionadas às diferentes metodologias aplicadas, aos modelos animais e às tarefas utilizadas para avaliar o desempenho cognitivo. O exercício físico realizado em esteira rolante durante 30 dias (3 vezes por semana, 20 minutos por dia) não modificou o desempenho de ratas adultas em tarefas de aprendizagem e memória, mas evitou o déficit cognitivo em ratas ovariectomizadas (Ben e colaboradores, 2010). Outro estudo analisando os efeitos da corrida moderada em esteira (50 minutos, 5 dias/semana a 60-75%  $VO_2max$ ) sobre a memória de reconhecimento de ratos adultos demonstraram que 2 semanas de treinamento causava um prejuízo neste tipo de memória, enquanto que 8 semanas de treinamento não proporcionava nenhum efeito quando comparado ao grupo controle (Mello e colaboradores, 2008).

Na análise comparativa entre os efeitos de 4 semanas de exercício voluntário (livre acesso) e exercício forçado (esteira, 5 dias por semana, 60 minutos com velocidade de 10 metros/minuto), Liu e colaboradores (2009) demonstraram que ambos os treinamentos foram capazes de melhorar a memória espacial. Porém, somente o treinamento em esteira foi capaz de melhorar a memória aversiva. Além disso, somente o treinamento realizado em esteira foi capaz de aumentar a atividade da citrato sintase, uma enzima presente no músculo esquelético cuja atividade está relacionada à capacidade aeróbia. Desta forma, podemos dizer que outros fatores podem influenciar na resposta do exercício voluntário sobre a aprendizagem e memória, visto que este tipo de treinamento pode não melhorar a condição cardiorrespiratória dos sujeitos submetidos ao treinamento.

Os modelos animais utilizados nos estudos também podem influenciar nas conclusões definitivas sobre o assunto, visto que as respostas positivas do exercício físico são mais evidentes quando os animais submetidos ao treinamento físico possuem algum

comprometimento cognitivo (Adlard e colaboradores, 2011; Aguiar e colaboradores, 2009; Ben e colaboradores, 2010; Griesbach e colaboradores, 2009; Hoveida e colaboradores, 2011; Kim e colaboradores, 2010; Reisi e colaboradores, 2009; van Praag e colaboradores, 2005).

Desta forma, ainda são necessários estudos sobre como o exercício físico pode afetar a resposta cognitiva em cada população, considerando a variabilidade nos programas de condicionamento físico visando a saúde, lazer ou até mesmo o desempenho em alguma modalidade esportiva, especialmente no que diz respeito à duração, distância, intensidade e frequência da atividade física. O conhecimento da interação dessas variáveis, ou a sua combinação pode auxiliar os profissionais nos cuidados de pessoas com prejuízo cognitivo. Isso é particularmente relevante na população idosa, que vem crescendo significativamente nos países em desenvolvimento e que precisam preservar as funções cognitivas, muito afetadas pelo processo de envelhecimento.

### **1.5. Exercício e neurotransmissão**

Os neurotransmissores são substâncias químicas liberadas por neurônios pré-sinápticos na fenda sináptica transmitindo informações para outras células através de suas ações em receptores especializados sendo imediatamente re-captados por transportadores específicos. A importância deste mecanismo é tão relevante que defeitos na transmissão sináptica podem levar às doenças neurológicas e contribuir para o desenvolvimento das doenças neurodegenerativas (revisado em: van Spronsen e Hoogenraad, 2010; Waites e Garner, 2011). O exercício físico agudo e crônico modifica alguns dos sistemas de neurotransmissão (Meeusen e De Meirleir, 1995; Meeusen e colaboradores, 1997).

O glutamato, por exemplo, principal neurotransmissor excitatório do SNC de mamíferos, é essencial para o desenvolvimento encefálico, comunicação celular e processos



de aprendizagem e memória (Izquierdo e colaboradores, 2006; Segovia e colaboradores, 2001; Stevens, 2008). Entretanto, a estimulação excessiva dos receptores glutamatérgicos, decorrente de níveis elevados de glutamato na fenda sináptica, contribui para diversos distúrbios agudos (AVC, convulsão, trauma) e crônicos (demência vascular, doenças neurodegenerativas e psiquiátricas) que acometem o SNC (Chao e colaboradores, 2010; Danbolt, 2001; Dong e colaboradores, 2009; Eulenburg e Gomez, 2010; Maragakis e Rothstein, 2004; Sheldon e Robinson, 2007; Swanson e colaboradores, 2004; Tzingounis e Wadiche, 2007). A expressão de genes no hipocampo relacionados ao sistema glutamatérgico estão aumentados enquanto os relacionados ao sistema GABAérgico estão reduzidos após exercício voluntário agudo e crônico em roedores (Molteni e colaboradores, 2002b). Um estudo demonstrou que 30 dias de exercício voluntário aumenta em densidades pós-sinápticas corticais de camundongos o imunoconteúdo do receptor de glutamato subunidade do tipo 1 e tipo 2/3 (GluR1 e GluR2/3, respectivamente), a proteína 97 associada a sinapse (SAP-97), a proteína de interação do receptor de glutamato tipo 1 (GRIP-1), a proteína de densidade pós-sináptica 95 kDa (PSD-95) e a subunidade fosforilada do receptor *N*-metil-d-aspartato tipo 1 e 2B (p-NMDAR1 e p-NMDAR2B, respectivamente) (Dietrich e colaboradores, 2005).

Um protocolo de treinamento em esteira (6 meses, 5 dias/semana, 30 min/dia) causou uma redução na captação de colina, porém foi encontrada uma maior ligação com os receptores muscarínicos no hipocampo de ratos adultos e de meia idade (Fordyce e Farrar, 1991). Ratos submetidos a 2 horas de nado forçado apresentaram um aumento nos níveis circulantes de beta endorfina e na ligação dos receptores opióides em muitas áreas do encéfalo (Sforzo e colaboradores, 1986). Noradrenalina e serotonina são ativadas durante corrida ou atividade física (Chaouloff, 1989). O aumento nos níveis de serotonina está intimamente associado aos efeitos antidepressivos promovidos pelo exercício físico, sendo

muito semelhante às respostas de medicamentos antidepressivos (Babyak e colaboradores, 2000), tornando o exercício físico uma excelente ferramenta no tratamento de distúrbios depressivos.

O aumento da neurogênese e BDNF verificado após exercício físico parece estar associado à subunidade 1 do receptor NMDA, pois camundongos deletados geneticamente para este receptor não apresentaram os aumentos na neurogênese e BDNF induzidos pelo exercício físico (Kitamura e colaboradores, 2003). Desta forma, a modulação da sinapse glutamatérgica mediada pelo exercício físico pode estar associada aos efeitos positivos da atividade física sobre a saúde mental.

Todos estes neurotransmissores descritos são fundamentais apenas para os processos de plasticidade sináptica e aprendizagem, e também regulam a neurogênese (Brezun e Daszuta, 1999; Dawirs e colaboradores, 1998; Malberg e colaboradores, 2000; Radley e Jacobs, 2002; Santarelli e colaboradores, 2003), fazendo-os essenciais para o bom funcionamento do SNC.

Apesar da importância dos neurotransmissores e dos efeitos do exercício físico, esta tese irá abordar o sistema adenosinérgico, considerado um neuromodulador que através de seus receptores controla a transmissão sináptica de muitos neurotransmissores (Cunha, 2001).

## **1.6. Sistema adenosinérgico**

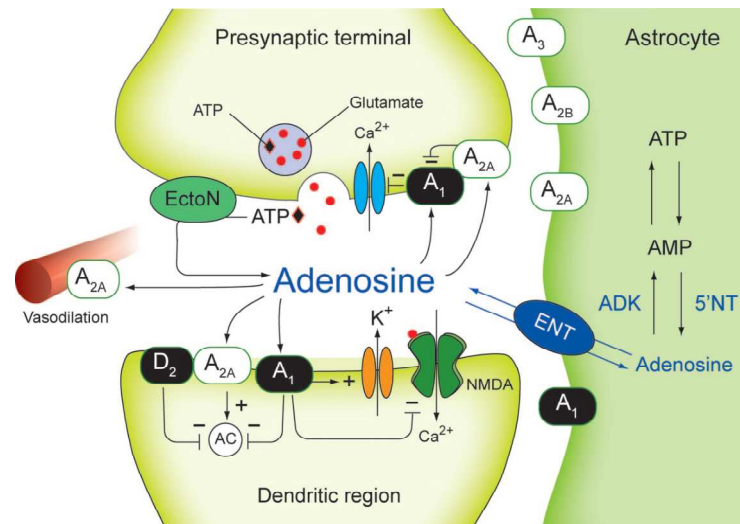
A adenosina é uma purina ribonucleosídeo ubíqua e essencial para as células vivas. Como consequência desta distribuição ubíqua e por causa de sua ligação ao pool energético, a adenosina também atua como um importante mensageiro para a sinalização extracelular. A adenosina é considerada um neuromodulador endógeno, pois embora não possa ser armazenada em vesículas sinápticas como os neurotransmissores clássicos, ela

exerce bastante influência em muitas funções no SNC tais como o controle da liberação de neurotransmissores e da excitabilidade neuronal (Fredholm e colaboradores, 2005). Porém, a adenosina por não ser um neurotransmissor clássico, não transfere informação unidirecionalmente do terminal pré-sináptico ao terminal pós-sináptico e não atua somente ou predominantemente nas sinapses (Cunha, 2001).

Três mecanismos são responsáveis pela formação de adenosina no meio extracelular:

- liberação por meio de transportadores de nucleosídeos presentes nas membranas celulares após um aumento de seus níveis intracelulares ou gradiente de sódio reverso;
- pela via das ectonucleotidases quando ocorre a liberação de nucleotídeos de adenina, especialmente adenosina trifosfato (ATP);
- e, finalmente, a partir da adenosina monofosfato cíclica (AMPC) após a sua liberação no meio extracelular (Dunwiddie e Masino, 2001; Latini e Pedata, 2001).

Os receptores de adenosina foram reconhecidos nos anos 70 pela capacidade das metilxantinas, teofilina e cafeína atuarem como antagonistas não seletivos (Fredholm, 1980). Até o presente momento, quatro diferentes subtipos de receptores de adenosina ( $A_1$ ,  $A_{2A}$ ,  $A_{2B}$  e  $A_3$ ) foram clonados e identificados em humanos e roedores, sendo que todos os subtipos são acoplados a proteínas G. Os receptores  $A_1$  e  $A_3$  estão acoplados a proteínas G inibitórias enquanto os receptores  $A_{2A}$  e  $A_{2B}$  estão acoplados a proteínas G estimulatórias (Fredholm e colaboradores, 2001).



**Figura 2. Representação esquemática da síntese de adenosina e seu mecanismo de ação no sistema nervoso central.** 5'NT – 5' nucleotidase; AC - adenilato ciclase; ADK - adenosina cinase; AMP – adenosina monofosfato; ATP - adenosina trifosfato; EctoN - ectonucleotidases; ENT – transportador de nucleosídeos; NMDA - N-metil-D-aspartato (Benarroch, 2008).

As ações da adenosina no SNC parecem ser mediadas principalmente pelos receptores  $A_1$  e  $A_{2A}$  que possuem elevada afinidade pela adenosina e são altamente expressos em diversas regiões do cérebro. O receptor adenosinérgico do subtipo  $A_1$  é o mais abundante no SNC, principalmente, na região do neocórtex, cerebelo, hipocampo e corno dorsal da coluna vertebral; enquanto que os receptores do subtipo  $A_{2A}$  são altamente expressos em neurônios pálido-estriatais e no bulbo olfatório, mas também são encontrados em outras regiões do cérebro, como o hipocampo (Fredholm e colaboradores, 2005).

A interação do sistema adenosinérgico com muitos sistemas de neurotransmissão, especialmente, o glutamatérgico e dopaminérgico pode modificar as respostas cognitivas e comportamentais (Cunha e colaboradores, 2008; de Mendonça e colaboradores, 1997; de Mendonça e Ribeiro, 1994; Gomes e colaboradores, 2011; Kuzmin e colaboradores, 1999; Shen e Chen, 2009). Camundongos com deleção gênica do receptor  $A_1$ , assim como o  $A_{2A}$ , apresentam aumento no comportamento semelhante à ansiedade (Giménez e colaboradores 2002; Johansson e colaboradores, 2001; Lang e colaboradores, 2003; Ledent e colaboradores, 1997). Além disso, a cafeína um antagonista não seletivo dos receptores de

adenosina, possui efeitos ansiogênicos (File e colaboradores, 1988; Florio e colaboradores, 1998; Jain e colaboradores, 1995).

A adenosina também participa dos processos de aprendizado e memória, pois agonistas dos receptores de adenosina  $A_1$  prejudicam a memória e aprendizagem em roedores (Homayoun e colaboradores, 2001; Normile e Barraco, 1991; Ohno e Watanabe, 1996; Zarrindast e Shafaghi, 1994); enquanto que o bloqueio não seletivo dos receptores de adenosina pela cafeína ou teofilina, assim como o bloqueio seletivo dos receptores  $A_1$  e  $A_{2A}$  facilitam a memória e aprendizagem nas tarefas de esquiva passiva (Kopf, 1999; Nehlig e colaboradores, 1992; Suzuki e colaboradores, 1993), esquiva inibitória (Pereira e colaboradores, 2002), no labirinto aquático de Morris (Angelucci e colaboradores, 2002; Dudley e colaboradores, 1994; Hauber e Bareiss, 2001) e tarefa de reconhecimento de objetos (Costa e colaboradores, 2008a,b). Também tem sido demonstrado que antagonistas do receptor  $A_{2A}$  podem prevenir a deterioração da memória que é verificada em animais idosos (Prediger e colaboradores, 2005a) e em modelos experimentais da doença de Alzheimer (Dall'Igna e colaboradores, 2007; Arendash e colaboradores, 2006).

O mecanismo proposto para a contribuição do sistema adenosinérgico na deterioração cognitiva e maior ocorrência de dano cerebral com o envelhecimento parece estar relacionado ao aumento do número de receptores  $A_{2A}$ , concomitantemente, com a redução do receptor  $A_1$  em animais envelhecidos (Cunha, 2001; Gomes e colaboradores, 2011; Takahashi e colaboradores, 2008). Desta forma, estimular o receptor  $A_1$  e bloquear o receptor  $A_{2A}$  pode ser consideradas estratégias neuroprotetoras.

Como visto anteriormente, o exercício físico agudo e crônico influenciam na liberação de muitos neurotransmissores (Meeusen e De Meirleir, 1995). Porém, a participação do sistema adenosinérgico que através da ação sobre o receptor  $A_1$  inibe enquanto que a ação sobre o receptor  $A_{2A}$  facilita a transmissão sináptica (Cunha, 2001),

poucos estudos investigaram a influência do exercício físico sobre este importante sistema de neuromodulação.

Em um estudo realizado em roedores por Davis e colaboradores (2003) foi verificado que a cafeína, um antagonista não seletivo dos receptores de adenosina, aumentou o tempo de corrida até a exaustão e a locomoção em arena de campo aberto, enquanto que um agonista de receptor  $A_1/A_{2A}$ , 5'-N-etilcarboxamidoadenosina (NECA), produziu efeitos opostos. Apesar da importância deste estudo para entender melhor a participação da cafeína via receptores de adenosina em retardar a fadiga durante o exercício físico, ainda não sabemos as respostas crônicas do exercício físico sobre este importante sistema de modulação no SNC.

Isto se torna fundamental visto que o exercício físico é considerado essencial para a saúde do SNC e um fator de proteção para muitos distúrbios comportamentais e doenças neurodegenerativas (Cotman e colaboradores, 2007; Deslandes e colaboradores, 2009) sendo que o sistema adenosinérgico está modificado nestas patologias ou distúrbios (Gomes e colaboradores, 2011).

### **1.7. O fator neurotrófico derivado do encéfalo (BDNF)**

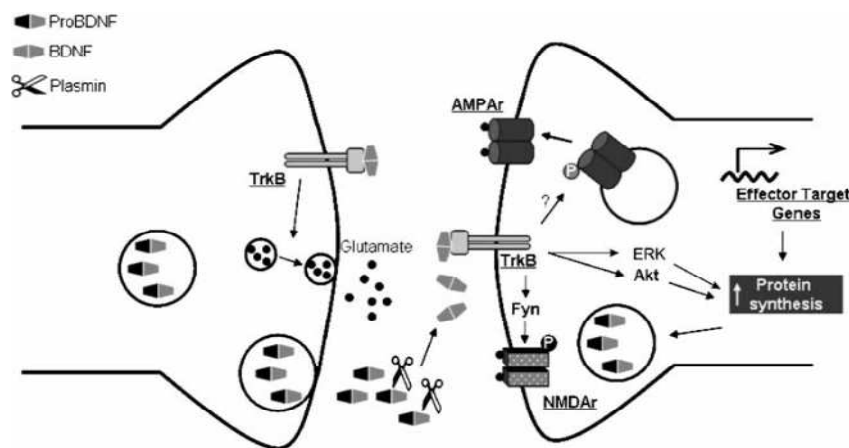
O fator neurotrófico derivado do encéfalo (*brain-derived neurotrophic factor* - BDNF) é membro de uma família de neurotrofinas que participa da regulação não só da estrutura, mas também da função e manutenção da sobrevivência de algumas populações de neurônios durante o desenvolvimento e na vida adulta (Lu e Chow, 1999; Poo, 2001; Tyler e Pozzo-Miller, 2003). Esse fator neurotrófico, também, é essencial para eventos de plasticidade neuronal e funções importantes como o aprendizado e memória (Tyler e colaboradores, 2002).

O BDNF é sintetizado intra ou extracelularmente a partir do seu precursor pró-BDNF, e exerce seus efeitos através da ativação de seu receptor TrkB, tirosina cinase do tipo B (Hashimoto, 2010). Defeitos na conversão do pró-BDNF para BDNF e sua consequente sinalização ao receptor TrkB contribui para disfunções cognitivas (Alonso e colaboradores, 2002, 2005; Barnes e Thomas, 2008; Bekinschtein e colaboradores, 2007; Egan e colaboradores, 2003; Greenberg e colaboradores, 2009; Minichiello, 2009; Poo, 2001; Tyler e colaboradores, 2002). A integridade deste sistema parece ser afetada pela idade, sendo correlacionados com os déficits em tarefas de aprendizagem e memória em roedores com idade avançada (Halbach, 2010; Kramer e colaboradores, 2006).

Muitas vias de sinalização parecem ser operadas pela ligação do BDNF ao receptor TrkB (Blanquet, 2000; Pizzorusso e colaboradores, 2000) e, dada a importância do funcionamento dessa sinalização para a manutenção das sinapses, o seu comprometimento tem sido observado em uma série de patologias do SNC, tais como, a Doença de Alzheimer e Parkinson, estresse agudo e crônico; bem como alterações normais que ocorrem durante o envelhecimento parecem coincidir com alterações nos níveis de BDNF (Enna e colaboradores, 2006; Laske e colaboradores, 2006; Lee e colaboradores, 2005; Hattiangady e colaboradores, 2005). A figura 3 mostra uma das ações do BDNF, sendo como exemplo a sinapse glutamatérgica.

Dessa forma, o BDNF tem sido proposto como uma estratégia de neuroproteção (Hennigan e colaboradores, 2007; Fumagalli e colaboradores, 2006a,b), mas a sua administração farmacológica ainda é difícil, devido a sua impermeabilidade à barreira hemato-encefálica (Wu e Pardridge, 1999). Por este motivo, outras vias de sinalização possíveis de serem moduladas pelo BDNF estão sendo investigadas e os receptores de adenosina sugerem participação, pois a ativação dos receptores  $A_{2A}$  facilita a transmissão sináptica pelo BDNF (Diógenes e colaboradores, 2004) e ambos receptores  $A_{2A}$  e TrkB são

co-imunoprecipitados (Lee e Chao, 2001). Neste mesmo estudo, foi observado que a adenosina e agonistas de seus receptores podem induzir a fosforilação do receptor TrkB com a participação do receptor  $A_{2A}$  (Lee e Chao, 2001). Embora os receptores de adenosina do subtipo  $A_{2A}$  serem encontrados predominantemente no estriado, o hipocampo também parece estar sob o controle neuromodulatório da adenosina (Sebastião e Ribeiro, 2000). Além disso, a ação excitatória do BDNF sobre a transmissão sináptica no hipocampo pode ser induzida pela despolarização pré-sináptica e é dependente da ativação do receptor  $A_{2A}$  através de um mecanismo que requer a formação de AMPc e ativação da proteína cinase A (PKA) (Diógenes e colaboradores, 2004).



**Figura 3. Ações do fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) na sinapse glutamatérgica.** O ProBDNF é secretado extracelularmente e através da plasmina convertido em BDNF para interagir com seus receptores pré e pós sinápticos TrkB. A nível pré-sináptico, o BDNF regula a liberação de glutamato, enquanto que a nível pós-sináptico ocorrem mudanças na síntese e fosforilação do receptor de glutamato, na expressão gênica e na síntese local de proteínas. Estes efeitos do BDNF influenciam a plasticidade sináptica e a morfologia e densidade espinhal (Carvalho e colaboradores, 2008).

Estudos têm demonstrado que o exercício físico altera os níveis e/ou expressão do BDNF e estas alterações tem sido correlacionadas com os benefícios cognitivos do exercício físico (Berchtold e colaboradores, 2001, 2002; Gomez-Pinilla e colaboradores, 2002; Farmer e colaboradores, 2004; Knaepen e colaboradores, 2010; Russo-Neustadt e colaboradores, 2004; Sartori e colaboradores, 2011). O exercício físico também aumenta o receptor do BDNF, TrkB (Liu e colaboradores, 2008, 2009), mas, até o momento não foram



encontradas modificações em seu precursor pró-BDNF (Sartori e colaboradores, 2011). A participação da sinalização do BDNF sobre os benefícios cognitivos do exercício físico é tão importante que o aumento na aquisição e retenção da memória mediada por um período de curto prazo de exercício voluntário é revertido com o bloqueio do receptor TrkB (Vaynman e colaboradores, 2004; 2006).

Entretanto, nem todos os estudos mostram aumentos no BDNF decorrente do exercício físico. Após 7 dias consecutivos de exercício físico, Ke e colaboradores (2011) analisaram o BDNF em ratos e encontraram um nível elevado no grupo que realizou o exercício voluntário e um nível reduzido no grupo submetido ao exercício em esteira. Outro estudo não encontrou aumento no BDNF após 3, 7 e 15 dias consecutivos de corrida em esteira (Ferreira e colaboradores, 2011). Lafenetre e colaboradores (2010) encontraram um aumento no BDNF hipocampal em camundongos submetidos ao exercício voluntário, mas não foi encontrada correlação entre esse aumento com o desempenho na tarefa de reconhecimento de objetos.

Por ser considerado um exercício forçado, a corrida em esteira pode aumentar os níveis séricos de corticosterona e com isso impedir aumentos no BDNF (Ke e colaboradores, 2011). Entretanto, aumento similar nos níveis de corticosterona foi encontrado após 10 dias de corrida em esteira de baixa e moderada intensidade, porém esse nível retornava aos valores basais após algumas horas, enquanto os níveis de BDNF continuavam aumentados (Soya e colaboradores, 2007). Além disso, outros estudos que utilizaram a corrida em esteira encontraram aumentos no BDNF após períodos longos de treinamento (Aguiar e colaboradores, 2008; Cechetti e colaboradores, 2008). Liu e colaboradores (2009) verificaram os efeitos do exercício voluntário versus forçado sobre a memória e a sinalização do BDNF em camundongos após 4 semanas de treinamento. Ambos os tipos de exercício melhoraram a memória espacial, mas somente a corrida em

esteira afetou positivamente a memória aversiva. Ambos os tipos de exercício aumentaram os níveis hipocampal de BDNF e TrkB, porém somente a corrida em esteira foi capaz de aumentar ambas as proteínas na amígdala, sendo este resultado associado à melhora na memória aversiva induzida pelo treinamento físico realizado em esteira.

Apesar de a esteira rolante ser considerada um agente de estresse em roedores, ela é uma ferramenta essencial para a determinação da quantidade e intensidade do exercício no meio científico. Desta forma, variáveis como distância, tempo, intensidade e frequência da atividade física podem ser controladas precisamente e com isso seus efeitos isolados ou combinados sobre a sinalização do BDNF e memória melhores estudados, principalmente em populações que sabidamente possuem um déficit cognitivo associado ao prejuízo da sinalização do BDNF.

## **PARTE II**

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1. Objetivo geral**

Investigar as respostas neuroquímicas (com ênfase em proteínas sinápticas) e comportamentais em ratos Wistar jovens na fase adulta e no envelhecimento, submetidos a um programa de oito semanas de corrida em esteira de diferentes frequências semanais.

### **2.2. Objetivos específicos**

2.2.1. Analisar o efeito das frequências semanais de 1, 3 ou 7 vezes por semana do exercício físico em esteira sobre a atividade exploratória e locomotora dos animais;

2.2.2. Verificar o efeito da frequência do exercício sobre o comportamento relacionado a ansiedade dos animais no labirinto em cruz elevado;

2.2.3. Analisar o impacto da frequência do exercício sobre dois tipos de memória: a memória de reconhecimento e a memória emocional dos animais por meio da tarefa de reconhecimento de objetos e esQUIVA inibitória;

2.2.4. Quantificar o imunocontéudo dos receptores de adenosina A<sub>1</sub> e A<sub>2A</sub> no hipocampo dos animais submetidos a esse programa de exercício e comparar com os animais sedentários;

2.2.5. Quantificar o imunocontéudo de BDNF, seu receptor TrkB, seu precursor proBDNF, no hipocampo dos animais submetidos a esse programa de exercício e comparar com os animais sedentários.

2.2.6. Avaliar o efeito de 8 semanas de corrida em esteira até a exaustão realizada apenas 1 dia/semana treinamento sobre a atividade locomotora, exploratória, comportamento associado à ansiedade e sobre o desempenho em tarefas de aprendizagem e memória.

### **PARTE III**

## **CAPÍTULO 1**

**Artigo publicado no periódico Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological  
Psychiatry**

**INSERIR ARTIGO 1 A PARTIR DESTE PONTO, QUE TEM 7 PÁGINAS  
(ESTA E MAIS 6 EM BRANCO EM SEGUÊNCIA NO DOCUMENTO)**















## **CAPÍTULO 2**

**Artigo publicado no periódico Neuroscience**

**INSERIR ARTIGO 2 A PARTIR DESTE PONTO, QUE TEM 10 PÁGINAS  
(ESTA E MAIS 9 EM BRANCO EM SEGUÊNCIA NO DOCUMENTO)**























## **CAPÍTULO 3**

### **Resultados preliminares em forma de artigo**

# Exercício físico crônico e intenso realizado apenas uma vez por semana em esteira modifica o comportamento de ratos adultos

Marcelo S. Costa, Ana Paula Ardais, Sabrina Mioranza, Gabriela T. Fioreze, Paulo Henrique S. Botton, Diogo O. Souza, Lisiane O. Porciúncula.

Laboratório de Estudos sobre o Sistema Purinérgico, Programa de Pós Graduação em Ciências Biológicas/Bioquímica, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Departamento de Bioquímica, Porto Alegre/RS 90035-003, Brasil

Número de Páginas: 32

Número de Figuras: 5

Correspondência à: Marcelo Silveira da Costa

Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Departamento de Bioquímica

Rua Ramiro Barcelos, 2600 – anexo

Porto Alegre/RS 90035-003, Brasil

e-mail.: [marsilcos@yahoo.com.br](mailto:marsilcos@yahoo.com.br)

Telefone: + 55 51 3308 5557

Fax number: + 55 51 3308 5540

## **Resumo**

Tem sido considerado que 30 minutos de atividade física moderada na maioria dos dias da semana é benéfico para a saúde e bem estar. Entretanto, outras combinações de intensidade, duração e frequência possuem efeitos semelhantes e até mesmo a participação esporádica em esportes e atividades físicas tem sido eficazes para aumentar a capacidade cardiorrespiratória, uma variável inversamente correlacionada com mortalidade e morbidade em geral. Neste estudo, ratos adultos submetidos a 8 semanas de corrida progressiva até a exaustão em esteira uma vez por semana apresentaram uma redução do número de cruzamentos e rearing na tarefa de campo aberto, diminuição do tempo despendido nos braços abertos na tarefa do labirinto em cruz elevado e um menor índice de exploração nos testes da tarefa de reconhecimentos de objetos. Os ratos submetidos a 8 semanas de corrida moderada em esteira, 3 vezes por semana, 20 minutos por sessão, apresentaram resultados semelhantes na tarefa do labirinto em cruz elevado. Nenhum dos protocolos de corrida em esteira foi capaz de alterar o desempenho na tarefa de esquivas inibitória. Estes resultados indicam que o treinamento físico em esteira causa um comportamento semelhante à ansiedade, independentemente da frequência e do grau de fadiga provocado pelo exercício físico. Porém, a corrida realizada até a exaustão numa única sessão semanal causa uma redução na locomoção e exploração, além de um déficit na memória de reconhecimento de curta e longa duração. Em conclusão, o exercício físico esporádico e exaustivo afeta o comportamento e a memória de ratos adultos submetidos a 8 semanas de corrida em esteira. Apesar dos conhecidos benefícios do exercício físico sobre a saúde em geral, ainda são necessários estudos para conhecermos o impacto das variáveis que interagem durante a atividade física sobre a resposta comportamental e sistêmica de roedores e humanos.

## 1. Introdução

O exercício físico regular é considerado essencial para melhorar a qualidade de vida e reduzir a incidência de doenças crônico-degenerativas (Roberts e Barnard, 2005) sendo que estes benefícios estão estritamente relacionados ao nível da aptidão cardiorrespiratória (Blair e colaboradores, 1996). A aptidão cardiorrespiratória é dependente da interação da frequência, duração e intensidade, variáveis imprescindíveis em programas de condicionamento físico (Garber e colaboradores, 2011; Pollock e colaboradores, 1977; Wenger e Bell, 1986). Exercícios físicos de intensidade moderada durante 30 minutos, 5 dias por semana tem sido recomendados para humanos na busca de melhores níveis de saúde e qualidade de vida (Garber e colaboradores, 2011). Porém, estudos têm demonstrado que a participação esporádica em esportes e a pratica de exercício físico apenas uma vez na semana proporcionam aumentos na aptidão cardiorrespiratória (Pollock e colaboradores, 1977; Ross e McGuire, 2011). Entretanto, uma participação irregular em esportes e programas de exercícios físicos, principalmente, os de altas intensidades e volumes aumentam os riscos de lesões músculo-esqueléticas, disfunções fisiológicas e até mesmo morte súbita (Dahabreh e Paulus, 2011; Pollock e colaboradores, 1977; Souza-Rabbo e colaboradores, 2003).

Atualmente, o exercício físico tem sido considerado essencial também para a saúde encefálica (Cotman e Berchtold, 2002) possuindo efeito positivo sobre o comportamento, como humor e níveis de ansiedade e função cognitiva (Bhui e Fletcher, 2000; Dunn e colaboradores, 2001; Dunn e Dishman, 1991; Hillman e colaboradores, 2008; Paluska e Schwenk, 2000). Estes benefícios sobre o sistema nervoso central (SNC) estão associados a uma maior proteção contra as espécies reativas de oxigênio (Ogonovszky e colaboradores, 2005; Radak e colaboradores, 2006), um aumento na neurogênese (During e Cao, 2006; Fabel e colaboradores, 2003; van Praag e colaboradores, 1999), aumento no fator

neurotrófico derivado do encéfalo (BDNF), (Berchtold e colaboradores, 2005; Huang e colaboradores, 2006; Neeper e colaboradores, 1995; Vaynman e colaboradores, 2006) e maior vascularização encefálica (Isaacs e colaboradores, 1992).

Apesar de muitos estudos analisando os efeitos do exercício físico sobre o SNC, ainda não sabemos a quantidade de exercício físico ideal para obter benefícios para o mesmo. Também se torna fundamental estudar o impacto de participações esporádicas em esportes ou frequências semanais mínimas de exercícios físicos, como o observado em pessoas que se exercitam apenas 1 vez por semana. Em um estudo recente, Costa e colaboradores (2012) não observaram efeitos da frequência do exercício físico (1, 3 ou 7 vezes por semana) sobre a ansiedade e sobre o imunconteúdo dos receptores de adenosina no hipocampo de ratos adultos, mas nos ratos de meia idade que correram 7 dias por semana foi observado uma menor densidade dos receptores de adenosina do tipo A<sub>2A</sub> e naqueles que correram 1 dia por semana houve uma redução da ansiedade relacionada à idade. Em outro estudo analisando os efeitos da corrida em esteira 1 e 3 vezes por semana durante 12 semanas e após 21 dias consecutivos 2 vezes ao dia, Cechetti e colaboradores (2007) verificaram que apenas o grupo que correu 3 vezes por semana apresentou uma menor liberação de lactato desidrogenase em fatias de hipocampo submetidas à privação de oxigênio e glicose. Em ratos de 24 meses de idade submetidos a seis meses de exercício voluntário, 700 metros percorridos semanalmente foram suficientes para reverter o déficit cognitivo, a redução do BDNF hipocampal e a resposta neuroinflamatória induzidos pela bactéria *Escherichia coli* (Barrientos e colaboradores, 2011).

Desta forma, o objetivo deste trabalho é verificar o impacto de oito semanas de corrida em esteira rolante, 3 vezes por semana em intensidade moderada e 1 vez por semana até o exaustão sobre tarefas que avaliam a memória e o comportamento em ratos

adultos. Este protocolo foi elaborado para simular a rotina de muitos humanos que fazem exercícios físicos regularmente ou apenas de forma esporádica.

## **2. Materiais e métodos**

### **2.1. Animais**

Foram utilizados ratos Wistar adultos (3 meses de idade) mantidos em grupos de 3 por caixa plástica com comida e água *ad libitum* em sala com temperatura ambiente de 23° C e fotoperíodo claro/escuro (claro iniciando 7:00 a.m.). Todos os procedimentos estão de acordo com o guia NIH para uso e cuidados em animais de laboratório e com as recomendações em pesquisa animal da Sociedade Brasileira para Neurociência e Comportamento (SBNeC). Este trabalho foi aprovado pelo comitê de ética da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Todos os animais foram sacrificados por decapitação após o último experimento comportamental.

### **2.2. Protocolo de exercício em esteira**

O treinamento em esteira foi realizado entre 8 e 10 a.m. Anteriormente ao programa de treinamento, os animais foram habituados a correr na esteira rolante (INBRAMED TK 01, Porto Alegre, Brasil) durante 1 semana para minimizar o estresse induzido pela novidade. Os animais foram randomicamente divididos em 3 grupos experimentais: controle (0); corrida 3 dias/semana a 60-75% do consumo máximo de oxigênio durante 20 minutos (3) e corrida 1 dia/semana com incremento gradual na velocidade até a exaustão (1).

No oitavo dia, todos os animais foram submetidos a um teste de esforço gradual na esteira rolante para determinar indiretamente o consumo máximo de oxigênio ( $VO_2$ máx) como descrito por Brooks e White (1978). O teste iniciou em velocidade baixa e após 25 minutos a velocidade foi aumentada a cada 3 minutos em 5 m/min até a exaustão, ou seja,

até o ponto onde cada rato não suportava a velocidade de corrida. O resultado deste teste foi essencial para determinar a velocidade de corrida inicial do treinamento. O período de treinamento teve a duração de 8 semanas. A velocidade de corrida no grupo 3 foi aumentada semanalmente para manter a intensidade da corrida em 60-75% do consumo máximo de oxigênio. O grupo 0 foi manipulado e colocado na esteira desligada por 20 minutos para evitar que diferenças na manipulação influenciassem nos resultados (adaptado de Scopel e colaboradores, 2006). As tarefas comportamentais foram avaliadas 24 horas após a última sessão de treinamento para evitar os efeitos do exercício agudo sobre os resultados.

### 2.3. Exploração no campo aberto

Os animais foram expostos ao campo aberto, que consiste de em uma caixa retangular de madeira, sendo a parede frontal feita de vidro, medindo 60 x 40 x 50 cm e o piso dividido em 12 quadrantes iguais. O animal foi colocado de frente para o canto esquerdo da caixa e o número de entradas em cada quadrante com as 4 patas, rearings e bolo fecais foram contabilizados durante 5 minutos para avaliar a atividade exploratória e locomotora. O número de entradas em cada quadrante e o número de rearings são considerados medidas de locomoção e exploração, enquanto o número de bolo fecais expressam emoções (Archer, 1973; Elias e colaboradores, 1975; Ohl e colaboradores, 2001; Walsh e Cummins, 1976).

### 2.4. Análise da exploração no labirinto em cruz elevado

Este teste é realizado em um aparato de madeira pintado de preto, constituído de dois braços abertos (50 x 10 cm) e dois braços fechados (50 x 10 x 40 cm) colocados de tal forma que os braços abertos e fechados ficam dispostos perpendicularmente, elevado a uma altura de 50 cm do solo da sala experimental. Cada animal foi colocado na intersecção

formada pelos braços e dois observadores cegos ao estudo analisaram durante 5 minutos as seguintes variáveis: (1) tempo gasto nos braços abertos; (2) número de entradas nos braços abertos; (3) número de entradas nos braços fechados e (4) número de rearing. A entrada em cada braço era registrada quando o animal colocava as 4 patas no respectivo braço. O tempo e o número de entradas nos braços abertos foram utilizados como uma medida de ansiedade. O número de entradas nos braços foi utilizado como atividade locomotora e o número de rearing como um índice de atividade exploratória (Hogg, 1996; Pellow e File, 1986). A análise foi realizada durante a porção clara do ciclo claro-escuro com uma luminosidade leve (70 lux).

## 2.5. A tarefa de reconhecimento de objetos

A tarefa de reconhecimento de objetos consiste em avaliar uma tendência natural do animal em explorar novidades (Bevins e Besheer, 2006). O teste é realizado numa caixa de madeira (50 x 50 cm), onde os animais são habituados durante 3 dias consecutivos antes de iniciar o teste. 24 horas após a última habituação é realizada a sessão de treino onde os animais são expostos durante 5 minutos a dois objetos idênticos alocados ao centro da caixa, sendo que cada objeto fica afastado da parede 9 cm. Os animais são colocados na caixa de frente para a parede e o tempo consumido na exploração de cada objeto é computado. Após 90 minutos ou 24 horas são realizadas as sessões de testes para avaliar, respectivamente, a memória de curta e longa duração. Na sessão de teste um dos objetos é substituído por um novo (N), de mesmo tamanho, cor e textura, porém de formato diferente. Os objetos e o aparato são limpos após cada teste com solução de etanol 10%. A exploração é computada sempre quando o animal se aproxima com o focinho a menos de 2 cm do objeto ou tocando diretamente nele com as patas dianteiras ou com o focinho. Para a sessão de treino, o index de exploração é calculado pela razão entre o tempo (T) total gasto



na exploração de ambos os objetos e o objeto que será utilizado na sessão de teste como objeto familiar (F). Considerando que na sessão de treino os objetos são idênticos, um índice ideal fica na casa de 0,5. O índice de reconhecimento é definido como  $TN / (TN + TF)$ .

## 2.6. A tarefa de esquiiva inibitória

Esta tarefa é realizada numa caixa acrílica (50 x 25 x 25 cm) onde o solo é composto de barras paralelas (1 mm de diâmetro) afastadas 1 cm. O animal é colocado numa plataforma de fórmica (7 cm de largura) localizada no canto esquerdo ficando 2,5 cm acima do solo. Na sessão de treino, o animal é colocado na plataforma e o tempo para ele descer com as quatro patas é registrado e, imediatamente, recebe um choque de 0.5 mA, 60 Hz com duração de 2 segundos. Após o choque o animal é retirado imediatamente e devolvido a sua caixa. Após 90 minutos ou 24 horas à sessão de treino é realizado um novo teste para avaliar a memória de curta e longa duração, respectivamente. Nas sessões de testes, o tempo é registrado até o animal descer com as quatro patas da plataforma não sendo utilizado o choque. É utilizado um teto de 180 s para o animal descer da plataforma durante as sessões de teste e a latência para descer da plataforma é usado como uma medida de retenção de memória (Izquierdo e Medina, 1997).

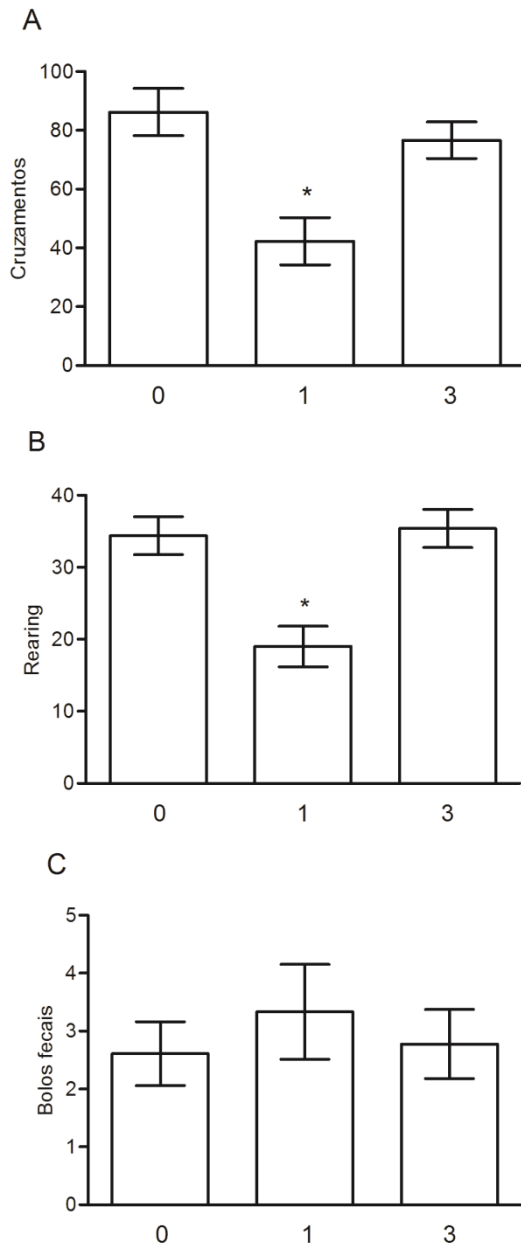
## 2.7. Análise estatística

Para as tarefas de campo aberto e labirinto em cruz elevado foi utilizada a análise de variância de uma via (one-way ANOVA) seguido do teste de comparação múltipla de Newman-Keuls. Para a tarefa de reconhecimento de objetos foi utilizado o teste *t* pareado entre treino e teste para cada grupo e a análise de variância de uma via seguido do teste de comparação múltipla de Newman-Keuls para comparação entre os testes. Para a análise da exploração total dos objetos durante o treino e testes 90 minutos e 24 horas foi utilizado a

ANOVA de uma via seguido do teste de comparação múltipla de Newman-Keuls. A latência para descer da plataforma na esquiiva inibitória foi expressa como mediana e intervalo interquartil e para a análise não paramétrica entre treino e teste foi utilizado o teste de Wilcoxon. Kruskal-Wallis seguido da comparação múltipla de Dunn's foram utilizados para avaliar os testes entre os grupos. Significância estatística de  $P < 0.05$  foi adotada utilizando o pacote estatístico GraphPad Prism 5.0 (GraphPad Software, USA).

### **3. Resultados**

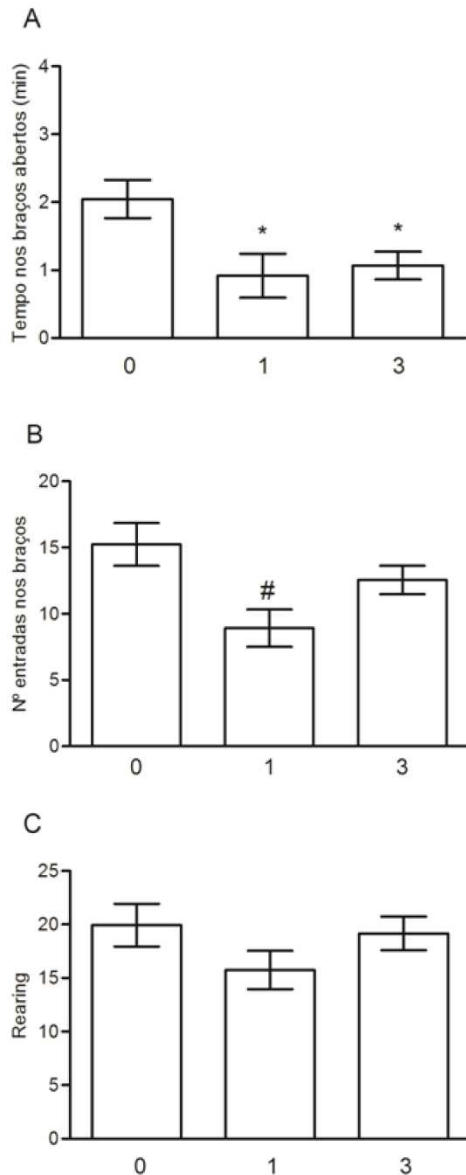
Após 8 semanas de treinamento na esteira rolante os animais foram submetidos às tarefas comportamentais. Na tarefa de campo aberto foi avaliado o comportamento locomotor e exploratório do animal. No número de cruzamentos (Fig. 1A), a ANOVA de uma via revelou uma diferença significativa entre os grupos [ $F(2, 47) = 8.37; P = 0.0008$ ], sendo o número de cruzamentos menor no grupo que correu uma vez por semana até a exaustão (grupo 1) quando comparado com os grupos 0 e 3 (Newman-Keuls,  $P < 0,05$ ). O número de rearing (Fig. 1B) também apresentou uma diferença significativa [ $F(2, 47) = 9.683; P = 0.0003$ ], com uma redução também encontrada neste grupo de animais quando comparado com os outros 2 grupos estudados (Newman-Keuls,  $P < 0,05$ ). A ANOVA de uma via não encontrou diferenças na contagem de bolos fecais durante a execução da tarefa entre os grupos (Fig. 1C).



**Fig. 1. Análise da atividade locomotora e exploratória na arena de campo aberto em ratos submetidos à 8 semanas de corrida em esteira.** Cada barra representa média ± EP do número de cruzamentos (A), número de rearing (B) e bolos fecais (C) de ratos adultos (12-18/grupo). 0 = controle; 1 = corrida progressiva em esteira até à exaustão 1 vez por semana; 3 = 20 minutos de corrida moderada em esteira 3 vezes por semana.

\*  $P < 0.05$ , diferente dos outros grupos. (ANOVA seguida de Newman-Keuls).

Para avaliar o comportamento exploratório, locomotor e ansiedade dos animais foi utilizada a tarefa do labirinto em cruz elevado. No tempo despendido nos braços abertos (Fig. 2A) a ANOVA de uma via verificou uma diferença estatística [ $F(2, 47) = 5.408, P = 0,0079$ ] com ambos os grupos submetidos ao treinamento em esteira, grupos 1 e 3, apresentando uma redução no tempo gasto nos braços abertos em comparação com o grupo controle, grupo 0, (Newman-Keuls,  $P < 0,05$ ). Ao analisar o número de entradas nos braços abertos e fechados (Fig. 2B), a ANOVA de uma via apresentou uma diferença significativa [ $F(2, 47) = 4.244, P = 0,0017$ ]. Nesta variável, o grupo 1 apresentou um menor número de entradas nos braços abertos quando comparado ao grupo 0 ((Newman-Keuls,  $P < 0,05$ ). A ANOVA de uma via não encontrou diferenças entre os grupos analisados no número de rearing (Fig. 2C).



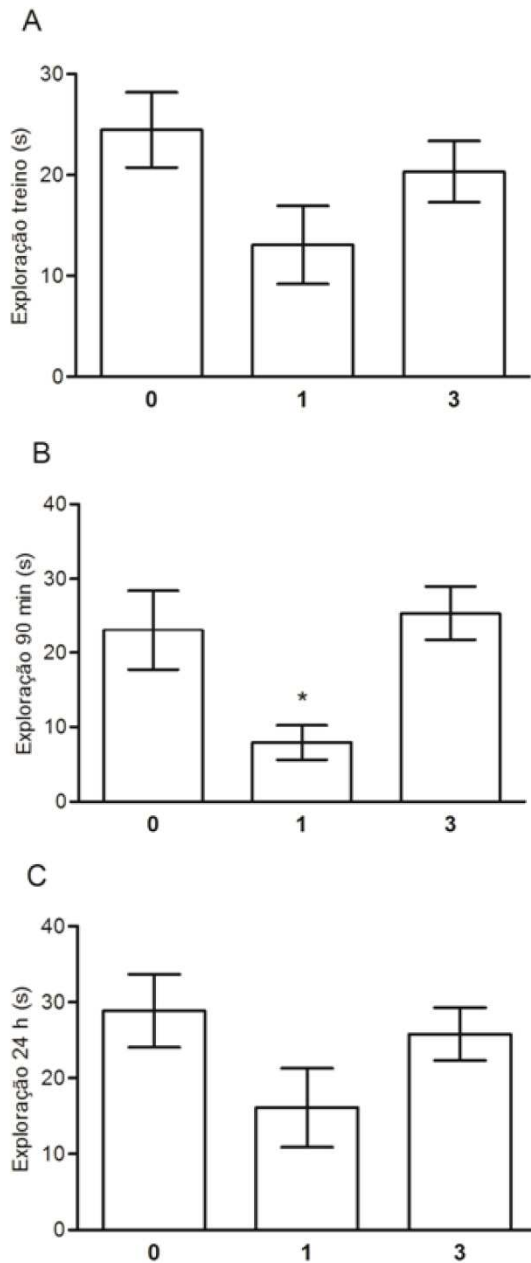
**Fig. 2. Análise comportamental no labirinto em cruz elevado em ratos submetidos à 8 semanas de corrida em esteira.** Cada barra representa média  $\pm$  EP do tempo (m) despendido nos braços abertos (A), número de entradas nos braços abertos e fechados (B) e número de rearing (C) de ratos adultos (12-18/grupo). 0 = controle; 1 = corrida progressiva em esteira até à exaustão 1 vez por semana; 3 = 20 minutos de corrida moderada em esteira 3 vezes por semana.

\*  $P < 0.05$ , diferente do grupo 0. (ANOVA seguida de Newman-Keuls).

#  $P < 0.05$ , diferente do grupo 0. (ANOVA seguida de Newman-Keuls).

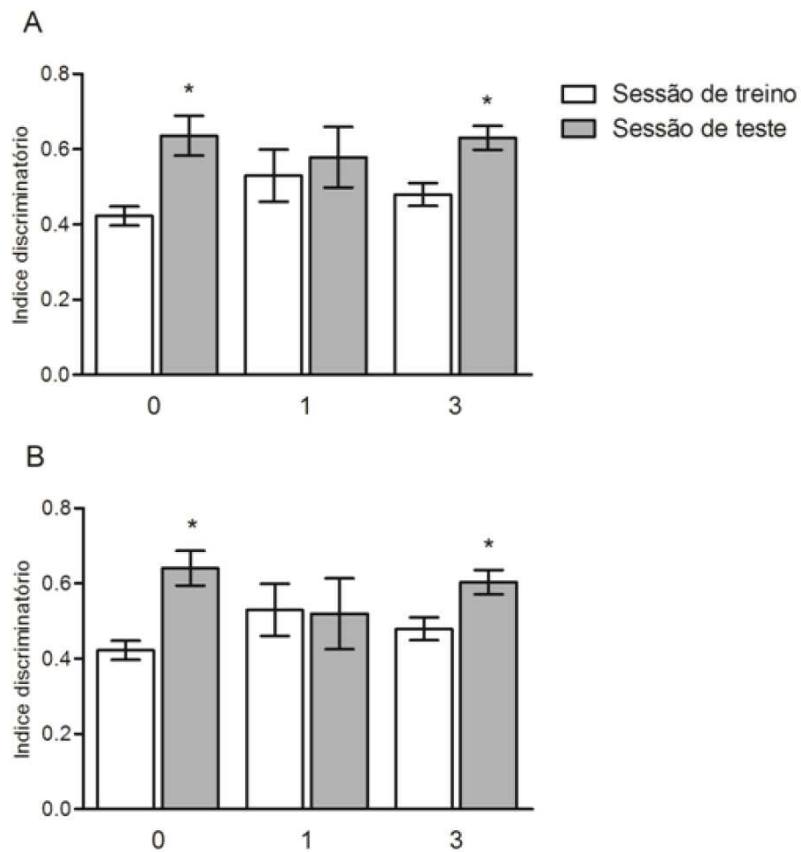
Para avaliar a memória de reconhecimento de curta e longa duração foi utilizada a tarefa de reconhecimento de objetos. Para verificar uma possível interferência do comportamento locomotor e exploratório sobre o índice de reconhecimento foi analisada a exploração total dos objetos durante o treino e durante os testes de 90 minutos e 24 horas (Fig. 3). A ANOVA de uma via constatou uma diferença significativa entre os grupos somente na exploração total durante o teste 90 minutos (Fig. 3B) [ $F(2, 47) = 4.243; P = 0.0207$ ], com o grupo 1 apresentando uma menor exploração total dos objetos quando comparado com os grupos 0 e 3 (Newman-Keuls,  $P < 0,05$ ). Ao analisarmos o índice de reconhecimento de cada grupo (Fig. 4A), o teste  $t$  mostrou que os grupos 0 e 3 apresentaram diferenças significativas entre treino e teste 90 minutos ( $P = 0,0021$  e  $P = 0,008$ , respectivamente). O mesmo ocorreu ao analisarmos treino e teste 24 horas (Fig. 4B), com os grupos 0 ( $P = 0,009$ ) e 3 ( $P = 0,0117$ ) apresentando diferenças significativas.

A tarefa de esQUIVA inibitória foi utilizada para avaliar a memória aversiva de curta e longa duração (Fig. 5A e 5B, respectivamente). O teste de Wilcoxon revelou que todos os grupos apresentaram diferenças entre treino e teste 90 minutos (grupo 0,  $P = 0,0012$ ; grupo 1,  $P = 0,0156$ ; grupo 3,  $P = 0,0029$ ) e entre treino e teste 24 horas (grupo 0,  $P = 0,0002$ ; grupo 1,  $P = 0,0313$ ; grupo 3,  $P = 0,0008$ ).



**Fig. 3. Tarefa de reconhecimento de objetos em ratos submetidos à 8 semanas de corrida em esteira.** Cada barra representa média ± EP do tempo (s) despendido nos objetos durante a sessão de treino (A), sessão de teste 90 minutos (B) e sessão de teste 24 horas (C) de ratos adultos (12-18/grupo). 0 = controle; 1 = corrida progressiva em esteira até à exaustão 1 vez por semana; 3 = 20 minutos de corrida moderada em esteira 3 vezes por semana.

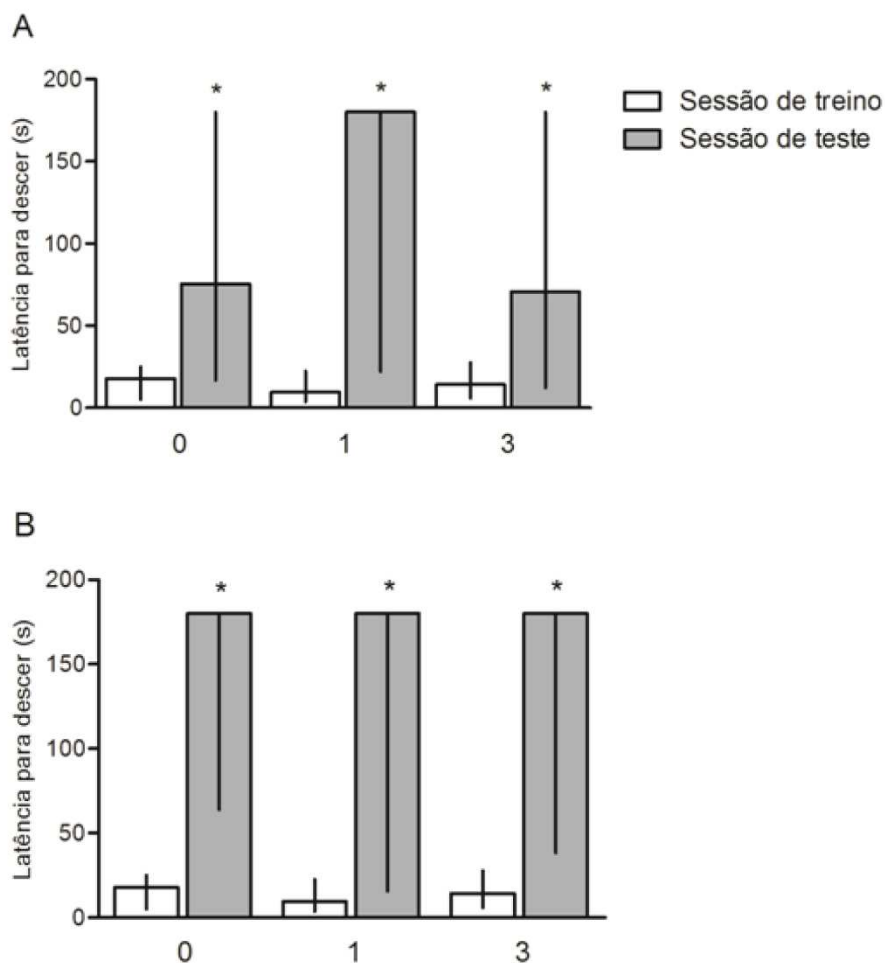
\*  $P < 0.05$ , diferente dos outros grupos. (ANOVA seguida de Newman-Keuls).



**Fig. 4. Tarefa de reconhecimento de objetos em ratos submetidos à 8 semanas de corrida em esteira.** Cada barra representa média  $\pm$  EP do índice discriminatório na sessão de teste 90 minutos (A), e na sessão de teste 24 horas (B) de ratos adultos (12-18/grupo). 0 = controle; 1 = corrida progressiva em esteira até à exaustão 1 vez por semana; 3 = 20 minutos de corrida moderada em esteira 3 vezes por semana.

\*  $P < 0.05$ , diferente de suas respectivas sessões de treino. (teste  $t$  pareado).





**Fig. 5. Tarefa de esquivia inibitória em ratos submetidos à 8 semanas de corrida em esteira.** Cada barra representa mediana  $\pm$  intervalo interquartil da latência para descer da plataforma (s) o índice discriminatório na sessão de teste 90 minutos (A), e na sessão de teste 24 horas (B) de ratos adultos (7-17/grupo). 0 = controle; 1 = corrida progressiva em esteira até à exaustão 1 vez por semana; 3 = 20 minutos de corrida moderada em esteira 3 vezes por semana.

\*  $P < 0.05$ , diferente de suas respectivas sessões de treino. (teste pareado de Wilcoxon).

#### 4. Discussão

Este estudo analisou a influência de dois padrões distintos de exercícios físicos, geralmente, praticados no cotidiano do ser humano sobre parâmetros de ansiedade,

memória aversiva e de reconhecimento em ratos. Enquanto, um protocolo foi elaborado partindo com exercício físico moderado três dias semanais recomendado para a saúde e bem-estar (Garber e colaboradores, 2011); o outro consistiu de apenas uma sessão semanal até a exaustão. Esse último protocolo é, comumente, praticado pelos chamados “atletas de final de semana” que usam seus dias de folgas para a prática de atividades físicas mais intensas (Pollock e colaboradores, 1977; Dahabreh e Paulus, 2011; Ross e McGuire, 2011).

Apesar de frequências tão baixas de exercícios físicos ou até mesmo exercícios esporádicos melhorarem a capacidade cardiorrespiratória e promoverem benefícios sobre a saúde e bem estar, sendo semelhantes em muitos casos aos observados no exercício físico regular (Brown e colaboradores, 2004; Costa e colaboradores, 2012; Knab e colaboradores, 2012; Pollock e colaboradores, 1977; Ross e McGuire, 2011), esta condição pode contribuir para uma maior ocorrência de lesões músculo-esqueléticas, disfunções fisiológicas e até mesmo de morte súbita (Dahabreh e Paulus, 2011; Pollock e colaboradores, 1977; Souza-Rabbo e colaboradores, 2003). Neste estudo observamos que os animais treinados 1 dia por semana em esteira até a exaustão apresentam uma redução na atividade locomotora e exploratória na análise feita pela exposição dos animais ao campo aberto (Fig. 1), uma exacerbação do comportamento semelhante à ansiedade na tarefa do labirinto em cruz elevado (Fig. 2) e uma deterioração na memória de reconhecimento de curta e longa duração (Fig. 4). As respostas observadas nas duas primeiras tarefas indicam que um treinamento físico até a exaustão realizado apenas uma vez por semana desencadeia um aumento no comportamento defensivo (Walsh e Cummins, 1976) e/ou um comportamento semelhante à ansiedade (Dishman e colaboradores, 1996). Além disso, observamos uma tendência deste grupo também em apresentar uma redução locomotora e exploratória na tarefa de reconhecimento de objeto, visto que a exploração total dos objetos, em média, foi menor durante o treino e os testes.

Os efeitos do exercício físico sobre a atividade locomotora e exploratória, e comportamento semelhante à ansiedade em roedores são divergentes e isso se deve à grande variabilidade de protocolo de exercício físico aplicado, aos modelos animais estudados, às tarefas utilizadas para avaliação comportamental e ao design do estudo (Alaei e colaboradores, 2008; Burghardt e colaboradores, 2004; Costa e colaboradores, 2012; de Senna e colaboradores, 2011; Dishman e colaboradores, 1996; do Nascimento e colaboradores, 2011; Duman e colaboradores, 2008; Fulk e colaboradores, 2004; Fuss e colaboradores, 2010; Lalanza e colaboradores, 2012; Leasure e Jones, 2008; Reisi e colaboradores, 2009; Salim e colaboradores, 2010). Contudo, neste estudo foi evidente o efeito ansiogênico do treinamento físico de 8 semanas em esteira porque ambos os grupos que correram apresentaram um menor tempo despendido nos braços abertos na tarefa do labirinto em cruz elevado. Além disso, como o grupo controle também foi exposto regularmente na esteira, desligada, mas apresentou um maior tempo despendido nos braços abertos, podemos descartar um efeito da manipulação sobre as respostas nas tarefas aplicadas (Lalanza e colaboradores, 2012). Desta forma, apesar da corrida em esteira proporcionar o mesmo efeito ansiogênico nos ratos submetidos a 1 ou 3 vezes por semana, apenas o grupo 1 vez por semana levado até a exaustão apresentou uma redução nos índices de locomoção e exploração, levando nos a supor um possível efeito da fadiga desencadeada pelo exercício altamente intenso sobre a atividade normal de roedores (Hopkins e Bucci, 2010) ou até mesmo pelo fato de um exercício físico forçado levado até à exaustão proporcionar uma elevação nos níveis dos hormônios relacionados ao estresse (Dishman e colaboradores, 2000; Hand e colaboradores, 2002; Moraska e colaboradores, 2000). Entretanto, como as tarefas comportamentais foram iniciadas 24 horas após a última sessão de corrida, não podemos descartar também um possível efeito da abstinência ao exercício físico sobre o comportamento (Peluso e Guerra de Andrade, 2005).

O exercício físico tem sido considerado muito importante para a função cognitiva, proporcionando melhores desempenhos em tarefas de aprendizado e memória em humanos e animais (Berchtold e colaboradores, 2010; Colcombe e Kramer, 2003; Cotman e colaboradores, 2007; Kramer e colaboradores, 1999; Ruscheweyh e colaboradores, 2011; Winter e colaboradores, 2007). Neste estudo, observamos uma deterioração na memória de curta e longa duração na tarefa de reconhecimento de objetos nos ratos treinados 1 vez por semana até a exaustão na esteira. Porém, como este mesmo grupo apresentou uma redução na locomoção e exploração na tarefa do campo aberto e um comportamento semelhante à ansiedade na tarefa do labirinto em cruz elevado, não podemos descartar uma possível interferência comportamental no desempenho verificado na tarefa de reconhecimento de objetos. Além disso, também observamos uma tendência em explorar menos os objetos durante o treino e os testes na tarefa de reconhecimento de objetos. Entretanto, o grupo que correu 3 vezes por semana não apresentou um efeito adicional sobre as tarefas de memória, sendo estes resultados semelhantes aos de outros estudos (Ben e colaboradores, 2010; Kim e colaboradores, 2010; Mello e colaboradores, 2008). A falta de um efeito adicional do exercício regular sobre a memória neste estudo pode ser explicada pelo fato do exercício físico promover efeitos benéficos mais pronunciados quando a população de estudo já se encontra com a função cognitiva comprometida (Adlard e colaboradores, 2011; Aguiar e colaboradores, 2009; Ben e colaboradores, 2010; Griesbach e colaboradores, 2009; Hoveida e colaboradores, 2011; Kim e colaboradores, 2010; Reisi e colaboradores, 2009; van Praag e colaboradores, 2005).

Um dos fatores que poderiam explicar os resultados do nosso protocolo de exercício físico sobre o desempenho em tarefas de aprendizagem e memória são os níveis do fator neurotrófico derivado do encéfalo (BDNF), uma neurotrofina essencial na formação e consolidação da memória (Barnes e Thomas, 2008; Bekinschtein e colaboradores, 2007;

Egan e colaboradores, 2003; Greenberg e colaboradores, 2009; Minichiello, 2009; Poo, 2001; Tyler e colaboradores, 2002), sendo que os benefícios cognitivos associados ao exercício físico estão altamente correlacionados com aumentos do BDNF hipocampal (Berchtold e colaboradores, 2001, 2002; Farmer e colaboradores, 2004; Gomez-Pinilla e colaboradores, 2002; Russo-Neustadt e colaboradores, 2004; Sartori e colaboradores, 2011). Além disso, os benefícios do exercício físico são revertidos quando há um prejuízo na ligação do BDNF com o seu receptor, TrkB (Liu e colaboradores, 2009; Vaynman, 2004; 2006). Como aumentos nos níveis de corticosterona mediado pelo exercício forçado em esteira pode diminuir os níveis de BDNF hipocampal (Ke e colaboradores, 2011), o alto grau de estresse vivenciado pelo grupo que correu até a exaustão uma vez por semana poderia acarretar em maiores aumentos nos níveis de corticosterona e desta forma influenciar negativamente os níveis de BDNF e contribuir para a deterioração da memória de reconhecimento.

Apesar dos efeitos benéficos do exercício físico serem muito conhecidos, ainda temos muitas perguntas para serem esclarecidas, sendo a quantidade ideal de atividade física para a saúde e bem estar o ponto mais importante. Esse conhecimento se torna essencial na sociedade moderna, que tem uma sobrecarga de exigências pessoais e profissionais cada vez maiores, e com a expectativa de vida maior, necessita de disponibilidade de tempo para a prática de exercícios físicos regulares para viver com qualidade e saúde por mais anos.

Aqui, demonstramos que 8 semanas de treinamento físico em esteira causa um comportamento semelhante a ansiedade em ratos adultos. Entretanto, a realização de apenas uma sessão semanal de corrida até à exaustão reduz a característica locomotora e exploratória de ratos submetidos a novos ambientes além de prejudicar a memória de reconhecimento. Este resultado se torna importante visto o grande número de pessoas que

praticam exercícios físicos apenas nos finais de semana e/ou feriados, e acabam submetendo a saúde do corpo a riscos ainda desconhecidos.

## **5. Referências bibliográficas**

Adlard PA, Engesser-Cesar C, Cotman CW. 2011. Mild stress facilitates learning and exercise improves retention in aged mice *Exp Gerontol*; 46:53-59.

Aguiar AS, Araujo AL, Da-Cunha TR, Speck AE, Ignacio ZM, De-Mello N, Prediger RD. 2009. Physical exercise improves motor and short-term social memory deficits in reserpinized rats. *Brain Res Bull*; 79:452-457.

Alaei HA, Moloudi RA, Sarkaki AR. 2008. Effects of treadmill running on mid-term memory and swim speed in the rat with Morris water maze test. *J Bodyw Mov Ther*; 12:72-75.

Archer J. 1973. Tests for emotionality in rats and mice: a review. *Anim Behav*; 21:205-235.

Barnes P, Thomas KL. 2008. Proteolysis of proBDNF is a key regulator in the formation of memory. *PLoS ONE*; 3:e3248.

Bekinschtein P, Cammarota M, Izquierdo I, Medina JH. 2007. Persistence of long-term memory storage requires a late protein synthesis- and BDNF-dependent phase in the hippocampus. *Neuron*; 53:261-277.

Barrientos RM, Frank MG, Crysdale NY, Chapman TR, Ahrendsen JT, Day HE, Campeau S, Watkins LR, Patterson SL, Maier SF. 2011. Little exercise, big effects: reversing aging and infection-induced memory deficits, and underlying processes. *J Neurosci*; 31:11578-11586.

Bevins RA, Besheer J. 2006. Object recognition in rats and mice: a one-trial on-matching-to-sample learning task to study 'recognition memory. *Nat Prot*; 1:1306-1311.

Ben J, Soares FM, Scherer EB, Cechetti F, Netto CA, Wyse AT. 2010. Running exercise effects on spatial and avoidance tasks in ovariectomized rats. *Neurobiol Learn Mem*; 94:312-317.

Berchtold NC, Castello N, Cotman CW. 2010. Exercise and time dependent benefits to learning and memory. *Neuroscience*; 167:588-597.

Berchtold NC, Chinn G, Chou M, Kesslak JP, Cotman CW. 2005. Exercise primers a molecular memory for brain-derived neurotrophic factor protein induction in the rat hippocampus. *Neuroscience*; 133:853-861.

Berchtold NC, Kesslak JP, Cotman CW. 2002. Hippocampal brain-derived neurotrophic factor gene regulation by exercise and the medial septum. *J Neurosci Res*; 68:511-521.

Berchtold NC, Kesslak JP, Pike CJ, Adlard PA, Cotman CW. 2001. Estrogen and exercise interact to regulate brain-derived neurotrophic factor mRNA and protein expression in the hippocampus. *Eur J Neurosci*; 14:1992-2002.

Bhui K, Fletcher A. 2000. Common mood and anxiety states: gender differences in the protective effect of physical activity. *Soc Psychiatry Psychiatr Epidemiol*; 35:28-35.

Blair SN, Kampert JB, Kohl HW, Barlow CE, Macera CA, Paffenbarger RS Jr, Gibbons LW. 1996. Influences of cardiorespiratory fitness and other precursors on cardiovascular disease and all-cause mortality in men and women. *JAMA*; 276:205-210.

Brooks GA, White TP. 1978. Determination of metabolic and heart rate responses of rats to treadmill exercise. *J Appl Physiol*; 45:1009-1015.

Brown DW, Brown DR, Heath GW, Balluz L, Giles WH, Ford ES, Mokdad AH. 2004. Associations between physical activity dose and health-related quality of life. *Med Sci Sports Exerc*; 36:890-896.

Burghardt PR, Fulk LJ, Hand GA, Wilson MA. 2004. The effects of chronic treadmill and wheel running on behavior in rats. *Brain Res*; 1019:84-96.

Cechetti F, Rhod A, Simao F, Santin K, Salbego C, Netto CA, Siqueira IR. 2007. Effect of treadmill exercise on cell damage in rat hippocampal slices submitted to oxygen and glucose deprivation. *Brain Res*; 1157:121-125.

Colcombe S, Kramer AF. 2003. Fitness effects on the cognitive function of older adults: a meta-analytic study. *Psychol Sci*; 14:125-130.

Costa MS, Ardais AP, Fioreze GT, Mioranza S, Botton PH, Portela LV, Souza DO, Porciuncula LO. 2012. Treadmill running frequency on anxiety and hippocampal adenosine receptors density in adult and middle-aged rats. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*; 36:198-204.

Cotman CW, Berchtold NC, Christie LA. 2007. Exercise builds brain health: key roles of growth factor cascades and inflammation. *Trends Neurosci*; 30: 464-472.

Cotman CW, Berchtold NC. 2002. Exercise: a behavioral intervention to enhance brain health and plasticity. *Trends Neurosci*; 25:295-301.

Dahabreh IJ, Paulus JK. 2011. Association of episodic physical and sexual activity with triggering of acute cardiac events. Systematic review and meta-analysis. *JAMA*; 305:1225-1233.

de Senna PN, Ilha J, Baptista PP, do Nascimento OS, Leite MC, Paim MF, Goncalves CA, Achaval M, Xavier LL. 2011. Effects of physical exercise on spatial memory and astroglial alterations in the hippocampus of diabetic rats. *Metab Brain Dis*; 26:269-279.

Dere E, Huston JP, De Souza Silva MA. 2007. The pharmacology, neuroanatomy and neurogenetics of one-trial object recognition in rodents. *Neurosci Biobehav Rev*; 31:673-704.

Dishman RK, Dunn AL, Youngstedt SD, Davis JM, Burgess ML, Wilson SP, Wilson MA. 1996. Increased open field locomotion and decreased striatal GABAA binding after activity wheel running. *Physiol Behav*; 60:699-705.



Dishman RK, Renner KJ, White-Welkley JE, Burke KA, Bunnell BN. 2000. Treadmill exercise training augments brain norepinephrine response to familiar and novel stress. *Brain Res Bull*; 52:337-342.

Do Nascimento PS, Lovatel GA, Barbosa S, Ilha J, Centanaro LA, Malysz T, Xavier LL, Schaann BD, Achaval M. 2011. Treadmill training improves motor skills and increases tyrosine hydroxylase immunoreactivity in the substantia nigra pars compacta in diabetic rats. *Brain Res*; 1382:173–180.

Duman CH, Schlesinger L, Russell DS, Duman RS. 2008. Voluntary exercise produces antidepressant and anxiolytic behavioral effects in mice. *Brain Res*; 1199:148-158.

Dunn AL, Dishman RK. 1991. Exercise and the neurobiology of depression. *Exerc Sport Sci Rev*; 19:41-98.

Dunn AL, Trivedi MH, O'Neal HA. 2001. Physical activity dose response effects on outcome of depression and anxiety. *Med Sci Sports Exerc*; 33:S587-S597.

During MJ, Cao L. 2006. VEGF a mediator of the effect of experience on hippocampal neurogenesis. *Curr Alzheimer Res*; 3:29-33.

Egan MF, Kojima M, Callicott JH, Goldberg TE, Kolachana BS, Bertolino A, Zaitsev E, Gold B, Goldman D, Dean M, Lu B, Weinberger DR. 2003. The BDNF val66met polymorphism affects activitydependent secretion of BDNF and human memory and hippocampal function. *Cell*; 112:257-269.

Elias PK, Elias MF, Eleftheriou BE. 1975. Emotionality, exploratory behavior, and locomotion in aging inbred strains of mice. *Gerontology*; 21:46-55.

Fabel K, Fabel K, Tam B, Kaufer D, Baiker A, Simmons N, Kuo CJ, Palmer TD. 2003. VEGF is necessary for exercise-induced adult hippocampal neurogenesis. *Eur J Neurosci*; 18:2803-2812.

Farmer J, Zhao X, Van Praag H, Wodtke K, Gage FH, Christie BR. 2004. Effects of voluntary exercise on synaptic plasticity and gene expression in the dentate gyrus of adult male Sprague-Dawley rats in vivo. *Neuroscience*; 124:71-79.

Fulk LJ, Stock HS, Lynn A, Marshall J, Wilson MA, Hand GA. 2004. Chronic physical exercise reduces anxiety-like behavior in rats. *Int J Sports Med*; 25:78-82.

Fuss J, Ben Abdallah NM, Vogt MA, Touma C, Pacifici PG, Palme R, Witzemann V, Hellweg R, Gass P. 2010. Voluntary exercise induces anxiety-like behavior in adult C57BL/6J mice correlating with hippocampal neurogenesis. *Hippocampus*; 20:364-376.

Garber CE, Blissmer B, Deschenes MR, Franklin BA, Lamonte MJ, Lee IM, Nieman DC, Swain DP. 2011. American College of Sports Medicine position stand. Quantity and quality of exercise for developing and maintaining cardiorespiratory, musculoskeletal, and neuromotor fitness in apparently healthy adults: guidance for prescribing exercise. *Med Sci Sports Exerc*; 43:1334-1359.

Gomez-Pinilla F, Ying Z, Roy RR, Molteni R, Edgerton VR. 2002. Voluntary exercise induces a BDNF-mediated mechanism that promotes neuroplasticity. *J Neurophysiol*; 88:2187-2195.

Greenberg ME, Xu B, Lu B, Hempstead BL. 2009. New insights in the biology of BDNF synthesis and release: implications in CNS function *J Neurosci*; 29:12764-12767.

Griesbach GS, Hovda DA, Gomez-Pinilla F. 2009. Exercise-induced improvement in cognitive performance after traumatic brain injury in rats is dependent on BDNF activation *Brain Res*; 1288:105-115.

Hand GA, Hewitt CB, Fulk LJ, Stock HS, Carson JA, Davis JM, Wilson MA. 2002. Differential release of corticotropin-releasing hormone (CRH) in the amygdala during different types of stressors. *Brain Res*; 949:122-130.

Hillman CH, Erickson KI, Kramer AF. 2008. Be smart, exercise your heart: exercise effects on brain and cognition. *Nat Rev Neurosci*; 9:58-65.

Hogg S. 1996. A review of the validity and variability of the elevated plus-maze as an animal model of anxiety. *Pharmacol Biochem Behav*; 54:21-30.

Hopkins ME, Bucci DJ. 2010. Interpreting the effects of exercise on fear conditioning: the influence of time of day. *Behav Neurosci*; 124:868-872.

Hoveida R, Alaei H, Oryan S, Parivar K, Reisi P. 2011. Treadmill running improves spatial memory in an animal model of Alzheimer's disease. *Behav Brain Res*; 216:270-274.

Huang AM, Jen CJ, Chen HF, Yu L, Kuo YM, Chen HI. 2006. Compulsive exercise acutely upregulates rat hippocampal brain-derived neurotrophic factor. *J Neural Transm*; 113:803-811.

Issacs KR, Anderson BJ, Alcantara AA, Black JE, Greenough WT. 1992. Exercise and the brain: angiogenesis in the adult rat cerebellum after vigorous physical activity and motor skill learning. *J Cereb Blood Flow Metab*; 12:110-119.

Izquierdo I, Medina JH. 1997. Memory formation: the sequence of biochemical events in the hippocampus and its connection to activity in other brain structures. *Neurobiol Learn Mem*; 68:285-316.

Ke Z, Yip SP, Li L, Zheng XX, Tong KY. 2011. The effects of voluntary, involuntary, and forced exercises on brain-derived neurotrophic factor and motor function recovery: a rat brain ischemia model. *PLoS ONE*; 6:e16643.

Kim SE, Ko IG, Kim BK, Shin MS, Cho S, Kim CJ, Kim SH, Baek SS, Lee EK, Jee YS. 2010. Treadmill exercise prevents aging-induced failure of memory through an increase in neurogenesis and suppression of apoptosis in rat hippocampus. *Exp Gerontol*; 45:357-365.

Knab AM, Nieman DC, Sha W, Broman-Fulks JJ, Canu WH. 2012. Exercise frequency is related to psychopathology but not neurocognitive function. *Med Sci Sports Exerc*; 44:1395-1400.

Kramer AF, Hahn S, Cohen NJ, Banich MT, McAuley E, Harrison CR, Chason J, Vakil E, Bardell L, Boileau RA, Colcombe A. 1999. Ageing, fitness and neurocognitive function. *Nature*; 400:418-419.

Lalanza JF, Sanchez-Roige S, Gagliano H, Fuentes S, Bayod S, Camins A, Pallas M, Armario A, Escorihuela RM. *In press*. Physiological and behavioural consequences of long-term moderate treadmill exercise. *Psychoneuroendocrinology*.

Leasure JL, Jones M. 2008. Forced and voluntary exercise differentially affect brain and behavior. *Neuroscience*; 156:456-465.

Minichiello L. 2009. TrkB signalling pathways in LTP and learning. *Nat Rev Neurosci*; 10:850-860.

Liu YF, Chen HI, Wu CL, Kuo YM, Yu L, Huang AM, Wu FS, Chuang JI, Jen CJ. 2009. Differential effects of treadmill running and wheel running on spatial or aversive learning and memory: roles of amygdalar brain-derived neurotrophic factor and synaptotagmin I. *J Physiol*; 587:3221-3231.

Moraska A, Deak T, Spencer RL, Roth D, Fleshner M. 2000. Treadmill running produces both positive and negative physiological adaptations in Sprague–Dawley rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*; 279:R1321–R1329.

Neeper SA, Gómez-Pinilla F, Choi J, Cotman CW. 1996. Physical activity increases mRNA for brain derived neurotrophic factor and nerve growth factor in rat brain. *Brain Res*; 726:49-56.

Ogonovszky H, Berkes I, Kumagai S, Kaneko T, Tahara S, Goto S, Radak Z. 2005. The effects of moderate-, strenuous- and overtraining on oxidative stress markers, DNA repair, and memory, in the rat brain. *Neurochem Int*; 46:635-640.

Ohl F, Holsboer F, Landgraf R. 2001. The modified hole board as a differential screen for behavior in rodents. *Behav Res Methods Instrum Comput*; 33:392-397.

Paluska SA, Schwenk TL. 2000. Physical activity and mental health: current concepts. *Sports Med*; 29:167-180.

Pellow S, File SE. 1986. Anxiolytic and anxiogenic drug effects on exploratory activity in an elevated plus-maze: a novel test of anxiety in the rat. *Pharmacol Biochem Behav*; 24:525-529.

Peluso MA, Guerra de Andrade LH. 2005. Physical activity and mental health: the association between exercise and mood. *Clinics*; 60:61-70.

Pollock ML, Gettman LR, Milesis CA, Bah MD, Durstine L, Johnson RB. 1977. Effects of frequency and duration of training on attrition and incidence of injury. *Med Sci Sports*; 9:31-36.

Poo MM. 2001. Neurotrophins as synaptic modulators. *Nat Rev Neurosci*; 2:24-32.

Radak Z, Told A, Szabo Z, Siamilis S, Nyakas C, Silye G, Jakus J, Goto S. 2006. The effects of training and detraining on memory, neurotrophins and oxidative stress markers in rat brain. *Neurochem Int*; 49:387-392.

Reisi P, Alaei H, Babri S, Sharifi MR, Mohaddes G. 2009. Effects of treadmill running on spatial learning and memory in streptozotocin-induced diabetic rats. *Neurosci Lett*; 455:79-83.

Roberts CK, Barnard RJ. 2005. Effects of exercise and diet on chronic disease. *J Appl Physiol*; 98:3-30.

Ross R, McGuire, KA. 2011. Incidental physical activity is positively associated with cardiorespiratory fitness. *Med Sci Sports Exerc*; 4:2189-2194.

Ruscheweyh R, Willemer C, Kruger K, Duning T, Warnecke T, Sommer J, Volker K, Ho HV, Mooren F, Knecht S, Floel A. 2011. Physical activity and memory functions: an interventional study. *Neurobiol Aging*; 32:1304-1319.

Russo-Neustadt AA, Alejandre H, Garcia C, Ivy AS, Chen MJ. 2004. Hippocampal brain-derived neurotrophic factor expression following treatment with reboxetine, citalopram, and physical exercise. *Neuropsychopharmacology*; 29:2189-2199.

Salim S, Sarraj N, Taneja M, Saha K, Tejada-Simon MV, Chugh G. 2010. Moderate treadmill exercise prevents oxidative stress-induced anxiety-like behavior in rats. *Behav Brain Res*; 208:545-552.

Sartori CR, Vieira AS, Ferrari EM, Langone F, Tongiorgi E, Parada CA. 2011. The antidepressive effect of the physical exercise correlates with increased levels of mature BDNF, and proBDNF proteolytic cleavage-related genes, p11 and tPA. *Neuroscience*; 180:9-18.

Scopel D, Fochesatto C, Cimarosti H, Rabbo M, Belló-Klein A, Salbergo C, Netto CA, Siqueira IR. 2006. Exercise intensity influences cell injury in rat hippocampal slices exposed to oxygen and glucose deprivation. *Brain Res Bull*; 71:155-159.

Souza-Rabbo MP, Araujo ASr, Fernandes TR, Oliveira AR, Bello-Klein A, Kaur K, Singal PK. 2003. Influence of exercise training frequency on cardiac and hepatic oxidative stress in rats. *Exp Clin Cardiol*; 8:201-205.

Tyler WJ, Alonso M, Bramham CR, Pozzo-Miller LD. 2002. From acquisition to consolidation: on the role of brain-derived neurotrophic factor signaling in hippocampal-dependent learning. *Learn Mem*; 9:224-237.

van Praag H, Christie BR, Sejnowski TJ, Gage FH. 1999. Running enhances neurogenesis, learning, and long-term potentiation in mice. *Proc Natl Acad Sci USA*; 96:13427-13431.

Van Praag H, Shubert T, Ahaio C, Gage F. 2005. Exercise enhances learning and hippocampal neurogenesis in aged mice. *J Neurosci*; 25:8680-8685.

Vaynman SS, Ying Z, Yin D, Gomez-Pinilla F. 2006. Exercise differentially regulates synaptic proteins associated to the function of BDNF. *Brain Res*; 1070:124-130.

Vaynman S, Ying Z, Gomez-Pinilla F. 2004. Hippocampal BDNF mediates the efficacy of exercise on synaptic plasticity and cognition. *Eur J Neurosci*; 20:2580-2590.

Vaynman SS, Ying Z, Yin D, Gomez-Pinilla F. 2006. Exercise differentially regulates synaptic proteins associated to the function of BDNF. *Brain Res*; 1070:124-130.

Walsh RN, Cummins RA. 1976. The open-field test: a critical review. *Psychol Bull*; 83:482-504.

Wenger HA, Bell GJ. 1986. The interaction of intensity, frequency and intensity of exercise training in altering cardiorespiratory fitness. *Sports Medicine*; 3:346-356.

Winter B, Breitenstein C, Mooren FC, Voelker K, Fobker M, Lechtermann A, Krueger K, Fromme A, Korsukewitz C, Floel A, Knecht S. 2007. High impact running improves learning. *Neurobiol Learn Mem*; 87:597-609.

## **PARTE IV**



#### **4. DISCUSSÃO**

A presente tese teve como objetivo investigar os efeitos de um programa de exercício físico moderado em esteira sobre parâmetros comportamentais e neuroquímicos, assim como uma possível contribuição da idade. Também foi analisado o efeito comportamental de um programa de exercícios físicos até a exaustão realizados apenas uma vez por semana em ratos adultos.

Sabemos que o exercício físico é fundamental para reduzir o risco de muitas doenças que afetam vários sistemas do corpo humano (Cotman e Berchtold, 2002; Roberts e Barnard, 2005) e melhorar a qualidade de vida das pessoas, principalmente na idade avançada (ACSM, 1998; 2009). Entretanto, ainda existem muitas dúvidas sobre a quantidade ideal de exercícios físicos para promover a saúde e qualidade de vida. Estas dúvidas são ainda maiores quando comparamos a quantidade de exercício físico e seu benefício para prevenção ou atenuação dos sintomas de doenças. Além disso, os efeitos de um determinado programa de exercícios físicos poderiam ser benéficos para um determinado sistema ou desordem mas não necessariamente para outros.

Desta forma, estudos com maior controle da duração, distância, intensidade e frequência do exercício físico, variáveis que podem afetar as respostas comportamentais e sistêmicas, são essenciais para sabermos a quantidade ideal de exercícios físicos para promover a saúde, visto que uma frequência baixa ou esporádica de exercício físico pode resultar em nenhuma melhoria ou até mesmo ser prejudicial (Dahabreh e Paulus, 2011; Pollock e colaboradores, 1977; Souza-Rabbo e colaboradores, 2003). Da mesma forma, o excesso de exercício físico pode acarretar em danos agudos e crônicos à saúde, como os evidenciados por pessoas que utilizam muito do seu tempo praticando exercícios físicos em busca do corpo perfeito ou um melhor desempenho em modalidades esportivas (Peluso e Guerra de Andrade, 2005; Purvis e colaboradores, 2010).

Esta tese foi dividida em 3 capítulos, sendo 2 artigos científicos já publicados e 1 de resultados preliminares. No primeiro capítulo foi abordado o efeito da frequência do exercício físico sobre comportamentos relacionados a ansiedade e uma possível contribuição do sistema adenosinérgico. No segundo, os efeitos da frequência do exercício sobre dois tipos de memória e a relação com o BDNF, seu receptor e precursor. Como o objetivo inicial do trabalho foi verificar o efeito da frequência, foi fixado a duração da corrida em 20 minutos e sua intensidade em 60-75% do  $VO_2\text{max}$ . As frequências escolhidas representam baixa (1 dia/semana), média (3 dias intercalados/semana) e alta (7 dias/semana) para um de treinamento que durou 8 semanas ininterruptas semelhante aos programas de condicionamento físico adotados em humanos (ACSM, 1998; 2009). Esse protocolo de treinamento foi considerado eficiente, pois foi verificado que todos os grupos de exercício aumentaram o  $VO_2\text{max}$  estimado ao final das 8 semanas, sendo o efeito menos pronunciado no grupo de corrida 1 dia/semana. O terceiro capítulo abordou os resultados preliminares de um protocolo de exercício em esteira que simula os chamados “atletas de final de semana”, onde ratos adultos foram submetidos a 8 semanas de corrida até à exaustão em esteira 1 dia/semana.

No capítulo 1 foi confirmado que ratos de meia idade não treinados apresentam um comportamento exacerbado relacionado a ansiedade no labirinto em cruz elevado. Porém, a corrida em esteira realizada 1 dia por semana reverteu esse comportamento ansioso decorrente da idade. O comportamento ansioso decorrente da idade foi confirmado nos resultados comparando animais adultos e de meia-idade (Moretti e colaboradores, 2011). O treinamento em esteira exacerbou o comportamento ansioso nos ratos adultos, independentemente da frequência semanal que o exercício foi praticado. Nossos resultados comparados aos dados já publicados corroboram com Burghardt e colaboradores, 2004. Entretanto, outros resultados da literatura são controversos, mostrando nenhum efeito do

exercício (Pietropaolo e colaboradores, 2008), ou mesmo efeito ansiolítico (Greenwood e colaboradores, 2003). Parte dessas discrepâncias entre os resultados pode ser explicada pelos protocolos de exercício físico adotados pelos pesquisadores que são muito distintos entre si, dificultando conclusões definitivas sobre o assunto. Cabe enfatizar que o protocolo de treinamento adotado nesse estudo é muito semelhante ao praticado por humanos e o uso da esteira facilita o controle de vieses que poderiam afetar os resultados. Uma possível explicação para um comportamento ansioso exacerbado nos ratos adultos submetidos ao treinamento em esteira poderia estar associada à abstinência, pois os animais foram testados no labirinto em cruz elevado 48 horas após o término da última sessão de corrida (Peluso e Guerra de Andrade, 2005). Entretanto, esse intervalo é essencial para evitar uma possível influência aguda do exercício físico sobre a locomoção dos animais (Burghardt e colaboradores, 2004; Contarteze e colaboradores, 2008; Duman e colaboradores, 2008).

A participação do sistema adenosinérgico na ansiedade tem sido relatada (Cunha e colaboradores, 2008). Animais com a deleção do gene para o receptor  $A_1$ , assim como para o  $A_{2A}$ , apresentaram um comportamento semelhante à ansiedade (Giménez-Llort e colaboradores, 2002; Johansson e colaboradores, 2001; Lang e colaboradores, 2003; Ledent e colaboradores, 1997). Além disso, efeitos ansiogênicos da cafeína, um antagonista não seletivo dos receptores de adenosina, são demonstrados em muitos estudos com roedores (File e colaboradores, 1988; Florio e colaboradores, 1998; Jain e colaboradores, 1995). Entretanto, os resultados aqui apresentados não sugerem uma correlação mais estreita da ansiedade com a densidade hipocampal dos receptores de adenosina  $A_1$  e  $A_{2A}$ . O que foi confirmado nos resultados é que a idade aumentou o receptor  $A_{2A}$  no hipocampo (Canas e colaboradores, 2009; Castillo e colaboradores, 2009), e o treinamento em esteira 7 dias por semana foi capaz de prevenir esse aumento. Como o aumento na densidade dos receptores  $A_{2A}$ , especialmente no hipocampo, está associado a distúrbios no sistema nervoso central,

esse efeito do exercício em diminuir a densidade do receptor A2A poderia estar associado aos seus benefícios (Fredholm e colaboradores, 2005).

O segundo capítulo desta tese mostrou que o treinamento em esteira não produz impacto nas memórias de curta e longa duração nas tarefas de reconhecimento de objetos e esquivas inibitórias em ratos adultos. O desempenho na tarefa de reconhecimento de objetos, que avalia a memória de reconhecimento (curta e longa duração), foi diminuído nos animais envelhecidos e o treinamento físico realizado 1 dia por semana reverteu esse declínio decorrente da idade.

Na tarefa de esquivas inibitórias, o desempenho foi menor nos animais envelhecidos quando a memória de curta duração foi avaliada. Esse dado está de acordo com os estudos que mostram que a memória de curta duração é precocemente afetada com o envelhecimento (Sik e colaboradores, 2003). Entretanto, na tarefa de esquivas inibitórias a frequência de 1 dia por semana prejudicou o desempenho na tarefa de esquivas inibitórias quando a memória de curta e longa duração foram avaliadas. A característica aversiva da tarefa de esquivas inibitórias concomitantemente com um possível aumento do estresse induzido pelo treinamento físico realizado 1 dia/semana nestes animais poderia ter dificultado a aprendizagem.

Apesar do exercício físico possuir efeitos positivos sobre a memória (Dishman e colaboradores, 2006), parece que ele é mais eficiente quando o declínio cognitivo está presente (Adlard e colaboradores, 2011; Aguiar e colaboradores, 2009; Alaei e colaboradores, 2006; Chirstie e colaboradores, 2005; Garza e colaboradores, 2004; Griesbach e colaboradores, 2009; Hoveida e colaboradores, 2011; Kim e colaboradores, 2010; Reisi e colaboradores, 2009; van Praag e colaboradores, 2005; Wong-Goodrich e colaboradores, 2010). Neste estudo confirmamos estes resultados, pois o efeito protetor do exercício físico foi evidenciado nos animais que apresentaram um déficit numa tarefa que

explora uma tendência natural do animal em explorar as novidades (Bevins e Besheer, 2006).

Como o BDNF é considerado o mediador dos efeitos benéficos do exercício físico sobre o SNC (Gomez-Pinilla e colaboradores, 2002; Vaynman e colaboradores, 2003), e um defeito na conversão do pró-BDNF em BDNF e sua sinalização no seu receptor TrkB contribui para disfunções cognitivas (Alonso e colaboradores, 2002, 2005; Barnes e Thomas, 2008; Bekinschtein e colaboradores, 2007; Egan e colaboradores, 2003; Greenberg e colaboradores, 2009; Minichiello, 2009; Poo, 2001; Tyler e colaboradores, 2002), esta tese abordou uma possível correlação com a densidade hipocampal de pró-BDNF, BDNF e TrkB.

A densidade do pró-BDNF não foi afetada pela idade, mas tanto o BDNF quanto o seu receptor TrkB foram afetados com o envelhecimento. O aumento no BDNF e a redução no TrkB já foi descrito por estudos que analisaram roedores com idade avançada (Croll e colaboradores, 1998; Karege e colaboradores, 2002; Silhol e colaboradores, 2005, 2007, 2008; Costa e colaboradores, 2008b). Essa modificação na sinalização do BDNF poderia explicar o baixo desempenho cognitivo dos animais mais velhos. Somente o treinamento físico realizado um dia por semana foi capaz de aumentar a densidade do BDNF e seu precursor, pró-BDNF, nos ratos mais jovens. Porém, essa modulação não influenciou o desempenho verificado nas tarefas de aprendizagem e memória. Apesar dos ratos de meia idade submetidos ao treinamento físico 7 dias por semana apresentarem um aumento na densidade do pró-BDNF, somente o grupo que treinou 1 dia por semana reverteu o prejuízo associado a idade na memória de reconhecimento. Entretanto, esse mesmo grupo apresentou um ligeiro aumento no receptor TrkB e isso poderá ter contribuído para uma melhor responsividade ao BDNF e a consequente melhora do desempenho cognitivo. Além disso, a redução da ansiedade associada à idade com esta frequência de treinamento

verificada no primeiro artigo desta tese poderia estar relacionada com esse efeito positivo sobre a memória.

Apesar de aumentos no receptor TrkB serem descritos com o exercício físico em animais adultos (Cassilhas e colaboradores, 2012; Lin e colaboradores, 2012; Liu e colaboradores, 2009), nosso protocolo de treinamento causou uma redução do TrkB em todas as frequências estudadas. Apesar dessa redução não ter causado um prejuízo no desempenho cognitivo nas tarefas utilizadas, ela pode ter contribuído para que o exercício físico não apresentasse desempenhos superiores aos verificados no grupo não treinado. Interessantemente, como descrito no artigo anterior, estes mesmos grupos apresentaram um efeito ansiogênico e isso também poderia ter contribuído no desempenho das tarefas de reconhecimento de objeto e esQUIVA inibitória.

No capítulo 3 foram apresentados resultados preliminares do efeito de uma única sessão semanal de corrida até a exaustão sobre tarefas comportamentais. Apesar de frequências tão baixas de exercícios físicos ou até mesmo exercícios esporádicos melhorarem a capacidade cardiorrespiratória e promoverem benefícios sobre a saúde e bem estar, sendo semelhantes em muitos casos aos observados no exercício físico regular (Brown e colaboradores, 2004; Costa e colaboradores, 2012; Knab e colaboradores, 2012; Pollock e colaboradores, 1977; Ross e McGuire, 2011), esta condição pode contribuir para uma maior ocorrência de lesões músculo-esqueléticas, disfunções fisiológicas e até mesmo de morte súbita (Dahabreh e Paulus, 2011; Pollock e colaboradores, 1977; Souza-Rabbo e colaboradores, 2003).

Após 8 semanas de treinamento, os animais treinados 1 dia/semana até a exaustão apresentaram um comportamento semelhante à ansiedade que foi proporcional ao verificado nos animais que correram 20 minutos em intensidade moderada, 3 dias/semana. Além disso, a corrida até a exaustão 1 dia/semana reduziu a locomoção e exploração na

tarefa de campo aberto e comprometeu a memória de curta e longa duração na tarefa de reconhecimento de objetos. A fadiga desencadeada pelo exercício altamente intenso sobre a atividade normal de roedores (Hopkins e Bucci, 2010) e a elevação nos níveis dos hormônios relacionados ao estresse proporcionado pelo exercício físico forçado levado até à exaustão poderiam explicar os resultados sobre o comportamento e o desempenho na memória de reconhecimento (Dishman e colaboradores, 2000; Hand e colaboradores, 2002; Moraska e colaboradores, 2000). Contudo, seria interessante conhecer o impacto desta baixa frequência de exercício físico até a exaustão sobre parâmetros neuroquímicos sabidamente envolvidos na ansiedade e aprendizagem e memória, como os vistos nos dois primeiros capítulos desta tese; receptores de adenosina e BDNF, respectivamente.

Os resultados preliminares deste capítulo sugerem que praticar exercício físico de alta intensidade somente 1 dia por semana cronicamente compromete o comportamento locomotor e exploratório, assim como o desempenho em tarefas de aprendizado e memória.

Um resultado muito interessante nos animais mais jovens encontrado nesta tese é que a redução verificada no TrkB no segundo artigo pode justificar o aumento do comportamento semelhante a ansiedade encontrado no primeiro artigo, pois já foi demonstrado que a deficiência na sinalização do receptor TrkB aumenta o comportamento associado à ansiedade em animais adultos jovens (Bergami e colaboradores, 2008).

## **PARTE V**



## 5. CONCLUSÕES

Após submetermos ratos adultos e de meia idade a 8 semanas de corrida em esteira durante 20 minutos em intensidade moderada a diferentes frequências semanais (1, 3 e 7), concluímos que:

- O comportamento locomotor e exploratório na tarefa do labirinto em cruz elevado de ratos adultos e de meia idade não foi afetado por nenhuma frequência semanal de corrida analisada. Além disso, a corrida em esteira não foi capaz de prevenir a redução no comportamento locomotor e exploratório associado à idade;
- Os ratos adultos submetidos a todas as frequências de corrida em esteira apresentaram um maior comportamento semelhante à ansiedade. Entretanto, a frequência da corrida em esteira de 1 dia por semana preveniu o aumento do comportamento semelhante à ansiedade associado à idade;
- A corrida em esteira não afetou o desempenho cognitivo nas tarefas de reconhecimento de objetos e esquiva inibitória nos ratos adultos. Entretanto, a corrida em esteira realizada 1 dia por semana preveniu o prejuízo da memória de reconhecimento associado à idade. Porém, essa mesma frequência de corrida comprometeu o desempenho de ratos de meia idade na tarefa de esquiva inibitória;
- O imunoconteúdo hipocampal dos receptores de adenosina  $A_1$  não foi alterado pela corrida em esteira em ambas as idades. Contudo, a corrida em esteira preveniu o aumento no imunoconteúdo hipocampal dos receptores de adenosina  $A_{2A}$  em todas as frequências. Esse efeito foi mais pronunciado nos ratos que correram 7 dias por semana;

- Nos ratos adultos, o imunoconteúdo hipocampal do proBDNF e BDNF foi maior no grupo corrida 1 dia por semana foi menor, enquanto que o receptor TrkB foi menor em todas as frequências de corrida em esteira. Nos ratos mais velhos, o proBDNF apresentou uma redução no grupo que correu 7 dias/semana. A corrida em esteira não preveniu o aumento no BDNF nem a redução no TrkB associados à idade.

Após ratos adultos serem submetidos à 8 semanas de corrida em esteira 3 dias/semana, 20 minutos em intensidade moderada, e 1 dia/semana com incrementos na velocidade de corrida até a exaustão, foi concluído que:

- Ambos os grupos submetidos à corrida em esteira apresentaram um comportamento semelhante à ansiedade na tarefa do labirinto em cruz elevado;
- Os ratos submetidos à corrida em esteira até a exaustão 1 dia/semana apresentaram uma redução no comportamento locomotor e exploratório na tarefa de campo aberto, uma menor locomoção na tarefa do labirinto em cruz elevado, uma menor exploração total dos objetos na sessão de teste 90 minutos na tarefa de reconhecimento de objetos e um prejuízo da memória de curta e longa duração na tarefa de reconhecimento de objetos.

Os resultados obtidos nesta tese reforçam a importância do controle adequado das variáveis que interferem nas respostas ao exercício físico. Em particular, o descontrole da frequência semanal do exercício físico pode proporcionar efeitos totalmente opostos, principalmente quando se considera a idade.

A frequência com que animais de diferentes idades se exercitaram semanalmente alterou o comportamento em tarefas que avaliam a locomoção, exploração, ansiedade e aprendizagem e memória, e proteínas que fazem parte do funcionamento das sinapses.

Além disso, esse trabalho buscou uma abordagem que envolve uma prática muito comum nos finais de semanas por pessoas que praticam esportes intensos sem a devida preparação física. Nossos resultados preliminares em ratos adultos indicam que essa prática pode afetar o comportamento e a memória.

Sendo o exercício físico considerado uma alternativa saudável de combater os efeitos do sedentarismo e do processo natural de envelhecimento, se torna importante o conhecimento de como cada variável (frequência, duração e intensidade) ou a interação entre elas pode interferir na saúde normal ou até mesmo em alguma condição prévia.

## **PARTE VI**

## 6. PERSPECTIVAS

- Analisar outras variáveis, como duração e intensidade, sobre participação de outras proteínas envolvidas nos benefícios do exercício físico, principalmente as estudadas nesta tese;
- Analisar mais profundamente a ação do exercício sobre o sistema adenosinérgico, como experimentos de *binding*;
- Estudar se esse efeito do exercício físico sobre o receptor  $A_{2A}$  é capaz de promover neuroproteção em modelos experimentais afetados por um aumento deste receptor.
- Verificar se a ansiedade promovida pelo exercício físico nos ratos adultos é decorrente de abstinência ao exercício ou se realmente a adaptação crônica ao exercício físico modifica proteínas ou sistemas de neurotransmissão capazes de promover comportamentos ansiogênicos.
- Fazer Western Blot para as proteínas analisadas nesta tese com as amostras do grupo que treinou uma única vez por semana até à exaustão.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACSM. Position stand. Exercise and physical activity for older adults. *Med. Sci. Sports Exerc.* 2009; 41:1510-1530.
- ACSM. Position Stand. The recommended quantity and quality of exercise for developing and maintaining cardiorespiratory and muscular fitness, and flexibility in healthy adults. *Med Sci Sports Exerc* 1998; 30:975-991.
- Adlard PA, Engesser-Cesar C, Cotman CW. Mild stress facilitates learning and exercise improves retention in aged mice *Exp Gerontol.* 2011; 46:53-59.
- Aggleton JP, Albasser MM, Aggleton DJ, Poirier GL, Pearce JM. Lesions of the rat perirhinal cortex spare the acquisition of a complex configural visual discrimination yet impair object recognition. *Behav Neurosci.* 2010; 124:55-68. Wong-Goodrich SJ, Pfau ML, Flores CT, Fraser JA, Williams CL, Jones LW. Voluntary running prevents progressive memory decline and increases adult hippocampal neurogenesis and growth factor expression after whole-brain irradiation. *Cancer Res.* 2010; 70:9329-9338.
- Aguiar AS, Araujo AL, Da-Cunha TR, Speck AE, Ignacio ZM, De-Mello N, Prediger RD. Physical exercise improves motor and short-term social memory deficits in reserpinized rats. *Brain Res Bull.* 2009; 79:452-457.
- Alaei H, Borjeian L, Azizi M, Orian S, Pourshanazari A, Hanninen O. Treadmill running reverses retention deficit induced by morphine. *Eur J Pharmacol.* 2006; 536:138-141.
- Alonso M, Bekinschtein P, Cammarota M, Vianna MR, Izquierdo I, Medina JH. 2005. Endogenous BDNF is required for long-term memory formation in the rat parietal cortex. *Learn Mem.* 2005; 12:504-510.
- Alonso M, Vianna MR, Depino AM, Mello e Souza T, Pereira P, Szapiro G, Viola H, Pitossi F, Izquierdo I, Medina JH. and others. 2002. BDNF-triggered events in the rat

- hippocampus are required for both short- and long-term memory formation. *Hippocampus*. 2002; 12:551-560.
- Angelucci ME, Cesário C, Hiroi RH, Rosalen PL, Da Cunha C. Effects of caffeine on learning and memory in rats tested in the Morris water maze. *Braz J Med Biol Res*. 2002; 35:1201-1208.
- Araújo SRC, Mello MT, Leite JR. Transtornos de ansiedade e exercício físico. *Rev Bras Psiquiatr*. 2007; 29:164-171
- Archer E, Blair SN. Physical activity and the prevention of cardiovascular disease: from evolution to epidemiology. *Prog Cardiovasc Dis*. 2011; 53:387-396.
- Arendash GW, Schleif W, Rezai-Zadeh K, Jackson EK, Zacharia LC, Cracchiolo JR, Shippy D, Tan J. Caffeine protects Alzheimer's mice against cognitive impairment and reduces brain beta-amyloid production. *Neuroscience*. 2006; 142:941-952.
- Arias E, Anderson RN, Kung HC, Murphy SL, and Kochanek KD. Deaths: final data for 2001. *Natl Vital Stat Rep*. 2003; 52:1-115.
- Babyak M, Blumenthal JA, Herman S, Khatri P, Doraiswamy M, Moore K, Craighead WE, Baldewicz TT, Krishnan KR. Exercise treatment for major depression: maintenance of therapeutic benefit at 10 months. *Psychosom Med*. 2000; 62:633-638.
- Balcombe NR, Sinclair A. Ageing: definitions, mechanisms and the magnitude of the problem. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*. 2001; 15:835-849.
- Bardell L, Boileau RA, Colcombe A. Ageing, fitness and neurocognitive function. *Nature*. 1999; 400:418-419.
- Barnes P, Thomas KL. Proteolysis of proBDNF is a key regulator in the formation of memory. *PLoS ONE*. 2008; 3:e3248.

- Bekinschtein P, Cammarota M, Izquierdo I, Medina JH, Izquierdo I, Medina JH. Persistence of long-term memory storage requires a late protein synthesis- and BDNF-dependent phase in the hippocampus. *Neuron*. 2007; 53:261-277.
- Benarroch EE. Adenosine and its receptors: multiple modulatory functions and potential therapeutic targets for neurologic disease. *Neurology*. 2008; 70:231-236.
- Berchtold NC, Castello N, Cotman CW. Exercise and time dependent benefits to learning and memory. *Neuroscience*. 2010; 167:588-597.
- Berchtold NC, Chinn G, Chou M, Kesslak JP, Cotman CW. Exercise primes a molecular memory for brain-derived neurotrophic factor protein induction in the rat hippocampus. *Neuroscience*. 2005; 133:853-861.
- Berchtold NC, Kesslak JP, Cotman CW. Hippocampal brain-derived neurotrophic factor gene regulation by exercise and the medial septum. *J Neurosci Res*. 2002; 68:511-521.
- Berchtold NC, Kesslak JP, Pike CJ, Adlard PA, Cotman CW. Estrogen and exercise interact to regulate brain-derived neurotrophic factor mRNA and protein expression in the hippocampus. *Eur J Neurosci*. 2001; 14:1992-2002.
- Bevins RA, Besheer J. Object recognition in rats and mice: a one-trial on-matching-to-sample learning task to study 'recognition memory'. *Nat Prot*. 2006; 1: 1306-1311.
- Bhui K, Fletcher A. Common mood and anxiety states: gender differences in the protective effect of physical activity. *Soc Psychiatry Psychiatr Epidemiol*. 2000; 35:28-35.
- Blair SN, Kampert JB, Kohl HW, Barlow CE, Macera CA, Paffenbarger RS Jr, Gibbons LW. Influences of cardiorespiratory fitness and other precursors on cardiovascular disease and all-cause mortality in men and women. *JAMA*. 1996; 276:205-210.
- Blanquet PR. Identification of two persistently activated neurotrophin-regulated pathways in rat hippocampus. *Neuroscience*. 2000; 95:705-719.



- Brezun JM, Daszuta A. Depletion in serotonin decreases neurogenesis in the dentate gyrus and the subventricular zone of adult rats. *Neuroscience*. 1999; 89:999-1002.
- Bryant C, Jackson H, Ames D. The prevalence of anxiety in older adults: methodological issues and a review of the literature. *J Affec Dis*. 2008; 109:233-250.
- Burghardt PR, Fulk LJ, Hand GA, Wilson MA. The effects of chronic treadmill and wheel running on behavior in rats. *Brain Res* 2004; 1019:84-96.
- Burghardt PR, Fulk LJ, Hand GA, Wilson MA. The effects of chronic treadmill and wheel running on behavior in rats. *Brain Res*. 2004; 1019:84-96.
- Canas PM, Duarte JM, Rodrigues RJ, Köfalvi A, Cunha RA. Modification upon aging of the density of presynaptic modulation systems in the hippocampus. *Neurobiol Aging*. 2009; 30:1877-1884.
- Castillo CA, Albasanz JL, Leon D, Jordan J, Pallas M, Camins A, Martin M. Age-related expression of adenosine receptors in brain from the senescence-accelerated mouse *Exp Gerontol*. 2009; 44:453-461.
- Chao XD, Fei F, Fei Z. The role of excitatory amino acid transporters in cerebral ischemia. *Neurochem Res*. 2010; 35:1224-1230.
- Chaouloff F. Physical exercise and brain monoamines: a review. *Acta Physiol Scand*. 1989; 137:1-13.
- Chen H, Zhang SM, Schwarzschild MA, Hernán MA, Ascherio A. Physical activity and the risk of Parkinson disease. *Neurology*. 2005; 64:664-669.
- Chen H, Zhang SM, Schwarzschild MA, Hernan MA, Ascherio A. 2005. Physical activity and the risk of Parkinson disease. *Neurology*; 64:664-669.
- Chen KS, Masliah E, Mallory M, Gage FH. Synaptic loss in cognitively impaired aged rats is ameliorated by chronic human nerve growth factor infusion. *Neuroscience*. 1995; 68:19-27.

- Christie BR, Swann SE, Fox CJ, Froc D, Lieblich SE, Redila V, Webber A. Voluntary exercise rescues deficits in spatial memory and long-term potentiation in prenatal ethanol-exposed male rats. *Eur J Neurosci*. 2005; 21:1719-1726.
- Clark CR, Paul RH, Williams LM, Arns M, Fallahpour K, Handmer C, Gordon E. Standardized assessment of cognitive functioning during development and aging using an automated touchscreen battery. *Arch Clin Neuropsychol*. 2006; 21:449-446.
- Colcombe S, Kramer AF. Fitness effects on the cognitive function of older adults: a meta-analytic study. *Psychol Sci*. 2003; 14:125-130.
- consensus study. *Lancet*; 366:2112–2117.
- Costa MS, Botton PH, Mioranza S, Ardais AP, Moreira JD, Souza DO, Porciúncula LO. Caffeine improves adult mice performance in the object recognition task and increases BDNF and TrkB independent on phospho-CREB immunoccontent in the hippocampus. *Neurochem Int*. 2008; 53:89-94.
- Costa MS, Botton PH, Mioranza S, Souza DO, Porciúncula LO. Caffeine prevents age-associated recognition memory decline and changes brain-derived neurotrophic factor and tirosine kinase receptor (TrkB) content in mice. *Neuroscience*. 2008; 153:1071-1078.
- Cotman CW, Berchtold NC, Christie LA. Exercise builds brain health: key roles of growth factor cascades and inflammation. *Trends Neurosci*. 2007; 30: 464-472.
- Cotman CW, Berchtold NC. Exercise: a behavioral intervention to enhance brain health and plasticity. *Trends Neurosci*. 2002; 25:295-301.
- Coyle CP, Santiago MC. Aerobic exercise training and depressive symptomatology in adults with physical disability. *Arch Phys Med Rehabil*. 1995; 76:647-652.
- Creer DJ, Romberg C, Saksida LM, van Praag H, Bussey TJ. Running enhances spatial pattern separation in mice. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2010; 107:2367–2372.

- Cunha RA, Ferré S, Vaugeois JM, Chen JF. Potential therapeutic interest of adenosine A<sub>2A</sub> receptors in psychiatric disorders. *Curr Pharm Des.* 2008; 14:1512-1524.
- Cunha RA. Adenosine as a neuromodulator and as a homeostatic regulator in the nervous system: different roles, different sources and different receptors. *Neurochem Int* 2001; 38:107-125.
- Dahabreh IJ, Paulus JK. 2011. Association of episodic physical and sexual activity with triggering of acute cardiac events. Systematic review and meta-analysis. *JAMA*; 305:1225-1233.
- Dall'Igna OP, Fett P, Gomes MW, Souza DO, Cunha RA, Lara DR. Caffeine and adenosine A<sub>2A</sub> receptor antagonists prevent beta-amyloid (25–35)-induced cognitive deficits in mice. *Exp Neurol.* 2007; 203:241-245.
- Danbolt NC. Glutamate uptake. *Prog Neurobiol.* 2001; 65:1-105.
- Dantas EHM. A prática da preparação física. 1995. 3ª Ed. Shape, Rio de Janeiro.
- Davis JM, Zhao Z, Stock HS, Mehl KA, Buggy J, Hand GA. Central nervous system effects of caffeine and adenosine on fatigue. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2003; 284:399-404.
- Dawirs RR, Hildebrandt K, Teuchert-Noodt G. Adult treatment with haloperidol increases dentate granule cell proliferation in the gerbil hippocampus. *J Neural Transm.* 1998; 105:317-327.
- de Mendonça A, Almeida T, Bashir ZI. Endogenous adenosine attenuates long-term depression and depotentiation in the CA1 region of the rat hippocampus. *Neuropharmacology.* 1997; 36:161-167.
- de Mendonça A, Ribeiro JÁ. Endogenous adenosine modulates long-term potentiation in the hippocampus. *Neuroscience.* 1994; 62:385-390.

- Deslandes A, Moraes H, Ferreira C, Veiga H, Silveira H, Mouta R, Pompeu FA, Coutinho ES, Laks J. Exercise and mental health: many reasons to move. *Neuropsychobiology*. 2009; 59:191-198.
- Diabetes Prevention Program (DPP) Research Group. The Diabetes Prevention Program (DPP): description of lifestyle intervention. *Diabetes Care*. 2002; 25:2165-2171.
- Diógenes MJ, Fernandes CC, Sebastiao AM, Ribeiro JÁ. Activation of adenosine A2A receptor facilitates brain-derived neurotrophic factor modulation of synaptic transmission in hippocampal slices. *J Neurosci*. 2004; 24:2905–2913.
- Dishman RK, Berthoud HR, Booth FW, Cotman CW, Edgerton VR, Fleshner MR, Gandevia SC, Gomez-Pinilla F, Greenwood BN, Hillman CH, Kramer AF, Levin BE, Moran TH, Russo-Neustadt AA, Salamone JD, Van Hoomissen JD, Wade CE, York DA, Zigmond MJ. Neurobiology of exercise. *Obesity*. 2006; 14:345-356.
- Dong XX, Wang Y, Qin ZH. Molecular mechanisms of excitotoxicity and their relevance to pathogenesis of neurodegenerative diseases. *Acta Pharmacol Sin*. 2009; 30:379-387.
- Dunn AL, Trivedi MH, O’Neal HA. Physical activity dose response effects on outcome of depression and anxiety. *Med Sci Sports Exerc*. 2001; 33:S587-S597.
- Dunwiddie TV, Masino SA. The role and regulation of adenosine in the central nervous system. *Annu Rev Neurosci*. 2001; 24:31-55.
- During MJ, Cao L. VEGF a mediator of the effect of experience on hippocampal neurogenesis. *Curr Alzheimer Res*. 2006; 3:29-33.
- Egan MF, Kojima M, Callicott JH, Goldberg TE, Kolachana BS, BertolinoA, Zaitsev E, Gold B, Goldman D, Dean M, Lu B, Weinberger DR. The BDNF val66met polymorphism affects activitydependent secretion of BDNF and human memory and hippocampal function. *Cell* 2003; 112:257-269.

- Enna SJ, Reisman SA, Stanford JA. CGP 56999A, a GABA<sub>B</sub> receptor antagonist, enhances expression of brain-derived neurotrophic factor and attenuates dopamine depletion in the rat corpus striatum following a 6-hydroxydopamine lesion of the nigrostriatal pathway. *Neurosci Lett* 2006; 406:102-106.
- Eriksson J, Taimela S, Eriksson K, Parviainen S, Peltonen J, Kujala U. Resistance training in the treatment of non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Int J Sports Med.* 1997; 18:242-246.
- Eulenburg V, Gomez J. Neurotransmitter transporters expressed in glial cells as regulators of synapse function. *Brain Res Rev.* 2010; 63:103-112.
- Executive Summary of The Third Report of The National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection Evaluation and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). *JAMA.* 2001; 285:2486-2497.
- Fabel K, Fabel K, Tam B, Kaufer D, Baiker A, Simmons N, Kuo CJ, Palmer TD. VEGF is necessary for exercise-induced adult hippocampal neurogenesis. *Eur J Neurosci.* 2003; 18:2803-2812.
- Farmer J, Zhao X, Van Praag H, Wodtke K, Gage FH, Christie BR. Effects of voluntary exercise on synaptic plasticity and gene expression in the dentate gyrus of adult male Sprague-Dawley rats in vivo. *Neuroscience.* 2004; 124:71–79.
- Ferri CP, Prince M, Brayne C, Brodaty H, Fratiglioni L, Ganguli M, Hall K, Hasegawa File SE, Baldwin HA, Johnston AL, Wilks LJ. Behavioral effects of acute and chronic administration of caffeine in the rat. *Pharmacol Biochem Behav.* 1988; 30:809-815.
- Florio C, Prezioso A, Papaioannou A, Vertua R. Adenosine A1 receptors modulate anxiety in CD1 mice. *Psychopharmacology (Berl).* 1998; 136:311-319.

- Fordyce DE, Farrar RP. Effect of physical activity on hippocampal high affinity choline uptake and muscarinic binding: a comparison between young and old F344 rats. *Brain Res.* 1991; 541:57-62.
- Fredholm BB, Chen JF, Cunha RA, Svenningsson P, Vaugeois JM. Adenosine and brain function. *Int Rev Neurobiol.* 2005; 63:191-270.
- Fredholm BB, Irenius E, Kull B, Schulte G. Comparison of the potency of adenosine as an agonist at human adenosine receptors expressed in Chinese hamster ovary cells. *Biochem Pharmacol.* 2001; 61:443-448.
- Fredholm BB. Are methylxanthine effects due to antagonism of endogenous adenosine? *Trends Pharmacol Sci.* 1980; 1:129-132.
- Frontera WR, Dawson DM, Slovick DM. Exercício físico e reabilitação. 2001. Ed Artmed. Porto Alegre.
- Fumagalli F, Racagni G, Riva MA. Shedding light into the role of BDNF in the pharmacotherapy of Parkinson's disease. *Pharmacogenomics J.* 2006a; 6:95-104.
- Fumagalli F, Racagni G, Riva MA. The expanding role of BDNF: a therapeutic target for Alzheimer's disease? *Pharmacogenomics J.* 2006b; 6:8-15.
- Fuss J, Ben Abdallah NM, Vogt MA, Touma C, Pacifici PG, Palme R, Witzemann V, Hellweg R, Gass P. 2010. Voluntary exercise induces anxiety-like behavior in adult C57BL/6J mice correlating with hippocampal neurogenesis. *Hippocampus*; 20:364-376.
- Gage FH, Brown TR, Small SA. An in vivo correlate of exercise-induced neurogenesis in the adult dentate gyrus. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2007; 104:5638-5643.
- Garber CE, Blissmer B, Deschenes MR, Franklin BA, Lamonte MJ, Lee IM, Nieman DC, Swain DP. 2011. American College of Sports Medicine position stand. Quantity and quality of exercise for developing and maintaining cardiorespiratory, musculoskeletal,

- and neuromotor fitness in apparently healthy adults: guidance for prescribing exercise. *Med Sci Sports Exerc*; 43:1334-1359.
- Garber CE, Friedman JH: Effects of fatigue on physical activity and function in patients with Parkinson's disease. *Neurology* 2003; 60:1119-1124.
- Garza AA, Ha TG, Garcia C, Chen MJ, Russo-Neustadt AA. Exercise, antidepressant treatment, and BDNF mRNA expression in the aging brain. *Pharmacol Biochem Behav.* 2004; 77:209-220.
- Giménez-Llort L, Fernández-Teruel A, Escorihuela RM, Fredholm BB, Tobeña A, Pekny M, Johansson B. Mice lacking the adenosine A1 receptor are anxious and aggressive, but are normal learners with reduced muscle strength and survival rate. *Eur J Neurosci* 2002; 16:547-550.
- Goede CJ, Keus SH, Kwakkel G, Wagenaar, R. C. The effects of physical therapy in Parkinson's disease: a research synthesis. *Arch Phys Med Rehabil* 2001; 82:509-515.
- Gomes CV, Kaster MP, Tome AR, Agostinho PM, Cunha RA. Adenosine receptors and brain diseases: neuroprotection and neurodegeneration. *Biochim Biophys Acta.* 2011; 1808:1380-1399.
- Gomez-Pinilla F, Waynman S, Ying Z. Brain-derived neurotrophic factor functions as a metabotrophin to mediate the effects of exercise on cognition. *Eur J Neurosci.* 2008; 28:2278-2287.
- Gomez-Pinilla F, Ying Z, Roy RR, Molteni R, Edgerton VR. Voluntary exercise induces a BDNF-mediated mechanism that promotes neuroplasticity. *J Neurophysiol.* 2002; 88:2187-2195.
- Goodwin RD. Association between physical activity and mental disorders among adults in the United States. *Prev Med.* 2003; 36:698-703.

Greenberg ME, Xu B, Lu B, Hempstead BL. New insights in the biology of BDNF synthesis and release: implications in CNS function *J Neurosci*. 2009; 29:12764-12767.

Greenwood BN, Foley TE, Day HE, Campisi J, Hammack SH, Campeau S, Maier SF, Fleshner M. Freewheel running prevents learned helplessness/behavioral depression: role of dorsal raphe serotonergic neurons. *J Neurosci* 2003; 23:2889-2898.

Greenwood BN, Foley TE, Day HE, Campisi J, Hammack SH, Campeau S, Maier SF, Fleshner M. Freewheel running prevents learned helplessness/behavioral depression: role of dorsal raphe serotonergic neurons. *J Neurosci*. 2003; 23:2889-2898.

Griesbach GS, Hovda DA, Gomez-Pinilla F. Exercise-induced improvement in cognitive performance after traumatic brain injury in rats is dependent on BDNF activation *Brain Res*. 2009; 1288:105-115.

Halbach OB. Involvement of BDNF in age-dependent alterations in the hippocampus. *Front Aging Neurosci*. 2010; 2:1-11.

Hamer M and Chida Y. 2009. Physical activity and risk of neurodegenerative disease: a systematic review of prospective evidence. *Psychol Med*; 39:3-11.

Hartman RE, Lee JM, Zipfel GJ, Wozniak DF. Characterizing learning deficits and hippocampal neuron loss following transient global cerebral ischemia in rats. *Brain Res*. 2005; 1043:48-56.

Hashimoto K. Brain-derived neurotrophic factor as a biomarker for mood disorders: An historical overview and future directions. *Psych Clin Neurosci*. 2010; 64:341-357.

Haskell WL, Lee I-M, Pate RR, Powell KE, Blair SN, Franklin BA, Macera CA, Heath GW, Thompson PD, Bauman A. Physical Activity and Public Health: Updated Recommendation for Adults from the American College of Sports Medicine and the American Heart Association. *Med Sci Sports Exerc*. 2007; 39:1423-1434.



- Hattiangady B, Rao MS, Shetty GA, Shetty AK. Brain-derived neurotrophic factor, phosphorylated cyclic AMP response element binding protein and neuropeptide Y decline as early as middle age in the dentate gyrus and CA1 and CA3 subfields of the hippocampus. *Exp Neurol*. 2005; 195:353-371.
- Hauber W, Bareiss A. Facilitative effects of an adenosine A1/A2 receptor blockade on spatial memory performance of rats: selective enhancement of reference memory retention during the light period. *Behav Brain Res*. 2001; 118:43-52.
- Hennigan A, O'Callaghan RM, Kelly AM. Neurotrophins and their receptors: roles in plasticity, neurodegeneration and neuroprotection. *Biochem Soc Trans*. 2007; 35:424-427.
- Herring MP, O'Connor PJ, Dishman RK. The effect of exercise training on anxiety symptoms among patients. *Arch Intern Med*. 2010; 170:321-331.
- Hillman CH, Erickson KI, Kramer AF. Be smart, exercise your heart: exercise effects on brain and cognition. *Nat Rev Neurosci*. 2008; 9:58-65
- Hodges H, Nelson A, Virley D, Kershaw TR, Sinden JD. Cognitive deficits induced by global cerebral ischaemia: prospects for transplant therapy. *Pharmacol Biochem Behav*. 1997; 56:763-780.
- Homayoun H, Khavandgar S, Zarrindast MR. Effects of adenosine receptor agonists and antagonists on pentylentetrazole-induced amnesia. *Eur J Pharmacol*. 2001; 430:289-294.
- Hoveida R, Alaei H, Oryan S, Parivar K, Reisi P. Treadmill running improves spatial memory in an animal model of Alzheimer's disease. *Behav Brain Res*. 2011; 216:270-274.

- Huang AM, Jen CJ, Chen HF, Yu L, Kuo YM, Chen HI. Compulsive exercise Acutely upregulates rat hippocampal brain-derived neurotrophic factor. *J Neural transm.* 2006; 113:803–811.
- Issacs KR, Anderson BJ, Alcantara AA, Black JE, Greenough WT. Exercise and the brain: angiogenesis in the adult rat cerebellum after vigorous physical activity and motor skill learning. *J Cereb Blood Flow Metab.* 1992; 12:110-119.
- Izquierdo I, Bevilaqua LR, Rossato JI, Bonini JS, Medina JH, Cammarota M. Different molecular cascades in different sites of the brain control memory consolidation. *Trends Neurosci.* 2006; 29:496-505.
- Izquierdo I. Memória. 2ª edição. Porto Alegre: Artmed, 2011.
- Jain N, Kemp N, Adeyemo O, Buchanan P, Stone TW. Anxiolytic activity of adenosine receptor activation in mice. *Br J Pharmacol.* 1995; 116:2127-2133.
- Johansson B, Halldner L, Dunwiddie TV, Masino SA, Poelchen W, Giménez-Llort L, Escorihuela RM, Fernández-Teruel A, Wiesenfeld-Hallin Z, Xu XJ, Hårdemark A, Betsholtz C, Herlenius E, Fredholm BB. Hyperalgesia, anxiety, and decreased hypoxic neuroprotection in mice lacking the adenosine A1 receptor. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2001; 98:9407-9412.
- K, Hendrie H, Huang Y, Jorm A, Mathers C, Menezes PR, Rimmer E, Scazufca M. 2005. Alzheimer's Disease International. Global prevalence of dementia: a Delphi
- Kim SE, Ko IG, Kim BK, Shin MS, Cho S, Kim CJ, Kim SH, Baek SS, Lee EK, Jee YS. Treadmill exercise prevents aging-induced failure of memory through an increase in neurogenesis and suppression of apoptosis in rat hippocampus. *Exp Gerontol.* 2010; 45:357-365.

- Kitamura T, Mishina M, Sugiyama H. Enhancement of neurogenesis by running wheel exercises is suppressed in mice lacking NMDA receptor epsilon 1 subunit. *Neurosci Res.* 2003; 47:55-63.
- Knaepen K, Goekint M, Heyman EM, Meeusen R. Neuroplasticity - exercise-induced response of peripheral brain-derived neurotrophic factor: a systematic review of experimental studies in human subjects. *Sports Med.* 2010; 40:765-801.
- Kopf SR, Melani A, Pedata F, Pepeu G. Adenosine and memory storage: effect of A<sub>1</sub> and A<sub>2A</sub> receptor antagonists. *Psychopharmacology (Berl).* 1999; 146:214-219.
- Kramer AF, Erickson KI, Colcombe SJ. Exercise, cognition, and the aging brain. *J Appl Physiol.* 2006; 101:1237-1242.
- Kramer AF, Hahn S, Cohen NJ, Banich MT, McAuley E, Harrison CR, Chason J, Vakil E, Bardell L, Boileau RA, Colcombe A. Ageing, fitness and neurocognitive function. *Nature.* 1999; 400:418-419.
- Kuipers H, Keizer H A. Overtraining in elite athletes. Review and directions for the future. *Sports Med.* 1988; 6:79-92.
- Kuzmin A, Johansson B, Zvartau EE, Fredholm BB. Caffeine, acting on adenosine A<sub>1</sub> receptors, prevents the extinction of cocaine-seeking behavior in mice. *J Pharmacol Exp Ther.* 1999; 290:535-542.
- Kyrios M, Mouding R, Nedeljkovic M. Anxiety disorders - assessment and management in general practice. *Aust Fam Physician.* 2011; 40:370-374.
- Lakka TA, Laukkanen JA, Rauramaa R, Salonen R, Lakka HM, Kaplan GA, Salonen JT. Cardiorespiratory fitness and the progression of carotid atherosclerosis in middle-aged men. *Ann Intern Med.* 2001; 134:12-20.

- Lang UE, Lang F, Richter K, Vallon V, Lipp HP, Schnermann J, Wolfer DP. Emotional instability but intact spatial cognition in adenosine receptor 1 knock out mice. *Behav Brain Res.* 2003;145:179-188.
- Larson EB, Wang L, Bowen JD, McCormick WC, Teri L, Crane P, Kukull W. 2006. Exercise is associated with reduced risk for incident dementia among persons 65 years of age and older. *Ann Intern Med*; 144:73-81
- Laske C, Stransky E, Leyhe T, Eschweiler GW, Schott K, Langer H, Gawaz M. Decreased brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and beta-thromboglobulin (beta-TG) blood levels in Alzheimer's disease. *Thromb Haemost.* 2006; 96:102-103.
- Lata H, Alia LW. *Ageing: Physiological Aspects.* JK Science. 2007; 9:111-115.
- Latini S, Pedata F. Adenosine in the central nervous system: Release mechanisms and extracellular concentrations. *J Neurochem.* 2001; 79:463-484.
- Leasure JL, Jones M. Forced and voluntary exercise differentially affect brain and behavior. *Neuroscience* 2008; 156:456-465.
- Leasure JL, Jones M. Forced and voluntary exercise differentially affect brain and behavior. *Neuroscience.* 2008; 156:456-465.
- Ledent C, Vaugeois JM, Schiffmann SN, Pedrazzini T, El Yacoubi M, Vanderhaeghen JJ, Costentin J, Heath JK, Vassart G, Parmentier M. Aggressiveness, hypoalgesia and high blood pressure in mice lacking the adenosine A2a receptor. *Nature* 1997; 388:674-678.
- Lee FS, Chao MV. Activation of Trk neurotrophin receptors in the absence of neurotrophins. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2001; 98:3555–3560.
- Lee J, Fukumoto H, Orne J, Klucken J, Raju S, Vanderburg CR, Irizarry MC, Hyman BT, Ingelsson M. Decreased levels of BDNF protein in Alzheimer temporal cortex are independent of BDNF polymorphisms. *Exp Neurol.* 2005; 194:91-96.

- Light LL. Memory and aging: four hypotheses in search of data. *Annu Rev Psychol.* 1991; 42:333-376.
- Liu YF, Chen HI, Wu CL, Kuo YM, Yu L, Huang AM, Wu FS, Chuang JI, Jen CJ. Differential effects of treadmill running and wheel running on spatial or aversive learning and memory: roles of amygdalar brain-derived neurotrophic factor and synaptotagmin I. *J Physiol.* 2009; 587:3221-3231.
- Liu YF, Chen HI, Yu L, Kuo YM, Wu FS, Chuang JI, Liao PC, Jen CJ. Upregulation of hippocampal TrkB and synaptotagmin is involved in treadmill exercise-enhanced aversive memory in mice. *Neurobiol Learn Mem.* 2008;90:81-89.
- Lopes KMDC. Os efeitos crônicos do exercício físico aeróbio nos níveis de serotonina e depressão em mulheres com idade entre 50 e 72 anos [Dissertação Mestrado]. Brasília: Universidade Católica de Brasília, 2001.
- Lu B, Chow A. Neurotrophins and hippocampal synaptic transmission and plasticity. *J Neurosci Res.* 1999; 58:76-87.
- Malberg JE, Eisch AJ, Nestler EJ, Duman RS. Chronic antidepressant treatment increases neurogenesis in adult rat hippocampus. *J Neurosci.* 2000; 20:9104-9110.
- Manson JE, Stampfer MJ, Colditz GA, Willett WC, Rosner B, Hennekens CH, Speizer FE, Rimm EB, Krolewski AS. Physical activity and incidence of non-insulin-dependent diabetes mellitus in women. *Lancet.* 1991; 338:774-778.
- Maragakis NJ, Rothstein JD. Glutamate transporters: animal models to neurologic disease. *Neurobiol Dis.* 2004; 15:461-473.
- Meesen R, Smolders I, Sarre S, De Meirleir K, Keizer H, Serneels M, Ebinger G, Michotte Y. Endurance training effects on neurotransmitter release in rat striatum - an in vivo microdialysis study. *Acta Physiol Scand.* 1997; 159:335-341.

- Meeusen R, De Meirleir K. Exercise and brain neurotransmission. *Sports Med.* 1995; 20:160-188.
- Mello MT, Boscolo RA, Esteves AM, Tufik S. O exercício físico e os aspectos psicobiológicos. *Rev Bras Med Esp.* 2005; 11:
- Mello PB, Benetti F, Cammarota M, Izquierdo I. Effects of acute and chronic physical exercise and stress on different types of memory in rats. *An Acad Bras Cienc.* 2008; 80:301-309.
- Miller WJ, Sherman WM, Ivy JL. Effect of strength training on glucose tolerance and post-glucose insulin response. *Med Sci Sports Exerc.* 1984; 16:539-543.
- Minichiello L. TrkB signalling pathways in LTP and learning. *Nat Rev Neurosci.* 2009; 10:850-860.
- Mioranza S, Costa MS, Botton PH, Ardais AP, Matte VL, Espinosa J, Souza DO, Porciuncula LO. Blockade of adenosine A<sub>1</sub> receptors prevents methylphenidate-induced impairment of object recognition task in adult mice. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 2011; 35:169-176.
- Molteni R, Barnard RJ, Ying Z, Roberts CK, Gomez-Pinilla F. A high-fat, refined sugar diet reduces hippocampal brain-derived neurotrophic factor, neuronal plasticity, and learning. *Neuroscience.* 2002a; 112:803-114.
- Molteni R, Ying Z, Gomez-Pinilla F. Differential effects of acute and chronic exercise on plasticity-related genes in the rat hippocampus revealed by microarray. *Eur J Neurosci.* 2002b; 16:1107-1116.
- Moretti M, de Souza AG, de Chaves G, de Andrade VM, Romao PR, Gavioli EC, Boeck CR. Emotional behavior in middle-aged rats: Implications for geriatric psychopathologies. *Physiol Behav.* 2011; 102:115-120.

- Morgan WP. Influence on acute physical activity on state anxiety. NCPEAM, Proceedings, 1973; 113-121.
- Morris JN, Heady JA. Mortality in relation to the physical activity of work: a preliminary note on experience in middle age. *Br J Ind Med.* 1953; 10:245-254.
- Neeper SA, Gómez-Pinilla F, Choi J, Cotman CW. Physical activity increases mRNA for brain derived neurotrophic factor and nerve growth factor in rat brain. *Brain Res.* 1996; 726, 49–56.
- Nehlig A, Daval JL, Debry G. Caffeine and the central nervous system: mechanisms of action, biochemical, metabolic and psychostimulant effects, *Brain Res Brain Res Rev.* 1992; 17:139-170.
- Nepper SA, Gómez-Pinilla F, Choi J, Cotman C. Exercise and brain neurotrophins. *Nature.* 1995; 373:109.
- Normile HJ, Barraco RA. N<sup>6</sup>-cyclopentyladenosine impairs passive avoidance retention by selective action at A<sub>1</sub> receptors. *Brain Res Bull.* 1991; 27:101-104.
- O'Connor PJ, Petruzzello SJ, Kubitz KA, Robinson TL. Anxiety responses to maximal exercise testing. *Br J Sports Med.* 1995; 29:97-102.
- Ogonovszky H, Berkes I, Kumagai S, Kaneko T, Tahara S, Goto S, Radak Z. The effects of moderate-, strenuous- and overtraining on oxidative stress markers, DNA repair, and memory, in the rat brain. *Neurochem Int.* 2005; 46:635-640.
- Ohno M, Watanabe S. Working memory failure by stimulation of hippocampal adenosine A<sub>1</sub> receptors in rats. *Neuroreport.* 1996; 7:3013-3016.
- Peluso MA, Guerra de Andrade LH. Physical activity and mental health: the association between exercise and mood. *Clinics* 2005; 60:61-70.

- Pereira GS, Mello e Souza T, Vinadé ER, Choi H, Rodrigues C, Battastini AM, Izquierdo I, Sarkis JJ, Bonan CD. Blockade of adenosine A<sub>1</sub> receptors in the posterior cingulate cortex facilitates memory in rats. *Eur. J. Pharmacol.* 2002; 437:151-154.
- Pietro Paolo S, Sun Y, Li R, Brana C, Feldon J, Yee BK. The impact of voluntary exercise on mental health in rodents: A neuroplasticity perspective. *Behav Brain Res* 2008; 192:42-60.
- Pietro Paolo S, Sun Y, Li R, Brana C, Feldon J, Yee BK. The impact of voluntary exercise on mental health in rodents: A neuroplasticity perspective. *Behav Brain Res.* 2008; 192:42-60.
- Pitanga FJG. Epidemiologia, atividade física e saúde. *Rev Bras Ciên Mov.* 2002; 10:49-54.
- Pizzorusso T, Fagiolini M, Gianfranceschi L, Porciatti V, Maffei L. Role of neurotrophins in the development and plasticity of the visual system: experiments on dark rearing. *Int J Psychophysiol.* 2000; 35:189-196.
- Pollock ML, Gettman LR, Milesis CA, Bah MD, Durstine L, Johnson RB. 1977. Effects of frequency and duration of training on attrition and incidence of injury. *Med Sci Sports*; 9:31-36.
- Poo MM. Neurotrophins as synaptic modulators. *Nat Rev Neurosci.* 2001; 2:24–32.
- Pope S, Shue V, Beck C: Will a healthy lifestyle help prevent Alzheimer's disease? *Annu Rev Public Health.* 2003; 24:111-132.
- Powell KE, Thompson PD, Caspersen CJ, Kendrick JS. Physical activity and the incidence of coronary heart disease. *Annu Rev Public Health.* 1987; 8:253-287.
- Prediger RD, Fernandes D, Takahashi RN. Blockade of adenosine A<sub>2A</sub> receptors reverses short-term social memory impairments in spontaneously hypertensive rats. *Behav Brain Res.* 2005a; 159:197-205.



- Proper KI, Singh, AS, van Mechelen, W, Chinapaw, MJM. Sedentary behaviors and health outcomes among adults a systematic review of prospective studies. *Am J Prev Med* 2011; 40:174-182.
- Purvis D, Gonsalves S, Deuster PA. Physiological and psychological fatigue in extreme conditions: overtraining and elite athletes. *PM R*. 2010; 2:442-450.
- Radak Z, Told A, Szabo Z, Siamilis S, Nyakas C, Silye G, Jakus J, Goto S. The effects of training and detraining on memory, neurotrophins and oxidative stress markers in rat brain. *Neurochem Int*. 2006; 49:387-392.
- Radley JJ, Jacobs BL. 5-HT<sub>1A</sub> receptor antagonist administration decreases cell proliferation in the dentate gyrus. *Brain Res*. 2002; 955:264-267.
- Raglin JS, Wilson M. State anxiety following of bicycle ergometer exercise at selected intensities. *Int J Sports Med* 1996; 17:467-471.
- Reisi P, Alaei H, Babri S, Sharifi MR, Mohaddes G. Effects of treadmill running on spatial learning and memory in streptozotocin-induced diabetic rats. *Neurosci Lett*. 2009; 455:79-83.
- Riddle DR. *Brain Aging: Models, Methods, and Mechanisms*. ed Boca Raton (FL): CRC Press; 2007.
- Rietjens GJ, Kuipers H, Adam JJ, Saris WH, van Breda E, van Hamont D, Keizer HA. Physiological, biochemical and psychological markers of strenuous training-induced fatigue. *Int J Sports Med*. 2005; 26:16-26.
- Roberts CK, Barnard RJ. Effects of exercise and diet on chronic disease. *J Appl Physiol*. 2005; 98:3-30.
- Rosenbaum S, Sherrington C. Is exercise effective in promoting mental well-being in older age? A systematic review *Br J Sports Med*. 2011; 45:1079-1080.

- Ross R, McGuire, KA. 2011. Incidental physical activity is positively associated with cardiorespiratory fitness. *Med Sci Sports Exerc*; 4:2189-2194.
- Ruscheweyh R, Willemer C, Kruger K, Duning T, Warnecke T, Sommer J, Volker K, Ho HV, Mooren F, Knecht S, Floel A. Physical activity and memory functions: an interventional study. *Neurobiol Aging*. 2011; 32:1304-1319.
- Russo-Neustadt AA, Alexandre H, Garcia C, Ivy AS, Chen MJ. Hippocampal brain-derived neurotrophic factor expression following treatment with reboxetine, citalopram, and physical exercise. *Neuropsychopharmacology*. 2004; 29:2189-2199.
- Santarelli L, Saxe M, Gross C, Surget A, Battaglia F, Dulawa S, Weisstaub N. Requirement of hippocampal neurogenesis for the behavioral effects of antidepressants. *Science*. 2003; 301:805-809.
- Sartori CR, Vieira A. S. Ferrari, E. M. Langone, F. Tongiorgi, E. Parada, C. A. The antidepressive effect of the physical exercise correlates with increased levels of mature BDNF, and proBDNF proteolytic cleavage-related genes, p11 and tPA. *Neuroscience*. 2011; 180:9-18.
- Schapira AH, Jenner P. 2011. Etiology and pathogenesis of Parkinson's disease. *Mov Disord*; 26:1049-1055.
- Sebastião AM, Ribeiro JA. Fine-tuning neuromodulation by adenosine. *Trends Pharmacol Sci*. 2000; 21:341-346.
- Segovia G, Porras A, Del Arco A, Mora F. Glutamatergic neurotransmission in aging: a critical perspective. *Mech Ageing Dev*. 2001;122:1-29.
- Sesso HD, Paffenbarger RS Jr, Lee IM. Physical activity and coronary heart disease in men: The Harvard Alumni Health Study. *Circulation*. 2000; 102:975-980.
- Sforzo GA, Seeger TF, Pert CB, Pert A, Dotson CO. In vivo opioid receptor occupation in the rat brain following exercise. *Med Sci Sports Exerc*. 1986; 18:380-384.

- Sheldon AL, Robinson MB. The role of glutamate transporters in neurodegenerative diseases and potential opportunities for intervention. *Neurochem Int.* 2007; 5:333-355.
- Shen HY, Chen JF. Adenosine A<sub>2A</sub> receptors in psychopharmacology: modulators of behavior, mood and cognition. *Curr Neuropharmacol.* 2009; 7:195-206.
- Sonntag WE, Ramsey M, Carter CS. Growth hormone and insulin-like growth factor-1 (IGF-1) and their influence on cognitive aging. *Ageing Res Rev.* 2005; 4:195–212.
- Souza-Rabbo MP, Araujo ASr, Fernandes TR, Oliveira AR, Bello-Klein A, Kaur K, Singal PK. Influence of exercise training frequency on cardiac and hepatic oxidative stress in rats. *Exp Clin Cardiol.* 2003; 8:201-205.
- Souza-Rabbo MP, Araujo ASr, Fernandes TR, Oliveira AR, Bello-Klein A, Kaur K, Singal PK. 2003. Influence of exercise training frequency on cardiac and hepatic oxidative stress in rats. *Exp Clin Cardiol*; 8:201-205.
- Stevens B. Neuron-astrocyte signaling in the development and plasticity of neural circuits. *Neurosignals.* 2008; 16:278-288.
- Suzuki F, Shimada J, Shiozaki S, Ichikawa S, Ishii A, Nakamura J, Nonaka H, Kobayashi H, Fuse E. Adenosine A<sub>1</sub> antagonists. 3. Structure-activity relationships on amelioration against scopolamine- or N<sup>6</sup>-((R)-phenylisopropyl) adenosine-induced cognitive disturbance. *J Med Chem.* 1993; 36:2508-2518.
- Swain RA, Harris AB, Wiener EC, Dutka MV, Morris HD, Theien BE, Konda S, Engberg K, Lauterbur PC, Greenough WT. Prolonged exercise induces angiogenesis and increases cerebral blood volume in primary motor cortex of the rat. *Neuroscience.* 2003; 117:1037-1046.
- Swanson RA, Ying W, Kauppinen TM. Astrocyte influences on ischemic neuronal death *Curr Mol Med.* 2004; 4:193-205.

- Swardfager W, Herrmann N, Marzolini S, Saleem M, Kiss A, Shammi P, Oh PI, Lanctot KL. 2010. Cardiopulmonary fitness is associated with cognitive performance in patients with coronary artery disease. *J Am Geriatr Soc*; 58:1519-25.
- Swardfager W, Herrmann N, Marzolini S, Saleem M, Shammi P, Oh PI, Albert PR, Daigle M, Kiss A, Lanctot KL. 2011. Brain derived neurotrophic factor, cardiopulmonary fitness and cognition in patients with coronary artery disease. *Brain Behav Immun*; 25:1264-1271.
- Takahashi RN, Pamplona FA, Prediger RDS. Adenosine receptor antagonists for cognitive dysfunction: a review of animal studies. *Front Biosci*. 2008; 13:2614-2632.
- Thune I, Furberg AS. Physical activity and cancer risk: dose-response and cancer, all sites and site-specific. *Med Sci Sports Exerc*. 2001; 33:S530–S550-S609–S510.
- Tyler WJ, Alonso M, Bramham CR, Pozzo-Miller LD. From acquisition to consolidation: on the role of brain-derived neurotrophic factor signaling in hippocampal-dependent learning. *Learn Mem*. 2002; 9:224–237.
- Tyler WJ, Pozzo-Miller, L. Miniature synaptic transmission and BDNF modulate dendritic spine growth and form in rat CA1 neurones. *J Physiol*. 2003; 553:497-509.
- Tzingounis AV, Wadiche JI. Glutamate transporters: confining runaway excitation by shaping synaptic transmission. *Nat Rev Neurosci*. 2007; 8:935-947.
- Van Hooissen JD, Holmes PV, Zellner AS, Poudevigne A, Dishman RK. Effects of beta-adrenoreceptor blockade during chronic exercise on contextual fear conditioning and mRNA for galanin and brain-derived neurotrophic factor. *Behav Neurosci* 2004; 118:1378-1390.
- Van Hooissen JD, Holmes PV, Zellner AS, Poudevigne A, Dishman RK. Effects of beta-adrenoreceptor blockade during chronic exercise on contextual fear conditioning and

- mRNA for galanin and brain-derived neurotrophic factor. *Behav Neurosci.* 2004; 118:1378-1390.
- van Praag H, Christie BR, Sejnowski TJ, Gage FH. Running enhances neurogenesis, learning, and long-term potentiation in mice. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1999a; 96:13427-13431.
- van Praag H, Kempermann G, Gage F. Running increases cell proliferation and neurogenesis in the adult mouse dentate gyrus. *Nat Neurosci.* 1999b; 2:266–270.
- van Praag H, Shubert T, Zhao C, Gage FH. Exercise enhances learning and hippocampal neurogenesis in aged mice. *J Neurosci.* 2005; 25:8680-8685.
- van Praag H. Exercise and the brain: something to chew on. *Trends Neurosci.* 2009; 32:283-290.
- van Spronsen M, Hoogenraad CC. Synapse pathology in psychiatric and neurologic disease. *Curr Neurol Neurosci Rep.* 2010; 10:207-214.
- Vaynman S, Ying Z, Gomez-Pinilla F. Hippocampal BDNF mediates the efficacy of exercise on synaptic plasticity and cognition. *Eur J Neurosci.* 2004; 20:2580–2590.
- Vaynman S, Ying Z, Gomez-Pinilla F. Interplay between brain-derived neurotrophic factor and signal transduction modulators in the regulation of the effects of exercise on synaptic-plasticity. *Neuroscience.* 2003; 122:647-657.
- Vaynman SS, Ying Z, Yin D, Gomez-Pinilla F. Exercise differentially regulates synaptic proteins associated to the function of BDNF. *Brain Res.* 2006; 1070:124-130.
- Waites CL, Garner CC. 2011. Presynaptic function in health and disease. *Trends Neurosci.* 34:326-337.
- Winter B, Breitenstein C, Mooren FC, Voelker K, Fobker M, Lechtermann A, Krueger K, Fromme A, Korsukewitz C, Floel A, Knecht S. High impact running improves learning. *Neurobiol Learn Mem.* 2007; 87:597-609.

- Wu D, Pardridge WM. Neuroprotection with noninvasive neurotrophin delivery to the brain. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1999; 96:254-259.
- Xu Q, Park Y, Huang X, Hollenbeck A, Blair A, Schatzkin A, Chen H. 2010. Physical activities and future risk of Parkinson disease. *Neurology*; 75:341-348.
- Zarrindast MR, Shafaghi B. Effects of adenosine receptor agonists and antagonists on acquisition of passive avoidance learning. *Eur J Pharmacol*. 1994; 256:233-239.