



Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Instituto de Ciências Básicas da Saúde
Departamento de Bioquímica Prof. Tuiskon Dick
Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas: Bioquímica

**Avaliação de parâmetros comportamentais, bioquímicos e
moleculares em ratos submetidos ao modelo experimental de
depressão: papel protetor do treinamento físico**

Tiago Marcon dos Santos

Orientadora: Profa. Dra. Angela T. S. Wyse

Porto Alegre

2017

Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Instituto de Ciências Básicas da Saúde
Departamento de Bioquímica Prof. Tuiskon Dick
Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas: Bioquímica

**Avaliação de parâmetros comportamentais, bioquímicos e
moleculares em ratos submetidos ao modelo experimental de
depressão: papel protetor do treinamento físico**

Tiago Marcon dos Santos

Orientadora: Profa. Dra. Angela T. S. Wyse

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Ciências
Biológicas – Bioquímica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul como
requisito à obtenção do título de Mestre em Bioquímica

Porto Alegre

2017

CIP - Catalogação na Publicação

dos Santos, Tiago Marcon

Avaliação de parâmetros comportamentais, bioquímicos e moleculares em ratos submetidos ao modelo experimental de depressão: papel protetor do treinamento físico / Tiago Marcon dos Santos. -- 2017. 83 f.

Orientadora: Angela Terezinha de Souza Wyse.

Dissertação (Mestrado) -- 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, 2017.

1. Depressão. 2. Estresse Crônico Variado. 3. Memória Aversiva. 4. Exercício físico. 5. Estresse Oxidativo. I. Wyse, Angela Terezinha de Souza, orient. II. Título.

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora Profa Angela T. S. Wyse, pela oportunidade em ser seu orientando, desde os tempos de IC, pelos seus ensinamentos, pelo exemplo de profissional e pessoa, por sua alegria contagiante e amizade.

Aos meus pais Wilson e Odila, a minha irmã Taíse, aos meus avós Ernesto e Graciosa, e a minha avó Florentina (*in memoriam*), agradeço imensamente tudo que sempre fizeram por mim, pela dedicação, pelo amor, pelo incentivo, pelo apoio, obrigado por acreditarem em mim. Vocês são meus alicerces, minha base, sem vocês eu não seria nada, amo muito vocês.

Aos meus primeiros amigos da vida e grandes companheiros de sempre, minha família (tias, tios, primas, primos e agregados), por todo ensinamento, toda a alegria e cumplicidade, por todas as risadas e conversas.

Aos antigos e atuais colegas e amigos do laboratório, pelos ensinamentos e pela amizade; por estar sempre ali, fazendo os dias serem mais amenos e felizes: Bá Tagliari, Emi Scherer, Maira da Cunha, Déia Ferreira, Aline Cunha, Cris Matte, Nize Mackedanz, Ju Ben, Flá Mahatma, André Rodrigues, Helena Biasibetti, Felipe Schmitz, Paula Pierozan, Carol Prezi, Carol Gessinger e Eduardo Marques. Em especial a Jana Kolling, Cassi Siebert e Aline Longoni, por estarem sempre junto, pelo carinho, pela amizade e por toda paciência de vocês, amo vocês.

A todos meus amigos, obrigado pela amizade, pelo conselho, companheirismo e pelos incentivos constantes. Obrigado por estarem sempre comigo e tornarem esse Portinho muito mais alegre e feliz. Cada um de vocês tem um enorme sentido e significado na minha vida. Em especial, a Gio Bocchese e família, por todo incentivo e apoio (iniciado lá em 2005), foram muitíssimo importantes pra que tudo isso acontecesse; Kaká e Angela Novello (minhas “Felizes”), Andi Anelo e Vini Braun, Angela Szelbracikowski, Bruna Krinski, Dje, Larison, Laís, Maiara, Cassi, Juliana Raquel (minhas “Azeitonas”), Raque Guerra, Gabi Meirelles e Hernando Rosa (meus “cônjuges”), por estarem sempre junto e compartilharem praticamente todos os momentos da minha vida, amo vocês.

A todos os envolvidos para a execução desta Dissertação, muito obrigado pelas colaborações.

À banca, por terem aceitado tão prontamente essa tarefa e por terem contribuído com a finalização deste trabalho.

Aos professores e funcionários do Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas: Bioquímica, pelos seres humanos comprometidos e dedicados aos seus trabalhos, por todos os ensinamentos e parcerias.

Aos que um dia passaram pela minha vida e trouxeram um pouquinho de si, e ajudaram a construir quem eu sou hoje. A todos que eu tive a honra de conviver e trocar algum conhecimento técnico ou experiência de vida.

À Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) pela oportunidade de ensino gratuito de qualidade, desde a graduação.

Ao CNPq e a CAPES pelo incentivo financeiro para a pesquisa.

À todos, Muito Obrigado!

“...E eu poderia suportar, embora não sem dor, que tivessem morrido todos os meus amores, mas enlouqueceria se morressem todos os meus amigos!...”

[Vinicius de Moraes]

SUMÁRIO

PARTE I	1
RESUMO	2
ABSTRACT	3
LISTA DE ABREVIATURAS	4
I. INTRODUÇÃO	5
1.1 Depressão	6
1.2 Estresse Crônico Variado	10
1.3 Comportamento e Memória Aversiva	12
1.4 Estresse Oxidativo	13
1.5 Na ⁺ , K ⁺ -ATPase	16
1.6 Exercício Físico	18
II. OBJETIVOS	21
2.1 Objetivo Geral	22
2.2 Objetivos Específicos	22
PARTE II	23
CAPITULO I – III. METODOLOGIA E RESULTADOS	23
3.1 Artigo Científico	24
PARTE III	35
IV. DISCUSSÃO	35
V. CONCLUSÕES	43
VI. AVALIAÇÕES COMPLEMENTARES E CONSIDERAÇÕES	46
VII. REFERÊNCIAS	53
VIII. ANEXOS	72
Anexo I – Perspectivas	73
Anexo II – Carta de aprovação do comitê de ética	74
Anexo III – Lista de figuras	75
Anexo IV – Lista de tabelas	76

PARTE I

RESUMO

Uma vez que situações estressantes são consideradas fatores de risco para o desenvolvimento de depressão e que há poucos estudos avaliando terapias preventivas para o desenvolvimento dessa doença, no presente estudo avaliamos o efeito do exercício físico prévio em animais submetidos ao estresse crônico variado (ECV), um modelo animal de depressão, sobre tarefas comportamentais (campo aberto e esQUIVA inibitória) e alguns parâmetros bioquímicos e moleculares (estresse oxidativo e a atividade, o imunoconteúdo e a expressão gênica da enzima Na^+ , K^+ -ATPase) em amígdala e hipocampo de ratos. Adicionalmente avaliamos o peso corpóreo dos animais ao longo do experimento e parâmetros de estresse oxidativo em coração de ratos machos e fêmeas. Ratos jovens foram randomizados em 4 grupos de estudo (controle, exercitado, estressado, exercitado + estressado). Os animais foram submetidos ao exercício físico em esteira controlada durante 20 minutos, três vezes por semana, durante dois meses antes da submissão ao ECV (durante 40 dias). Os resultados mostraram que o ECV prejudicou a memória aversiva, 24 horas e 7 dias após a sessão de treino. O ECV aumentou espécies reativas, lipoperoxidação, dano a proteínas e diminuiu a atividade das enzimas antioxidantes superóxido dismutase e catalase, assim como diminuiu a atividade da Na^+ , K^+ -ATPase, mas não alterou o seu imunoconteúdo e a expressão gênica das subunidades catalíticas em estruturas cerebrais. O ECV prejudicou o ganho de peso corpóreo e aumentou a peroxidação lipídica em coração de ratos machos. O exercício físico prévio foi eficaz em melhorar o desempenho na tarefa de esQUIVA inibitória 24 horas após o treinamento; e preveniu o dano oxidativo, mas não preveniu completamente as alterações observadas nas atividades das enzimas superóxido dismutase, catalase e Na^+ , K^+ -ATPase em estruturas cerebrais. Não foi eficaz em prevenir o prejuízo no ganho de peso corpóreo e a peroxidação lipídica em coração de ratos machos. Nossos resultados sugerem que o exercício físico durante o período de desenvolvimento pode proteger os prejuízos na memória aversiva e o dano oxidativo cerebral causado pela exposição ao estresse crônico ao longo da vida.

ABSTRACT

Since stressful situations are considered risk factors for the development of depression and there are few studies evaluating preventive therapies for the development of this disease, in the present study we evaluated the effect of previous physical exercise in animals submitted to varied chronic stress (CVS), an animal model of depression, on behavior tasks (open field and inhibitory avoidance tasks) and some biochemical and molecular parameters (oxidative stress and activity, immunocontent and gene expression of Na⁺, K⁺-ATPase enzyme) in amygdala and hippocampus of rats. Additionally we evaluate the body weight of the animals throughout the experiment and parameters of oxidative stress in heart of male and female rats. Young rats were randomized into 4 study groups (control, exercised, stressed, exercised + stressed). The animals were subjected to controlled exercise treadmill for 20 minutes, three times a week, for two months prior to submission to CVS (during 40 days). Results show that CVS impaired performance in inhibitory avoidance at 24 h and 7 days after the training session. CVS induced oxidative stress, increasing reactive species, lipoperoxidation and protein damage, and decreasing the activity of antioxidant enzymes superoxide dismutase and catalase, as well as decreased activity of Na⁺, K⁺-ATPase, but did not change immunocontents and gene expression of catalytic subunits in brain structures. CVS impair body weight gain and increased lipid peroxidation in heart of male rats. Previous physical exercise was able to improve performance in inhibitory avoidance task at 24 h after training; additionally, exercise prevented oxidative damage, but was unable to completely prevent the changes observed on activity of enzymes superoxide dismutase, catalase and Na⁺, K⁺-ATPase in brain structures. It was not effective in prevent decrease in body weight gain and lipid peroxidation in heart of male rats. Our findings suggest that physical exercise during the developmental period may protect against aversive memory impairment and brain oxidative damage caused by chronic stress exposure later in life.

LISTA DE ABREVIATURAS

ATP	trifosfato de adenosina
AVC	acidente vascular cerebral
CAT	catalase
DNA	ácido desoxirribonucleico
ECV	estresse crônico variado
ERN	espécies reativas de nitrogênio
ERO	espécies reativas de oxigênio
ExECV	exercício físico prévio ao estresse crônico variado
GSH	glutationa reduzida
GSSG	glutationa oxidada
HPA	pituitária-hipófise-adrenal
IAM	infarto agudo do miocárdio
IL	interleucina
MDA	malondialdeído
OMS	Organização Mundial de Saúde
S.E.M.	erro padrão
SNC	sistema nervoso central
SOD	superoxide dismutase
TNF- α	fator de necrose tumoral- alfa
VO ₂ máx	60% do consumo máximo de oxigênio

I. INTRODUÇÃO

1.1 Depressão

A depressão é considerada uma das doenças psiquiátricas mais prevalentes e incapacitantes que acometem a população mundial, afetando negativamente a qualidade de vida dos indivíduos afetados. Pessoas deprimidas podem apresentar dificuldades na percepção e cuidado com o seu bem estar e saúde, déficits de interação no ambiente de trabalho e nas relações interpessoais, assim como pior desempenho cognitivo e acadêmico (Blumenthal et al., 2012; Papakostas et al., 2004). Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS) aproximadamente 350 milhões de pessoas, em todo o mundo, sofrem com este transtorno. Ele é mais frequente em pessoas do sexo feminino que em pessoas do sexo masculino, cuja incidência é de duas mulheres para um homem. A maioria dos casos depressivos tem início entre os 20 e 40 anos de idade, entretanto, a depressão pode acometer pessoas das mais diversas faixas etárias. Pessoas depressivas apresentam maiores chances de cometer suicídio, e este é um dos pontos críticos da doença, pois o pensamento recorrente de morte acaba por causar maiores transtornos ao meio no qual a pessoa está inserida. Estima-se que a cada ano mais de 800 mil pessoas se suicidem, sendo essa a segunda maior causa de morte entre pessoas de 15 a 29 anos de vida (WHO, 2016a). Além disso, o desenvolvimento de depressão tem sido relacionado a fatores genéticos, biológicos e sociais, assim como a dificuldades em lidar com situações estressantes como traumas de infância e morte, estresse, cobranças e pressão psicológica (Lopresti et al., 2013; WHO, 2016a).

Estudos mostram que episódios depressivos não tratados, ou pessoas que apresentaram um episódio depressivo têm maiores chances de apresentar

um novo episódio depressivo ao longo da vida. Além disso, crianças que apresentaram depressão na infância podem se tornar adultos depressivos. Sendo assim, essa doença pode se apresentar de forma recorrente ao longo da vida (Juruena et al., 2015; McIntyre and O'Donovan, 2004; Talarowska et al., 2014).

A depressão é diagnosticada com base no DMS-V – *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorder*, manual para diagnóstico de transtornos mentais. Ela é caracterizada pelo sentir-se deprimido na maior parte do tempo ou então pela falta de motivação para desenvolver tarefas cotidianas, de forma persistente por um período de pelo menos duas semanas. Além disso, os sintomas depressivos relacionados são a anedonia (que é o interesse diminuído ou perda de prazer para realizar as atividades consideradas rotineiras), a sensação de inutilidade ou culpa excessiva, a dificuldade de concentração (aptidão diminuída para pensar e concentrar-se), a fadiga ou perda de energia, distúrbios do sono (insônia ou hipersonia), problemas psicomotores (agitação ou retardo psicomotor), perda ou ganho de peso de forma significativa na ausência de regime alimentar e a ideação recorrente de morte ou suicídio (DMS – V – *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorder*, Fifth Ed – WHO) (WHO, 2016b).

O desenvolvimento da depressão tem sido relacionado a fatores genéticos, estresse diário e dificuldades emocionais, além de alterações endócrinas (como hipertireoidismo e hipercortisolemia, com consequente aumento da atividade do eixo Hipófise-Pituitária-Adrenal – HPA) (Chang et al., 2015; Ron De Kloet et al., 2005), câncer, efeitos adversos de medicamentos (Aldea et al., 2014; Evans et al., 2005). Diversas regiões do córtex cerebral,

assim como as conexões neuronais que ocorrem entre elas e agem sobre as emoções e sobre as funções executivas estão envolvidas na depressão. Alterações nessas estruturas e no sistema límbico têm sido relacionadas com a depressão. Além disso, essas regiões estão envolvidas com cognição e emoção, que são prejudicadas pela depressão (Drevets, 1999; Esperidião-Antonio et al., 2008). Alguns estudos *post-mortem* apontam alterações genéticas, bioquímicas e celulares em estruturas corticais (como córtex pré-frontal, hipocampo e amígdala) de pacientes depressivos (Furczyk et al., 2013). Pacientes com depressão, assim como pacientes suicidas apresentam alterações no volume hipocampal, além de alterações em córtex pré-frontal, córtex temporal, sem apresentar diferenças no volume de outras regiões como amígdala, núcleo caudado, estruturas límbicas e gânglios da base (Gosnell et al., 2016; Malykhin and Coupland, 2015; Ota et al., 2016).

Os principais tratamentos para a depressão são o farmacológico com medicamentos antidepressivos (como os inibidores seletivos da recaptação de serotonina, antidepressivos tricíclicos e os inibidores da Monoaminaoxidase) e as psicoterapias (que incluem a terapias interpessoal, cognitiva e comportamental). Apesar das inúmeras possibilidades e combinações farmacológicas e terapêuticas, o tratamento farmacológico apresenta uma pequena taxa de resposta no tratamento inicial, onde em torno de 50% dos pacientes não respondem de forma adequada a terapia medicamentosa (Sartorius et al., 2007).

A depressão tem sido relacionada ao desenvolvimento de uma série de doenças, assim como as cardiovasculares e outros transtornos mentais, como Alzheimer e demência (Gutzmann and Qazi, 2015; Serrano et al., 2011; Zhao

et al., 2016). Pessoas com depressão tem uma maior propensão a sofrer um infarto agudo do miocárdio (IAM), um acidente vascular cerebral (AVC), ou apresentar problemas de pressão sanguínea. Em contra partida, o seu desenvolvimento pode também se dar em decorrência de outra enfermidade presente. Pessoas que sofreram um IAM ou então um AVC tem maiores chances de desenvolver depressão, ou apresentar episódios depressivos. Todavia, não existe um consenso entre causa ou consequência em muitos casos. A presença dessas comorbidades agrava ainda mais o estado de saúde da pessoa, e gera um pior prognóstico; mostrando que em muitos casos a depressão pode ser uma consequência de um transtorno existente assim como pode ser o fator desencadeante de outra doença (Aydin Sunbul et al., 2017; Hopper et al., 2016; Mourao et al., 2016; Sokoreli et al., 2016; Zhao et al., 2016).

Por isso, o desenvolvimento de programas para a prevenção do seu desenvolvimento é de extrema importância para o bem estar social e para a melhoria da qualidade de vida das pessoas.

1.2 Estresse Crônico Variado

O modelo de estresse crônico variado (ECV) tem sido amplamente utilizado para o estudo da depressão em modelos animais de roedores (Crema et al., 2010; Gamaro et al., 2003b; Manoli et al., 2000; Tagliari et al., 2011a, 2011b). O ECV possui como característica a imprevisibilidade, e tem como foco reproduzir os principais sinais e sintomas da depressão em modelos animais. Esse modelo mimetiza de forma realista os mais variados estressores da vida diária, e a anedonia, que é um dos principais sintomas da depressão, é o foco central do modelo (Manoli et al., 2000; Willner, 2005). Nele, os animais são expostos diariamente a diferentes estressores, a fim de reduzir possíveis adaptações do animal ao estresse (Fernando and Robbins, 2011; Marin et al., 2007).

O ECV altera parâmetros oxidativos em estruturas cerebrais de ratos, além de alterar a atividade de enzimas importantes para o funcionamento cerebral, como a Na^+ , K^+ -ATPase e a acetilcolinesterase (Crema et al., 2010; dos Reis-Lunardelli et al., 2007; Gamaro et al., 2003b; Tagliari et al., 2011b). Assim como, pode causar alterações neuroendócrinas, que influenciam a liberação de hormônios glicocorticoides e do hormônio adrenocorticotrófico que estão envolvidos com a modulação da memória e alteram a homeostase do organismo (Izquierdo and Dias, 1983). Pesquisas anteriores realizadas em nosso laboratório mostram que o ECV (depressão experimental), diminui a atividade da enzima butirilcolinesterase em sangue de ratos (Tagliari et al., 2010a); aumenta parâmetros inflamatórios (interleucina-1 β , interleucina-6 e fator de necrose tumoral- α), bem como a atividade da enzima acetilcolinesterase em hipocampo de ratos (Tagliari et al., 2011b). Também

foram observadas perturbações bioenergéticas em córtex pré-frontal e hipocampo (diminuição da atividade dos complexos II e IV da cadeia respiratória) e déficit de memória nesses animais. A administração de antioxidantes foi capaz de reverter essas alterações (Tagliari et al., 2011a, 2010b). Em conjunto, esses dados sugerem que o estresse oxidativo pode estar envolvido nos danos observados em ratos submetidos ao modelo experimental de depressão. Ainda, animais sujeitos a esse modelo experimental apresentam alterações na ingesta alimentar, alterações no peso corporal, relação adrenal/peso corpóreo aumentado – indicando uma hipertrofia da glândula suprarrenal, que conseqüentemente indica um possível aumento na secreção de corticosterona, um indicativo da perturbação do sistema de estresse (Gamero et al., 2003a) quando comparados a um grupo de animais que não sofreu estresse crônico variado e foi somente manuseado (grupo controle).

Além disso, situações estressantes podem apresentar um papel fundamental no desenvolvimento de doenças neurodegenerativas, psiquiátricas e cardiovasculares, dentre as quais se destacam a hipertensão, a hipertrofia cardíaca e a arterosclerose (Ginty and Conklin, 2011). Essas últimas têm sido associadas ao aumento da mortalidade precoce de pacientes depressivos (Hemingway and Marmot, 1999; Marek Małyszczak and Rymaszewska, 2016; Wulsin et al., 1999). As doenças coronarianas, por exemplo, apresentam uma prevalência três vezes maior em paciente com depressão do que na população geral, assim como pacientes depressivos tem uma maior propensão de apresentar doenças coronarianas (Aydin Sunbul et al., 2017; Serrano et al., 2011).

1.3 Comportamento e Memória Aversiva

Como mencionado acima, a depressão, assim como o ECV causam prejuízos e alterações comportamentais e de memória (Malykhin and Coupland, 2015; Schwabe et al., 2012; Tagliari et al., 2011a). Sabe-se que estruturas importantes para os processos de memória e aprendizado estão diretamente relacionadas a depressão. A amígdala cerebral, o hipocampo, o hipotálamo e o córtex pré-frontal, são estruturas relacionadas com a fisiopatologia da depressão, memória e medo (Izquierdo et al., 2016).

A amígdala é uma estrutura subcortical extremamente importante para o armazenamento das informações aversivas. A relação entre a memória e emoções negativas tem sido bem documentada e estudada em modelos animais através da avaliação da memória aversiva (Izquierdo et al., 2016; Quervain et al., 2016). O hipocampo é outra estrutura cerebral extremamente importante que está diretamente relacionada aos processos de memória, como aquisição, consolidação e evocação, sendo relacionado também a ansiedade e depressão (Izquierdo and Medina, 1997; Schwabe et al., 2012).

Consistentes estudos mostram que a depressão e o ECV causam diversas alterações nessas estruturas corticais, e estas alterações tem sido relacionadas a presença de estresse oxidativo (Della et al., 2012; Lopresti et al., 2013). Ainda, prejuízos nestas estruturas podem estar relacionados aos déficits cognitivos apresentados pelos pacientes depressivos, uma vez que, medo e ansiedade estão diretamente envolvidos com os processos de formação de memórias (Malykhin and Coupland, 2015; Mello et al., 2009).

Nesse contexto, a tarefa de esQUIVA INIBITÓRIA, tem sido amplamente utilizada para avaliar o comportamento e a memória de roedores em diversos modelos experimentais que envolvem substâncias acumuladas em erros inatos do metabolismo (homocisteína e hipoxantina, por exemplo), isquemia, ansiedade e depressão (Bavaresco et al., 2008; Gamaro et al., 2003b; Izquierdo et al., 2016; Matte et al., 2009; Netto et al., 1986; Sanches et al., 2013; Wyse et al., 2004; Zhao et al., 2016; Zinn et al., 2009). Nessa tarefa, os animais são previamente treinados e testados em diferentes períodos de tempo, a fim de avaliar o aprendizado e a memória baseado no aprendizado através de uma situação que lhes causa medo/aversão. O aparato usado consiste de uma caixa retangular com uma plataforma e uma malha com barras de metal ligadas a um choque. Durante a fase de aprendizado, ou aquisição da memória, no treino, o animal é colocado sobre a plataforma (local que lhe confere segurança) e no momento que o animal deixa a plataforma (coloca as quatro patas sobre as barras de metal) lhe é deferido um choque de fraca intensidade, mostrando que se ele sair da plataforma levará um choque. Durante a fase de avaliação do aprendizado e memória, no teste, o animal é novamente colocado sobre a plataforma, e avalia-se o tempo que o mesmo leva para deixá-la. Essas medidas são usadas como indicativo para avaliar os processos de memória e aprendizado.

1.4 Estresse Oxidativo

Durante o metabolismo energético, aproximadamente 5% do oxigênio consumido não é completamente reduzido a água gerando espécies reativas, que são subprodutos altamente danosos aos sistemas biológicos. As principais

espécies reativas nesses sistemas são as de oxigênio (ERO), como o ânion superóxido (O_2^-), o radical hidroxila (OH^\bullet), e os não radicais peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e o oxigênio “singlet” ($^1\text{O}_2$) (Halliwell, 2014, 2012). Da mesma forma, em outros processos no organismo pode ocorrer a produção de outras espécies reativas, as espécies reativas de nitrogênio (ERN), das quais o óxido nítrico (NO^\bullet) e o peroxinitrito (ONOO^-) são as principais (Halliwell and Whiteman, 2004). Em baixas concentrações essas espécies reativas apresentam papéis importantes, na defesa do organismo contra agentes infecciosos, na regulação da síntese proteica e nos processos de sinalização celular (Halliwell and Gutteridge, 2007; Halliwell, 2012). Em condições normais, nos processos biológicos, as espécies reativas geradas podem ser eliminadas por defesas antioxidantes.

As defesas antioxidantes, responsáveis por eliminar as espécies reativas formadas podem ser enzimáticas ou não enzimáticas. As enzimáticas são compostas pelas enzimas superóxido dismutase (SOD, que dismuta o ânion superóxido através da reação $2 \text{O}_2^- + 2 \text{H}^+ \rightarrow \text{H}_2\text{O}_2 + \text{O}_2$), pela catalase (CAT, que cliva o H_2O_2 através da reação $2 \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow 2 \text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$) e pela glutathione peroxidase, que decompõe o H_2O_2 , através do seu desacoplamento a H_2O com a concomitante oxidação da glutathione reduzida (GSH), formando glutathione oxidada (GSSG, dímero de glutathione), conforme a reação: $2 \text{GSH} + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{GSSG} + 2 \text{H}_2\text{O}$. Por outro lado, as defesas antioxidantes não enzimáticas são compostas pela GSH, assim como pelas vitaminas E (alfa-tocoferol) e C (ácido ascórbico), e por compostos carotenoides e flavonoides, dentre outros (Gutteridge and Halliwell, 2010).

Em algumas doenças, pode ocorrer um desequilíbrio na produção de espécies reativas e nas capacidades antioxidantes do organismo, e isso pode causar estresse oxidativo. O estresse oxidativo pode ocorrer tanto pela produção aumentada de espécies reativas, assim como pela diminuição na capacidade das atividades antioxidantes (Halliwell, 2014).

O estresse oxidativo pode estar relacionado com a adaptação, o dano e a morte celular. As células podem se adaptar ao estresse oxidativo moderado, tolerando a produção de espécies reativas. Isso pode ocorrer em função do aumento da síntese de moléculas que estão envolvidas com as defesas antioxidantes e dessa forma podem reajustar os níveis de substâncias que são oxidantes e antioxidantes. Nesse contexto, o exercício físico tem sido relacionado por causar adaptações teciduais que favorecem as defesas antioxidantes e controla a produção de espécies reativas (He et al., 2016). O aumento da produção de espécies reativas pode causar danos oxidativos a lipídios, proteínas, carboidratos e ácido desoxirribonucleico (DNA)(Gutteridge and Halliwell, 2010; Halliwell and Gutteridge, 2007). Nesse contexto, as membranas biológicas podem sofrer lipoperoxidação que causa alterações e prejudica a fluidez e a seletividade iônica, além de causar a liberação de produtos nocivos como o malondialdeído, essas alterações também podem causar prejuízos nas atividades das enzimas e proteínas que estão ligadas às membranas celulares. Da mesma forma, proteínas em geral podem ser oxidadas prejudicando as suas atividades transportadoras e receptoras (Halliwell and Gutteridge, 2007; Halliwell, 2012). Essa injúria pode ser aguda, e a célula ou tecido conseguir recuperar a homeostase, ou então, pode ser

crônica e a célula não conseguir reverter os danos, sendo levada a morte celular (por apoptose ou necrose).

O cérebro é um órgão altamente sensível a produção de espécies reativas e ao estresse oxidativo, apresenta baixas concentrações de defesas antioxidantes, alto consumo de oxigênio, apresenta neurotransmissores que podem sofrer auto-oxidação (dopamina e serotonina), tem alta taxa de lipídios poli-insaturados e altas concentrações de metais, como ferro (que pode favorecer as Reações de Fenton, aumentando ainda mais o dano oxidativo), (Halliwell and Whiteman, 2004; Halliwell, 2012, 2006). O efeito do estresse oxidativo está bem descrito na patogênese de erros inatos do metabolismo (Biasibetti et al., 2016; Matte et al., 2009), doenças neurológicas e psiquiátricas (Ng et al., 2008), incluindo a depressão (Tagliari et al., 2011a, 2011b, 2010a, 2010b), cardiovasculares (Misra et al., 2009), isquemia, câncer, diabetes e envelhecimento (Gutteridge and Halliwell, 2010; Halliwell, 2012; Sanches et al., 2013).

1.5 Na⁺, K⁺-ATPase

A Na⁺, K⁺-ATPase é uma proteína oligomérica inserida nas membranas celulares (transmembrana), é amplamente distribuída nos tecidos sendo responsável pela manutenção do gradiente iônico neural (através do transporte ativo de três íons de Na⁺ para o meio extracelular e dois íons de K⁺ para o meio intracelular com concomitante hidrólise de ATP) que gera o potencial de membrana para as transmissões sinápticas, regulação do volume e pH celular, simporte de moléculas ligadas ao Na⁺, como glicose, aminoácidos e

neurotransmissores. Para isso, demanda de alta taxa energética consumindo em torno de 60% do ATP formado no cérebro. Ela é altamente sensível ao dano oxidativo e sua atividade pode ser inibida pela presença de radicais livres (Aperia et al., 2016; Blanco, 2005; Cornelius et al., 2015; Geering, 2008; Suhail, 2010). O aumento na produção de espécies reativas pode causar lipoperoxidação, que pode alterar a fluidez de membrana pela oxidação de lipídios importantes, como a fosfatidilserina e a fosfatidiletanolamina. Esses lipídios estão intimamente relacionados à estrutura e à atividade da Na^+ , K^+ -ATPase (Cornelius et al., 2015)

Ela apresenta duas subunidades α , que são catalíticas, e contém os sítios de ligação para os íons Na^+ e K^+ , ATP e glicosídeos cardíacos (como a ouabaína, seu inibidor específico), duas subunidades β , glicoproteicas, e uma subunidade γ , que modula sua atividade (Aperia et al., 2016; Geering, 2008; Sibarov et al., 2012). Na figura 1 é apresentada a representação esquemática da Na^+ , K^+ -ATPase.

Nos mamíferos, a subunidade catalítica apresenta quatro isoformas distribuídas nas células e no sistema nervoso central (SNC), $\alpha 1$ (ubiquamente expressa), $\alpha 2$ (em subconjuntos de neurônios e astrócitos), $\alpha 3$ (expressa exclusivamente em neurônios) e $\alpha 4$ (não expressa no SNC). A subunidade β possui duas isoformas, $\beta 1$ (expressa em neurônios) e $\beta 2$ (expressa em astrócitos). A subunidade γ é uma proteína FXYP, encontrada no cérebro (Geering, 2008; Li and Langhans, 2015).

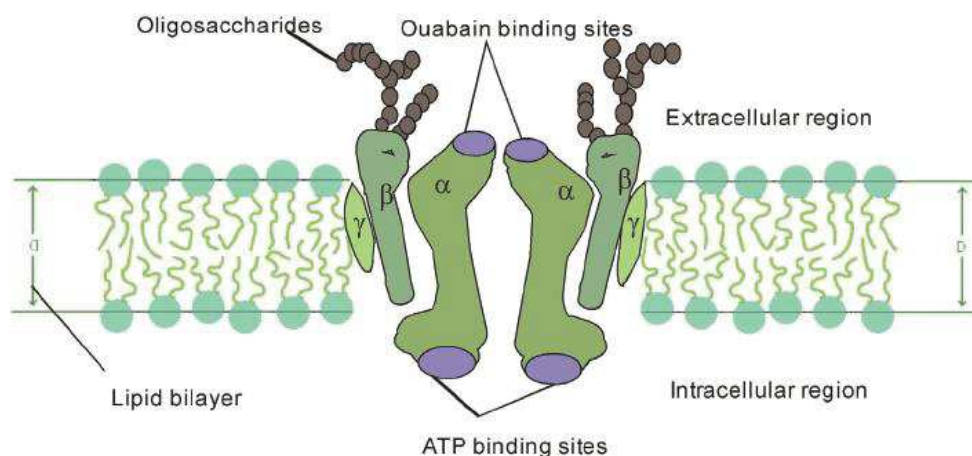


Figura 1. Estrutura da Na^+ , K^+ -ATPase (Adaptada de Suhail, 2010).

1.6 Exercício Físico

Embora nos últimos anos tenham sido esclarecidas várias questões a respeito da depressão, menos de dois terços dos pacientes acometidos por esse distúrbio apresentam remissão ao tratamento farmacológico. Além disso, existe um período relativamente longo entre o início do tratamento e a resposta clínica esperada, e há a presença de diversos efeitos colaterais envolvidos no tratamento medicamentoso, o que faz com que novas alternativas terapêuticas sejam buscadas no intuito de diminuir a incidência dessa doença (Gibson et al., 2016; Maes et al., 2009; Rabl et al., 2014; Thomas et al., 2015; WHO, 2016a).

O exercício físico aeróbico tem sido relatado como uma terapia não convencional para o tratamento de doenças neurológicas, psiquiátricas (melhora sintomas depressivos), cardiovasculares (diminui a insuficiência cardíaca, reduz riscos de aterosclerose), obesidade e diabetes tipo 2 (promove a redução de peso) e câncer, assim como ajuda a melhorar a capacidade cognitiva. Ainda, pacientes depressivos ativos parecem ter uma probabilidade

reduzida de apresentar um novo episódio depressivo (Araújo and Araújo, 2000; Blumenthal et al., 2012; Da Silva et al., 2012; Dieberg et al., 2015; Hoffman et al., 2011; Lopresti et al., 2013).

Estudos clínicos na literatura sugerem que o exercício físico pode retardar o aparecimento de doenças neurodegenerativas como doença de Alzheimer, Parkinson e demência. Ao mesmo tempo, o exercício físico pode conservar a saúde e o funcionamento cerebral, podendo ser uma boa alternativa para a proteção às doenças neurodegenerativas (Pedersen and Saltin, 2015; Portugal et al., 2013).

Embora os mecanismos protetores do exercício físico ainda não estejam totalmente elucidados na psicopatologia depressiva, diversos mecanismos têm sido propostos, como a estimulação da liberação de diversas substâncias opióides endógenas relacionadas ao bem estar, como as beta-endorfinas, encefalinas e monoaminas, melhora na capacidade adaptativa na regulação do funcionamento celular do sistema serotoninérgico e redução da produção de cortisol (Lopresti et al., 2013). Quando praticado de forma moderada, parece apresentar ação positiva na modulação da atividade de enzimas antioxidantes, estimulação da liberação de proteínas e peptídeos que favorecem o crescimento e a diferenciação de células nervosas, melhorando a plasticidade sináptica em várias regiões do cérebro bem como a memória (Blumenthal et al., 2012; Gomez-Cabrera et al., 2008; Hare et al., 2014; Lopresti et al., 2013; Pedersen and Saltin, 2015).

Estudos prévios do nosso grupo de pesquisa mostram que o treinamento físico de intensidade moderada (60% do consumo máximo de oxigênio (VO_{2max})) reverteu as alterações nas atividades das enzimas Na^+ , K^+ -ATPase e

acetilcolinesterase em estruturas cerebrais (Ben et al., 2009), assim como minimizou o dano cognitivo (avaliado por tarefa espacial e aversiva) em ratas ovariectomizadas (Ben et al., 2010). O exercício físico prévio preveniu alterações no metabolismo energético, a formação de edema, o dano a alguns parâmetros de estresse oxidativo, assim como preveniu parcialmente o aumento da resistência do sistema respiratório em um modelo experimental de lesão pulmonar (Da Cunha et al., 2014, 2013). Nesse protocolo de treinamento físico, a capacidade para o exercício físico é avaliada a partir do tempo de fadiga (min) e da velocidade (m/min) em esteira ergométrica, para cada animal. O protocolo é baseado no aumento gradual da velocidade e no tempo de execução.

II. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

O presente estudo teve como objetivo geral avaliar os efeitos do exercício físico prévio sobre alguns parâmetros comportamentais, bioquímicos e moleculares em amígdala e hipocampo de ratos Wistar adultos submetidos ao ECV, um modelo experimental de depressão.

2.2 Objetivos específicos

1. Avaliar os efeitos do exercício físico e/ou ECV sobre as tarefas comportamentais e memória: campo aberto e esquiva inibitória;
2. Avaliar os efeitos do exercício físico e/ou ECV sobre parâmetros de estresse oxidativo, nomeados: oxidação da 2'7' diclorofluoresceína, determinação de substâncias reativas do ácido tiobarbitúrico, conteúdo total de sulfidrilas e a atividade e imunoc conteúdo das enzimas antioxidantes SOD e CAT;
3. Avaliar os efeitos do exercício físico e/ou ECV sobre a atividade da Na⁺, K⁺-ATPase, bem como seu imunoc conteúdo e expressão gênica;

PARTE II

CAPITULO I

III. METODOLOGIA E RESULTADOS

Os materiais e métodos e os resultados são apresentados em formato de artigo científico, intitulado:

Effects of previous physical exercise to chronic stress on long-term aversive memory and oxidative stress in amygdala and hippocampus of rats

Tiago Marcon dos Santos, Janaína Kolling, Cassiana Siebert, Helena Biasibetti, Carolina Gessinger Bertó, Lucas Kich Grun, Carla Dalmaz, Florencia María Barbé-Tuana, Angela T. S. Wyse

Publicação: *Int. J. Devl Neuroscience* 56 (2017) 58–67.

DOI: 10.1016/j.ijdevneu.2016.12.003

PARTE III

IV.DISSCUSSÃO

Sabendo que situações estressantes estão diretamente relacionadas ao desenvolvimento da depressão, que é uma das patologias mais incapacitantes e onerosas, e cujos mecanismos não são amplamente conhecidos, e que o exercício físico tem sido indicado para o tratamento dos sintomas depressivos, no presente trabalho, buscamos compreender melhor os efeitos do exercício físico prévio sobre alguns parâmetros comportamentais, bioquímicos e moleculares relacionados a danos de aprendizado e aos processos memória. Para tal, inicialmente avaliamos possíveis alterações na memória aversiva de ratos, seguido da avaliação dos possíveis benefícios do exercício físico sobre as alterações no *status* redox celular (pela presença de estresse oxidativo), assim como sobre a atividade, imunoconteúdo e expressão gênica da enzima Na^+ , K^+ -ATPase em amígdala e hipocampo desses animais.

Primeiramente, os animais foram submetidos a tarefa de campo aberto para avaliação da capacidade motora e exploratória, uma vez que durante a tarefa de esquiva inibitória o comprometimento dessas funções pode causar comprometimento no desenvolvimento da tarefa. Como podemos observar os animais não apresentaram danos na função motora e/ou exploratória, uma vez que, o comportamento dos grupos de estudo analisados foi igual em todos os parâmetros analisados quando comparados ao controle ou ao exercício. Nem um dos tratamentos causou danos motores ou exploratórios nos ratos. Sendo assim, os animais encontravam-se aptos para a tarefa de esquiva inibitória. A tarefa de esquiva inibitória é um teste comportamental que avalia a memória aversiva, baseado no medo dos animais, sendo amplamente utilizado para avaliar danos relacionados à memória (Bach et al., 2014; Izquierdo et al., 2016; Mello et al., 2009; Mury et al., 2015; Sanches et al., 2013; Wyse et al., 2004).

Neste trabalho, quando comparamos separadamente o treino e o teste de cada grupo de estudo, observamos que os animais submetidos ao ECV apresentam prejuízos na memória de longa duração, avaliadas 24 horas e 7 dias após a sessão de treino, uma vez que seu tempo de permanência sobre a plataforma no teste, não difere significativamente do tempo de permanência no treino, sugerindo que esses animais ou não aprenderam que não deveriam descer da plataforma, pois levariam um choque, ou que os mesmos apresentam danos aos processos relacionados à memória (nas fases de retenção, consolidação e/ou evocação). Por outro lado, os animais submetidos ao exercício físico, não apresentaram alterações no comportamento aversivo, seus tempos de permanência sobre a plataforma foram significativamente diferentes nas sessões de treino e teste, sugerindo que os mesmos aprenderam que levariam um choque assim que descessem da plataforma. Esse comportamento foi semelhante ao comportamento observado em animais do grupo controle, que foram somente manuseados ao longo dos experimentos, a fim de ausentar o fator estresse, gerado pelo manuseio dos animais ao longo dos experimentos. Também observamos, que animais submetidos ao exercício físico controlado, e previamente a submissão ao protocolo de ECV apresentaram semelhante comportamento aos animais controle no teste de 24 horas, mas não em 7 dias após o treino, inferindo que pode existir um benefício do exercício físico sobre os processos de memória de longa duração.

Em concordância com estes dados, Radahmadi et al., 2015 mostraram que o exercício físico prévio ao estresse (de 21 dias de exercício físico intenso seguido de 21 dias de estresse crônico por restrição) apresenta significativo efeito sobre a melhora da memória de ratos testados 1 e 7 dias após a sessão

de treinamento. Entretanto, esse benefício não foi observado sobre as alterações de memória em 21 dias após a sessão de treinamento. Da mesma forma, Mello et al., 2009 mostraram que o exercício físico consegue reverter o déficit na memória induzido pela privação materna durante os primeiros dez dias de vida, avaliado na tarefa de esquiava inibitória, assim como reduz os déficits causados sobre a memória espacial destes animais. Em conjunto com nossos resultados esses achados da literatura mostram que, o exercício físico prévio ao período de estresse causa a melhora na memória de longa duração dos animais, entretanto, na avaliação em um período muito longo após o primeiro estímulo, treinamento, os animais não conseguem recordar da tarefa, avaliados aos 7 dias em nosso estudo e aos 21 dias por Radahmadi et al., 2015.

Em nosso estudo, quando comparamos o treino e o teste dos grupos (controle X exercitado X estressado X exercitado + estressado) não observamos diferenças significativas entre eles. Em contra partida, quando comparamos o treino e o teste de cada grupo entre si (treino controle X teste controle, por exemplo) observamos que todos animais, a exceção dos animais estressados, aprenderam a tarefa.

É bem documentado que o estresse oxidativo está envolvido na fisiopatologia da depressão, assim como no modelo de ECV. O desbalanço entre a produção de pró-oxidantes e antioxidantes causa o estresse oxidativo, que causa danos a vários tecidos. Desta forma, neste trabalho avaliamos a produção de espécies reativas, a peroxidação lipídica e o dano oxidativo, assim como a atividade das enzimas antioxidantes (SOD e CAT) em amígdala e

hipocampo de ratos, uma vez que, essas estruturas cerebrais estão amplamente envolvidas com aprendizado e os processos e mecanismos relacionados à memória. Assim como são estruturas afetadas pelo desbalanço redox na depressão (Antoniadis and McDonald, 2001; Roesler et al., 2003; Zinn et al., 2009). Nossos resultados confirmaram que o ECV causa estresse oxidativo (aumenta a produção de espécies reativas de oxigênio, causa peroxidação lipídica e oxidação de proteínas, assim como causa a diminuição da atividade antioxidante, tanto da SOD quanto da CAT). O aumento da produção de espécies reativas pode comprometer diretamente a integridade de membranas, causando lipoperoxidação, assim como a função de diversas proteínas, causando a oxidação das mesmas, o que pode levar a processos irreversíveis de degradação enzimática (Halliwell and Whiteman, 2004). Enzimas com elevado número de grupamentos sulfidríla podem sofrer maiores danos quando existe aumento na produção de espécies reativas (Arnaiz and Ordieres, 2014; Ellman, 1959). Nossos dados mostram que o exercício físico *per se* não causa alterações nos parâmetros de estresse oxidativo avaliados neste trabalho. Mas os ratos submetidos ao exercício físico prévio ao ECV apresentam melhora no *status* oxidativo. Por outro lado, as alterações na atividade e no imunoconteúdo das enzimas antioxidantes (SOD e CAT) não foram prevenidas pelo exercício físico.

Sendo assim, nossos dados corroboram a literatura mostrando que o estresse oxidativo está amplamente envolvido em uma série de doenças, incluindo a depressão experimental em modelos roedores, e que o exercício físico prévio ao modelo de depressão experimental protege as alterações oxidativas observadas em cérebro de ratos (Liu and Zhou, 2012). Em adição,

Radák et al., 2000 mostraram que o exercício físico prévio à administração de H_2O_2 previne o dano causado no tecido miocárdico de ratos, sugerindo uma adaptação tecidual ao estresse oxidativo. Similarmente, uma recente meta-análise mostrou que a prática de qualquer exercício físico melhora o status redox e a saúde dos participantes (de Sousa et al., 2016). Em adição a estes dados, avaliamos o imunconteúdo das enzimas antioxidantes, mas não encontramos diferenças significativas.

Curiosamente, nossos resultados não mostraram quaisquer alterações *per se* do exercício físico sobre os parâmetros bioquímicos e ou moleculares analisados, o que pode estar relacionado ao tempo que esses animais não foram exercitados (entre os 87 e 136 dias de vida, 40 dias sem exercício), nesses dias, o organismo dos ratos pode ter se adaptado a interrupção da corrida em esteira ergométrica. Radak et al., 2006 demonstraram que as alterações benéficas causadas no cérebro de ratos exercitados podem ser revertidas pelo destreinamento. Da mesma forma, esses resultados foram observados na tarefa aversiva passiva em ratos treinados em um estudo dirigido por Radahmadi et al., 2015. Entretanto, mais estudos são necessários para compreender tais efeitos.

Os lipídios e a sinalização lipídica parecem estar envolvidos na etiopatologia da depressão (Schneider et al., 2016). A integridade das membranas é importante para o funcionamento celular, o que inclui o funcionamento de enzimas transmembranas; o estresse oxidativo provoca alterações na integridade das membranas pela lipoperoxidação. A enzima Na^+ , K^+ -ATPase é uma enzima integral de membranas altamente sensível a

produção de espécies reativas e é essencial para várias funções cerebrais (Li and Langhans, 2015). Ela desempenha um papel importante nas sinapses e na formação de novas conexões neurais, além de ter um papel na transdução de sinal, alterando a função celular (Aperia et al., 2016). Além disso, apresenta elevado número de ligações tióis, que podem sofrer danos com o aumento das espécies reativas de oxigênio, causando comprometimento da sua atividade e estrutura. Muitos fatores podem alterar sua expressão e, dessa forma, sua atividade nos tecidos (Li and Langhans, 2015). Essas alterações podem estar envolvidas com déficits de aprendizagem e memória (Arnaiz and Ordieres, 2014; Moseley et al., 2007; Wyse et al., 2004).

Neste trabalho, mostrou-se que o ECV provoca a diminuição da atividade da Na^+ , K^+ -ATPase em amígdala e hipocampo, e que o exercício *per se* não causa alterações em sua atividade. O exercício físico prévio ao modelo experimental de depressão preveniu a diminuição da atividade de Na^+ , K^+ -ATPase no hipocampo, mas não foi capaz de prevenir a alteração dessa enzima em amígdala, sugerindo que essas estruturas respondem de forma diferente ao exercício físico. Os imunocontêúdos das subunidades catalíticas ($\alpha 1$, $\alpha 2$ e $\alpha 3$) da Na^+ , K^+ -ATPase não apresentaram-se alterados em ambas as estruturas cerebrais testadas. Da mesma forma, a expressão gênica das subunidades catalíticas de Na^+ , K^+ -ATPase não foi alterada em amígdala. Do mesmo modo, como demonstrado por da Silva Fiorin et al., 2016, o exercício prévio pode ter um potencial terapêutico preventivo na sinalização redox e na modulação da atividade da Na^+ , K^+ -ATPase em um modelo de lesão cerebral traumática, bem como na depressão experimental, como observado em nosso estudo.

Assim, nossos achados mostraram que o exercício físico no período de desenvolvimento e prévio a situações estressantes não altera a função motora e exploratória de ratos, no entanto, ele foi capaz de melhorar o desempenho de animais estressados na tarefa de esquiva inibitória e no *status* oxidativo em amígdala e hipocampo. O exercício físico prévio também não foi capaz de impedir alterações nas atividades das enzimas antioxidantes causadas pelo ECV em amígdala e hipocampo de ratos. As alterações na atividade da Na^+ , K^+ -ATPase somente foram prevenidas pelo exercício físico prévio em hipocampo, e não em amígdala. As alterações observadas no *status* oxidativo podem causar danos a lipídios e a estrutura da Na^+ , K^+ -ATPase causando prejuízos a sua atividade. Devido à importância desta enzima nos sistemas neuronais, alterações na sua atividade podem ser relacionadas ao comprometimento na memória observado neste estudo. Todas as alterações causadas em amígdala e hipocampo podem estar relacionadas aos resultados observados na tarefa de esquiva inibitória, uma vez que essas estruturas são extremamente importantes para a retenção, consolidação e evocação das memórias, sejam elas aversivas ou não aversivas (Eichenbaum, 2016).

V. CONCLUSÕES

Resumo dos resultados

- O exercício físico *per se*:
 - ✓ Não altera nem um dos parâmetros estudados em cérebro de ratos Wistar.
- O estresse crônico variado:
 - ✓ Causa prejuízo na memória aversiva, tanto de 24 horas como de 7 dias, após sessão de treino na tarefa de esquivar inibitória;
 - ✓ Causa dano oxidativo, através do aumento da produção de espécies reativas (em amígdala e hipocampo) e peroxidação lipídica (em amígdala), assim como diminui o conteúdo total de sulfidrilas (em amígdala e hipocampo) e a atividade das enzimas antioxidantes SOD (em amígdala e hipocampo) e CAT (em amígdala). Não altera o imunoconteúdo das enzimas antioxidantes em amígdala ou hipocampo;
 - ✓ Diminui a atividade (em amígdala e hipocampo), mas não altera o imunoconteúdo (em amígdala e hipocampo) ou expressão gênica (em amígdala) da enzima Na^+ , K^+ -ATPase;

- O exercício físico prévio ao estresse crônico variado:
 - ✓ Não altera a função motora e exploratória de ratos;
 - ✓ Previne o prejuízo na memória aversiva 24 horas após a sessão de treinamento;
 - ✓ Previne o aumento de espécies reativas, a peroxidação lipídica e o dano a proteínas em amígdala;
 - ✓ Diminui a peroxidação lipídica e previne o dano a proteínas em hipocampo;
 - ✓ Não previne as alterações observadas na atividade das enzimas antioxidantes SOD e CAT em amígdala e hipocampo, bem como não altera os seus imunoconteúdos.
 - ✓ Previne a alteração na atividade da enzima Na^+ , K^+ -ATPase em hipocampo, mas não em amígdala. E, não altera o seu imunoconteúdo e/ou expressão gênica nas estruturas estudadas;

Tomados em conjunto, nossos achados sugerem que o exercício físico prévio e em período de desenvolvimento pode atuar como protetor dos danos causados pela exposição ao ECV ao longo da vida. No entanto, são necessários mais estudos em outras estruturas cerebrais e outros parâmetros bioquímicos relacionados à depressão e aos processos de aprendizagem e memória para compreender os reais mecanismos envolvidos nos benefícios do exercício físico prévio a situações estressantes na memória de ratos cronicamente estressados.

VI. AVALIAÇÕES COMPLEMENTARES E CONSIDERAÇÕES

VII. REFERÊNCIAS

- Aldea, M., Craciun, L., Tomuleasa, C., Crivii, C., 2014. The role of depression and neuroimmune axis in the prognosis of cancer patients. *J. BUON.* 19, 5–14.
- Antoniadis, E.A., McDonald, R.J., 2001. Amygdala, hippocampus, and unconditioned fear. *Exp. Brain Res.* 138, 200–209. doi:10.1007/s002210000645
- Aperia, A., Akkuratov, E.E., Fontana, J.M., Brismar, H., 2016. Na⁺, K⁺-ATPase, a new class of plasma membrane receptors. *Am J Physiol Cell Physiol* 310, 491–5. doi:10.1152/ajpcell.00359.2015
- Araújo, D.S.M.S. de, Araújo, C.G.S. de, 2000. Aptidão física , saúde e qualidade de vida relacionada à saúde em adultos. *Rev Bras Med Esporte* 6, 194–203. doi:10.1590/S1517-86922000000500005
- Arnaiz, G.R. de L., Ordieres, M.G.L., 2014. Brain Na⁺, K⁺-ATPase activity in aging and disease. *Int. J. Biomed. Sci.* 10, 85–102.
- Aydin Sunbul, E., Sunbul, M., Gulec, H., 2017. The impact of major depression on heart rate variability and endothelial dysfunction in patients with stable coronary artery disease. *Gen. Hosp. Psychiatry* 44, 4–9. doi:10.1016/j.genhosppsy.2016.10.006
- Bach, S.A., de Siqueira, L. V, Müller, A.P., Oses, J.P., Quatrim, A., Emanuelli, T., Vinadé, L., Souza, D.O., Moreira, J.D., 2014. Dietary omega-3 deficiency reduces BDNF content and activation NMDA receptor and Fyn in dorsal hippocampus: Implications on persistence of long-term memory in rats. *Nutr. Neurosci.* 17, 186–92. doi:10.1179/1476830513Y.0000000087

- Bavaresco, C.S., Ben, J., Chiarani, F., Netto, C.A., de Souza Wyse, A.T., 2008. Intrastratial injection of hypoxanthine impairs memory formation of step-down inhibitory avoidance task in rats. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 90, 594–597. doi:10.1016/j.pbb.2008.05.001
- Ben, J., Soares, F.M.S., Cechetti, F., Vuaden, F.C., Bonan, C.D., Netto, C.A., Wyse, A.T. de S., 2009. Exercise effects on activities of Na⁺,K⁺-ATPase, acetylcholinesterase and adenine nucleotides hydrolysis in ovariectomized rats. *Brain Res.* 1302, 248–55. doi:10.1016/j.brainres.2009.09.013
- Ben, J., Soares, F.M.S., Scherer, E.B.S., Cechetti, F., Netto, C.A., Wyse, A.T.S., 2010. Running exercise effects on spatial and avoidance tasks in ovariectomized rats. *Neurobiol. Learn. Mem.* 94, 312–317. doi:10.1016/j.nlm.2010.07.003
- Biasibetti, H., Pierozan, P., André, &, Rodrigues, F., Manfredini, V., Wyse, A.T.S., 2016. Hypoxanthine Intrastratial Administration Alters Neuroinflammatory Profile and Redox Status in Striatum of Infant and Young Adult Rats. *Mol. Neurobiol.* [Epub ahead of print]. doi:10.1007/s12035-016-9866-6
- Blanco, G., 2005. Na⁺,K⁺-ATPase subunit heterogeneity as a mechanism for tissue-specific ion regulation. *Semin. Nephrol.* 25, 292–303. doi:10.1016/j.semnephrol.2005.03.004
- Blumenthal, J.A., Sherwood, A., Babyak, M.A., Watkins, L.L., Smith, P.J., Hoffman, B.M., O'Hayer, C.V.F., Mabe, S., Johnson, J., Doraiswamy, P.M., Jiang, W., Schocken, D.D., Hinderliter, A.L., 2012. Exercise and

pharmacological treatment of depressive symptoms in patients with coronary heart disease: Results from the UPBEAT (understanding the prognostic benefits of exercise and antidepressant therapy) study. *J. Am. Coll. Cardiol.* 60, 1053–63. doi:10.1016/j.jacc.2012.04.040

Chang, H.S., Won, E., Lee, H.-Y., Ham, B.-J., Lee, M.-S., 2015. Association analysis for corticotropin releasing hormone polymorphisms with the risk of major depressive disorder and the response to antidepressants. *Behav. Brain Res.* 292, 116–24. doi:10.1016/j.bbr.2015.06.005

Cornelius, F., Habeck, M., Kanai, R., Toyoshima, C., Karlish, S.J.D., 2015. General and specific lipid-protein interactions in Na,K-ATPase. *Biochim. Biophys. Acta* 1848, 1729–1743. doi:10.1016/j.bbamem.2015.03.012

Crema, L., Schlabitz, M., Tagliari, B., Cunha, A., Simao, F., Krolow, R., Petteuzzo, L., Salbego, C., Vendite, D., Wyse, A.T.S., Dalmaz, C., 2010. Na⁺, K⁺-ATPase activity is reduced in Amygdala of rats with chronic stress-induced anxiety-like behavior. *Neurochem. Res.* 35, 1787–95. doi:10.1007/s11064-010-0245-9

Da Cunha, M.J., Da Cunha, A.A., Ferreira, G.K., Baladão, M.E., Savio, L.E.B., Reichel, C.L., Kessler, A., Netto, C.A., Wyse, A.T.S., 2013. The effect of exercise on the oxidative stress induced by experimental lung injury. *Life Sci.* 92, 218–227. doi:10.1016/j.lfs.2012.12.005

Da Cunha, M.J., Da Cunha, A.A., Scherer, E.B.S., Machado, F.R., Loureiro, S.O., Jaenisch, R.B., Guma, F., Lago, P.D., Wyse, A.T.S., 2014. Experimental lung injury promotes alterations in energy metabolism and

respiratory mechanics in the lungs of rats: Prevention by exercise. *Mol. Cell. Biochem.* 389, 229–238. doi:10.1007/s11010-013-1944-8

da Silva Fiorin, F., Ferreira, A.P. de O., Ribeiro, L.R., Silva, L.F.A., De Castro, M.R.T., Da Silva, L.R.H., Da Silveira, M.E.P., Zemolin, A.P.P., Dobrachinski, F., De Oliveira, S.M., Franco, J.L., Soares, F.A., Furin, A.F., Oliveira, M.S., Figuera, M.R., Freire Royes, L.F., 2016. The Impact of Previous Physical Training on Redox Signaling after Traumatic Brain Injury in Rats: A Behavioral and Neurochemical Approach. *J. Neurotrauma* 33, 1317–30. doi:10.1089/neu.2015.4068

Da Silva, M.A., Singh-Manoux, A., Brunner, E.J., Kaffashian, S., Shipley, M.J., Kivimäki, M., Nabi, H., 2012. Bidirectional association between physical activity and symptoms of anxiety and depression: The whitehall II study. *Eur. J. Epidemiol.* 27, 537–546. doi:10.1007/s10654-012-9692-8

de Sousa, C.V., Sales, M.M., Rosa, T.S., Lewis, J.E., de Andrade, R.V., Simões, H.G., 2016. The Antioxidant Effect of Exercise: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Sport. Med.* [Epub ahead of print]. doi:10.1007/s40279-016-0566-1

Della, F.P., Abelaira, H.M., Réus, G.Z., Antunes, A.R., Dos Santos, M.A.B., Zappelinni, G., Steckert, A. V., Vuolo, F., Galant, L.S., Dal-Pizzol, F., Kapczinski, F., Quevedo, J., 2012. Tianeptine exerts neuroprotective effects in the brain tissue of rats exposed to the chronic stress model. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 103, 395–402. doi:10.1016/j.pbb.2012.09.018

Dieberg, G., Ismail, H., Giallauria, F., Smart, N.A., 2015. Clinical outcomes and

cardiovascular responses to exercise training in heart failure patients with preserved ejection fraction: a systematic review and meta-analysis. *J. Appl. Physiol.* 119, 726–33. doi:10.1152/jappphysiol.00904.2014

dos Reis-Lunardelli, E., Castro, C., Bavaresco, C., Coitinho, A., da Trindade, L., Perrenoud, M., Roesler R, S.J., de Souza Wyse, A., Izquierdo, I., 2007. Effects of thyroid hormones on memory and on Na(+), K(+)-ATPase activity in rat brain. *Curr. Neurovasc. Res.* 4, 184–193. doi:10.2174/156720207781387204

Drevets, W.C., 1999. Prefrontal cortical-amygdalar metabolism in major depression. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 877, 614–637. doi:10.1111/j.1749-6632.1999.tb09292.x

Eichenbaum, H., 2016. Memory: Organization and Control. *Annu. Rev. Psychol.* 1–27. doi:10.1146/annurev-psych-010416-044131

Ellman, G.L., 1959. Tissue Sulfhydryl Groups. *Arq. Biochem. Biophys.* 82, 70–77. doi:10.1016/0003-9861(59)90090-6

Esperidião-Antonio, V., Majeski-Colombo, M., Toledo-Monteverde, D., Moraes-Martins, G., Fernandes, J.J., Assis, M.B. de, Siqueira-Batista, R., 2008. Neurobiologia das emoções. *Rev. Psiquiatr. Clínica* 35, 55–65. doi:10.1590/S0101-60832008000200003

Evans, D.L., Charney, D.S., Lewis, L., Golden, R.N., Gorman, J.M., Krishnan, K.R.R., Nemeroff, C.B., Bremner, J.D., Carney, R.M., Coyne, J.C., Delong, M.R., Frasure-Smith, N., Glassman, A.H., Gold, P.W., Grant, I., Gwyther, L., Ironson, G., Johnson, R.L., Kanner, A.M., Katon, W.J., Kaufmann, P.G.,

Keefe, F.J., Ketter, T., Laughren, T.P., Leserman, J., Lyketsos, C.G., McDonald, W.M., McEwen, B.S., Miller, A.H., Musselman, D., O'Connor, C., Petitto, J.M., Pollock, B.G., Robinson, R.G., Roose, S.P., Rowland, J., Sheline, Y., Sheps, D.S., Simon, G., Spiegel, D., Stunkard, A., Sunderland, T., Tibbits, P., Valvo, W.J., 2005. Mood disorders in the medically ill: scientific review and recommendations. *Biol. Psychiatry* 58, 175–89. doi:10.1016/j.biopsych.2005.05.001

Fernando, A.B.P., Robbins, T.W., 2011. Animal Models of Neuropsychiatric Disorders Tau: a protein that promotes microtubule assembly and stability. *Annu. Rev. Clin. Psychol* 7, 39–61. doi:10.1146/annurev-clinpsy-032210-104454

Furczyk, K., Schutová, B., Michel, T.M., Thome, J., Büttner, A., 2013. The neurobiology of suicide - A Review of post-mortem studies. *J. Mol. psychiatry* 1, 2. doi:10.1186/2049-9256-1-2

Gamaro, G.D., Manoli, L., Torres, I.L., Silveira, R., Dalmaz, C., 2003a. Effects of chronic variate stress on feeding behavior and on monoamine levels in different rat brain structures. *Neurochem. Int.* 42, 107–114. doi:10.1016/S0197-0186(02)00080-3

Gamaro, G.D., Streck, E.L., Matté, C., Prediger, M.E., Wyse, A.T.S., Dalmaz, C., 2003b. Reduction of Hippocampal Na⁺, K⁺-ATPase Activity in Rats Subjected to an Experimental Model of Depression. *Neurochem. Res.* 28, 1339–1344. doi:10.1023/A:1024988113978

Geering, K., 2008. Functional roles of Na⁺,K⁺-ATPase subunits. *Curr. Opin.*

Nephrol. Hypertens. 17, 526–532. doi:10.1097/MNH.0b013e3283036cbf

Gibson, K., Cartwright, C., Read, J., 2016. “In my life antidepressants have been...”: a qualitative analysis of users’ diverse experiences with antidepressants. *BMC Psychiatry* 16, 135. doi:10.1186/s12888-016-0844-3

Ginty, A.T., Conklin, S.M., 2011. High perceived stress in relation to life events is associated with blunted cardiac reactivity. *Biol. Psychol.* 86, 383–5. doi:10.1016/j.biopsycho.2011.01.002

Gomez-Cabrera, M.C., Domenech, E., Viña, J., 2008. Moderate exercise is an antioxidant: Upregulation of antioxidant genes by training. *Free Radic. Biol. Med.* 44, 126–31. doi:10.1016/j.freeradbiomed.2007.02.001

Gosnell, S.N., Velasquez, K.M., Molfese, D.L., Molfese, P.J., Madan, A., Fowler, J.C., Christopher Frueh, B., Baldwin, P.R., Salas, R., 2016. Prefrontal cortex, temporal cortex, and hippocampus volume are affected in suicidal psychiatric patients. *Psychiatry Res.* 256, 50–56. doi:10.1016/j.psychres.2016.09.005

Gutteridge, J.M.C., Halliwell, B., 2010. Antioxidants: Molecules, medicines, and myths. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 393, 561–564. doi:10.1016/j.bbrc.2010.02.071

Gutzmann, H., Qazi, A., 2015. Depression associated with dementia. *Z Gerontol Geriatr* 48, 305–11. doi:10.1007/s00391-015-0898-8

Halliwell, B., 2014. Cell culture, oxidative stress, and antioxidants: avoiding pitfalls. *Biomed. J.* 37, 99–105. doi:10.4103/2319-4170.128725

- Halliwell, B., 2012. Free radicals and antioxidants: updating a personal view. *Nutr. Rev.* 70, 257–265. doi:10.1111/j.1753-4887.2012.00476.x
- Halliwell, B., 2006. Reactive species and antioxidants. Redox biology is a fundamental theme of aerobic life. *Plant Physiol.* 141, 312–322. doi:10.1104/pp.106.077073
- Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C., 2007. *Free Radicals in Biology and Medicine*, 4th ed. ed. Oxford University Press, Oxford.
- Halliwell, B., Whiteman, M., 2004. Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture: how should you do it and what do the results mean? *Br. J. Pharmacol.* 142, 231–255. doi:10.1038/sj.bjp.0705776
- Hare, D.L., Toukhsati, S.R., Johansson, P., Jaarsma, T., 2014. Depression and cardiovascular disease: A clinical review. *Eur. Heart J.* 35, 1365–72. doi:10.1093/eurheartj/eh462
- He, F., Li, J., Liu, Z., Chuang, C., Yang, W., Zuo, L., 2016. Redox Mechanism of Reactive Oxygen Species in Exercise 7, 1–10. doi:10.3389/fphys.2016.00486
- Hemingway, H., Marmot, M., 1999. Clinical review Evidence based cardiology Psychosocial factors in the aetiology and prognosis of coronary heart disease: systematic review of prospective cohort studies. *Br. Med. J.* 318, 1460–7. doi:10.1136/bmj.318.7196.1460
- Hoffman, B.M., Babyak, M.A., Craighead, W.E., Sherwood, A., Doraiswamy, P.M., Coons, M.J., Blumenthal, J.A., 2011. Exercise and pharmacotherapy

- in patients with major depression: one-year follow-up of the SMILE study. *Psychosom. Med.* 73, 127–133. doi:10.1097/PSY.0b013e31820433a5
- Hopper, I., Kotecha, D., Chin, K.L., Mentz, R.J., von Lueder, T.G., 2016. Comorbidities in Heart Failure: Are There Gender Differences? *Curr. Heart Fail. Rep.* 13, 1–12. doi:10.1007/s11897-016-0280-1
- Izquierdo, I., Dias, R.D., 1983. Effect of ACTH, epinephrine, beta-endorphin, naloxone, and of the combination of naloxone or beta-endorphin with ACTH or epinephrine on memory consolidation. *Psychoneuroendocrinology* 8, 81–87. doi:10.1016/0306-4530(83)90043-4
- Izquierdo, I., Furini, C.R.G., Myskiw, J.C., 2016. Fear Memory. *Physiol. Rev.* 96, 695–750. doi:10.1152/physrev.00018.2015
- Izquierdo, I., Medina, J.H., 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. doi:10.1006/nlme.1997.3799
- Juruena, M.F., Werne Baes, C. Von, Menezes, I.C., Graeff, F.G., 2015. Early life stress in depressive patients: role of glucocorticoid and mineralocorticoid receptors and of hypothalamic-pituitary-adrenal axis activity. *Curr. Pharm. Des.* 21, 1369–1378. doi:10.2174/1381612821666150105125500
- Kim, H.K., Nunes, P.V., Oliveira, K.C., Young, L.T., Lafer, B., 2016. Neuropathological relationship between major depression and dementia: A hypothetical model and review. *Prog. Neuro-Psychopharmacology Biol.*

Psychiatry 67, 51–7. doi:10.1016/j.pnpbp.2016.01.008

Li, Z., Langhans, S.A., 2015. Transcriptional regulators of Na⁺,K⁺-ATPase subunits. *Front. Cell Dev. Biol.* *Front. Cell Dev. Biol* 3, 663389–66. doi:10.3389/fcell.2015.00066

Liu, D., Xie, K., Yang, X., Gu, J., Ge, L., Wang, X., Wang, Z., 2014. Resveratrol reverses the effects of chronic unpredictable mild stress on behavior, serum corticosterone levels and BDNF expression in rats. *Behav. Brain Res.* 264, 9–16. doi:10.1016/j.bbr.2014.01.039

Liu, W., Zhou, C., 2012. Corticosterone reduces brain mitochondrial function and expression of mitofusin, BDNF in depression-like rodents regardless of exercise preconditioning. *Psychoneuroendocrinology* 37, 1057–70. doi:10.1016/j.psyneuen.2011.12.003

Lopresti, A.L., Hood, S.D., Drummond, P.D., 2013. A review of lifestyle factors that contribute to important pathways associated with major depression: Diet, sleep and exercise. *J. Affect. Disord.* 148, 12–27. doi:10.1016/j.jad.2013.01.014

Maes, M., Yirmiya, R., Noraberg, J., Brene, S., Hibbeln, J., Perini, G., Kubera, M., Bob, P., Lerer, B., Maj, M., 2009. The inflammatory & neurodegenerative (I&ND) hypothesis of depression: Leads for future research and new drug developments in depression. *Metab. Brain Dis.* 24, 27–53. doi:10.1007/s11011-008-9118-1

Malykhin, N. V, Coupland, N.J., 2015. Hippocampal neuroplasticity in major depressive disorder. *Neuroscience* 309, 200–13.

doi:10.1016/j.neuroscience.2015.04.047

Manoli, L.P., Gamaro, G.D., Silveira, P.P., Dalmaz, C., 2000. Effect of chronic variate stress on thiobarbituric-acid reactive species and on total radical-trapping potential in distinct regions of rat brain. *Neurochem. Res.* 25, 915–21. doi:10.1023/A:1007592022575

Marek Małyszczak, K., Rymaszewska, J., 2016. Depression and anxiety in cardiovascular disease. *Kardiol. Pol.* [Epub ahead of print]. doi:10.5603/KP.a2016.0063

Marin, M.T., Cruz, F.C., Planeta, C.S., 2007. Chronic restraint or variable stresses differently affect the behavior, corticosterone secretion and body weight in rats. *Physiol. Behav.* 90, 29–35. doi:10.1016/j.physbeh.2006.08.021

Matte, C., Pereira, L.O., Dos Santos, T.M., Mackedanz, V., Cunha, A.A., Netto, C.A., Wyse, A.T.S., 2009. Acute homocysteine administration impairs memory consolidation on inhibitory avoidance task and decreases hippocampal brain-derived neurotrophic factor immunoccontent: prevention by folic acid treatment. *Neuroscience* 163, 1039–1045. doi:10.1016/j.neuroscience.2009.07.023

McIntyre, R., O'Donovan, C., 2004. The human cost of not achieving full remission in depression. *Can J Psychiatry* 49, 10S–16S. doi:10.1.1.553.796

Mello, P.B., Benetti, F., Cammarota, M., Izquierdo, I., 2009. Physical exercise can reverse the deficit in fear memory induced by maternal deprivation.

Neurobiol. Learn. Mem. 92, 364–9. doi:10.1016/j.nlm.2009.04.004

Misra, M.K., Sarwat, M., Bhakuni, P., Tuteja, R., Tuteja, N., 2009. Oxidative stress and ischemic myocardial syndromes. *Med Sci Monit* 15, RA209–219. doi:878204 [pii]

Moseley, A.E., Williams, M.T., Schaefer, T.L., Bohanan, C.S., Neumann, J.C., Behbehani, M.M., Vorhees, C. V, Lingrel, J.B., 2007. Deficiency in Na⁺,K⁺-ATPase Alpha Isoform Genes Alters Spatial Learning, Motor Activity, and Anxiety in Mice. *J. Neurosci.* 27, 616–26. doi:10.1523/JNEUROSCI.4464-06.2007

Mourao, R., Mansur, G., Malloy-Diniz, L., Castro Costa, E., BS, D., 2016. Depressive symptoms increase the risk of progression to dementia in subjects with mild cognitive impairment: systematic review and meta-analysis. *Int J Geriatr Psychiatry* 31, 905–11. doi:10.1002/gps.4406

Mury, F.B., Silva, W.C., Barbosa, N.R., Mendes, C.T., Bonini, J.S., Eduardo, J., Sarkis, S., Cammarota, M., Izquierdo, I., Gattaz, W.F., Dias, E., 2015. Lithium activates brain phospholipase A2 and improves memory in rats: implications for Alzheimer ' s disease. *Eur. Arch. Psychiatry Clin. Neurosci.* 266, 607–618. doi:10.1007/s00406-015-0665-2

Netto, C., Dias, R., Izquierdo, I., 1986. Differential effect of posttraining naloxone, beta-endorphin, leu-enkephalin and electroconvulsive shock administration upon memory of an open-field habituation and of a water-finding task. *Psychoneuroendocrinology* 11, 437–46.

Ng, F., Berk, M., Dean, O., Bush, A.I., 2008. Oxidative stress in psychiatric

- disorders: evidence base and therapeutic implications. *Int. J. Neuropsychopharmacol.* 11, 851–876. doi:10.1017/s1461145707008401
- Ota, M., Sato, N., Hidese, S., Teraishi, T., Maikusa, N., Matsuda, H., Hattori, K., Kunugi, H., 2016. Structural differences in hippocampal subfields among schizophrenia patients, major depressive disorder patients, and healthy subjects. *Psychiatry Res.* 259, 54–59. doi:10.1016/j.psychresns.2016.11.002
- Papakostas, G.I., Petersen, T., Mahal, Y., Mischoulon, D., Nierenberg, A.A., Fava, M., 2004. Quality of life assessments in major depressive disorder: a review of the literature. *Gen. Hosp. Psychiatry* 26, 13–17. doi:10.1016/j.genhosppsy.2003.07.004
- Pedersen, B.K., Saltin, B., 2015. Exercise as medicine - Evidence for prescribing exercise as therapy in 26 different chronic diseases. *Scand. J. Med. Sci. Sport.* 25, 1–72. doi:10.1111/sms.12581
- Portugal, E.M.M., Cevada, T., Sobral Monteiro-Junior, R., Teixeira Guimar??es, T., Da Cruz Rubini, E., Lattari, E., Blois, C., Camaz Deslandes, A., 2013. Neuroscience of exercise: From neurobiology mechanisms to mental health. *Neuropsychobiology* 68, 1–14. doi:10.1159/000350946
- Quervain, D. De, Schwabe, L., Roozendaal, B., 2016. Stress, glucocorticoids and memory: implications for treating fear-related disorders. *Nat. Publ. Gr.* doi:10.1038/nrn.2016.155
- Rabl, U., Scharinger, C., Müller, M., Pezawas, L., 2014. Imaging genetics: implications for research on variable antidepressant drug response. *Expert*

Rev. Clin. Pharmacol. 471–489. doi:10.1586/ecp.10.35

Radahmadi, M., Alaei, H., Sharifi, M.R., Hosseini, N., 2015. Preventive and therapeutic effect of treadmill running on chronic stress-induced memory deficit in rats. *J. Bodyw. Mov. Ther.* 19, 238–45. doi:10.1016/j.jbmt.2014.04.007

Radák, Z., Sasvá, M., Nyakas, C., Pucsok, J., Nakamoto, H., Goto, S., 2000. Exercise Preconditioning against Hydrogen Peroxide- Induced Oxidative Damage in Proteins of Rat Myocardium. *Arch. Biochem. Biophys.* 376, 248–51. doi:10.1006/abbi.2000.1719

Radák, Z., Toldy, 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. doi:10.1016/j.neuint.2006.02.004

Roesler, R., Schröder, N., Vianna, M.R.M., Quevedo, J., Bromberg, E., Kapczinski, F., Ferreira, M.B.C., 2003. Differential involvement of hippocampal and amygdalar NMDA receptors in contextual and aversive aspects of inhibitory avoidance memory in rats. *Brain Res.* 975, 207–213. doi:10.1016/S0006-8993(03)02656-8

Ron De Kloet, E., Joëls, M., Holsboer, F., 2005. Stress and the brain: from adaptation to disease. *Nat. Rev. Neurosci.* 6, 463–75. doi:10.1038/nrn1683

Sanches, E.F., Arteni, N.S., Scherer, E.B., Kolling, J., Nicola, F., Willborn, S., Wyse, A.T.S., Netto, C.A., 2013. Are the consequences of neonatal hypoxia-ischemia dependent on animals' sex and brain lateralization? *Brain*

Res. 1507, 105–114. doi:10.1016/j.brainres.2013.02.040

Sartorius, N., Baghai, T.C., Baldwin, D.S., Barrett, B., Brand, U., Fleischhacker, W., Goodwin, G., Grunze, H., Knapp, M., Leonard, B.E., Lieberman, J., Nakane, Y., Pinder, R.M., Schatzberg, A.F., Svestka, J., Baumann, P., Ghalib, K., Markowitz, J.C., Padberg, F., Fink, M., Furukawa, T., Fountoulakis, K.N., Jensen, P., Kanba, S., Riecher-Rössler, A., 2007. Antidepressant medications and other treatments of depressive disorders: a CINP Task Force report based on a review of evidence., *The international journal of neuropsychopharmacology / official scientific journal of the Collegium Internationale Neuropsychopharmacologicum (CINP)*. doi:10.1017/S1461145707008255

Schneider, M., Levant, B., Martin, R., Gulbins, E., Kornhuber, J., Muller, C.P., 2016. Lipids in psychiatric disorders and preventive medicine. *Neurosci. Biobehav. Rev.* [Epub ahead of print]. doi:10.1016/j.neubiorev.2016.06.002

Schwabe, L., Joëls, M., Roozendaal, B., Wolf, O.T., Oitzl, M.S., 2012. Stress effects on memory: An update and integration. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 36, 1740–1749. doi:10.1016/j.neubiorev.2011.07.002

Serrano, C.V.J., Setani, K.T., Sakamoto, E., Andrei, A.M., Fraguas, R., 2011. Association between depression and development of coronary artery disease: pathophysiologic and diagnostic implications. *Vasc. Health Risk Manag.* 7, 159–164. doi:10.2147/VHRM.S10783

Sibarov, D.A., Bolshakov, A.E., Abushik, P.A., Krivoi, I.I., Antonov, S.M., 2012. Na⁺,K⁺-ATPase functionally interacts with the plasma membrane Na⁺,Ca²⁺

exchanger to prevent Ca²⁺ overload and neuronal apoptosis in excitotoxic stress. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 343, 596–607. doi:10.1124/jpet.112.198341

Sokoreli, I., de Vries, J.J.G., Pauws, S.C., Steyerberg, E.W., 2016. Depression and anxiety as predictors of mortality among heart failure patients: systematic review and meta-analysis. *Heart Fail. Rev.* 21, 49–63. doi:10.1007/s10741-015-9517-4

Sterrenburg, L., Gaszner, B., Boerrigter, J., Santbergen, L., Bramini, M., Elliott, E., Chen, A., Peeters, B.W.M.M., Roubos, E.W., Kozicz, T., 2011. Chronic stress induces sex-specific alterations in methylation and expression of corticotropin-releasing factor gene in the rat. *PLoS One* 6, 1–14. doi:10.1371/journal.pone.0028128

Suhail, M., 2010. Na⁺, K⁺-ATPase: Ubiquitous Multifunctional Transmembrane Protein and its Relevance to Various Pathophysiological Conditions. *J. Clin. Med. Res.* 2, 1–17. doi:10.4021/jocmr2010.02.263w

Tagliari, B., Dos Santos, T.M., Cunha, A.A., Lima, D.D., Delwing, D., Sitta, A., Vargas, C.R., Dalmaz, C., Wyse, A.T.S., 2010a. Chronic variable stress induces oxidative stress and decreases butyrylcholinesterase activity in blood of rats. *J. Neural Transm.* a 117, 1067–76. doi:10.1007/s00702-010-0445-0

Tagliari, B., Noschang, C.G., Ferreira, A.G.K., Ferrari, O.A., Feksa, L.R., Wannmacher, C.M.D., Dalmaz, C., Wyse, A.T.S., 2010b. Chronic variable stress impairs energy metabolism in prefrontal cortex and hippocampus of

rats: Prevention by chronic antioxidant treatment. *Metab. Brain Dis.* b 25, 169–76. doi:10.1007/s11011-010-9194-x

Tagliari, B., Scherer, E.B., MacHado, F.R., Ferreira, A.G.K., Dalmaz, C., Wyse, A.T.S., 2011a. Antioxidants prevent memory deficits provoked by chronic variable Stress in rats. *Neurochem. Res.* 36, 2373–80. doi:10.1007/s11064-011-0563-6

Tagliari, B., Tagliari, A.P., Schmitz, F., Da Cunha, A.A., Dalmaz, C., Wyse, A.T.S., 2011b. Chronic variable stress alters inflammatory and cholinergic parameters in hippocampus of rats. *Neurochem. Res.* a 36, 487–93. doi:10.1007/s11064-010-0367-0

Talarowska, M., Bobinska, K., Zajaczkowska, M., Su, K.-P., Maes, M., Galecki, P., 2014. Impact of oxidative/nitrosative stress and inflammation on cognitive functions in patients with recurrent depressive disorders. *Med. Sci. Monit.* 20, 110–115. doi:10.12659/MSM.889853

Thomas, S.J., Shin, M., McInnis, M.G., Bostwick, J.R., 2015. Combination therapy with monoamine oxidase inhibitors and other antidepressants or stimulants: strategies for the management of treatment-resistant depression. *Pharmacotherapy* 35, 433–449. doi:10.1002/phar.1576

WHO, 2016a. World Health Organization. Media Centre. Depression. Fact Sheet No.369, Reviewed April 2016 [Internet]. [WWW Document]. Organ. Geneva World Heal. [cited 2016 Jun 03].

WHO, 2016b. World Health Organization. Programmes. Management of substance abuse. Terminology and classification. Diagnostic and statistical

manual of mental disorders. More information on DSM-V. Disponível em: http://www.who.int/substance_abuse/terminology/diagnostic/en/. Acessado em 15 de dezembro de 2016.

Willner, P., 2005. Chronic mild stress (CMS) revisited: consistency and behavioural-neurobiological concordance in the effects of CMS. *Neuropsychobiology* 52, 90–110. doi:10.1159/000087097

Wulsin, L.R., Vaillant, G.E., Wells, V.E., 1999. A Systematic Review of the Mortality of Depression. *Psychosom. Med.* 61, 6–17. doi:10.1097/00006842-199901000-00003

Wyse, A.T.S., Bavaresco, C.S., Reis, E.A., Zugno, A.I., Tagliari, B., Calcagnotto, T., Netto, C.A., 2004. Training in inhibitory avoidance causes a reduction of Na⁺,K⁺-ATPase activity in rat hippocampus. *Physiol. Behav.* 80, 475–479. doi:10.1016/j.physbeh.2003.10.002

Zhao, Q.-F., Tan, L., Wang, H.-F., Jiang, T., Tan, M.-S., Tan, L., Xu, W., Li, J.-Q., Wang, J., Lai, T.-J., Yu, J.-T., 2016. The prevalence of neuropsychiatric symptoms in Alzheimer's disease: Systematic review and meta-analysis. *J. Affect. Disord.* 190, 264–71. doi:10.1016/j.jad.2015.09.069

Zinn, C.G., Bevilaqua, L.R., Rossato, J.I., Medina, J.H., Izquierdo, I., Cammarota, M., 2009. On the requirement of nitric oxide signaling in the amygdala for consolidation of inhibitory avoidance memory. *Neurobiol. Learn. Mem.* 91, 266–272. doi:10.1016/j.nlm.2008.09.016

ANEXO I

PERSPECTIVAS

Verificar em estruturas cerebrais e outros tecidos (coração, músculo esquelético, sangue), quando possível:

- ✓ O imunoconteúdo do BDNF e NGF;
- ✓ A viabilidade e morte celular;
- ✓ A função mitocondrial (massa e potencial);
- ✓ Parâmetros relacionados ao metabolismo energético;
- ✓ Expressão gênica e proteica da citocromo c oxidase;
- ✓ Perfil inflamatório (IL-1 β , IL-6, TNF- α);
- ✓ Mecanismos que possam estar envolvidos nas alterações apresentadas.



CARTA DE APROVAÇÃO

Comissão De Ética No Uso De Animais analisou o projeto:

Número: 28959

Título: AVALIAÇÃO DE PARÂMETROS BIOQUÍMICOS, MORFOLÓGICOS E COMPORTAMENTAIS EM RATOS SUBMETIDOS AO MODELO EXPERIMENTAL DE DEPRESSÃO: PAPEL PROTETOR DO TREINAMENTO FÍSICO

Vigência: 09/04/2015 à 08/04/2017

Pesquisadores:

Equipe UFRGS:

ANGELA TEREZINHA DE SOUZA WYSE - coordenador desde 09/04/2015
TIAGO MARCON DOS SANTOS - Aluno de Mestrado desde 09/04/2015

Comissão De Ética No Uso De Animais aprovou o mesmo , em reunião realizada em 19/05/2015 - Sala 330 do Anexo I do Prédio da Reitoria - Campus Centro- Universidade Federal do Rio Grande do Sul - Porto Alegre, em seus aspectos éticos e metodológicos, para a utilização de 176, Ratos Wistar, 21 dias de idade, machos e fêmeas, provenientes do Instituto de Bioquímica da UFRGS, de acordo com os preceitos das Diretrizes e Normas Nacionais e Internacionais, especialmente a Lei 11.794 de 08 de novembro de 2008, o Decreto 6899 de 15 de julho de 2009, e as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), que disciplinam a produção, manutenção e/ou utilização de animais do filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem) em atividade de ensino ou pesquisa.

Porto Alegre, Segunda-Feira, 29 de Junho de 2015

CRISTIANE MATTE
Coordenador da comissão de ética

ANEXO III

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. <i>Estrutura da Na⁺, K⁺-ATPase</i>	18
Figura 2. <i>Capacidade respiratória total máxima aos 27 dias de vida (machos x fêmeas)</i>	50
Figura 3. <i>Distância percorrida por dia durante dois meses de exercício físico (machos x fêmeas)</i>	50
Figura 4. <i>Peso corporal de machos e fêmeas ao longo do experimento</i>	51

ANEXO IV

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. <i>Parâmetros de estresse oxidativo em tecido cardíaco de ratos machos</i>	52
Tabela 2. <i>Parâmetros de estresse oxidativo em tecido cardíaco de ratas fêmeas</i>	52