

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PAMPA
CAMPUS URUGUAIANA
PROGRAMA MULTICÊNTRICO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS**

LETICIA ROSSI DARÉ DIAS

**EFEITOS DO TREINAMENTO FÍSICO E COGNITIVO NOS DÉFICITS DE
MEMÓRIA RELACIONADOS À NEUROTOXICIDADE INDUZIDA PELA PROTEÍNA
BETA-AMILOIDE**

URUGUAIANA

2020

LETICIA ROSSI DARÉ DIAS

**EFEITOS DO TREINAMENTO FÍSICO E COGNITIVO NOS DÉFICITS DE
MEMÓRIA RELACIONADOS À NEUROTOXICIDADE INDUZIDA PELA PROTEÍNA
BETA-AMILOIDE**

Tese apresentada ao Programa Multicêntrico de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas da Universidade Federal do Pampa, campus Uruguaiana, como requisito para obtenção do título de Doutora em Ciências Fisiológicas.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Pâmela Billig Mello Carpes

URUGUAIANA

2020

Ficha catalográfica elaborada automaticamente com os dados fornecidos
pelo(a) autor(a) através do Módulo de Biblioteca do
Sistema GURI (Gestão Unificada de Recursos Institucionais) .

D217e Dare Dias, Leticia Rossi
EFEITOS DO TREINAMENTO FÍSICO E COGNITIVO NOS DÉFICITS DE
MEMÓRIA RELACIONADOS À NEUROTOXICIDADE INDUZIDA PELA PROTEÍNA
BETA-AMILOIDE / Leticia Rossi Dare Dias.
135 p.

Tese(Doutorado)-- Universidade Federal do Pampa, DOUTORADO
EM CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS, 2020.
"Orientação: Pâmela Billig Mello-Carpes".

1. Doença de Alzheimer. 2. Exercício aeróbico. 3. Exercício
agudo. 4. Estimulação cognitiva. 5. Estresse oxidativo. I.
Título.

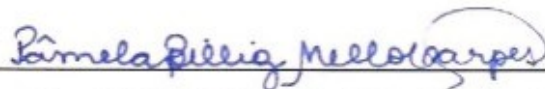
LETICIA ROSSI DARÉ DIAS

**EFEITOS DO TREINAMENTO FÍSICO E COGNITIVO NOS DÉFICITS DE
MEMÓRIA RELACIONADOS À NEUROTOXICIDADE INDUZIDA PELA PROTEÍNA
BETA-AMILOIDE**

Tese apresentada ao Programa Multicêntrico de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas da Universidade Federal do Pampa, campus Uruguaiana, como requisito para obtenção do título de Doutora em Ciências Fisiológicas.

Tese defendida e aprovada em: 18/05/2020

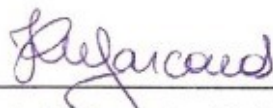
Banca examinadora:



Prof^a. Dr^a. Pâmela Billig Mello Carpes

Orientadora

UNIPAMPA



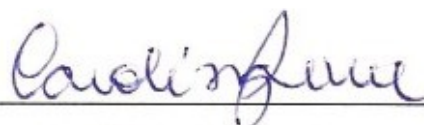
Prof^a. Dr^a. Fernanda Klein Marcondes

UNICAMP



Prof^a. Dr^a. Mauren Assis de Souza

UNIPAMPA



Prof^a. Dr^a. Carolina Garrido Zinn

FSG

Dedico este trabalho à minha família. À minha mãe, Maria José, meu porto seguro, símbolo de força e de paz. À meu pai, Antônio, símbolo de honestidade, que partiu antes que me visse como doutora, mas tenho certeza do seu orgulho por mim. Aos meus irmãos, Fernanda e Danilo, fonte de apoio e lealdade em todos os momentos. À meu marido, Daniel, o primeiro a me incentivar nessa nova etapa do doutorado, quem sempre acredita em mim, mais do que eu mesma.

AGRADECIMENTO

À Profa. Dra. **Pamela Billig Mello-Carpes** por acreditar no meu potencial e me aceitar como sua orientada mesmo sem me conhecer totalmente. Obrigada por compartilhar comigo um pouco de toda sua experiência, conhecimento e paixão pela ciência. Você é fonte de inspiração e motiva todos que estão ao seu redor para fazer o melhor, sempre. Meu muito obrigada!

Aos **professores** do Programa Multicêntrico de Pós Graduação em Ciências Fisiológicas – PMPGCF da Unipampa e de todas as outras Universidades que tive o prazer de realizar alguns créditos. Vocês foram essenciais para minha formação.

À **Universidade Federal do Pampa, campus Uruguiana**, à coordenação acadêmica, por viabilizar os afastamentos parciais para a realização desse doutorado, aos colegas técnicos de laboratório pelo apoio nas atividades e aos professores pela compreensão da minha ausência.

A todos os **colegas da primeira turma do PMPGCF** da Unipampa. Nós encaramos juntos esse desafio nesse programa, até então pouco conhecido por nós. A parceria com vocês tornou tudo mais leve e prazeroso. Obrigada Niége Alves, Caroline Cadore, Daniel Felber, Marcos Kunzler, Rafael Malheiros, Rui Machado, Janaina Piagette e Franciele Lanzarini.

Aos **integrantes do Grupo de Pesquisa em Fisiologia – GPFis**, por me acolher como membro desse grupo tão especial. Pela ajuda nos experimentos, pelas discussões científicas, pelas confraternizações e pelo apoio. Agradecimento ao subgrupo que estuda o Alzheimer, por toda ajuda e pela relação ainda mais estreita. E ainda um agradecimento especial à Caroline Bitencourt e ao Ben-Hur Neves, pela amizade que se formou além dos experimentos, das bancadas e das corridas na “madrugada”.

Aos meus **amigos uruguianenses e paulistas**, Karoline Goulart, Dário Ceccon, Edilene Doretto, Deise Espelocim, Paulo Santana, Mauren Araújo, Gabriel Bergmann, Renata Pregnaca, Ailton Dinardi, Natalia Orti, Geraldo Rosa Junior, Veridiana Oliveira e Mariana Casali, que alguns mesmo fora do ambiente acadêmico, sempre me apoiaram no empenho ao doutorado, pela compreensão nos momentos que não pude estar presente, por estar em experimento e estudos.

Aos que também **sempre me incentivaram**, meus cunhados Alessandro Morelli, Adriano Dias, Luciana Souza e Tatiana Nishime, meus sobrinhos Mateus e Pedro, à minha sogra Maria Helena Ventura Dias, meu sogro Joaquim Dias, e demais familiares.

Agradeço à vocês por todo apoio e incentivo. **Muito obrigada!**

Cada pessoa deve trabalhar para o seu aperfeiçoamento e, ao mesmo tempo, participar da responsabilidade coletiva por toda a humanidade.

Marie Curie

RESUMO

A doença de Alzheimer (DA) é a maior causa de demência no mundo, representando 50% a 75% dos casos. Ela é caracterizada pela deposição da proteína β -amiloide (β a), dano oxidativo e degeneração neuronal, que, juntamente com outros eventos patológicos, promovem perda progressiva de memória e declínio cognitivo. Atualmente, a DA não tem cura e o tratamento é limitado. Pesquisas voltadas ao tratamento não farmacológico têm sido desenvolvidas com o objetivo de atuar na plasticidade cerebral e minimizar a neurotoxicidade causada pela proteína β a. Considerando que os efeitos neuroprotetores do exercício físico são amplamente estudados, é importante esclarecer os potenciais efeitos do exercício cognitivo. Nossa hipótese é que o exercício cognitivo tenha efeitos preventivos e terapêuticos semelhantes ou comparáveis aos observados no exercício físico, considerando a estimulação da plasticidade que ele pode promover. Ainda, embora a prática regular de exercício físico seja uma estratégia consolidada na prevenção de déficits cognitivos, pouco se sabe sobre os efeitos do exercício agudo na memória. Neste sentido, nossa outra hipótese é que uma única sessão de exercício físico realizada em uma janela temporal próxima a um aprendizado possa modular o mesmo, qualificando a consolidação da memória, mesmo em situações de déficits. Para testar estas hipóteses, usando um modelo de neurotoxicidade induzido pela β a em ratos, demonstramos em nossos dois primeiros estudos que o exercício físico e o cognitivo são estratégias capazes tanto de prevenir, como de tratar os déficits da memória de reconhecimento, evitar o aumento nos níveis de espécies reativas de oxigênio e peroxidação lipídica hipocampal, e melhorar a atividade da acetilcolinesterase no hipocampo, parâmetros alterados pela neurotoxicidade induzida pela β a, além de reorganizar, ou manter a organização, pelo menos em parte, da morfologia do tecido hipocampal. Ainda, em nosso terceiro estudo demonstramos que uma única sessão de exercício físico realizada após o aprendizado é capaz de promover a persistência da memória de reconhecimento em ratos controle e a consolidação da memória em animais com déficit cognitivo induzido pela β a. Verificamos que entre os mecanismos envolvidos nos efeitos do exercício agudo sobre a melhora da memória está a ativação do sistema dopaminérgico. Com base nos nossos achados podemos concluir que o exercício cognitivo é tão bom quanto o exercício físico na prevenção e no tratamento dos déficits de memória relacionados à neurotoxicidade induzida pela proteína β a, e

que atuam no equilíbrio oxidativo. Ainda, é possível concluir que o exercício físico é uma estratégia eficaz como modulador da aprendizagem, promovendo a consolidação da memória em animais com déficits cognitivos. Estudos subsequentes são necessários para investigar: (i) mecanismos adicionais que possam ajudar a explicar os efeitos do exercício cognitivo; (ii) seus efeitos na persistência da memória; e, (iii), seus efeitos em outros modelos experimentais relacionados à DA. Também é importante investigar outros mecanismos que podem estar envolvidos nos benefícios do exercício agudo e investigar se a associação do exercício físico e cognitivo poderia potencializar os efeitos observados nas terapias individuais.

Palavras-chave: Doença de Alzheimer, Exercício aeróbico, Exercício agudo, Estimulação cognitiva, Estresse oxidativo.

ABSTRACT

Alzheimer's disease (AD) is the biggest cause of dementia, accounting for 50%–75% of dementia cases in the world. AD is characterized by the presence of amyloid- β (A β), oxidative damage and neuronal degeneration, which, together with other pathological events, promote progressive memory loss and cognitive decline. Currently, an AD has no cure and treatment is limited. Researches focused on non-pharmacological treatment have been developed with the aim to act in brain plasticity and to minimize the neurotoxicity caused by A β peptide. Considering that physical exercise neuroprotective effects on the prevention of cognitive deficits are well elucidated, it is important to clarify the effects of cognitive training. Our hypothesis is that cognitive exercise has preventive and therapeutic effects similar or comparable effects to those observed in physical exercise, considering that it can promote the plasticity stimulation. The regular practice of physical exercise is a consolidated strategy on the prevention of cognitive deficits; however, little is known about the effects of acute exercise on memory. We hypothesize that one physical exercise session could act as a modulator of learning. So, our other hypothesis is that one single session of physical exercise performed after learning can modulate learning, improving consolidation of memory, even in deficits situation. To test these hypothesis, using an animal model A β -induced neurotoxicity, the present study shows that the physical and cognitive exercise are strategies able to prevent and to reverse the recognition memory deficits, to decrease the hippocampal ROS levels and lipid peroxidation, to restore the acetylcholinesterase activity in the hippocampus, parameters altered by A β -induced neurotoxicity. In addition, physical and cognitive training were able to reorganize, at least in part, the hippocampal morphological organization. In our third study, we demonstrated that one physical exercise session, performed after learning is able to improve recognition memory persistence in control rats and the memory consolidation in animals with cognitive deficit related to amyloid- β neurotoxicity. We verified that between the mechanisms involved in the effects of acute exercise on memory is the dopaminergic system activation. Based on our findings, we can conclude that cognitive exercise is as good as physical exercise as prevention and therapy for memory deficits related to A β -induced neurotoxicity, which act through oxidative balance. It is still possible to conclude that acute exercise is an effective strategy as a learning modulator, promoting memory consolidation in animals with cognitive deficits. More studies are

necessary to investigate additional mechanisms that can help explain: (i) additional mechanisms to explain the effects of cognitive exercise; (ii) its effects on memory persistence; and, (iii) its effects in other experimental models related to AD. It is also important to investigate other mechanisms that may be involved in the benefits of acute exercise and to investigate whether the association of physical and cognitive exercise could enhance the effects observed in individual therapies.

Keywords: Alzheimer disease, Aerobic exercise, Acute exercise, Cognitive stimulation, Oxidative stress.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Representação dos mecanismos normal e anormal, de clivagem da proteína precursora amiloide (APP)	23
Figura 2 -	Progressão natural de marcadores cognitivos e biológicos da DA	25
Figura 3 -	A evolução da deposição de placas amiloides e emaranhados neurofibrilares nas diferentes áreas do cérebro	33
Figura 4 -	Taxa de declínio da memória no envelhecimento normal e na Doença de Alzheimer	34
Figura 5 -	Taxa de declínio da memória no envelhecimento normal, na Doença de Alzheimer e mediante intervenções	35
Figura 6 -	Mecanismo de ação dos inibidores da acetilcolinesterase	37
Figura 7 -	Mecanismo de ação da memantina	39
Figura 8 -	Delineamento experimental do estudo 1	55
Figura 9 -	Delineamento experimental do estudo 2	56
Figura 10 -	Delineamento experimental do estudo 3	57
Figura 11 -	Labirinto de Barnes	60
Figura 12 -	A infusão de β a promove déficits de MCD e MLD na tarefa de RO. EF e EC realizados durante 4 semanas evitaram esses déficits	68
Figura 13 -	A infusão intrahipocampal da proteína β a promove aumento dos níveis de EROs e peroxidação lipídica e diminuição da capacidade antioxidante total. O EF e o EC realizados durante 4 semanas previnem o aumento dos níveis de EROs e a peroxidação lipídica	71
Figura 14 -	A infusão de β a promove desorganização morfológica no tecido hipocampal e o EF e o EC evitam os danos causados pela β a	73
Figura 15 -	A infusão da proteína β a no hipocampo promove déficit de memória de RO. O exercício físico e cognitivo são capazes de	

	reverter o déficit de memória RO causado pela infusão de β no hipocampo	74
Figura 16 -	A infusão da proteína β no hipocampo promove déficit de memória de RS. O exercícios físico e o cognitivo foram capazes de reverter o déficit de memória de RS causado pela infusão de β no hipocampo	76
Figura 17 -	A infusão hipocampal da proteína β promove aumento das EROs e peroxidação lipídica, e diminui a capacidade antioxidante total e a atividade da acetilcolinesterase. O EF e o EC realizados durante 4 semanas revertem as alterações da peroxidação lipídica e da atividade da AchE	77
Figura 18 -	A infusão de β promoveu desorganização do tecido hipocampal. O EF e o EC melhoraram a morfologia do tecido nos animais infundidos com β	79
Figura 19 -	Uma sessão de exercício agudo realizada após o aprendizado é capaz de promover a persistência da memória em animais controle e a consolidação da memória em animais com déficits cognitivos causados pela neurotoxicidade da β	80
Figura 20 -	O exercício agudo aumenta os níveis hipocampais de dopamina em animais submetidos à neuroxicidade induzida pela proteína β	83
Figura 21 -	Representação esquemática sumarizando os efeitos do EF e do EC encontrados nos estudos 1 e 2	86
Figura 22 -	Representação esquemática do papel do exercício físico agudo na modulação da aprendizagem	90

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - O treinamento de EF e EC, os procedimentos cirúrgicos e a infusão de β a não alteraram a função locomotora e atividade exploratória no campo aberto (CA), e comportamento do tipo ansiedade avaliado por Labirinto em Cruz Elevado (LCE)	69
Tabela 2 - Diferentes procedimentos de treinamento e a cirurgia não alteraram as características locomotora e exploratória no campo aberto (CA) e o comportamento de ansiedade avaliado no Labirinto em Cruz Elevado (LCE)	76
Tabela 3 - A infusão de β a ou solução salina e o exercício agudo não alteram a atividade locomotora e exploratória, nem o comportamento de ansiedade	82

LISTA DE SIGLAS

ACh – Acetilcolina

AChE – Acetilcolinesterase

AMPA – Receptor AMPA (alfa-amino-3-hidroxi-metil-5-4-isoxazolpropiónico)

ApoE – Apolipoproteína E

APP – Proteína precursora amiloide (Amyloid precursor protein)

BACE I – Enzima I responsável pela clivagem da APP no local β (β -site APP cleaving enzyme I)

BDNF – Fator neurotrófico derivado do cérebro (do inglês, Brain-derived neurotrophic factor)

CA – Campo Aberto

CAT – catalase

CCL – Comprometimento Cognitivo Leve

CLAE – Cromatografia Líquida de Alto Desempenho

DA – Doença de Alzheimer

DCFH-DA – diclorodihidrofluoresceína diacetato (Dichloro-dihydro-fluorescein diacetate)

DOPA – Dopamina

EA – Exercício Agudo

EC – Exercício Cognitivo

EF – Exercício Físico

ERO – Espécies Reativas de Oxigênio

FRAP – potencial antioxidante redutor férrico (do inglês, ferric reducing antioxidant potential)

HE – Hematoxilina-Eosina

LB – Labirinto de Barnes

LC – Locus coeruleus

LCE – Labirinto em Cruz Elevado

LTD – Depressão de Longa Duração (do inglês, long term depression)

LTP – Potenciação de Longa Duração (do inglês, long term potentiation)

MCD – Memória de Curta Duração

MLD – Memória de Longa Duração

NE – Noradrenalina

NMDA – N-metil-d-aspartato

NMDAR – receptor NMDA (do inglês, N-methyl-d-aspartate receptor)

NTS - Núcleo do Trato Solitário

RO – Tarefa de Reconhecimento de Objetos

RS – Tarefa de Reconhecimento Social

SNC – Sistema Nervoso Central

TBARS – Substâncias Reativas ao Ácido Tiobasbitúrio (do inglês, Thiobarbituric acid reactive substances)

VTA – área tegmental ventral (do inglês, ventral tegmental area)

β a – β -amiloide

SUMÁRIO

I. Apresentação	17
II. Revisão da literatura	18
2.1 Envelhecimento e perdas cognitivas relacionadas à idade	18
2.2 A Doença de Alzheimer	20
2.2.1 A DA e a hipótese amiloide	22
2.2.2 DA e estresse oxidativo	25
2.3 Dopamina e noradrenalina	28
2.4 DA e memória	30
2.5 Tratamentos para DA	35
2.5.1 Intervenções não farmacológicas	40
2.5.1.1 Exercício físico regular	40
2.5.1.2 Exercício cognitivo	42
2.5.1.3 Exercício agudo	43
2.6 Modelos animais para o estudo da DA	45
III. Justificativa e objetivos.....	48
3.1 Justificativa	48
3.2 Objetivos	51
3.2.1 Objetivo geral	51
3.2.2 Objetivos específicos	52
IV. Material e métodos	54
4.1 Animais	54
4.2 Delineamento experimental	54
4.2.1 Estudo 1	54
4.2.2 Estudo 2	55
4.2.3 Estudo 3	56
4.3 Protocolos e procedimentos	57
4.3.1 Modelo experimental da DA	57
4.3.1.1 Preparação da proteína β a	58
4.3.1.2 Cirurgia estereotáxica	58
4.3.2 Protocolo do exercício físico regular (EF)	58
4.3.2.1 Familiarização à esteira rolante	58

4.3.2.2 Protocolo do bom corredor	59
4.3.2.3 Teste de consumo máximo de oxigênio indireto	59
4.3.2.4 Treinamento de exercício físico regular (EF)	59
4.3.3 Protocolo do exercício cognitivo (EC)	60
4.3.4 Protocolo de exercício físico agudo	61
4.3.5 Testes de avaliação da memória	61
4.3.5.1 Tarefa de Reconhecimento de Objetos (RO)	61
4.3.5.2 Tarefa de Reconhecimento Social (RS)	62
4.3.6 Testes de controle comportamental	62
4.3.7 Experimentos bioquímicos	63
4.3.7.1 Marcadores de estresse oxidativo	63
4.3.7.2 Atividade da acetilcolinesterase	64
4.3.7.3 Níveis de neurotransmissores	65
4.3.8 Análise histológica	65
4.3.9 Análise estatística	66
V. Resultados	67
5.1 Estudo 1	67
5.2 Estudo 2	73
5.3 Estudo 3	79
VI. Discussão	84
VII. Conclusão	92
VIII. Perspectivas futuras	93
IX. Referências Bibliográficas	94
Anexo 1	132
Anexo 2	133
Anexo 3	134
Anexo 4	135

I. Apresentação

A presente tese de doutorado é composta por três estudos. No Estudo 1, avaliamos os efeitos do exercício cognitivo e do exercício físico aeróbico regular na prevenção dos déficits cognitivos relacionados à Doença de Alzheimer utilizando um modelo animal de neurotoxicidade. No estudo 2, avaliamos os efeitos das mesmas intervenções (exercício cognitivo e exercício físico regular) no mesmo modelo, porém como estratégia de tratamento, realizada após a instalação da neurotoxicidade. Já no estudo 3, investigamos o efeito de uma única sessão de exercício físico aeróbico realizado após a aprendizagem de uma tarefa, na modulação da memória de animais com déficits cognitivos relacionados à Doença de Alzheimer.

Neste documento apresentamos inicialmente uma Revisão de Literatura, contextualizando o tema do trabalho e os principais achados na área. Na sequência, apresentamos a justificativa e os objetivos de cada estudo, seguidos pelos materiais e métodos utilizados. A seguir, a sessão de resultados é apresentada subdividida por estudos, para facilitar o entendimento. Por fim, uma discussão geral sobre os achados fecham o trabalho, juntamente com a conclusão.

O achados do primeiro estudo já estão publicados em um artigo na revista *Behavioral Brain Research* (Rossi Dare L, Garcia A, Alves N, Ventura Dias D, de Souza MA, Mello-Carpes PB. Physical and cognitive training are able to prevent recognition memory deficits related to amyloid beta neurotoxicity, *Behavioural Brain Research* (2019), <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2019.03.007>), que encontra-se como anexo deste documento (anexo 2).

Os resultados do segundo estudo estão submetidos à apreciação para fins de futura publicação na revista *Frontiers in Behavioral Neuroscience* (carta de submissão – anexo 3).

E os resultados do terceiro estudo estão publicados em um artigo na revista *Brain Research* (Rossi Daré, L., Garcia, A., Neves, B., Mello-Carpes, P.B. One physical exercise session promotes recognition learning in rats with cognitive deficits related to amyloid beta neurotoxicity, *Brain Research*, 2020, <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2020.146918> - anexo 4).

II. Revisão da literatura

2.1 Envelhecimento e perdas cognitivas relacionadas à idade

De acordo com o relatório sobre o envelhecimento da população mundial, o número de pessoas com 60 anos ou mais em todo o mundo está projetado para mais do que duplicar nos próximos 35 anos, atingindo o número de quase 2,1 bilhões de idosos (Nações Unidas, 2015). Esta mudança do perfil populacional requer também mudanças na forma como a saúde das pessoas é tratada, desde as políticas públicas preventivas, até o tratamento de patologias, já que muitas doenças estão relacionadas ao envelhecimento.

Com o passar dos anos, o organismo sofre uma série de alterações que envolvem danos genéticos (MOSKALEV; SHAPOSHNIKOV; PLYUSNINA; ZHAVORONKOV *et al.*, 2013), como erros de replicação do DNA, e o aumento de espécies reativas de oxigênio (ERO) (HOEIJMAKERS, 2009), além de alterações epigenéticas (TALENS; CHRISTENSEN; PUTTER; WILLEMSSEN *et al.*, 2012), perda de proteases (POWERS; MORIMOTO; DILLIN; KELLY *et al.*, 2009), disfunção mitocondrial (GREEN; GALLUZZI; KROEMER, 2011), senescência celular (KUILMAN; MICHALOGLOU; MOOI; PEEPER, 2010), alterações na comunicação intercelular, seja endócrina, neuroendócrina ou neuronal (RUSSELL; KAHN, 2007; ZHANG; LI; PURKAYASTHA; TANG *et al.*, 2013), entre outras.

Assim, o envelhecimento também envolve diversas alterações no Sistema Nervoso Central (SNC), incluindo estruturas que são fundamentais para os processos de aquisição, consolidação e evocação das memórias (BURKE; BARNES, 2006; DAMASCENO, 1999; RAZ; RODRIGUE; HAACKE, 2007). Em decorrência destas alterações estruturais e funcionais no cérebro, o processo de envelhecimento saudável é marcado pelo declínio de alguns processos cognitivos (RAZ; LINDENBERGER; RODRIGUE; KENNEDY *et al.*, 2005). Os aspectos fluídos da cognição, tais como as funções executivas, tendem a ser mais vulneráveis aos efeitos do envelhecimento primário, enquanto os aspectos como a memória semântica, tendem a ser mais estáveis durante a velhice (CRAIK; BIALYSTOK, 2006). Há evidências de que o declínio das funções executivas, (LIN; CHAN; ZHENG; YANG *et al.*, 2007; ROYALL; PALMER; CHIODO; POLK, 2004), da velocidade de processamento das informações (SALTHOUSE, 2000) e da memória episódica

(CRAIK; ROSE, 2012) sejam consequências naturais do processo de envelhecimento normal. Assim, é considerado um envelhecimento normal quando o processo neurodegenerativo fisiológico desencadeia um declínio da capacidade cognitiva (DCC) (LEVY, 1994) e da habilidade de formar novas memórias (CROOK; BARTUS; FERRIS; WHITEHOUSE *et al.*, 1986).

Funções cognitivas são habilidades do nosso cérebro que podem ser divididas em grandes grupos: memória, percepção, linguagem, funções executivas (raciocínio, planejamento, monitoramento), atenção e praxia (habilidade de realizar movimentos complexos). As funções executivas correspondem a um conjunto de processos cognitivos que, de forma integrada, permitem ao sujeito direcionar intencionalmente comportamentos a metas, escolher estratégias para realizá-las e avaliar a eficiência e a adequação de tais estratégias (LEZAK; HOWIESON; LORING; FISCHER, 2004).

No envelhecimento patológico as alterações cognitivas são mais pronunciadas e ocorrem de forma mais acelerada. O comprometimento cognitivo leve (CCL), por exemplo, envolve o declínio patológico de uma ou mais funções cognitivas, como a falta de atenção ou da capacidade de orientação, além da mais perceptível, a perda da memória. O limite entre o envelhecimento normal e o patológico é muito tênue, portanto, deve-se ficar atento para distinguir entre eles (MELLO-CARPES; VARGAS, 2017). Além disso, o CCL do tipo amnésico é considerado a zona de transição entre o envelhecimento normal e os estágios muito iniciais da Doença de Alzheimer (DA) (PETERSEN; DOODY; KURZ; MOHS *et al.*, 2001; PETERSEN; STEVENS; GANGULI; TANGALOS *et al.*, 2001). Essas alterações cognitivas acentuadas, resultam em comprometimento funcional, impactando a realização das atividades de vida diária (PAULA; MALLOY-DINIZ, 2013).

Uma alteração morfológica típica do envelhecimento é a atrofia cerebral, que ocorre lentamente, mas, enquanto no envelhecimento saudável apenas 0,2% a 0,41% do volume cerebral desaparece por ano, as taxas na DA podem ser dez vezes maiores do que isso, e em regiões especialmente vulneráveis as taxas de atrofia podem ser ainda mais devastadoramente altas; na formação do hipocampo por exemplo, pode superar 10% ao ano (FOX; FREEBOROUGH; ROSSOR, 1996).

Assim, o envelhecimento é um fator de risco robusto para demência, com mais de 90% das demências se apresentando após os 65 anos de idade, o que torna o risco de desenvolver estas condições patológicas aumentado (ELAHI; MILLER, 2017). O aumento da expectativa média de vida, consequência dos avanços na medicina,

expandirá também o número de idosos que sofrerão de doenças neurodegenerativas geriátricas, como as demências (BAKER; PETERSEN, 2018).

O termo demência foi definido pela Associação Americana de Psiquiatria, em 1968, como síndrome cerebral orgânica, uma condição mental básica que resulta no comprometimento difuso da função do tecido cerebral por qualquer causa, e se manifesta por meio de alterações comportamentais que incluem o comprometimento na orientação, memória, funções intelectuais, julgamento e afeto (WILSON; SPITZER, 1968). Clinicamente, a demência é caracterizada por um declínio na memória, linguagem, resolução de problemas e outras habilidades cognitivas que afetam a capacidade de uma pessoa de realizar atividades diárias, interferindo na autonomia do indivíduo (MILLER; SEELEY; MYCHACK; ROSEN *et al.*, 2001). Esse declínio ocorre porque as células nervosas em partes do cérebro envolvidas nas funções cognitivas comprometidas são danificadas ou destruídas, levando à perda de conexões sinápticas (BRUN; LIU; ERIKSON, 1995).

Existem vários tipos de demências, que incluem a doença de Alzheimer (DA), a demência frontotemporal, a demência vascular e a demência de Corpus de Lewy (DENING; SANDILYAN, 2015; PRINCE; COMAS-HERRERA; KNAPP; GUERCHET *et al.*, 2016). Dentre essas, a DA é o tipo mais comum (WILSON; MENDES DE LEON; BARNES; SCHNEIDER *et al.*, 2002). Na DA, os danos e a destruição dos neurônios acabam, gradativamente, afetando diferentes partes do cérebro, incluindo aquelas que permitem que uma pessoa desempenhe funções corporais básicas, como caminhar e engolir. Nos estágios finais da doença, os pacientes acabam acamados e precisam de cuidados 24 horas por dia; a DA é finalmente fatal (ALZHEIMER'S, 2016).

2.2 A Doença de Alzheimer

Em 1907, o médico psiquiatra e neurofisiologista Aloysius “Alöis” Alzheimer descreveu cuidadosamente os sintomas de uma mulher de 51 anos, Auguste Deter, que estava sob seus cuidados no Hospital Psiquiátrico em Frankfurt, na Alemanha (Alzheimer, 1907; para uma tradução em inglês, veja (ALZHEIMER; STELZMANN; SCHNITZLEIN; MURTAGH, 1995), p. 429):

“A memória dela está seriamente comprometida. Se lhe forem mostrados objetos, ela os nomeia corretamente, mas quase imediatamente depois esqueceu tudo. Ao ler um teste, ela pula de uma linha para outra ou lê soletrando as palavras

individualmente ou tornando-as sem sentido por meio de sua pronúncia. Por escrito, repete muitas sílabas separadas, omite outras e rapidamente se decompõe completamente. Ao falar, ela usa preenchimentos de lacunas e algumas expressões parafraseadas (“vazador de leite” ao invés de xícara); às vezes é óbvio que ela não pode continuar. Claramente, ela não entende certas perguntas. Ela não se lembra do uso de alguns objetos.”

Após a morte de Auguste Deter, Alzheimer usou a então nova técnica histológica de coloração com prata para examinar seu cérebro microscopicamente. Ele observou uma atrofia generalizada do córtex cerebral e descreveu células que se mostravam alteradas, formando emaranhados neurofibrilares (que hoje se sabe que são alterações da proteína Tau), placas senis (acúmulo da proteína beta amiloide - β a) e morte de neurônios. Logo em seguida, Emil Kraepelin, chefe de Alois, adiantou-se em batizar a doença de “Doença de Alzheimer” (DA) (BONDI; EDMONDS; SALMON, 2017).

A DA hoje é conceituada como uma doença neurodegenerativa progressiva crônica na qual há perda gradual da memória, com perda neuronal e desordem da estrutura e função do sistema nervoso. É caracterizada pela deposição de placas da proteína beta-amiloide (β a) no espaço extracelular, pela agregação intracelular da proteína tau na forma de filamentos, disfunção na liberação de neurotransmissores e estresse oxidativo extenso (PRATICO, 2008). O dano oxidativo devido às espécies reativas de oxigênio (EROs) tem sido implicado na patogênese de diversas doenças neurodegenerativas (CHEN; GUO; KONG, 2012). No caso da DA, o acúmulo da proteína β a, reconhecida como um fator chave na neurodegeneração em pacientes com DA, desencadeia o efeito prejudicial, estimulando a geração de EROs, induzindo ao estresse oxidativo no cérebro (BUTTERFIELD; LAUDERBACK, 2002; LIANG; XU; LIN; JIA *et al.*, 2018). As consequências desses processos patológicos incluem neurodegeneração, com perda sináptica e neuronal, levando à atrofia macroscópica (LANE; HILSABECK; REA, 2015).

A DA está presente em todas as populações ao redor do mundo, e não existe diferença na prevalência entre países industrializados e não-industrializados (LOPEZ; KULLER, 2019). Atualmente, estima-se que existem cerca de 4,7 milhões de pessoas com 65 anos ou mais afetadas pela DA em todo o mundo (HEBERT; WEUVE; SCHERR; EVANS, 2013). Isso inclui 0,7 milhões de pessoas entre 65 e 74 anos, 2,3 milhões entre 75 e 94 anos, e 1,8 milhões de 85 anos ou mais (ALZHEIMER'S, 2016).

Prevê-se que este número deve aumentar para 150 milhões em 2050 (GAUDREULT; MOUSSEAU, 2019).

Embora a grande maioria dos casos de DA ocorra de forma aparentemente esporádica, existe um subtipo familiar que corresponde a 0,5% dos casos e está relacionado a mutações em três genes: proteína precursora amiloide (APP), presenilina 1 (PSEN1) e presenilina 2 (PSEN2). Neste caso, os sintomas se desenvolvem mais cedo do que na DA esporádica, geralmente entre 30 e 50 anos de idade (BATEMAN; AISEN; DE STROOPER; FOX *et al.*, 2011).

A DA de início tardio 'típica', por sua vez, provavelmente está relacionada a uma interação complexa entre fatores genéticos e ambientais. Acredita-se que aproximadamente 70% do risco de DA é atribuível a fatores genéticos, principalmente relacionado ao gene Apolipoproteína E (ApoE). O gene ApoE possui variantes ($\epsilon 2$, $\epsilon 3$ e $\epsilon 4$), sendo que a expressão do alelo o $\epsilon 4$, o sexo feminino, o histórico de injúria cerebral prévia e a presença de doenças cardiovasculares, aumentam os riscos de desenvolver a patologia (VERGHESE; CASTELLANO; HOLTZMAN, 2011). Estudos de associação em todo o genoma, usando milhares de amostras, identificaram mais de 20 fatores de risco genéticos, implicando vias inflamatórias, metabolismo do colesterol e vias de reciclagem (KARCH; GOATE, 2015). Em particular, a ativação microglial em resposta à deposição da proteína βa é agora reconhecida por desempenhar um papel fundamental na patogênese da DA (LANE; HARDY; SCHOTT, 2018).

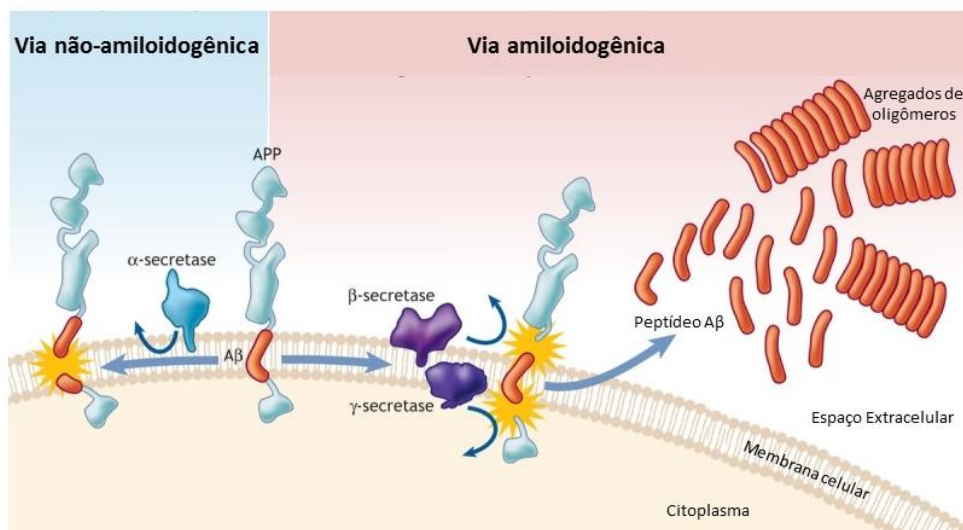
2.2.1 A DA e a hipótese amiloide

De acordo com a hipótese amiloide, formulada no início dos anos 90 (BEYREUTHER; MASTERS, 1991; HARDY; ALLSOP, 1991; HARDY; HIGGINS, 1992; SELKOE, 1991) e aceita até hoje como um modelo dominante para a patogênese da DA, o acúmulo da proteína βa no cérebro é a principal influência no desenvolvimento da DA (SELKOE; HARDY, 2016). Os demais processos, incluindo a formação de emaranhados neurofibrilares contendo a proteína tau, são resultantes e consequentes à produção e "clearance" da βa (HARDY; ALLSOP, 1991; HARDY; HIGGINS, 1992). A βa causa uma ativação de proteínas cinases ativadas por mitogênio p38 (MAPK p38, do inglês *mitogen-activated protein kinases* p38) na célula que leva à fosforilação anormal da Tau (GIRALDO; LLORET; FUCHSBERGER; VIÑA,

2014). Este último induz a acumulação como filamentos helicoidais emparelhados que se agregam dentro dos neurônios nos emaranhados neurofibrilares, tornando os microtúbulos instáveis e causando a perda da funcionalidade do neurônio (ALONSO; COHEN; CORBO; MOROZOVA *et al.*, 2018; KOPKE; TUNG; SHAIKH; ALONSO *et al.*, 1993).

O peptídeo β se forma a partir da proteína precursora amiloide (APP do inglês, *amyloid precursor protein*), uma glicoproteína (com um domínio N-terminal extracelular grande e um domínio C-terminal intracelular pequeno, em adição à região β) presente nas membranas neuronais; seu processamento por meio da ação de enzimas proteolíticas pode levar a liberação do peptídeo β , que corresponde ao seu domínio transmembrana (HARDY; HIGGINS, 1992) (Fig. 1). A função neuronal da APP permanece desconhecida, mas esta proteína está presente no nosso cérebro e parece estar envolvida na plasticidade sináptica (MASTERS; BATEMAN; BLENNOW; ROWE *et al.*, 2015).

Figura 1. Representação dos mecanismos normal e anormal, de clivagem da proteína precursora amiloide (APP). A APP é uma proteína transmembrana que pode sofrer uma série de clivagens proteolíticas pelas enzimas secretases. Quando a APP é clivada por uma enzima de atividade α -secretase, esta cliva a proteína no meio do domínio β -amiloide, impedindo a formação do peptídeo β -amiloide, sendo chamada então de via não amiloidogênica. No entanto, quando a APP é clivada pelas enzimas β e γ -secretase, são liberados peptídeos neurotóxicos de β -amiloide, que podem se acumular formando agregados de oligômeros. Esta via, portanto, é chamada de amiloidogênica.



FONTE: adaptada de (PATTERSON; FEIGHTNER; GARCIA; HSIUNG *et al.*, 2008).

A β é produzida por clivagem endoproteolítica da APP, que pode ser alvo de três tipos de enzimas proteolíticas: α , β , e γ -secretase, e assim pode seguir duas vias de processamento: a via amiloidogênica ou a não-amiloidogênica (LAFERLA;

GREEN; ODDO, 2007). No cérebro, o peptídeo β a é produzido predominantemente pelos neurônios, embora os astrócitos e outras células da glia também o produzam, especialmente sob condições de estresse que induzem ativação glial, como ocorre na DA (YAN; VASSAR, 2014).

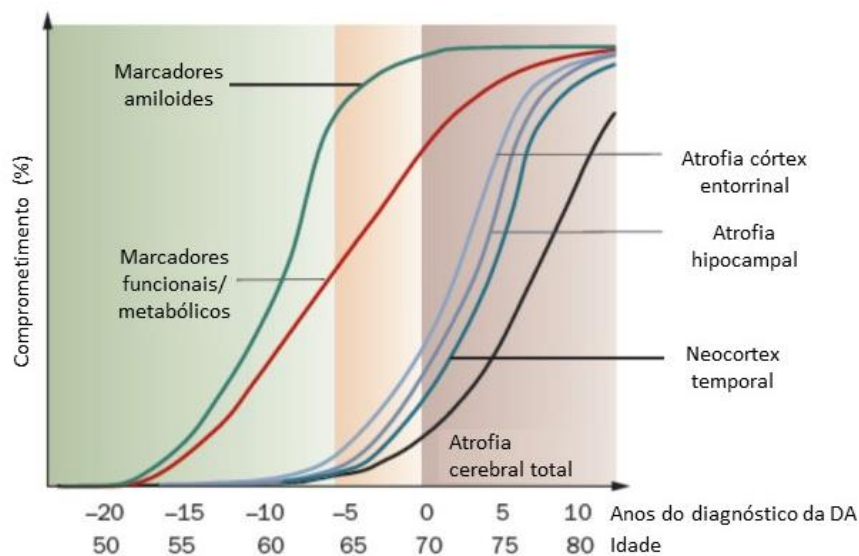
A via amiloidogênica inicia-se quando a APP se torna alvo de enzima de atividade β -secretase, representada pela BACE1 (enzima 1 responsável pela clivagem da APP no local β), que cliva a APP no seguimento N-terminal de seu domínio β a, liberando um fragmento solúvel no meio extracelular (Fig. 1) (ROSSNER; SASTRE; BOURNE; LICHTENTHALER, 2006). A parte da proteína que permanece ligada à membrana, é alvo de uma γ -secretase, um complexo de proteínas composto por: presnilina (PS) 1 ou 2, nicastrina, APH-1 (anterior pharynx-defective) e potenciador da presenilina 2 (PEN2), que cliva no segmento C-terminal, formando assim o peptídeo β a (CHOW; MATTSON; WONG; GLEICHMANN, 2010; LAFERLA; GREEN; ODDO, 2007).

Por outro lado, na via não-amiloidogênica, a APP é clivada por enzimas de atividade α -secretase, e neste caso, impossibilitando a formação de β a (KOJRO; FAHRENHOLZ, 2005). As α -secretases são metaloproteases, identificadas e pertencentes à família ADAM (do inglês, *a disintegrin and metalloproteinase*): ADAM9, ADAM10 e ADAM17 (BUXBAUM; LIU; LUO; SLACK *et al.*, 1998; KOIKE; TOMIOKA; SORIMACHI; SAIDO *et al.*, 1999; LAMMICH; KOJRO; POSTINA; GILBERT *et al.*, 1999). Ao contrário das β -secretases, as α -secretases clivam a APP dentro do domínio β a, na posição 83 aminoácidos do C-terminal, produzindo um ectodomínio N-terminal (sAPP α) solúvel, que é liberado no meio extracelular (Fig. 1) (KOJRO; FAHRENHOLZ, 2005). O fragmento resultante de 83 aminoácidos C-terminal (C83) é retido na membrana e subsequentemente é clivado pela γ -secretase, produzindo um pequeno fragmento denominado p3 (CHOW; MATTSON; WONG; GLEICHMANN, 2010; LAFERLA; GREEN; ODDO, 2007).

De acordo com a hipótese amiloide, a cascata iniciada pela deposição de β a leva ao aparecimento da patologia tau, disfunção sináptica, inflamação, perda neuronal e, por último, à demência (HARDY; HIGGINS, 1992). Assim, o início da DA começaria com aglomeração excessiva e anormal da proteína β , seguida pela hiperfosforilação da tau e outros eventos (SUDA; UEDA; SAKURAZAWA; NISHIYAMA *et al.*, 2009). Na figura 2 podemos observar o curso temporal das alterações estruturais na DA. É descrito que os marcadores amiloides aumentam nos estágios

iniciais da doença, mesmo décadas antes do diagnóstico de DA (FARZAN; MASHOHOR; RAMLI; MAHMUD, 2011). Além disso, a degeneração das estruturas anatômicas começa de forma tardia em relação aos marcadores amiloides, porém cerca de 10 anos antes do diagnóstico clínico da DA (FARZAN; MASHOHOR; RAMLI; MAHMUD, 2011). Isso é mais uma evidência de que o acúmulo da proteína β a pode desencadear o início da doença.

Figura 2. Progressão natural de marcadores cognitivos e biológicos da DA.



Fonte: Adaptado de Farzan et al. (2011).

2.2.2 DA e estresse oxidativo

A proteína β a e a proteína tau desempenham um papel crítico na DA; no entanto, outros mecanismos de neurodegeneração, incluindo as respostas pró-inflamatórias, a disfunção mitocondrial e o estresse oxidativo, influenciam diretamente no desenvolvimento da doença (MARKESBERY, 1997; WYSS-CORAY, 2006). Uma característica importante da DA é a presença de danos oxidativos nos lipídios e proteínas neuronais, o que vincula claramente o estresse oxidativo à DA (CHEIGNON; TOMAS; BONNEFONT-ROUSSELOT; FALLER *et al.*, 2018).

O estresse oxidativo é o resultado do desequilíbrio entre a geração de espécies reativas de oxigênio (EROs) e os sistemas de defesa antioxidante (SIES; CADENAS, 1985). EROs são subprodutos fisiológicos inevitáveis que agem no sistema biológico,

desempenhando funções cruciais, como moléculas de sinalização em situações cuidadosamente controladas (FERRER; SUREDA; MESTRE; TUR *et al.*, 2010). No entanto, também podem danificar o sistema biológico quando presentes em excesso, pois são capazes de oxidar todas as principais biomoléculas, incluindo ácidos nucleicos (DNA, RNA), proteínas e lipídios (WANG; WANG; LI; PERRY *et al.*, 2014).

O cérebro é constituído de um tecido altamente suscetível ao desequilíbrio oxidativo devido à sua alta demanda de energia, alto consumo de oxigênio, rica abundância de ácidos graxos poli-insaturados facilmente peroxidáveis e escassez relativa de antioxidantes e enzimas relacionadas (HULBERT; PAMPLONA; BUFFENSTEIN; BUTTEMER, 2007). Não é de admirar que o desequilíbrio oxidativo e o dano mediado pelo estresse oxidativo subsequente nas biomoléculas sejam extensivamente relatados na DA, e evidências crescentes sugeriram que o desequilíbrio oxidativo desempenha um papel crítico na doença (NUNOMURA; PERRY; ALIEV; HIRAI *et al.*, 2001).

Íons metálicos como zinco, ferro e cobre são encontrados em placas amiloides (LOVELL; ROBERTSON; TEESDALE; CAMPBELL *et al.*, 1998). Cobre e zinco são excretados na fenda sináptica de alguns neurônios e desempenham um papel importante na agregação amiloide (TIIMAN; PALUMAA; TOUGU, 2013), pois podem ligar β a e, assim, modular o processo de agregação. Além disso, agregados amiloides (baixo peso molecular) com íons metálicos redox-ativos aprisionados, como íons cobre, são considerados mais tóxicos, pois podem produzir EROs, prejudiciais para o próprio peptídeo β a e para as biomoléculas adjacentes (BAYIR, 2005). Diante destas observações, uma parte das pesquisas sobre a DA está interessada na caracterização dos danos oxidativos sofridos pelo próprio peptídeo β a e na maneira como os peptídeos oxidados coordenam os íons metálicos para produzir ainda mais EROs (CASSAGNES; HERVE; NEPVEU; HUREAU *et al.*, 2013; CHEIGNON; FALLER; TESTEMALE; HUREAU *et al.*, 2016), gerando um ciclo vicioso.

Além do aumento generalizado dos produtos da biomolécula oxidativa, há uma diminuição significativa dos níveis de antioxidantes e da atividade de enzimas antioxidantes (KIM; PAE; YOON; JANG *et al.*, 2006). Dois tipos de mecanismos de proteção atuam no cérebro para enfrentar a ameaça representada pelas EROs: o sistema de enzimas antioxidantes e os antioxidantes de baixo peso molecular (KOHEN; BEIT-YANNAI; BERRY; TIROSH, 1999). O sistema enzimático antioxidante inclui superóxido dismutase (SOD), glutathione redutase, glutathione peroxidase,

catalase (CAT), entre outros (GRIENGLING; SORESCU; LASSEGUE; USHIO-FUKAI, 2000). As enzimas SOD, por exemplo, facilitam a desmutação espontânea de EROs para gerar H_2O_2 , que é posteriormente removido pelas enzimas CAT e glutathiona peroxidase (SASO; FIRUZI, 2014). Os antioxidantes de baixo peso molecular incluem glutathiona, ácido úrico, ácido ascórbico e melatonina, que oferecem funções neutralizadoras ao causar quelação de metais de transição (CHANCE; SCHOENER; OSHINO; ITSHAK *et al.*, 1979). Na DA, ocorre uma diminuição significativa na atividade de enzimas antioxidantes, como superóxido dismutase, catalase e glutathiona peroxidase, em diferentes áreas do cérebro, incluindo córtex frontal e temporal (MARCUS; THOMAS; RODRIGUEZ; SIMBERKOFF *et al.*, 1998; VENKATESHAPPA; HARISH; MAHADEVAN; SRINIVAS BHARATH *et al.*, 2012). Assim, a produção aumentada de EROs ou o sistema antioxidante prejudicado levará o estado redox celular ao desequilíbrio oxidativo e causará superprodução de EROs (WANG; WANG; LI; PERRY *et al.*, 2014).

Um efeito do estresse oxidativo é a peroxidação lipídica, que se apresenta bastante aumentada na DA (PENA-BAUTISTA; VIGOR; GALANO; OGER *et al.*, 2018). Sabe-se que a inserção de β a nas membranas celulares gera EROs, como o peróxido de hidrogênio e leva à peroxidação de lipídios (HUANG; ATWOOD; HARTSHORN; MULTHAUP *et al.*, 1999). A peroxidação lipídica refere-se ao processo no qual os lipídios são atacados pelas EROs por meio de um mecanismo de reação em cadeia de radicais livres para gerar produtos de peroxidação lipídica (WANG; WANG; LI; PERRY *et al.*, 2014). De longe, os produtos de peroxidação lipídica mais extensamente estudados na DA são os aldeídos reativos, incluindo o malondialdeído (MDA) e 2-propenal (acroleína) (WANG; WANG; LI; PERRY *et al.*, 2014). Foi relatado aumento significativo de MDA no hipocampo (LOVELL; EHMANN; BUTLER; MARKESBERY, 1995), córtex temporal (PALMER; BURNS, 1994), e córtex occipital (DICIERO MIRANDA; DE BRUIN; VALE; VIANA, 2000) de pacientes com DA.

Os lipídios são responsáveis por manter a integridade das membranas celulares. A peroxidação extensa dos lipídios exerce efeito tóxico, pois altera a montagem, composição, estrutura e dinâmica das membranas lipídicas (GASCHLER; STOCKWELL, 2017). Como compostos altamente reativos, os peróxidos lipídicos também são capazes de propagar novas gerações de EROs ou degradar-se em compostos reativos capazes de danificar o DNA e as proteínas (GASCHLER; STOCKWELL, 2017).

2.3 Dopamina e noradrenalina

Além das alterações já citadas, na DA também ocorre diminuição dos níveis de neurotransmissores modulatórios, entre estes a dopamina e noradrenalina.

A transmissão de um sinal envolve um processo complexo de liberação e captação de neurotransmissores nas junções sinápticas, e a desregulação da liberação de neurotransmissores ou seus receptores levam à sinaptopatia associada à DA (PARIKH; BERNARD; NAUGHTON; YEGLA, 2014). Estudos demonstraram que placas amiloides e a proteína tau hiperfosforilada atuam como toxinas, e interromperam a plasticidade sináptica e a liberação de neurotransmissores nas sinapses, causando um declínio cognitivo na DA (GUERRERO-MUÑOZ; GERSON; CASTILLO-CARRANZA, 2015; JHA; JHA; KUMAR; SHARMA *et al.*, 2017; NAVAMESA; JIMÉNEZ-DÍAZ; YAJEYA; NAVARRO-LOPEZ, 2014).

O sistema noradrenérgico está envolvido no controle sobre vigília, atenção, processamento de informação sensorial, flexibilidade comportamental, plasticidade sináptica e memória (SARA, 2015). A principal fonte de noradrenalina, no SNC, é proveniente dos corpos celulares de neurônios localizados no núcleo do tronco encefálico conhecido como *locus coeruleus* (LC) (SARA, 2015).

A liberação de noradrenalina no SNC é controlada, principalmente, pela atividade do eixo hipotálamo-pituitária-adrenal (HPA). As informações (sobretudo aquelas de caráter emocional) são capazes de promover a estimulação do eixo HPA e liberação de adrenalina da medula da glândula adrenal para a corrente sanguínea. Embora a adrenalina seja incapaz de atravessar a barreira hematoencefálica, sua ação em receptores β -adrenérgicos presentes nas vias aferentes do nervo vago propicia a ativação do núcleo do trato solitário (NTS) (CAREAGA; TIBA; OTA; SUCHECKI, 2015; CHEN; WILLIAMS, 2012; DE DIEGO; GANDÍA; GARCÍA, 2008). O NTS envia projeções excitatórias para o LC, promovendo a liberação de noradrenalina em diversas regiões cerebrais, como o tálamo, a amígdala, o córtex pré-frontal medial e o hipocampo (LOUGHLIN; FOOTE; GRZANNA, 1986; SZABADI, 2013).

A ativação do sistema noradrenérgico no período imediatamente posterior à aquisição de memórias é necessária para que haja consolidação, além de atuar na plasticidade sináptica (HARLEY, 2004; IZQUIERDO, 1989; MCGAUGH, 2000). Além disso, mais recentemente a importância da noradrenalina para os processos de persistência da memória tem sido destacada (ESCHENKO; MELLO-CARPES;

HANSEN, 2017; MELLO-CARPES; DA SILVA DE VARGAS; GAYER; ROEHRS *et al.*, 2016)

A perda de neurônios do LC e menor liberação de noradrenalina em regiões corticais estão correlacionados com a gravidade e a duração da demência (BONDAREFF; MOUNTJOY; ROTH, 1982; GERMAN; MANAYE; WHITE; WOODWARD *et al.*, 1992). A desregulação do sistema de noradrenalina-LC tem sido associado aos déficits cognitivos relacionados à DA e outros sintomas neuropsiquiátricos, incluindo depressão, ansiedade, psicose e distúrbios do sono (JACOBS; RIPHAGEN; RAMAKERS; VERHEY, 2019; MANN, 1983; MATTHEWS; CHEN; ESIRI; KEENE *et al.*, 2002).

O sistema dopaminérgico, por sua vez, é responsável por regular a locomoção, a cognição, a emoção, o sistema de recompensa, e é um importante modulador da plasticidade sináptica (BJÖRKLUND; DUNNETT, 2007; GOLDMAN-RAKIC, 1998; JHA; JHA; KUMAR; SHARMA *et al.*, 2017). A fonte de inervação dopaminérgica encontra-se no mesencéfalo, com os corpos dos neurônios agrupados na substância nigra e na área tegmental ventral (VTA). Da substância nigra partem inervações para núcleo caudado e putamen, formando a via mesoestriatal, relacionada com a motricidade. Da VTA partem inervações para o núcleo accumbens, hipocampo, amígdala, córtex cingulado e córtex pré-frontal, formando a via mesocorticolímbica, relacionada a processos cognitivos e comportamento emocional (MOORE; BLOOM, 1979; ROBBINS; EVERITT, 2007; SOKOLOFF; DIAZ; LE FOLL; GUILLIN *et al.*, 2006).

A neurotransmissão dopaminérgica ocorre por meio de vários processos, incluindo síntese, liberação, captação, armazenamento, catabolismo, e ativação dos receptores de dopamina (JONES; MILLER, 2008). A enzima tirosina hidroxilase (TH), quando ativada, converte o aminoácido L-tirosina em L-DOPA, que é descarboxilado para formar a dopamina, que fica armazenada em vesículas até sua liberação (MISSALE; NASH; ROBINSON; JABER *et al.*, 1998).

Evidências experimentais investigam o envolvimento da dopamina na patogênese da DA (MARTORANA; KOCH, 2014). Estudos com animais transgênicos para DA mostraram que a patologia dopaminérgica e a deposição de amiloide estão intimamente relacionadas, sugerindo um papel causador da β a na disfunção da dopamina (PEREZ; LAZAROV; KOPRICH; CHEN *et al.*, 2005). A neurotransmissão dopaminérgica prejudicada, induzida pela proteína β a, resulta na conversão de potenciação de longa duração (LTP, do inglês *long term potentiation*) em depressão

de longa duração (LTD, do inglês, *long term depression*), que leva à perda da formação de memória (MORENO-CASTILLA; RODRIGUEZ-DURAN; GUZMAN-RAMOS; BARCENAS-FEMAT *et al.*, 2016). A disfunção dopaminérgica causa alteração na transmissão glutamatérgica e colinérgica, prejudica fisiologicamente o metabolismo celular, ativa várias vias enzimáticas, levando a apoptose e perda sináptica (MARTORANA; KOCH, 2014).

Estudos de imagem mostraram uma densidade significativamente reduzida do receptores dopaminérgicos, e uma diminuição da recaptção da dopamina em pacientes com DA (CHONG; HUSAIN, 2016). Além disso, a restauração dos níveis de dopamina desempenha um papel na memória e no aprendizado de um modelo de DA, fortalecendo o papel central da dopamina em tarefas cognitivas (AMBRÉE; RICHTER; SACHSER; LEWEJOHANN *et al.*, 2009; GUZMÁN-RAMOS; MORENO-CASTILLA; CASTRO-CRUZ; MCGAUGH *et al.*, 2012).

2.4 DA e memória

A DA é clinicamente detectável a partir da perda de memória apresentada pelo paciente (JAHN, 2013). O declínio da memória se manifesta inicialmente como uma perda de memória episódica, considerada uma subcategoria de memória declarativa. A disfunção na memória episódica impede a lembrança de eventos recentes, incluindo atividades autobiográficas (LAFERLA; GREEN; ODDO, 2007).

A memória pode ser definida como um processo de codificação, armazenamento e recuperação de informações sobre estímulos externos e internos, ou apresentação de informações no sistema nervoso de um organismo, que podem ser usadas para reagir e posicionar o organismo em relação a novos estímulos (IZQUIERDO, 1989).

O conjunto das memórias de cada um determina aquilo que se denomina personalidade ou forma de ser, e assim nos converte em indivíduos (IZQUIERDO, 2011). A memória faz de nós aquilo que somos e podemos vir a ser, pois cada lembrança recordada ou esquecida faz com que sejamos sujeitos únicos. Isto porque mesmo que duas pessoas vivenciem a mesma situação, a forma como esse momento será armazenado será distinta, levando a pontos de vista diferentes, que por sua vez, trarão recordações diferentes (IZQUIERDO, 2011). Portanto, nós somos aquilo que recordamos (BOBBIO, 1997). O passado, nossas memórias, nossos esquecimentos

voluntários, não só nos dizem quem somos, como também nos permitem projetar o futuro; isto é, nos dizem quem poderemos ser (IZQUIERDO, 2011).

A memória é considerada um sistema complexo e múltiplo, combinado por arranjos de codificações ou subsistemas que permitem o armazenamento e a recuperação de informações (BADDELEY; ANDERSON; EYSENCK, 2011). Ela pode ser dividida em três fases: aquisição (ou aprendizagem), consolidação e evocação (IZQUIERDO, 1989). A aquisição refere-se ao momento em que a informação está sendo adquirida (IZQUIERDO, 1989; MCGAUGH, 2000; SQUIRE, 2004). A consolidação é a fase em que há o desencadeamento de processos neurobiológicos complexos que são necessários para que a informação seja armazenada e requer um tempo maior para acontecer (CAHILL; MCGAUGH, 1998; IZQUIERDO, 1989; SQUIRE, 2004). A evocação é momento no qual a informação é recordada, isto é, corresponde ao momento em que relembramos de algo que foi previamente aprendido (IZQUIERDO, 1989; SQUIRE, 2004).

A memória pode ser classificada em diferentes tipos, de acordo com a sua função, conteúdo ou com o tempo de duração (IZQUIERDO, 2011). Há basicamente dois tipos de memória de acordo com sua função: a memória propriamente dita (que pode ser classificada de acordo com o conteúdo e duração, e passa pelas fases de aquisição, consolidação e evocação); e a memória de trabalho, muito breve e fugaz, serve para “gerenciar a realidade” e determinar o contexto em que os diversos fatos, acontecimentos ou outro tipo de informação ocorrem (BISAZ; TRAVAGLIA; ALBERINI, 2014); serve para manter durante alguns segundos, no máximo poucos minutos, a informação que está sendo processada no momento. Um exemplo clássico desse tipo de memória é quando perguntamos para alguém o número de um telefone: conservamos esse número o tempo suficiente para discá-lo e, uma vez feita a comunicação correspondente, o esquecemos. A memória de trabalho não é acompanhada por alterações bioquímicas importantes (IZQUIERDO, 2011).

De acordo com seu conteúdo, as memórias propriamente ditas se dividem em declarativas e procedurais (SQUIRE; DEDE, 2015). As declarativas referem-se as memórias que registram fatos, eventos ou conhecimento, e podem ser subdivididas em episódicas (ou autobiográficas), quando se referem a eventos aos quais assistimos ou dos quais participamos, como lembranças de nossa formatura ou de um filme; e semânticas, quando se referem as memórias de conhecimentos gerais, como

os conhecimentos de português, medicina e psicologia, ou do perfume das rosas, são memórias semânticas ou de índole geral (GREENBERG; VERFAELLIE, 2010). As memórias procedurais ou memórias de procedimentos, são aquelas de capacidades ou habilidades motoras e sensoriais e o que comumente chamamos de “hábitos” (IZQUIERDO, 2011). Exemplos típicos são as memórias de como andar de bicicleta, nadar, saltar, soletrar, etc. É difícil “declarar” que possuímos tais memórias; para demonstrar que as temos, devemos de fato andar de bicicleta, nadar, saltar ou soletrar (IZQUIERDO, 2011).

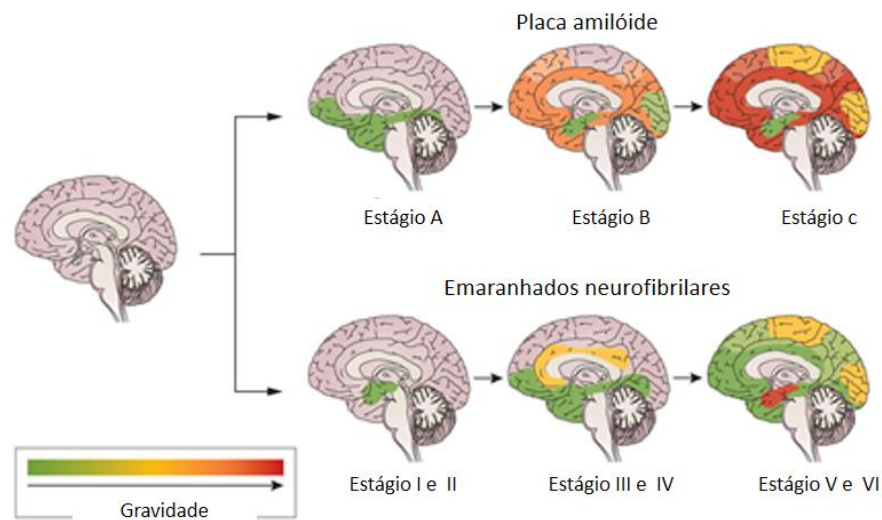
De acordo com o tempo de duração as memórias podem ser classificadas em memória de curta e longa duração e memória remota (IZQUIERDO, 2011). A memória de curta duração (MCD) e a de longa duração (MLD) envolvem processos paralelos e até certo ponto independentes (IZQUIERDO; MEDINA; VIANNA; IZQUIERDO *et al.*, 1999). A MCD requer as mesmas estruturas nervosas que a de longa duração, mas envolve mecanismos próprios e distintos (IZQUIERDO, 1989).

A MCD dura entre 1 e 6 horas, e é responsável por manter a informação disponível enquanto a MLD está sendo formada (UNSWORTH; ENGLE, 2007). A MLD leva tempo para ser consolidada, e nas primeiras horas após sua aquisição, é lábil e suscetível à interferência por numerosos fatores (KANDEL; DUDAI; MAYFORD, 2014). Estes dois tipos de memória passam pela consolidação em células especializadas do hipocampo e de áreas corticais com as quais ele se conecta (IZQUIERDO, 2018). A MLD causa mudanças permanentes, pois necessita de mudanças na expressão gênica ou síntese proteica, diferentemente do que acontece na formação da MCD, onde essas alterações não são necessárias (IZQUIERDO; MCGAUGH, 2000; IZQUIERDO; MEDINA, 1997). A MLD pode durar horas, dias ou até mesmo meses. As memórias de longa duração que permanecem por longos meses ou anos são chamadas de memórias remotas (IZQUIERDO, 2011).

A DA é caracterizada por uma deterioração progressiva das funções cognitivas que pode estar ligada a uma redução significativa do volume do cérebro em pacientes com DA em comparação com pacientes saudáveis (MATTSON, 2004). As alterações neuropatológicas da DA iniciam-se no córtex entorrinal e na formação hipocampal, espalhando-se posteriormente para outros córtex de associação temporal, parietal e finalmente frontal (Fig. 3) (BRAAK; BRAAK, 1991; 1996; HYMAN; VAN HOESEN; DAMASIO; BARNES, 1984; MASTERS; BATEMAN; BLENNOW; ROWE *et al.*, 2015). A atrofia resulta da degeneração das sinapses e da morte dos neurônios, em particular

no hipocampo, região do cérebro que desempenha um papel fundamental na consolidação da memória e na orientação espacial (ERTEN-LYONS; DODGE; WOLTJER; SILBERT *et al.*, 2013; ZAROW; VINTERS; ELLIS; WEINER *et al.*, 2005).

Figura 3. A evolução da deposição de placas amiloides e emaranhados neurofibrilares nas diferentes áreas do cérebro. Em casos típicos da Doença de Alzheimer, a deposição de β precede alterações neurofibrilares e neuríticas com uma origem aparente no hipocampo e córtex entorrinal (estágios A), que posteriormente avança para córtex parietal, temporal e finalmente frontal (estágios B e C). Os emaranhados neurofibrilares e a degeneração neurítica iniciam-se nos lobos temporais mediais e no hipocampo e se espalham progressivamente para outras áreas do córtex (estágios I-VI).



FONTE: adaptado de Masters et al. (2015).

Alguns estudos mais recentes sugerem que a DA começa com alterações ainda mais baixas, em regiões do tronco encefálico como o *Locus coeruleus* (LC) e área tegmental ventral (VTA, do inglês *Ventral Tegmentar Area*), mas os sintomas clínicos só começam quando já há uma perda hipocampal significativa (KELLY; HE; PEREZ; GINSBERG *et al.*, 2017; NOBILI; LATAGLIATA; VISCOMI; CAVALLUCCI *et al.*, 2017; ROSS; REYES; VAN BOCKSTAELE, 2019).

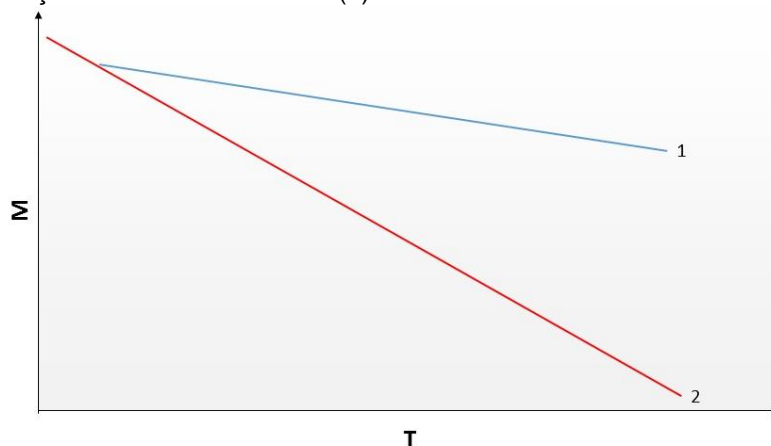
O hipocampo recebe entradas corticais e subcorticais, sendo estas últimas principalmente da VTA e do LC, que modulam a atividade hipocampal (GASBARRI; PACKARD; CAMPANA; PACITTI, 1994; TRILLO; DAS; HSIEH; MEDINA *et al.*, 2013). O LC é um aglomerado de neurônios noradrenérgicos localizados na base do quarto ventrículo que é reconhecido como o único provedor de noradrenalina ao córtex frontal e hipocampo (ROSS; REYES; VAN BOCKSTAELE, 2019). As reduções no número de neurônios do LC também estão associadas ao aumento das placas amiloides corticais (BONDAREFF; MOUNTJOY; ROTH; ROSSOR *et al.*, 1987). Da VTA derivam neurônios dopaminérgicos que oferecem a principal fonte de dopamina no hipocampo

(RUSSO; NESTLER, 2013). Consistente com essas observações, várias alterações no sistema dopaminérgico foram relatadas em pacientes com DA, incluindo níveis reduzidos de dopamina e seus receptores (GIBB; MOUNTJOY; MANN; LEES, 1989).

O hipocampo é essencial para a aquisição e consolidação da memória de curto e de longo prazo (IZQUIERDO, 1989). A lesão bilateral desta estrutura não causa a perda de memórias preexistentes (o qual, obviamente, indica que as memórias de longo prazo não se armazenam nela), mas impede a aquisição de novas memórias (MARKOWITSCH; PRITZEL, 1985; SCHUTZ; IZQUIERDO, 1979). Assim, a atrofia do hipocampo na DA, compromete a formação da memória nesses pacientes.

Os pacientes com DA geralmente apresentam um perfil cognitivo com comprometimento em vários aspectos da cognição (KIROVA; BAYS; LAGALWAR, 2015; WELLER; BUDSON, 2018). Esse perfil cognitivo se desenvolve com o tempo e os pacientes com DA geralmente começam a mostrar uma deterioração progressiva da memória de trabalho (BELLEVILLE; CHERTKOW; GAUTHIER, 2007; SUMMERS; SAUNDERS, 2012). Ainda, os pacientes com DA exibem maior sensibilidade à distração nas tarefas de memória (JAHN, 2013). No contexto clínico, o uso de testes neuropsicológicos investiga diferentes aspectos de memória e uma ampla gama de vários domínios cognitivos (MORRIS, 1997; MORRIS; MOHS; ROGERS; FILLENBAUM *et al.*, 1988). No envelhecimento normal, observa-se uma diminuição lenta da memória; já na DA o declínio cognitivo acontece mais rápido e inicia mais precocemente (Fig. 4) (WELLER; BUDSON, 2018).

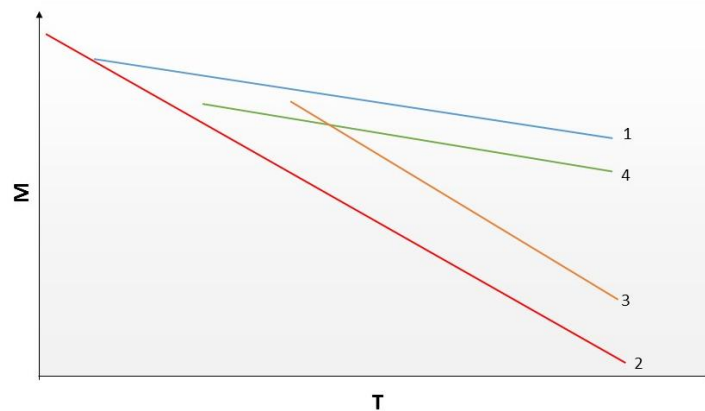
Figura 4. Taxa de declínio da memória no envelhecimento normal e na Doença de Alzheimer. Taxa de declínio da memória (M) ao longo do tempo (T, meses a anos). A memória diminui lentamente no envelhecimento normal (1). A doença de Alzheimer é marcada por um declínio cognitivo mais rápido, geralmente começando mais cedo na vida (2).



FONTE: Adaptado de (WELLER; BUDSON, 2018).

Justamente buscando reverter esses danos, os medicamentos usados atualmente para tratar a DA funcionam em parte aumentando a atenção e a concentração, o que favorece a aquisição da memória, como é o caso dos inibidores da acetilcolinesterase, como o donepezil, ou antagonistas dos canais de cálcio dependentes de voltagem, como a memantina (PEPEU; GIOVANNINI; BRACCO, 2013). Com o uso das terapias disponíveis atualmente, a função cognitiva melhora, mas a velocidade do declínio cognitivo não é alterada (WELLER; BUDSON, 2018) (Fig. 5). A pesquisa clínica tem avançado em direção a um tratamento mais definitivo da patologia característica da DA, com a expectativa de que terapias atenuem o declínio cognitivo progressivo associado a essa doença (Fig. 5) (WELLER; BUDSON, 2018).

Figura 5. Taxa de declínio da memória no envelhecimento normal, na Doença de Alzheimer e mediante intervenções. Taxa de declínio da memória (M) ao longo do tempo (t, meses a anos). A memória diminui lentamente no envelhecimento normal (1). A doença de Alzheimer é marcada por um declínio cognitivo mais rápido, geralmente começando mais cedo na vida (2). As terapias atuais diminuem a perda da cognição sem alterar a taxa de declínio na DA (3). O efeito esperado de novas terapias é a melhora da cognição associada à redução da taxa de declínio (4).



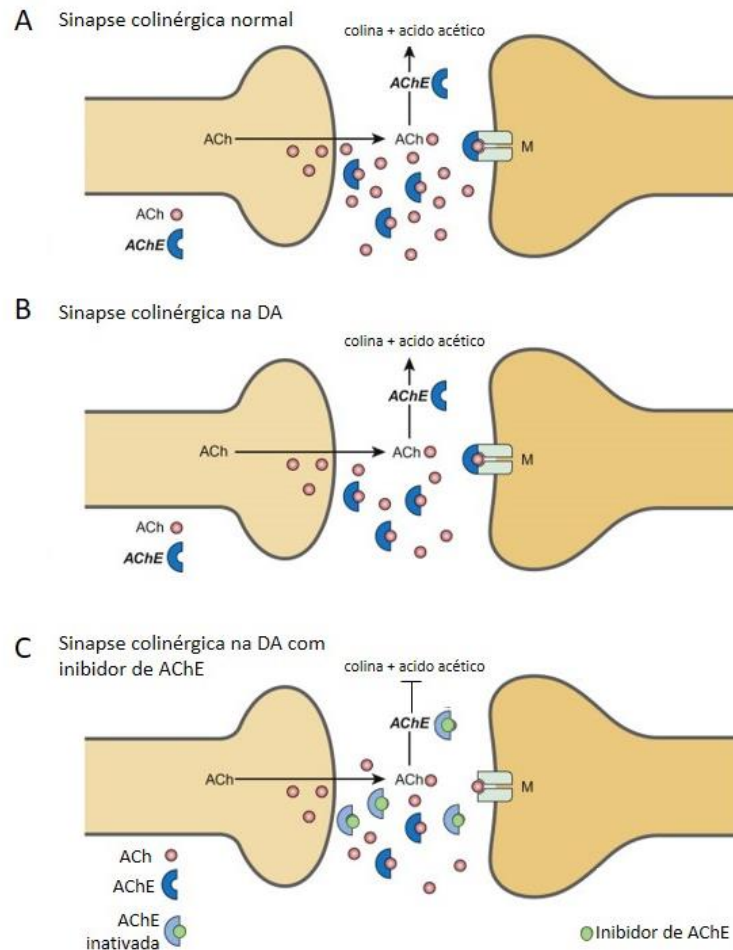
FONTE: Adaptado de (WELLER; BUDSON, 2018).

2.5 Tratamentos para DA

Pacientes com DA apresentam deficiência de múltiplos neurotransmissores. A acetilcolina (ACh), por exemplo, o neurotransmissor do sistema colinérgico que está envolvido em processos fisiológicos críticos, como atenção, aprendizado, memória, resposta ao estresse, vigília e sono e informações sensoriais (FERREIRA-VIEIRA; GUIMARAES; SILVA; RIBEIRO, 2016), apresenta evidente diminuição no córtex cerebral de pacientes com DA (BARTUS; DEAN; BEER; LIPPA, 1982).

De acordo com a hipótese colinérgica (BARTUS; DEAN; BEER; LIPPA, 1982), a principal causa da DA é a redução na síntese de ACh. Foi demonstrado que as sinapses colinérgicas são particularmente afetadas pela neurotoxicidade precoce dos oligômeros β a (BELL; DUCATENZEILER; RIBEIRO-DA-SILVA; DUFF *et al.*, 2006). Mais recentemente, tem sido argumentado que a disfunção da acetilcolina não é uma causa patológica primária para a DA, mas uma consequência da doença (TABET, 2006). No entanto, atualmente uma das estratégias terapêuticas potenciais e mais utilizadas no tratamento da DA é aumentar os níveis de ACh no cérebro, através da inibição da atividade biológica da enzima acetilcolinesterase (AChE). Portanto, os inibidores da AChE são usados para limitar a degradação da ACh, sendo capazes de aumentar a função das células neurais ao aumentarem a quantidade de ACh disponível na fenda sináptica (SHARMA, 2019; TABET, 2006) (Figura 6).

Figura 6. Mecanismo de ação dos inibidores da acetilcolinesterase. A) Sinapse colinérgica normal com receptor muscarínico (M). Observe o grande número de moléculas de acetilcolina (ACh). A acetilcolinesterase (AChE) decompõe a acetilcolina em colina e ácido acético, finalizando a comunicação sináptica. B) Sinapse colinérgica na Doença de Alzheimer (DA). Como os neurônios que produzem acetilcolina estão sendo danificados e destruídos pela neurodegeneração causada pela DA, há muito menos moléculas de acetilcolina disponíveis. C) Os inibidores da colinesterase inibem reversivelmente a enzima acetilcolinesterase; como esta não consegue desempenhar sua função, mais moléculas de acetilcolina ficam disponíveis na sinapse, favorecendo a transmissão colinérgica que estava prejudicada pela DA.



FONTE: Adaptado de (BUDSON; SOLOMON, 2015).

O papel crítico da disfunção colinérgica no início da DA está claramente documentado pelo fato de que a inibição farmacológica da acetilcolinesterase ainda é um dos únicos tratamentos disponíveis para uma terapia sintomática durante os estágios iniciais da doença (ARENDRT; BRUCKNER; MORAWSKI; JAGER *et al.*, 2015). Os inibidores da acetilcolinesterase (como donepezil, rivastigmina e galantamina) são recomendados para pacientes com demência leve, moderada ou grave da DA (HOWARD; MCSHANE; LINDESAY; RITCHIE *et al.*, 2012).

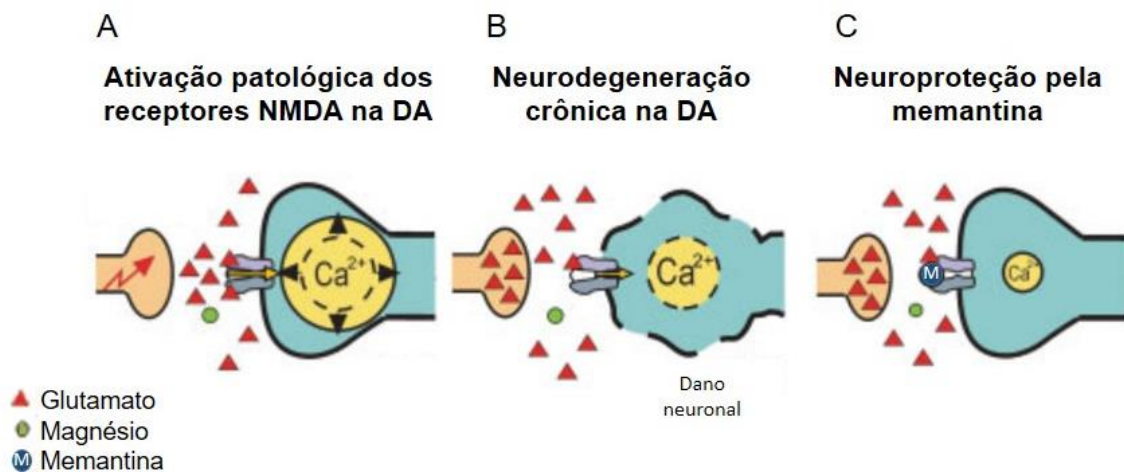
Outra terapia farmacológica disponível é a memantina, que atua nos receptores glutamatérgicos conhecidos como NMDA (N-metil-D-aspartato) (DANYSZ; PARSONS; MOBIUS; STOFFLER *et al.*, 2000). O glutamato é um dos principais neurotransmissores excitatórios produzidos no cérebro dos mamíferos, particularmente em regiões como o córtex temporal e o hipocampo, sendo importante na memória, aprendizado, cognição e comportamento motor (DANBOLT, 2001; FORLENZA, 2005). Sob condições fisiológicas normais, o glutamato desempenha um papel na formação de dendritos e sinapses, mas também pode agir como uma excitotoxina, causando a morte neuronal quando níveis elevados desse neurotransmissor são liberados por períodos prolongados (CONWAY, 2020; FORLENZA, 2005). Isto ocorre porque a entrada de Ca^{2+} intracelular por meio dos receptores NMDA (ou NMDAR, do inglês, *N-methyl-d-aspartate receptor*), mediada pelo glutamato, é fundamental para determinar o destino do neurônio - uma sinalização insuficiente leva à falha na sobrevivência celular, enquanto muita sinalização causa excitotoxicidade e neurodegeneração (WANG; REDDY, 2017). Assim, o nível de sinalização de NMDAR deve ser mantido em um nível adequado, de modo que seja suficiente para promover a sobrevivência neuronal, mas não prejudicial para causar a neurodegeneração (WANG; REDDY, 2017).

Os principais fatores que afetam a sinalização NMDAR na DA incluem a disponibilidade de glutamato e a modulação das funções do NMDAR (WANG; REDDY, 2017). Em geral, peptídeos β a causam correntes sinápticas elevadas mediadas por NMDAR que levam à toxicidade, mas que podem ser atenuadas ou bloqueadas por antagonistas de NMDAR (WANG; REDDY, 2017) como a memantina (KAMENETZ; TOMITA; HSIEH; SEABROOK *et al.*, 2003; TEXIDO; MARTIN-SATUE; ALBERDI; SOLSONA *et al.*, 2011).

A memantina tem atividade antagonista não-competitiva de receptores NMDA, permitindo sua ativação fisiológica durante os processos de formação da memória, porém bloqueando a abertura dos canais e sua ativação patológica (PARSONS; GRUNER; ROZENTAL; MILLAR *et al.*, 1993) (Figura 7). Essa propriedade deve-se aos efeitos rápidos, voltagem-dependentes, das interações da memantina com os receptores NMDA (LIMAPICHAT; YU; BRANIGAN; LESTER *et al.*, 2013). Em condições fisiológicas, a memantina exerce ação semelhante aos íons magnésio; a memantina bloqueia os receptores NMDA no estado de repouso e, assim como o magnésio, é deslocada de seu sítio de ligação em condições de ativação fisiológica;

em contrapartida, não se desprende do receptor na vigência de ativação patológica (Figura 7) (DANYSZ; PARSONS; MOBIUS; STOFFLER *et al.*, 2000). Essas propriedades conferem à memantina uma ação neuroprotetora contra a ativação excitotóxica de receptores de glutamato (MISZTAL; FRANKIEWICZ; PARSONS; DANYSZ, 1996). A memantina é aprovada para uso em pacientes com DA moderada a grave e que demonstram dificuldade de atenção (GROSSBERG; MANES; ALLEGRI; GUTIERREZ-ROBLEDO *et al.*, 2013).

Figura 7. Mecanismo de ação da memantina. Na Doença de Alzheimer as concentrações aumentadas de glutamato na fenda sináptica (A) levam à excitotoxicidade e podem danificar os neurônios levando-os à neurodegeneração (B). A memantina apresenta afinidade moderada aos receptores NMDA e pode substituir o magnésio endógeno, levando a uma diminuição do ruído de fundo e à restauração da plasticidade sináptica (C). Tal ação é acompanhada por um efeito neuroprotetor.



FONTE: Adaptado de (DANYSZ; PARSONS; MOBIUS; STOFFLER *et al.*, 2000).

Estes medicamentos previamente descritos, quando prescritos no momento apropriado durante o curso da doença, contribuem para melhorar a qualidade de vida do paciente e do cuidador; no entanto, eles não alteram o curso da doença ou a taxa de declínio cognitivo (MOSSELLO; BALLINI, 2012).

Assim, uma melhor compreensão de como as alterações patológicas na DA afetam a organização das redes neurais, ou de como essas redes podem responder ou se adaptar à patologia acumulada, pode oferecer mais informação sobre o escopo potencial da resiliência funcional (PIETZUCH; KING; WARD; VICKERS, 2019). O termo resiliência é descrito como a capacidade de um tecido ser resistente a danos (COSCO; HOWSE; BRAYNE, 2017). A esse respeito, fatores como a educação e estilo de vida podem aumentar a resiliência por meio da promoção de conexões

aumentadas e/ou preservar as conexões funcionais no cérebro e, em última análise, atrasar a expressão clínica dos déficits relacionados à patologia da DA (PIETZUCH; KING; WARD; VICKERS, 2019).

De fato, estudos que investigaram a associação entre a educação e o declínio cognitivo na DA mostraram que indivíduos mais instruídos são capazes de tolerar mais a neuropatologia antes da expressão dos sintomas clínicos (BENNETT; WILSON; SCHNEIDER; EVANS *et al.*, 2003), potencialmente porque a educação modera a relação entre patologias cerebrais e comprometimentos cognitivos (BRAYNE; INCE; KEAGE; MCKEITH *et al.*, 2010), bem como conexões funcionais (MARQUES; SOARES; MAGALHAES; SANTOS *et al.*, 2015).

2.5.1 Intervenções não farmacológicas

Além do uso de medicamentos que possam inibir a progressão da doença, intervenções sem o uso de fármacos, como a estimulação física, cognitiva e social, são alternativas para auxiliar no tratamento da DA e ajudar na qualidade de vida dos pacientes.

Dados clínicos e epidemiológicos evidenciam que a educação, a ocupação e o estilo de vida ativo, envolvendo componentes sociais, físicos e mentais, podem melhorar a função cognitiva e apresentam efeitos protetores da perda da memória e desenvolvimento da DA (SVENSSON; LEXELL; DEIERBORG, 2015). Evidências epidemiológicas também sugerem que o exercício físico e a alta escolaridade (que se relaciona com a estimulação da função cognitiva) podem proteger contra a DA, enquanto a hipertensão e o diabetes na meia-idade influenciam adversamente o risco (XU; TAN; WANG; JIANG *et al.*, 2015).

2.5.1.1 Exercício físico regular

O exercício aeróbico regular, conhecido por prevenir condições metabólicas, como diabetes mellitus e doença arterial coronariana (KNOWLER; BARRETT-CONNOR; FOWLER; HAMMAN *et al.*, 2002; TAYLOR; BROWN; EBRAHIM; JOLLIFFE *et al.*, 2004; VANHEES; RAUCH; PIEPOLI; VAN BUUREN *et al.*, 2012; ZANUSO; SACCHETTI; SUNDBERG; ORLANDO *et al.*, 2017), tem se mostrado eficaz na preservação da função cognitiva em pacientes com DA (BERNARDO;

MARQUES-ALEIXO; BELEZA; OLIVEIRA *et al.*, 2016; KIRK-SANCHEZ; MCGOUGH, 2014; ZHANG; TANG; CHAO; ZHOU *et al.*, 2020). A prática de exercício físico não apenas evita a perda de força e agilidade dos pacientes, como também reduz os sintomas neuropsiquiátricos e o aumento dos requisitos de cuidados associados a esses problemas (STELLA; CANONICI; GOBBI; GALDUROZ *et al.*, 2011).

Estudos recentes utilizando modelos animais da DA revelaram que o exercício aeróbico (corrida em esteira) reduz os níveis cerebrais da proteína beta-amiloide (KOO; KANG; OH; YANG *et al.*, 2017), além de melhorar a aprendizagem e a memória espacial (DAO; ZAGAAR; LEVINE; SALIM *et al.*, 2013). Além disso, o exercício físico aumenta a expressão de BDNF no hipocampo (VAYNMAN; YING; GOMEZ-PINILLA, 2004), aumenta o fluxo sanguíneo cerebral (BURDETTE; LAURIENTI; ESPELAND; MORGAN *et al.*, 2010), induz a angiogênese (KLEIN; HOPPE; SACCOMORI; DOS SANTOS *et al.*, 2019) e a neurogênese (SUN; QI; GAO, 2018), prevenindo o dano cognitivo (GARCIA-MESA; LOPEZ-RAMOS; GIMENEZ-LLORT; REVILLA *et al.*, 2011; ZHANG; LI; HUO; CHENG *et al.*, 2018), retardando o envelhecimento, e o declínio das funções cognitivas (GARCIA-MESA; COLIE; CORPAS; CRISTOFOL *et al.*, 2016; PHILLIPS; BAKTIR; DAS; LIN *et al.*, 2015).

O exercício pode, ainda, induzir a plasticidade hipocampal (KNAEPEN; GOEKINT; HEYMAN; MEEUSEN, 2010). Em nível celular, evidências mostram que o exercício físico forçado (esteira) e não forçado (roda de atividade) aumenta a proliferação celular e ramificação dendrítica (EADIE; REDILA; CHRISTIE, 2005; STRANAHAN; KHALIL; GOULD, 2007; VAN PRAAG; SHUBERT; ZHAO; GAGE, 2005). O exercício físico regular também reduz o estresse oxidativo, um fator importante na DA, por promover o aumento das enzimas antioxidantes e diminuir a peroxidação lipídica, protegendo contra os efeitos colaterais dos danos oxidativos (HALLIWELL, 1991; RAMESH; KIM; SUNG; HWANG *et al.*, 2012). Foi relatado que o exercício moderado em esteira atenua o estado oxidativo do hipocampo e melhora o comprometimento cognitivo em ratos idosos (YU; XU; SONG; JI *et al.*, 2013).

Embora ainda sejam necessários estudos maiores e mais controlados para examinar os efeitos a longo prazo da atividade física em pacientes com DA, os benefícios sistêmicos inerentes e a presença mínima de riscos à saúde devem levar todos os profissionais de saúde a recomendar exercícios regulares para seus pacientes, independentemente da função cognitiva (WELLER; BUDSON, 2018). Já foi observada menor atrofia no cérebro de pacientes com fatores de risco genéticos para

DA que se exercitaram regularmente em comparação com aqueles que não o fizeram, sugerindo que a atividade aeróbica impede a neurodegeneração (SMITH; NIELSON; WOODARD; SEIDENBERG *et al.*, 2014).

2.5.1.2 Exercício cognitivo

Existem crescentes evidências acerca do papel dos fatores ambientais e de estilo de vida como moderadores das diferenças no envelhecimento cognitivo e como agentes protetores para o desenvolvimento da DA (KRAMER; BHERER; COLCOMBE; DONG *et al.*, 2004). Esses fatores incluem a educação, participação em atividades profissionais e de lazer, expertise e experiências (EPPERLY; DUNAY; BOICE, 2017). Dado o envolvimento de tais fatores no resultado do envelhecimento, é razoável supor que o treinamento cognitivo possa desempenhar um papel crítico na promoção da vitalidade cognitiva no envelhecimento normal e na DA (BELLEVILLE, 2008).

Um estudo prospectivo de coorte demonstrou que a participação em atividades de estimulação mental está associada a uma menor incidência de DA (WILSON; MENDES DE LEON; BARNES; SCHNEIDER *et al.*, 2002). Até mesmo a estimulação mental tardia exibe uma relação inversa com o risco de demência, de forma dose dependente (VALENZUELA; SACHDEV, 2006). Assim, é possível que o exercício cognitivo, através de atividades mentais desafiadoras, possa oferecer proteção contra o declínio cognitivo, e, portanto, mitigar o risco de demência (GATES; SACHDEV; FIATARONE SINGH; VALENZUELA, 2011).

O exercício cognitivo fornece a prática estruturada de atividades mentais complexas, a fim de aprimorar a função cognitiva (MARTIN; CLARE; ALTGASSEN; CAMERON *et al.*, 2011). Este tipo de exercício pode ser planejado para incluir treinamento de estratégias de memória aplicada e exercícios cognitivos repetidos e desafiadores, promovendo flexibilidade cognitiva, podendo, assim, contribuir para a manutenção de funções neurais que são gradativamente perdidas na DA (MOWSZOWSKI; BATCHELOR; NAISMITH, 2010).

Um estudo prévio mostrou que o exercício cognitivo produz melhorias duradouras na memória de idosos com declínio cognitivo normal (WINOCUR; CRAIK; LEVINE; ROBERTSON *et al.*, 2007). Em pacientes com demência leve a moderada,

ocasionadas pela DA, programas de estimulação cognitiva têm sido eficazes para a manutenção da função cognitiva e melhora da qualidade de vida de pacientes (EPPERLY; DUNAY; BOICE, 2017; WOODS; AGUIRRE; SPECTOR; ORRELL, 2012). Achados sugerem que os mecanismos envolvidos na melhora dos déficits observados na DA a partir de intervenções cognitivas estejam relacionados à modulação da excitabilidade de neurônios, induzindo a mudanças na plasticidade sináptica e, portanto, na capacidade de aprendizagem (SEHGAL; SONG; EHLERS; MOYER, 2013).

Apesar das funções cognitivas serem relativamente simples de se avaliar em idosos, permitindo assim a avaliação do impacto do treinamento cognitivo, a investigação dos mecanismos envolvidos neste efeito já não é tão simples. Desta forma, estudos com modelos animais têm sido empregados. Em modelos animais, enquanto o exercício físico promove a proliferação de novos neurônios, o exercício cognitivo parece promover a sobrevivência e a integração desses novos neurônios na rede (FABEL; WOLF; EHNINGER; BABU *et al.*, 2009; GOULD; BEYLIN; TANAPAT; REEVES *et al.*, 1999), sugerindo que essas duas intervenções podem melhorar a função do hipocampo (HEISZ; CLARK; BONIN; PAOLUCCI *et al.*, 2017). Assim, embora o exercício cognitivo pareça ter um potencial como estratégia de intervenção junto a pacientes com doenças degenerativas, os mecanismos envolvidos no efeito deste tipo de intervenção ainda estão longe de estar completamente entendidos.

2.5.1.3 Exercício agudo

Conforme previamente mencionado, existem crescentes evidências acerca do potencial do exercício físico como uma estratégia de intervenção não-farmacológica sobre as funções cognitivas. A maioria dos trabalhos que investigam os efeitos do exercício físico na cognição têm como foco as intervenções crônicas; entretanto, na última década alguns pesquisadores começaram a investigar os possíveis efeitos agudos do exercício na cognição (DA SILVA DE VARGAS; NEVES; ROEHR; IZQUIERDO *et al.*, 2017; FERNANDES; SOARES; DO AMARAL BALIEGO; ARIDA, 2016).

A maioria dos pesquisadores desta área não hipotetiza que uma única sessão de exercício físico poderia ter os mesmos efeitos da prática crônica/regular, mas sim

que uma sessão de exercício realizada em tempo próximo ao momento de aprendizagem poderia modular o processo de aquisição e/ou consolidação da memória, potencializando-os (HILLMAN; ERICKSON; KRAMER, 2008; ROIG; THOMAS; MANG; SNOW *et al.*, 2016; WINTER; BREITENSTEIN; MOOREN; VOELKER *et al.*, 2007). A "vida de uma memória" é extremamente dinâmica, assim, vários processos que ocorrem na janela temporal da consolidação da memória, isto é, depois de aprender, podem influenciar a regulação da persistência da memória (BEKINSCHTEIN; CAMMAROTA; IGAZ; BEVILAQUA *et al.*, 2007; KATCHE; TOMAIUOLO; DORMAN; MEDINA *et al.*, 2016; ROSSATO; BEVILAQUA; IZQUIERDO; MEDINA *et al.*, 2009).

Uma revisão de literatura recente indicou que o exercício agudo pode ter um impacto positivo no desempenho cognitivo, especificamente quando a tarefa cognitiva é realizada após a sessão de exercícios (LABBAN; ETNIER, 2018). Os autores verificaram, através da revisão de artigos originais, que o exercício agudo pode impactar positivamente a aprendizagem e a retenção da memória, podendo assim ter implicações específicas para a integração da atividade física no sistema escolar ou na educação de adultos, cenários que normalmente envolvem longos períodos de sedentarismo (LABBAN; ETNIER, 2018). Assim, se a educação física fosse oferecida diariamente em escolas, os alunos poderiam se beneficiar em termos de retenção de aprendizado a longo prazo; poderia haver um efeito semelhante em estudantes universitários e em adultos que estão confrontados com déficits de memória (LABBAN; ETNIER, 2018).

Os trabalhos nesta linha também sugerem que os efeitos do exercício agudo no aprendizado de habilidades motoras são maiores quando a sessão de exercícios está em estreita proximidade temporal da aquisição de habilidades (ROIG; SKRIVER; LUNDBYE-JENSEN; KIENS *et al.*, 2012; SNOW; MANG; ROIG; MCDONNELL *et al.*, 2016; STATTON; ENCARNACION; CELNIK; BASTIAN, 2015). Em nosso laboratório, demonstramos recentemente que uma única sessão de exercício aeróbico (corrida) realizada logo após uma aprendizagem nova promove a persistência da memória em animais saudáveis ((DA SILVA DE VARGAS; NEVES; ROEHRS; IZQUIERDO *et al.*, 2017; VARGAS; RAMIRES LIMA; PIAIA RAMBORGGER; ROEHRS *et al.*, 2019). A persistência de uma memória pode ser vinculada a uma otimização do processo de consolidação da mesma, isto é, à melhora da memória, que passa a durar mais tempo (IZQUIERDO, 2011). Nossos achados também revelaram que este efeito está

relacionado à regulação positiva catecolaminérgica (DA SILVA DE VARGAS; NEVES; ROEHRS; IZQUIERDO *et al.*, 2017; VARGAS; RAMIRES LIMA; PIAIA RAMBORGER; ROEHRS *et al.*, 2019). Outros autores também argumentam que o exercício agudo pode trazer benefícios à aprendizagem e à memória pelo aumento de proteínas e de níveis sinápticos de neurotransmissores importantes para a consolidação da aprendizagem e da memória (DE ALMEIDA; GOMES DA SILVA; LOPIM; VANNUCCI CAMPOS *et al.*, 2017; SZUHANY; BUGATTI; OTTO, 2015).

Esses resultados acrescentam a uma base de conhecimento já estabelecida, relacionando o exercício agudo com melhorias na função cognitiva (MCMORRIS; HALE, 2015; SEGAL; COTMAN; CAHILL, 2012) e memória declarativa (WENG; PIERCE; DARLING; VOSS, 2015). A aplicação de intervenções de exercício agudo para melhorar a memória processual tem uma ampla gama de possíveis aplicações práticas em esportes, ambiente escolar e reabilitação (THOMAS; FLINDTGAARD; SKRIVER; GEERTSEN *et al.*, 2017). No caso da DA este tipo de intervenção poderia ser utilizado para otimizar a aprendizagem de tarefas específicas, melhorando a qualidade de vida dos pacientes.

2.6 Modelos animais para o estudo da DA

Sem dúvida, a DA é uma das condições de saúde mais onerosas que a sociedade atual enfrenta (ALZHEIMER'S, 2016). Assim, continuar desvendando os mecanismos da doença é de extrema importância para o futuro desenvolvimento de tratamentos efetivos, e quiçá da sua cura.

Considerando as dificuldades e limitações da pesquisa sobre o cérebro em seres humanos, diversos modelos animais são utilizados para o estudo da DA. O uso de animais são indispensáveis para o estudo dos aspectos biológicos e moleculares e bioquímicos, e a contribuição dos modelos dos animais para a pesquisa em humanos é inegável (ROBINSON; KRIEGER; KHAN; HUFFMAN *et al.*, 2019). Avanços biomédicos na expectativa de vida, tratamentos de doenças cardíacas, diabetes, vacinações, entre outras situações são o exemplo de benefícios dos modelos animais na pesquisa (ANDREATINI, 2002)

Não existe um modelo animal único e completo que reproduza todas as características da doença; isso porque a DA é uma doença multifatorial que envolve desde o acúmulo do peptídeo β a e a hiperfosforilação da proteína tau, até a

neuroinflamação e muitos outros (AKIYAMA, 1994; DRUMMOND; WISNIEWSKI, 2017; SELKOE, 1999). Assim, os diferentes modelos geralmente focam em um ou outro aspecto específico da doença.

Dentre os diversos modelos animais de DA utilizados em pesquisas científicas estão os modelos baseados na infusão da proteína β a, os baseados na indução da neuroinflamação e os modelos transgênicos através da indução de mutações relacionadas à produção amiloide, expressão da APP, presenilina 1 e 2 ou mutações na proteína tau (CASTELLANI; PERRY, 2012; DUYCKAERTS; POTIER; DELATOUR, 2008; EPIS; GARDONI; MARCELLO; GENAZZANI *et al.*, 2010). Sobre estes últimos modelos, como a DA de início tardio não é causada por essas mutações (EPIS; GARDONI; MARCELLO; GENAZZANI *et al.*, 2010), os resultados desses modelos não podem ser totalmente extrapolados para esta condição humana (NAZEM; SANKOWSKI; BACHER; AL-ABED, 2015).

Baseado nos achados descritos anteriormente, uma das principais características histopatológicas da DA é a deposição do peptídeo β a extracelular que forma as conhecidas placas senis (FACCHINETTI; BRONZUOLI; SCUDERI, 2018). Assim, um método frequentemente utilizado em pesquisas sobre a DA é a infusão direta da proteína β a em ratos ou camundongos (JEAN; BALERIOLA; FA; HENGST *et al.*, 2015), que pode ser intracerebroventricular ou em uma estrutura cerebral específica, geralmente o hipocampo (SCUDERI; STECCA; VALENZA; RATANO *et al.*, 2014), uma vez que essa região cerebral é uma das mais afetadas pela neurodegeneração na DA. A infusão da proteína β a (peptídeos de 1 a 42) no cérebro de ratos do tipo selvagem fornece um excelente modelo *in vivo* que replica a amiloidopatia e a consequente morte neuronal (BALERIOLA; WALKER; JEAN; CRARY *et al.*, 2014; JEAN; RIBE; PERO; MOSKALENKO *et al.*, 2013). Este método permite replicar o aumento da proteína β a de maneira espacial e temporal, evitando efeitos compensatórios ou colaterais que podem ser encontrados nas linhas transgênicas (JEAN; BALERIOLA; FA; HENGST *et al.*, 2015).

Embora o principal constituinte observado na placa cerebral do paciente com DA sejam os peptídeos β a 1-42 ou 1-40, a injeção hipocampal de β a 25-35 é frequentemente empregada em estudos animais de DA (MILLUCCI; GHEZZI; BERNARDINI; SANTUCCI, 2010; YIN; REN; WU; WANG *et al.*, 2013). Isto porque não apenas o peptídeo de comprimento total (A β 1-42) tem a capacidade de afetar os processos cognitivos, mas também vários fragmentos de β a, em particular o

undecapeptídeo A β 25-35 (LIMON; DIAZ; MENDIETA; CHAMORRO *et al.*, 2009; STEPANICHEV; MOISEEVA; LAZAREVA; GULYAEVA, 2005). A grande capacidade de geração de estresse oxidativo e toxicidade extrema em células neuronais e sinaptossomas estão relacionadas ao fragmento β a 25-35 (HASHIMOTO; KATAKURA; HOSSAIN; RAHMAN *et al.*, 2011). O β a 25–35 desencadeia alterações moleculares e celulares, como redução de marcador sináptico e sinaptofisina (proteína marcadora de diferenciação celular), que levam à neurodegeneração e, finalmente, culminam em déficits cognitivos caracteristicamente observados em pacientes com DA (KLEIN; HOPPE; SACCOMORI; DOS SANTOS *et al.*, 2019).

III. Justificativa e objetivos

3.1 Justificativa

A DA é o distúrbio neurodegenerativo relacionado à idade mais comum e um dos diagnósticos mais devastadores que os pacientes e suas famílias podem receber (LAFERLA; GREEN; ODDO, 2007). Estima-se que a DA comece 20 anos ou mais antes que os sintomas surjam, com pequenas alterações no cérebro que são imperceptíveis para a pessoa afetada (BRAAK; BRAAK, 1991). Somente após anos de alterações cerebrais os indivíduos experimentam sintomas visíveis, como perda de memória e problemas de linguagem (VILLEMAGNE; BURNHAM; BOURGEAT; BROWN *et al.*, 2013).

O declínio da memória se manifesta inicialmente como uma perda de memória episódica, considerada uma subcategoria da memória declarativa. A disfunção na memória episódica impede a lembrança de eventos recentes, incluindo informações autobiográficas (LAFERLA; GREEN; ODDO, 2007). Com o tempo, os sintomas tendem a aumentar e começam a interferir na capacidade dos indivíduos de realizar atividades diárias (PRINCE; COMAS-HERRERA; KNAPP; GUERCHET *et al.*, 2016).

À medida que a doença progride, as atividades que costumavam ser essenciais para a identidade do indivíduo, como planejar eventos familiares ou participar de esportes, podem não ser mais possíveis. Os neurônios localizados em diferentes partes do cérebro que permitem que uma pessoa desempenhe funções corporais básicas, como caminhar e engolir, são afetados. As pessoas nos estágios finais da doença de Alzheimer estão acamadas e precisam de cuidados 24 horas por dia; a DA é finalmente fatal (PRINCE; COMAS-HERRERA; KNAPP; GUERCHET *et al.*, 2016).

A DA é a sexta principal causa de morte nos Estados Unidos e a única causa entre as 10 principais que ainda está aumentando significativamente (ASSOCIATION, 2018). No Brasil, considerando a mortalidade por doenças que acometem o Sistema Nervoso Central, em 2009 a DA representou 65% dos óbitos em mulheres e 51,1% em homens (TEIXEIRA; SOUZA JUNIOR; HIGA; THEME FILHA, 2015). O aumento da longevidade e as mudanças demográficas em muitas sociedades inflacionarão os sistemas de saúde, a menos que seja encontrada uma cura para a DA - ou pelo menos qualquer terapia que adie o início da demência por 5 a 10 anos por enquanto (JAHN, 2013).

Em 2015, as estimativas de custos globais para as demências foram de US\$ 957,56 bilhões, e de US\$ 818 bilhões para a doença de Alzheimer, e projetadas para US\$ 2,54 trilhões em 2030 e US\$ 9,12 trilhões em 2050 (JIA; WEI; CHEN; LI *et al.*, 2018; MCDADE; BATEMAN, 2017). Somente nos EUA, uma intervenção que atrasasse o início da demência em 5 anos poderia reduzir os custos dos cuidados médicos em US\$ 283 bilhões em 2050 (SLOANE; ZIMMERMAN; SUCHINDRAN; REED *et al.*, 2002).

Embora os tratamentos farmacológicos atuais ofereçam algum alívio para os sintomas da DA, a melhora é modesta e temporária, indicando que a heterogeneidade da doença exige uma abordagem estratificada para um tratamento eficaz (CONWAY, 2020). Além disso, a intervenção farmacológica é relativamente cara e pode ter efeitos colaterais graves (KLIMOVA; VALIS; KUCA, 2017). Assim, intervenções não farmacológicas podem ser estratégias eficazes na prevenção do declínio cognitivo (KLIMOVA; VALIS; KUCA, 2017).

Dentre as intervenções não farmacológicas, três grupos mais influentes que apresentaram um impacto positivo no declínio cognitivo são: atividades físicas, dieta saudável e treinamento cognitivo (CREMONINI; CAFFA; CEA; NENCIONI *et al.*, 2019; HEISZ; CLARK; BONIN; PAOLUCCI *et al.*, 2017; KALLIO; OHMAN; KAUTIAINEN; HIETANEN *et al.*, 2017; KLIMOVA; VALIS; KUCA, 2017). Essas atividades têm um efeito positivo na manutenção da função sináptica, cuja perda geralmente está relacionada a formas tóxicas da proteína β -amiloide (KLIMOVA; VALIS; KUCA, 2017).

Os efeitos positivos do exercício físico crônico na prevenção e tratamento da DA estão relativamente bem documentados. Por outro lado, embora alguns efeitos da estimulação cognitiva tenham sido descritos, não se sabe se eles podem ser comparados com os do exercício físico, no que diz respeito ao seu resultado e efetividade. Conforme mencionado, sabe-se que a estimulação cognitiva pode atuar sobre a plasticidade sináptica (SEHGAL; SONG; EHLERS; MOYER, 2013), mas será que ela teria algum efeito sobre o equilíbrio oxidativo, protegendo o cérebro dos danos oxidativos que tem um papel crescentemente importante na fisiopatologia da DA?

Assim, este estudo visa avaliar os efeitos do exercício cognitivo e do exercício físico aeróbico regular na prevenção e no tratamento dos déficits cognitivos relacionados à DA, comparando-os. Para tal, utilizaremos um modelo animal que mimetiza algumas das características da DA.

O desenvolvimento de um modelo animal adequado de DA tem sido difícil, pois a etiologia dessa desordem neurodegenerativa é complexa e multifatorial (JACK; BENNETT; BLENNOW; CARRILLO *et al.*, 2018). Desse modo, o modelo experimental que utilizamos baseia-se na injeção do peptídeo beta-amiloide no hipocampo, que desencadeia uma neurotoxicidade que acarreta em déficits de memória e dano oxidativo, sinais clássicos característicos da DA (GIRIDHARAN; THANDAVARAYAN; ARUMUGAM; MIZUNO *et al.*, 2015; JHOO; KIM; NABESHIMA; YAMADA *et al.*, 2004; VARADARAJAN; KANSKI; AKSENOVA; LAUDERBACK *et al.*, 2001).

Adicionalmente, neste trabalho propomos uma nova forma de utilizar um teste de memória espacial, adaptando-o para um treinamento cognitivo. Em humanos este tipo de treinamento já é realizado (CHIU; CHU; TSAI; LIU *et al.*, 2017), porém ainda não há um entendimento completo dos mecanismos neurobiológicos envolvidos no efeito deste tipo de intervenção, o que pode ser facilitado com a padronização de um protocolo para este tipo de pesquisa em modelos animais.

Por fim, embora saibamos acerca dos efeitos positivos do exercício físico crônico sobre a cognição, nem sempre a prática deste tipo de exercício é possível, e a adesão a programas de prática regular de exercício físico muitas vezes é baixa. Assim, algumas pesquisas mais recentes buscaram investigar os efeitos agudos do exercício físico (DA SILVA DE VARGAS; NEVES; ROEHRS; IZQUIERDO *et al.*, 2017; FERNANDES; SOARES; DO AMARAL BALIEGO; ARIDA, 2016). Em nosso laboratório, demonstramos que uma única sessão de exercício promove a persistência da memória em animais saudáveis, efeito relacionado à regulação positiva catecolaminérgica (VARGAS; RAMIRES LIMA; PIAIA RAMBORGGER; ROEHRS *et al.*, 2019). Outros dados científicos mostram que o exercício aeróbico agudo pode trazer benefícios ao aprendizado e à memória pelo aumento de proteínas sinápticas e níveis de neurotransmissores importantes para o aprendizado e consolidação da memória (DE ALMEIDA; GOMES DA SILVA; LOPIM; VANNUCCI CAMPOS *et al.*, 2017; FERNANDES; SOARES; DO AMARAL BALIEGO; ARIDA, 2016; SZUHANY; BUGATTI; OTTO, 2015). Assim, além de verificar os efeitos do exercício físico regular e comparar com os efeitos do exercício cognitivo, propomos investigar os possíveis efeitos do exercício agudo sobre os déficits cognitivos relacionados ao Alzheimer, já que esta pode ser uma alternativa de intervenção nos casos em que a prática regular de exercício não é possível.

Desta forma, a presente tese de doutorado foi composta por três estudos. Nos dois primeiros estudos, chamados aqui de estudo 1 e 2, foi avaliado o potencial neuroprotetor do exercício físico regular e do exercício cognitivo quanto aos seus efeitos preventivos (quando realizados antes da indução da DA) e de tratamento (quando realizados após a mimetização e apresentação dos sintomas da DA). No terceiro estudo o efeito do exercício agudo foi avaliado através de uma sessão única de exercício realizada imediatamente após uma nova aprendizagem.

3.2 Objetivos

3.2.1 Objetivo geral

Investigar os efeitos do exercício físico regular e do exercício cognitivo como estratégias não farmacológicas para minimizar os déficits de memória relacionados à neurotoxicidade induzida pela proteína β a, bem como avaliar o efeito de uma única sessão de exercício físico, realizada após uma tarefa de aprendizagem, na modulação da memória de animais com déficits cognitivos relacionados à Doença de Alzheimer.

3.2.2 Objetivos específicos

Os objetivos específicos desta tese incluem:

No primeiro estudo:

- Investigar o potencial neuroprotetor do exercício físico e do exercício cognitivo regular na prevenção dos déficits cognitivos induzidos pela proteína β a;
- Avaliar os possíveis efeitos preventivos da prática de exercício físico e de exercício cognitivo regular sobre o déficit de memória de reconhecimento de objetos de curto e longo prazo de ratos submetidos à cirurgia para infusão intrahipocampal de proteína β a;
- Avaliar os possíveis efeitos preventivos da prática de exercício físico e de exercício cognitivo regular sobre o aumento dos níveis de EROs e da peroxidação lipídica do tecido hipocampal de ratos submetidos à cirurgia para infusão intrahipocampal de proteína β a;
- Avaliar os possíveis efeitos preventivos da prática de exercício físico e de exercício cognitivo regular sobre a diminuição da capacidade antioxidante total do

tecido hipocampal de ratos submetidos à cirurgia para infusão intrahipocampal de proteína β a;

- Avaliar os possíveis efeitos preventivos da prática de exercício físico e de exercício cognitivo regular sobre as alterações da morfologia hipocampal de ratos submetidos à cirurgia para infusão intrahipocampal de proteína β a.

No segundo estudo:

- Investigar o potencial terapêutico do exercício físico e do exercício cognitivo regular no tratamento dos déficits cognitivos induzidos pela proteína β a;

- Avaliar os efeitos da prática de exercício físico e de exercício cognitivo regular como tratamento dos déficits de memória de reconhecimento de objetos de curto e longo prazo de ratos submetidos à cirurgia para infusão intrahipocampal da proteína β a;

- Avaliar os possíveis efeitos terapêuticos da prática de exercício físico e de exercício cognitivo regular sobre o déficit de memória de reconhecimento social de longo prazo de ratos submetidos à cirurgia para infusão intrahipocampal da proteína β a;

- Avaliar os possíveis efeitos terapêuticos da prática de exercício físico e de exercício cognitivo regular sobre o aumento dos níveis de EROs e da peroxidação lipídica do tecido hipocampal de ratos submetidos à cirurgia para infusão intrahipocampal da proteína β a;

- Avaliar os possíveis efeitos terapêuticos da prática de exercício físico e de exercício cognitivo regular sobre a diminuição da capacidade antioxidante total do tecido hipocampal de ratos submetidos à cirurgia para infusão intrahipocampal da proteína β a;

- Avaliar os possíveis efeitos terapêuticos da prática de exercício físico e de exercício cognitivo regular sobre a atividade da acetilcolinesterase no tecido hipocampal de ratos submetidos à cirurgia para infusão intrahipocampal da proteína β a;

- Avaliar os possíveis efeitos terapêuticos da prática de exercício físico e de exercício cognitivo regular sobre as alterações da morfologia hipocampal de ratos submetidos à cirurgia para infusão intrahipocampal da proteína β a.

No terceiro estudo:

- Investigar o potencial modulador da memória de uma única sessão de exercício físico aeróbico (exercício agudo) realizada imediatamente após uma tarefa de aprendizagem nos déficits cognitivos causados pela infusão da proteína β a;

- Avaliar os efeitos de uma única sessão exercício físico na consolidação e na persistência da memória de reconhecimento de objetos em ratos submetidos à cirurgia para infusão intrahipocampal da proteína β a;

- Avaliar os efeitos de uma única sessão exercício físico nos níveis de dopamina e noradrenalina em ratos submetidos à cirurgia para infusão intrahipocampal da proteína β a.

IV. Material e métodos

4.1 Animais

Todos os experimentos que compõem esta tese foram realizados em concordância com os Princípios Éticos de Experimentação Animal e aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais na instituição de ensino (CEUA/Unipampa – protocolo nº 14/2017; ANEXO 1).

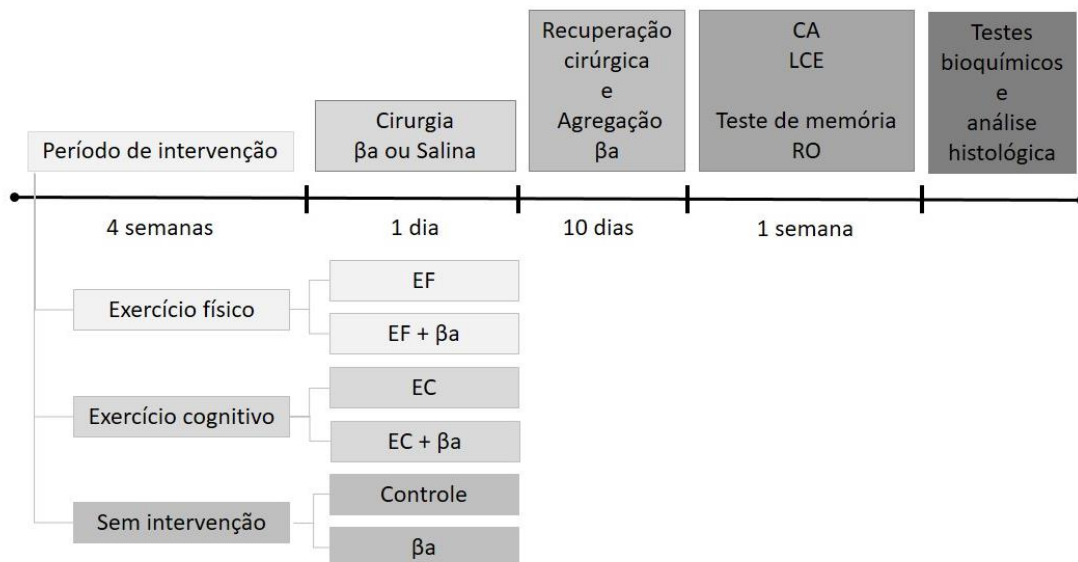
Foram utilizados 184 ratos Wistar, machos (3 meses, 300-400g) provenientes do Biotério Central da Universidade Federal de Santa Maria (RS) e alojados no Biotério Institucional (Unipampa – Uruguaiana/RS). Os animais foram mantidos no Biotério da Unipampa, em ambiente com temperatura controlada ($23 \pm 2^\circ\text{C}$), em ciclo claro/escuro de 12h, com alimento e água *ad libitum*.

4.2 Delineamento experimental

4.2.1 Estudo 1: Os exercícios físico e o cognitivo são capazes de prevenir os déficits de memória de reconhecimento relacionados à neurotoxicidade da proteína beta amiloide?

Inicialmente os animais foram divididos aleatoriamente em três grandes grupos ($n = 24/\text{cada}$): (i) Exercício Físico, (ii) Exercício Cognitivo, e, (iii) sem nenhuma intervenção. Após o período de intervenção (4 semanas), todos os animais foram submetidos à cirurgia estereotáxica para infusão da proteína βa ou salina (veículo) no hipocampo. Nesse momento, os animais foram subdivididos, formando seis grupos ($n = 12/\text{cada}$): (i) Cirurgia Sham (Controle), (ii) modelo de neurotoxicidade induzida pela proteína βa (βa), (iii) exercício físico (EF), (iv) exercício físico + βa (EF+ βa), (v) exercício cognitivo (EC), e, (vi) exercício cognitivo + βa (EC+ βa). Após 10 dias, período para a recuperação cirúrgica e agregação das placas βa , os animais foram submetidos aos testes de memória e testes de controle comportamental, seguidos pela eutanásia e análises bioquímicas e histológicas (Fig. 8).

Figura 8. Delineamento experimental do estudo 1. Os animais foram submetidos ao exercício físico (EF), exercício cognitivo (CE), ou nenhum treinamento, durante 4 semanas. Posteriormente, foram submetidos a cirurgia estereotáxica com injeção de β a ou solução salina no hipocampo. Dez dias após a cirurgia, tempo necessário para recuperação cirúrgica e agregação de β a, foram realizados testes de controle comportamental e testes de memória de reconhecimento. Após os testes, os animais foram eutanasiados e o tecido cerebral foi coletado para análises bioquímicas e histológicas. RO: Teste de memória de reconhecimento de objetos; CA: Campo aberto; LCE: labirinto em cruz elevado.

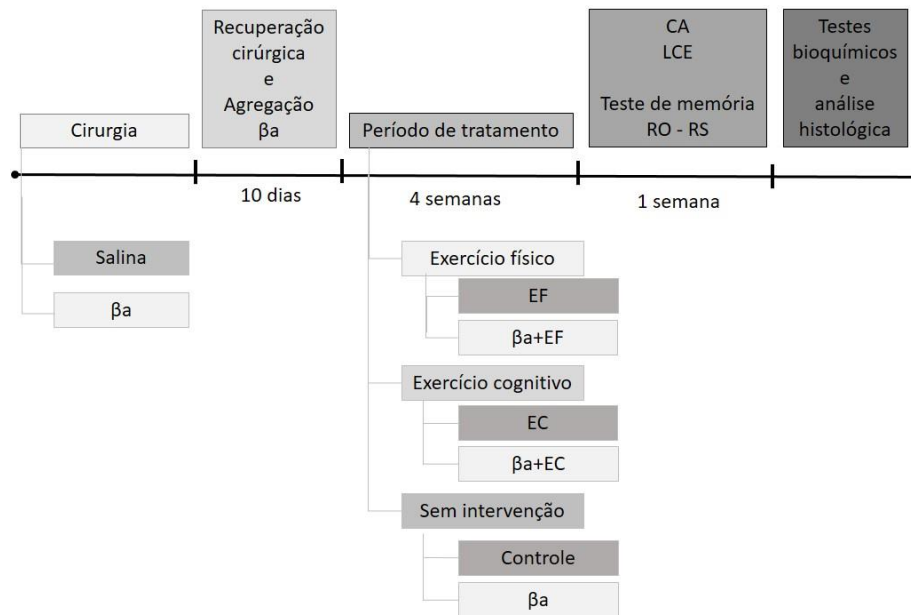


Fonte: Os autores (2019).

4.2.2 Estudo 2: Os exercícios físico e o cognitivo são capazes de reverter os déficits de memória de reconhecimento relacionados à neurotoxicidade induzida pela proteína beta amiloide?

Para o segundo estudo, inicialmente os animais foram divididos aleatoriamente em dois grandes grupos ($n = 36$ /cada) e submetidos à cirurgia estereotáxica para infusão da proteína β a ou salina (veículo), seguidos de 10 dias para a recuperação cirúrgica e agregação das placas β a. Após esse período, os animais foram subdivididos de acordo com o tratamento (exercício físico, exercício cognitivo e nenhum tratamento), originando seis grupos experimentais ($n = 12$ /cada): (i) Cirurgia Sham (Controle), (ii) modelo de neurotoxicidade induzida pela proteína β a (β a), (iii) exercício físico (EF), (iv) β a + exercício físico (β a+EF), (v) exercício cognitivo (EC), e, (vi) β a + exercício cognitivo (β a+EC). Após o período de tratamento de 4 semanas, os animais foram submetidos aos testes de memória e testes de controle comportamental, seguidos de eutanásia e análises bioquímicas e histológicas (Fig. 9).

Figura 9. Delineamento experimental do estudo 2. Os animais foram submetidos à cirurgia estereotáxica com injeção de β a ou solução salina no hipocampo. Dez dias após a cirurgia, tempo necessário para a recuperação da cirurgia e agregação de β a, o período de tratamento iniciou: exercício físico (EF), exercício cognitivo (EC) ou nenhuma intervenção, durante 4 semanas. Posteriormente, foram realizados testes de controle comportamental e testes de memória de reconhecimento de objetos e social. Após os testes, foi realizada a eutanásia e coleta de tecido hipocampal para análises bioquímicas e dos cérebros para análise histológica. RO: Teste de memória de reconhecimento de objeto; RS: Teste de memória de reconhecimento social; CA: Campo aberto; LCE: Labirinto em cruz elevado.

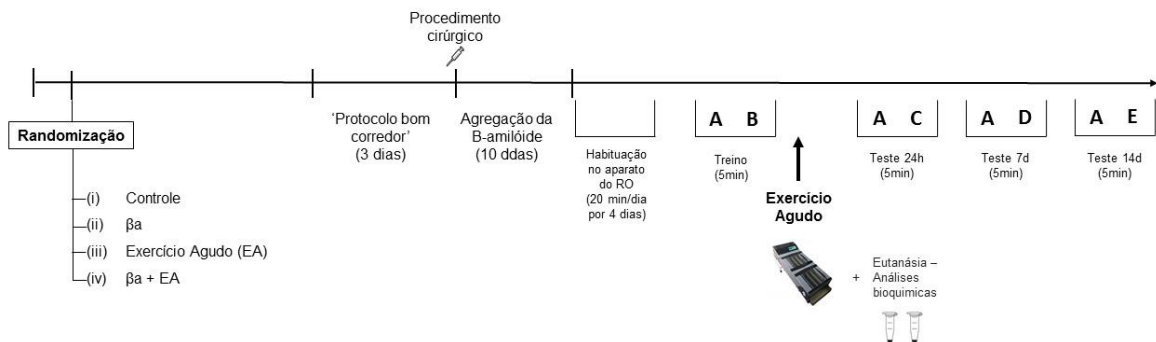


Fonte: Os autores (2019).

4.2.3 Estudo 3: Uma única sessão de exercício físico pode promover a aprendizagem em ratos com déficits cognitivos relacionados à neurotoxicidade induzida pela beta amiloide?

Considerando os objetivos do terceiro estudo desta tese, os animais foram divididos em quatro grupos (8-12/cada): (i) Controle, (ii) β a, (iii) exercício agudo (EA), e, (iv) β a+exercício agudo (β a+EA), e submetidos à cirurgia estereotáxica para infusão da proteína β a ou salina (veículo), seguida de 10 dias para a recuperação cirúrgica e agregação das placas β a. Após esse período, os animais foram submetidos à uma tarefa de aprendizagem (sessão de treino) na tarefa de Reconhecimento de Objetos (RO). Imediatamente após a sessão de aprendizagem, alguns animais foram submetidos a uma única sessão de exercício físico aeróbico. Quatro animais de cada grupo foram eutanasiados logo após o exercício para dosagens de neurotransmissores; os demais foram submetidos aos testes de consolidação (24h) e persistência da memória (7 e 14 dias após o treino de RO) (Fig. 10).

Figura 10. Delineamento experimental do estudo 3. Neste estudo investigamos os efeitos do exercício aeróbico agudo; para isso, inicialmente os ratos foram submetidos à habituação em esteira e ao “protocolo do bom corredor”. Após, os ratos foram submetidos à cirurgia estereotáxica para infusão intrahipocampal de β a ou salina. Dez dias após a cirurgia, os ratos foram habituados no aparato do Reconhecimento de Objetos (RO). Imediatamente após a sessão de treino no RO, os ratos foram submetidos a uma única sessão de corrida (exercício aeróbico). Quatro animais por grupo foram eutanasiados imediatamente após o exercício físico (ou tempo semelhante) e seus hipocampus foram dissecados para análises bioquímicas. Os animais adicionais foram submetidos a testes de memória 24h, 7 e 14 dias após o treino no RO.



Fonte: Os autores (2019).

4.3 Protocolos experimentais e procedimentos

Nesta sessão serão apresentados os protocolos e procedimentos utilizados nos estudos que compõem esta tese. Nem todos os protocolos e procedimentos foram utilizados em todos os estudos, conforme os delineamentos previamente apresentados.

4.3.1 Modelo experimental da DA

Nos três estudos utilizamos o modelo experimental baseado na neurotoxicidade induzida pela proteína β a, que está envolvida na patologia da DA.

4.3.1.1 Preparação da proteína β a

A proteína β a, peptídeo 25-35 (Sigma Aldrich; produto: A4559) foi dissolvida em solução salina na concentração de 100 μ M, e incubada a 37°C, durante 4 dias para indução da agregação da proteína β a.

4.3.1.2 Cirurgia estereotáxica

Para os procedimentos cirúrgicos, os animais foram anestesiados com cetamina e xilazina, nas doses de 75 mg/kg e 10 mg/kg, respectivamente. Os animais foram posicionados no estereotáxico e a região CA1 do hipocampo foi localizada baseada nas coordenadas do atlas de Paxinos e Watson (1986): AP - 4.2; LL \pm 3.0; DV - 3.0 mm (PAXINOS; WATSON, 1986).

A infusão bilateral da proteína β a (2 μ l por lado) foi realizada por uma agulha (agulha gengival de 30g), com o auxílio de uma seringa Hamilton (VWR, França). Os animais dos grupos controles (sham) passaram pelos mesmos procedimentos, no entanto, receberam solução salina (veículo), no mesmo volume (2 μ l por lado).

Após 10 dias da cirurgia, considerado o período de recuperação cirúrgica e o tempo necessário para agregação e formação das placas amiloides no cérebro dos animais, foram realizados os demais procedimentos de acordo com cada estudo.

4.3.2 Protocolo do exercício físico regular (EF)

Nos estudos 1 e 2 que compõem esta tese utilizamos um protocolo de exercício físico regular, que envolveu um período de familiarização à esteira rolante para ratos, seguido pelo protocolo do bom corredor, um teste de consumo máximo de oxigênio indireto, e pelo treinamento, conforme posteriormente descrito.

4.3.2.1 Familiarização à esteira rolante

Previamente ao treinamento de exercício físico, os animais foram familiarizados ao aparato utilizado para o treinamento aeróbico, uma esteira rolante para ratos (Insight Ltda, São Paulo, Brasil), para evitar efeitos estressores. A habituação foi conduzida em três dias (no primeiro dia, os animais foram colocados na esteira

desligada por 10 min; no segundo e terceiro dias, eles foram colocados na esteira com velocidade de 2 a 5 m/min, por 10 min).

4.3.2.2 Protocolo do bom corredor

Após a habituação, os animais foram submetidos ao "protocolo do bom corredor", que consiste em colocar os animais na esteira (8 m/min por 10 min) sem inclinação e avaliar o nível de treinabilidade por três dias consecutivos.

Neste protocolo, o desempenho do animal na esteira é pontuado em um intervalo de 1 a 5 pontos (1: recusa-se a correr; 2: abaixo da média dos corredores – corre e para ou corre na direção errada; 3: corredor médio; 4: acima da média – corre bem, com paradas esporádicas; 5: bom corredor – corre e sempre fica na parte da frente da esteira); e ao final do protocolo os animais que obtêm uma média de três ou mais pontos são incluídos no grupo de exercício (ARIDA; SCORZA; GOMES DA SILVA; CYSNEIROS *et al.*, 2011).

4.3.2.3 Teste de consumo máximo de oxigênio indireto

Após o “protocolo do bom corredor”, o teste de consumo máximo de oxigênio (VO_2 máx.) indireto foi realizado para determinar a intensidade individual do exercício.

Para o teste a esteira inicialmente é mantida com baixa velocidade, aumentando em 5 m/min a cada 3 min até o animal ser incapaz de continuar correndo. O tempo de fadiga (min) e volume de trabalho (m/min) são considerados como uma medida indireta do VO_2 máximo (BROOKS; WHITE, 1978; CECHETTI; WORM; ELSNER; BERTOLDI *et al.*, 2012).

4.3.2.4 Treinamento de exercício físico regular (EF)

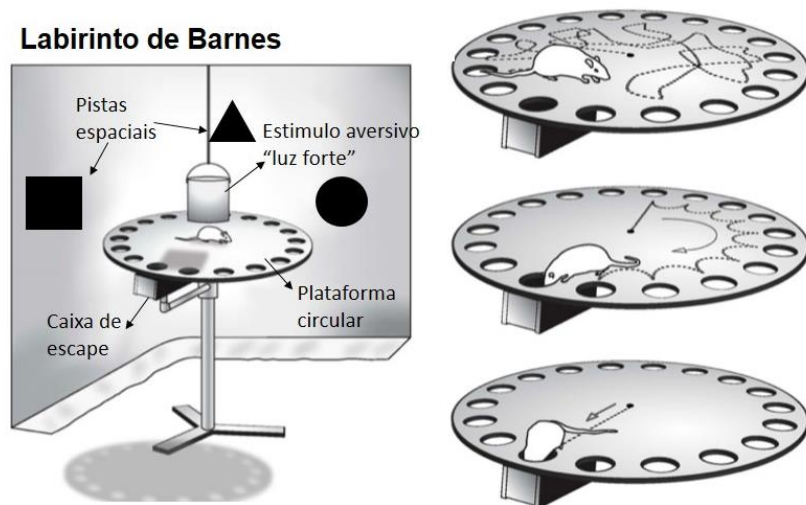
O EF foi realizado durante quatro semanas em uma esteira motorizada específica para roedores (Insight Ltda., SP, Brasil), em sessões de corrida com duração de 30 min, três vezes por semana, sempre no mesmo período do dia. Durante o exercício uma intensidade de 60-70% do VO_2 máximo indireto foi mantida, com a velocidade da esteira variando entre 9 m/min e 13 m/min (MALEK; HUTTEMANN; LEE; COBURN, 2013).

4.3.3 Protocolo do exercício cognitivo (EC)

Nos estudos 1 e 2 que compõem esta tese utilizamos um protocolo de EC. O protocolo foi baseado na adaptação do teste de memória conhecido como Labirinto de Barnes (LB) (BARNES, 1979), que neste estudo foi adaptado para um protocolo de treino cognitivo. Assim, o LB foi utilizado como instrumento para estimulação cognitiva, de forma que os animais foram treinados diariamente nesta tarefa, durante quatro semanas.

O aparato do LB consiste em uma plataforma circular com 108 cm de diâmetro, 70 cm acima do chão e com 20 buracos (10 cm de diâmetro) de escape igualmente distribuídos pela borda da plataforma. Somente um desses buracos leva à caixa de escape (que pode ser trocada de lugar), os demais buracos têm um fundo falso que não dá acesso ao escape. Pistas visuais geométricas são colocadas ao redor do labirinto para auxiliar na localização espacial. Um reforço negativo (luz forte) acima da plataforma motiva os animais a buscarem a caixa de escape (gaiola escura) (BARNES, 1979) (Fig. 11).

Figura 11. Labirinto de Barnes. O animal é colocado sobre uma plataforma circular com buracos em toda a borda, sendo que em somente um dos buraco há uma caixa de escape. Sobre a plataforma um estímulo aversivo (luz forte) motiva o animal a buscar a caixa de escape. Assim que o animal encontra o escape, o estímulo aversivo cessa. As pistas geométricas auxiliam o animal na orientação espacial. A medida que o animal aprende, os erros cometidos e o tempo que o animal leva para encontrar o escape diminuem. No nosso trabalho, os animais foram submetidos ao Labirinto de Barnes diariamente, por quatro semanas. A cada 10 dias, a posição da caixa de escape foi trocada de lugar para estimular a flexibilidade cognitiva.



Fonte: Adaptado de (BIMONTE-NELSON, 2015).

Durante a tarefa, os animais foram colocados no meio da plataforma circular do LB e receberam o reforço negativo, o que os motivou a escapar para uma gaiola escondida debaixo de um dos buracos. Assim que o animal encontrava sua caixa de escape, o estímulo negativo era cessado. Na adaptação do protocolo com fim de treinamento cognitivo, os animais foram treinados diariamente, durante 4 semanas, e a cada 10 dias o local de escape foi alterado para um novo local, assim os animais precisavam fazer uma reorganização da memória espacial, reaprender para encontrar o novo local da gaiola, o que requer flexibilidade cognitiva.

4.3.4 Protocolo de exercício físico agudo

No estudo 3 que compõe esta tese utilizamos um protocolo de exercício agudo. Da mesma forma que o protocolo de exercício físico crônico, os animais inicialmente também foram familiarizados à esteira rolante para ratos (Insight Ltda, São Paulo, Brasil) para evitar efeitos estressores, e submetidos ao “protocolo do bom corredor” e ao teste de VO₂ máximo indireto, conforme descrito anteriormente.

A sessão de exercício físico, no entanto, foi única, e realizada imediatamente após uma atividade de aprendizagem (treino na tarefa de Reconhecimento de Objetos, que será descrita a seguir). A sessão única de exercício físico foi realizada com uma intensidade de 60-70% de oxigênio (VO₂ máx. indireto) com velocidade entre 9 m/min e 13 m/min, com 30 min de duração (MALEK; HUTTEMANN; LEE; COBURN, 2013).

4.3.5 Testes de avaliação da memória

4.3.5.1 Tarefa de Reconhecimento de Objetos (RO)

A memória de curta (MCD) e de longa (MLD) duração e a persistência da memória foram avaliadas através da tarefa de RO. Neste teste é avaliada a capacidade do animal de identificar um objeto familiar, ao qual foi previamente exposto, frente a outro objeto novo. Assim, espera-se que o animal gaste mais tempo explorando o novo objeto, já que lembra no objeto familiar (VIVINETTO; SUAREZ;

RIVAROLA, 2013). As sessões de treino e testes no RO foram realizadas em um aparato do tipo campo aberto (50 x 50 x 50 cm).

Primeiramente, os animais foram habituados individualmente ao aparato, para livre exploração durante 20 min, por quatro dias consecutivos antes da sessão de treino. Na sessão de treino, os animais foram colocados no aparato contendo dois objetos diferentes (frequentemente nominados A e B, ou X e Y) para livre exploração por 5 min. Nas sessões de teste, um dos objetos foi trocado por um novo objeto e os animais foram reintroduzidos no aparato para uma nova sessão de exploração por 5 min. O tempo gasto para explorar cada objeto foi registrado. Os animais foram testados no RO três horas após o treino para avaliar a MCD, e 24 horas depois para avaliar a MLD. Para a avaliação da persistência da memória, realizada no estudo 3, os animais foram testados no RO 7 e 14 dias após a sessão de treino.

4.3.5.2 Tarefa de Reconhecimento Social (RS)

A tarefa de RS foi utilizada no segundo estudo desta tese. Assim como a tarefa de RO, no RS também envolve primeiramente um período de habituação ao aparato vazio (4 dias consecutivos, 20min/dia), e posteriormente o animal é colocado no aparato com dois cilindros acrílicos vazios, para livre exploração, durante 5 minutos.

No dia da sessão de treino o animal é colocado no aparato de campo aberto (50 x 50 x 50 cm) contendo os dois cilindros, sendo que um deles contém um animal semelhante, porém desconhecido, e outro cilindro está vazio, para livre exploração durante 10 minutos. Na sessão de teste, outro animal desconhecido é inserido no local, no cilindro que anteriormente estava vazio. Durante essa sessão de 10 minutos, se avalia se o rato foi capaz de identificar o animal familiar e o animal desconhecido, considerando o tempo gasto para exploração de cada um (KAIDANOVICH-BEILIN; LIPINA; VUKOBRADOVIC; RODER *et al.*, 2011). Se animal lembra-se do animal familiar, espera-se que gaste mais tempo explorando o animal desconhecido.

4.3.6 Testes de controle comportamental

Os testes de controle comportamental foram realizados para garantir que a cirurgia, os protocolos de treinamento, ou outros procedimentos não interferiram nos

resultados dos testes de memória, já que neste modelo animal a memória é avaliada a partir da observação do comportamento.

Para analisar a atividade locomotora e exploratória os animais foram submetidos ao teste de Campo Aberto (CA), e para avaliar o comportamento do tipo ansiedade, ao Labirinto em Cruz Elevado (LCE).

O CA consiste em uma caixa madeira branca (50 x 50 x 50 cm) com a frente em acrílico, e o assoalho igualmente dividido em 12 quadrados, com linhas que possibilitam a contagem dos cruzamentos, para avaliação da atividade locomotora do animal, e o número de elevações sobre as patas traseiras, para avaliar a atividade exploratória. Os animais foram colocados no aparato e foram contabilizados o número de cruzamentos e de elevações durante 5 min.

O LCE consiste em uma plataforma em cruz com 60 centímetros de comprimento em cada braço, posicionada a 70 cm de altura; dois braços contralaterais do labirinto possuem paredes elevadas, sendo denominados de braços fechados, e os outros dois não possuem paredes, sendo denominados braços abertos. O animal é colocado no centro do labirinto e deixado livre para explorá-lo. O número de entradas nos braços e o tempo de permanência gasto em cada um foram registrados durante uma sessão de 5 min. Quanto mais ansioso estiver o animal, maior tende a ser o tempo de permanência nos braços fechados e o número de entradas nestes braços (BEVILAQUA; ROSSATO; MEDINA; IZQUIERDO *et al.*, 2003).

4.3.7 Experimentos bioquímicos

4.3.7.1 Marcadores de estresse oxidativo

Nos estudos 1 e 2, após eutanásia, os tecidos hipocampais bilaterais de 8 animais por grupo foram rapidamente dissecados em gelo e homogeneizados em Tris HCl 50 mM, pH 7,4. Em seguida, as amostras foram centrifugadas a 2.400 × g por 20 min, e o sobrenadante foi reservado para as análises (S1).

Os níveis de espécies reativas de oxigênio (EROs) foram monitorados por um método espectrofluorométrico usando diacetato de 2,7-diclorofluoresceína (DCFH-DA) (LOETCHUTINAT; KOTHAN; DECHSUPA; MEESUNGNOEN *et al.*, 2005). As amostras foram incubadas no escuro com 5 mL DCFH-DA (1 mM). A oxidação de DCHF-DA em diclorofluoresceína fluorescente (DCF) foi medida para a detecção

intracelular de EROs. A formação do derivado fluorescente oxidado (isto é, DCF), medido por intensidade de fluorescência do DCF, foi registrada a 520 nm (excitação a 480 nm) 30 min após a adição de DCFH-DA ao meio, em leitor de microplacas SpectraMax M5.

A lipoperoxidação foi avaliada pelo teste de TBARS (OHKAWA; OHISHI; YAGI, 1979). Uma alíquota de S1 foi incubada com solução de ácido tiobarbitúrico a 0,8%, tampão de ácido acético (pH 3,2) e solução SDS (8%) a 95°C por 2 h, e a reação de cor foi medida a 532 nm em leitor de microplacas SpectraMax M5. Os resultados foram expressos em nanomoles de malondialdeído por miligrama de proteína.

A capacidade antioxidante total foi avaliada pelo ensaio FRAP (do inglês *ferric reducing/antioxidant power*) (BENZIE; STRAIN, 1996). O reagente de trabalho FRAP foi preparado misturando 25 mL de tampão acetato, 2,5 mL de solução TPTZ e 2,5 mL de solução de FeCl₃·6H₂O. Foi adicionado homogenato (10 µL) ao reagente de trabalho FRAP (300 µL) em microplaca. Além disso, uma curva padrão com concentrações de 10 µL de Trolox (15, 30, 60, 120, e 240 mM) e 300 µL de reagente de trabalho FRAP. A microplaca foi incubada a 37°C por 15 min antes de ler em um leitor de microplacas SpectraMax M5 em 593 nm.

4.3.7.2 Atividade da acetilcolinesterase

No estudo 2, a atividade da acetilcolinesterase (AChE) foi mensurada. Ela é um marcador da perda de neurônios de atividade colinérgica. A atividade da AChE foi avaliada pelo método de Ellman (ELLMAN; COURTNEY; ANDRES; FEATHERSTONE, 1961), utilizando amostras de hipocampo preparadas conforme descrito no item 4.3.7.1. A mistura de reação foi composta de tampão fosfato 100 mM, pH 7,4 e 1 mM ácido 5,5'-ditio-bis-2-nitrobenzóico. O método é baseado na formação de um amarelo ácido 4,4'-ditio-bis nitrobenzóico, após adição de 0,8 mM de iodeto de acetiltiocolina. A mudança na absorbância foi medida por 2 min e m intervalos de 30s a 412 nm (SpectraMax M5; Dispositivos Moleculares). Os resultados foram expressos em micromoles de iodeto de acetiltiocolina hidrolisado por minuto por miligrama de proteína.

4.3.7.3 Níveis de neurotransmissores catecolaminérgicos

No estudo 3 os níveis de noradrenalina (NE) e dopamina (DOPA) foram determinados por CLAE (Cromatografia Líquida de Alto Desempenho). Imediatamente após a sessão de exercício (ou no tempo equivalente para grupos sem exercício), os animais (n = 4/grupo) foram sacrificados e seus cérebros foram rapidamente dissecados no gelo para remover os hipocampus.

As amostras foram homogeneizadas em Tris HCl 50 mM, pH 7,4 (1/10, p/v). Posteriormente, as amostras foram centrifugadas a 2400g por 20 min; os sobrenadantes foram filtrados e depois armazenados a -80°C até o uso (MENEZES; ALVES; BORGES; ROEHRS *et al.*, 2015; NIROGI; ABRAHAM; JAYARAJAN; MEDAPATI *et al.*, 2012). O sistema CLAE consistia em um desgaseificador a vácuo (YL9101) e uma bomba quaternária (YL9110) conectada a uma coluna de fase reversa (SYNERGI 4I FUSION-RP 80 Å 250 × 4,60 mm; Phenomenex) em um compartimento de coluna (YL9131) acoplado a uma matriz Detector de diodos (YL9160). A fase móvel consistiu em metanol e água (12/88, v/v) ajustados para pH 3 com ácido fosfórico.

Para separar a NE e a DOPA, utilizamos a programação isocrática com uma vazão de 0,8 ml/min. A amostra foi filtrada através de filtros de seringa de 0,22 µm. Injetamos 20 µl de amostras no sistema CLAE por um dispositivo de amostrador automático (YL9150). A detecção foi a 198 nm por DAD. Os cromatogramas foram gravados e integrados pelo software de integração com PC (YL Clarity). Todas as análises foram realizadas em triplicata. Os parâmetros analíticos foram os seguintes: intervalo linear, 0,1-10,0 µg/ml; coeficiente de determinação, 0,999; e equação de calibração, $y = 628,12x + 34,342$.

A NE e a DOPA para CLAE foram fornecidas pela Sigma-Aldrich Brasil. Outros reagentes utilizados foram obtidos de fornecedores comerciais padrão.

4.3.8 Análise histológica

Ratos dos estudos 1 e 2 (n = 4/grupo) foram anestesiados e submetidos à perfusão transcardíaca com soro fisiológico (pH 7,4) seguido de paraformaldeído tamponado a 4%. Após a fixação do tecido pela perfusão, o cérebro foi removido do crânio e colocado no mesmo fixador por 4 horas. Para crioproteção, os cérebros foram mergulhados em sacarose a 30% em tampão fosfato 0,1 M, a 4°C, *overnight*. Após o

congelamento, os cérebros foram seccionados usando um criostato (LEICA CM3050S) e corados com hematoxilina-eosina (HE). O tecido foi estudado sob um microscópio óptico (Olympus CX21) para observar os parâmetros morfológicos, sob ampliação de 40x.

4.3.9 Análise estatística

Em todos os estudos (1, 2 e 3) os dados foram analisados quanto à normalidade pelo teste de Shapiro-Wilk.

O tempo de exploração de objetos no RO foi convertido em porcentagem do tempo total de exploração e um teste t de uma amostra foi utilizado para comparar a porcentagem do tempo total de exploração gasto em cada objeto com uma média teórica de 50%. Os dados de CA e LCE foram analisados por ANOVA de uma via.

Para os dados bioquímicos, no estudo 1, as comparações entre os grupos foram realizadas usando uma ANOVA seguido pelo teste de Tukey para análise de DCFH e FRAP, sendo expressos como média e desvio padrão; os dados da lipoperoxidação (TBARS) foram comparados usando Kruskal-Wallis seguido do teste de Dunn, uma vez que esses dados apresentaram uma distribuição não paramétrica, sendo expressos como mediana e intervalo interquartil.

No estudo 2 os resultados bioquímicos que seguiram uma distribuição normal (DCFH e TBARS) foram comparados usando um teste ANOVA seguido pelo *post hoc* de Tukey, sendo expressos como média e desvio padrão. Para variáveis não normais (AchE e FRAP), o teste de Kruskal-Wallis foi realizado, seguido do *post hoc* de Dunn; esses dados são expressos como mediana e intervalo interquartil.

No estudo 3, os resultados das análises feitas com CLAE foram comparados pelo teste de Kruskal-Wallis, seguido pelo Teste de Mann-Whitney; os dados são apresentados como mediana e intervalo interquartil.

Para todas as variáveis, em todos os estudos, o nível de significância foi estabelecido em 0,05.

V. Resultados

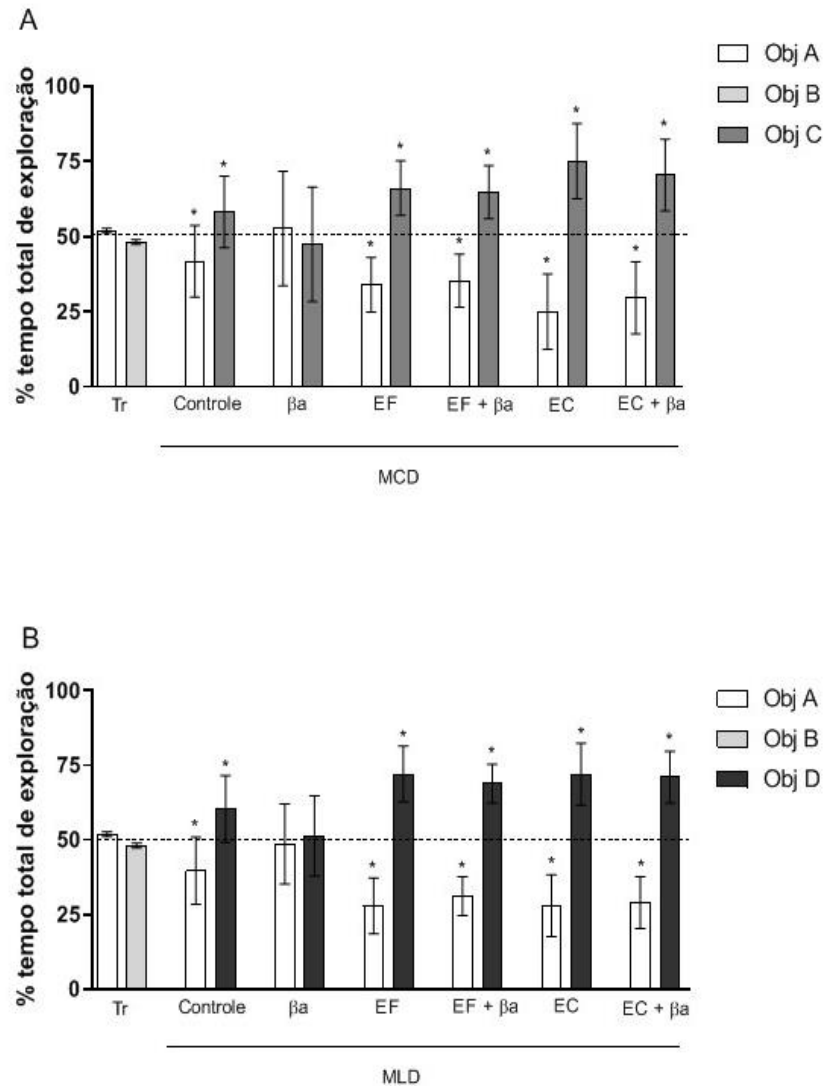
5.1 Estudo 1: Os exercícios físico e o cognitivo são capazes de prevenir os déficits de memória de reconhecimento relacionados à neurotoxicidade induzida pela proteína beta amiloide

Os resultados deste estudo originaram um artigo científico original já publicado na revista *Behavioural Brain Research* (anexo 2).

5.1.1 O EF e o EC previnem os déficits da memória reconhecimento induzidos pela proteína β a

Na sessão de treino na tarefa de RO (Fig. 12, Tr), os animais de todos os grupos exploraram cada objeto (A e B) por uma porcentagem do tempo total de exploração semelhante (nos gráficos os dados estão apresentados como média de todos os grupos: objeto A = $51,50 \pm 4,52\%$, objeto B = $48,50 \pm 4,52\%$; $P > 0,05$ para todos grupos; Controle: $t_{(11)} = 1,24$, $P = 0,24$; β a: $t_{(11)} = 0,45$, $P = 0,66$; EF: $t_{(11)} = 1,17$, $P = 0,27$; EF + β a: $t_{(10)} = 1,05$, $P = 0,32$; EC: $t_{(11)} = 1,75$, $P = 0,11$; EC + β a: $t_{(11)} = 1,59$, $P = 0,14$; Fig. 12A e 12B, tr).

Figura 12. A infusão da proteína β promove déficits de MCD (A) e MLD (B) na tarefa de RO. O EF e o EC realizados durante 4 semanas evitaram esses déficits. O tempo de exploração de cada objeto foi convertido em porcentagem do tempo total de exploração e apresentado como média e DP ($n = 12/\text{grupo}$). Teste t de uma amostra foi utilizado, considerando uma média teórica = 50% (* $P < 0,05$). Tr, treino; MCD, memória de curta duração; MLD, Memória de Longa Duração.



Fonte: Os autores (2019).

No teste da MCD, os animais dos grupos controle, EF e EC passaram mais tempo explorando o novo objeto (Controle: $t_{(11)} = 3,11$, $P = 0,009$; EF: $t_{(11)} = 6,14$, $P = 0,0001$; EC: $t_{(11)} = 7,96$, $P = 0,0001$; Fig. 12A, MCD). O grupo β , no entanto, explorou ambos os objetos igualmente ($t_{(11)} = 0,59$, $P = 0,56$, Fig. 12A, MCD), mostrando que a infusão da proteína β prejudicou a memória de reconhecimento, já que os animais não conseguiram distinguir entre o objeto novo e o familiar. O EF e o EC conseguiram evitar esse dano, pois os grupos EF+ β e EC+ β passaram mais tempo explorando o

novo objeto (EF + β a: $t_{(10)} = 5,52$, $P = 0,003$; EC + β a: $t_{(11)} = 5,91$, $P = 0,001$; Fig. 12A, MCD).

Vinte e quatro horas após o treino, no teste da MLD, os animais dos grupos controle, EF e EC exploraram por mais tempo o novo objeto (Controle: $t_{(11)} = 3,14$, $P = 0,009$; EF: $t_{(11)} = 8,14$, $P = 0,0001$; EC: $t_{(11)} = 7,64$, $P = 0,0001$; Fig. 12B, MLD). O grupo β a, por outro lado, gastou um tempo semelhante explorando os dois objetos ($t_{(11)} = 0,28$, $P = 0,78$, Fig. 12B, MLD), demonstrando mais uma vez, que a proteína β a provoca déficit na memória de reconhecimento, também na MLD. Ambos os tipos de treinamento, EF e EC, conseguiram prevenir esse dano, pois os animais infundidos com a proteína β a que foram submetidos ao EF e EC previamente passaram mais tempo explorando o objeto novo (EF + β a: $t_{(10)} = 9,60$, $P = 0,001$; EC + β a: $t_{(11)} = 8,39$, $P = 0,0001$; Fig. 12B, MLD).

5.1.2 As intervenções, procedimentos cirúrgicos e a infusão da β a não alteraram os parâmetros de controle comportamental avaliados

Os procedimentos realizados no estudo não afetaram o comportamento exploratório e a locomoção dos animais, uma vez que não houve diferenças entre os grupos no número elevações e de cruzamentos, durante os 5 minutos de livre exploração no campo aberto (Tabela 1 - CA). Do mesmo modo, os procedimentos não afetaram o comportamento do tipo ansiedade, pois não foram observadas diferenças entre os grupos no desempenho do labirinto em cruz elevado (Tabela 1 - LCE).

Tabela 1. Os treinamentos de EF e EC, os procedimentos cirúrgicos e a infusão de β a não alteraram a função locomotora e atividade exploratória no campo aberto (CA), e comportamento do tipo ansiedade avaliado por Labirinto em Cruz Elevado (LCE). Os dados são expressos como média \pm DP do número de cruzamentos e elevações (CA; $n = 12$ por grupo), e média \pm DP do percentual de tempo gasto nos braços abertos (LCE; $n = 12$ por grupo) ($P > 0,05$; ANOVA uma via).

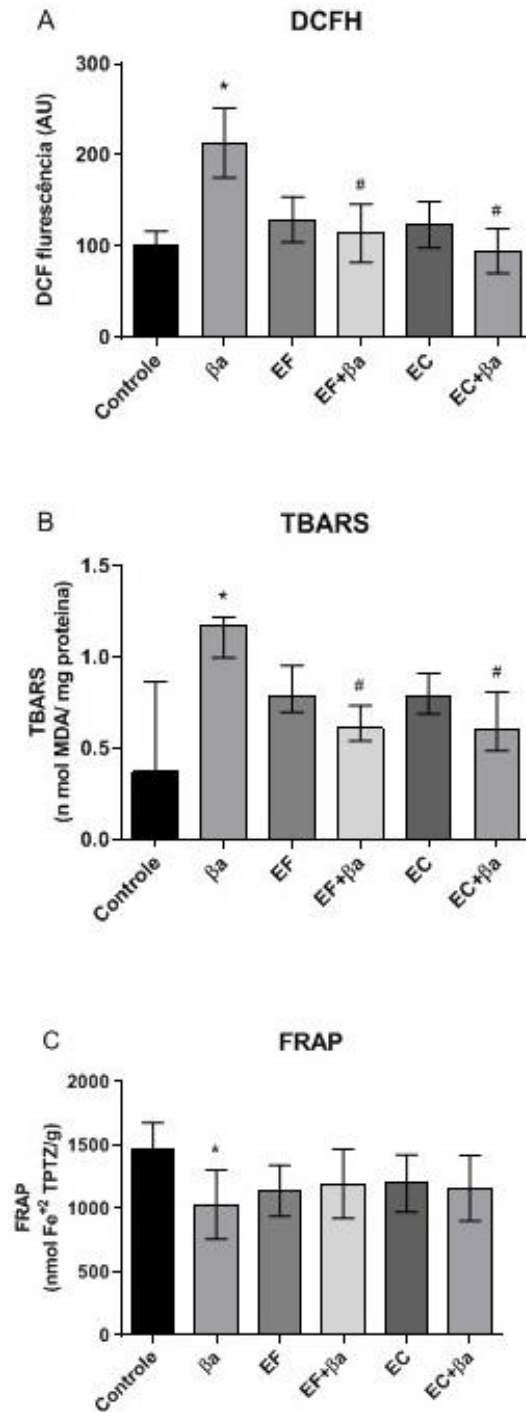
	Controle	β a	EF	EF+ β a	EC	EC+ β a	Valor de P
CA							
Cruzamentos (n)	43.00 \pm 9.51	45.75 \pm 7.92	52.83 \pm 22.61	63.75 \pm 25.30	52.00 \pm 15.55	59.75 \pm 20.19	0.08
Elevações (n)	29.15 \pm 21.12	18.54 \pm 6.57	24.75 \pm 8.77	27.67 \pm 10.12	23.67 \pm 10.02	25.75 \pm 7.96	0.30
LCE							
% Tempo nos braços abertos	21.93 \pm 17.69	26.81 \pm 32.61	31.86 \pm 5.65	28.78 \pm 8.10	34.41 \pm 12.04	39.23 \pm 12.26	0.20

Fonte: Os autores (2019).

5.1.3 A infusão da proteína β provoca danos oxidativos. O EF e o EC previnem o aumento dos níveis de EROs e a peroxidação lipídica

Foram observadas diferenças nos níveis de EROs no hipocampo entre os grupos ($F_{(5,40)} = 17,47$, $P = <0,0001$; Fig. 13A). Os níveis de EROs estavam aumentados no grupo β em comparação com o grupo controle ($t_{(12)} = 7,20$; $P < 0,0001$; Fig. 13A). O EF e o EC foram capazes de impedir o aumento das EROs, uma vez que os grupos EF + β e EC + β apresentaram redução significativa nos níveis de EROs quando comparado ao grupo β ($t_{(13)} = 5,45$; $P = 0,0001$ para EF + β ; $t_{(13)} = 7,26$; $P < 0,0001$ para EC + β ; Fig. 13A).

Figura 13. A infusão intrahipocampal de proteína β promove aumento dos níveis de EROs (DCFH; A) e peroxidação lipídica (TBARS; B) e diminuição da capacidade antioxidante total (FRAP; C). O EF e o EC realizados durante 4 semanas previnem o aumento dos níveis de EROs e a peroxidação lipídica. Os dados são apresentados como média e DP para DCFH (A) e FRAP (C) (ANOVA seguido de teste t) e como mediana e intervalo interquartil para TBARS (B) (teste de Kruskal-Wallis seguido pelo teste de Mann-Whitney) (* $P < 0,05$, comparado ao controle. # $P < 0,05$, comparado com grupo β).



Fonte: Os autores (2019).

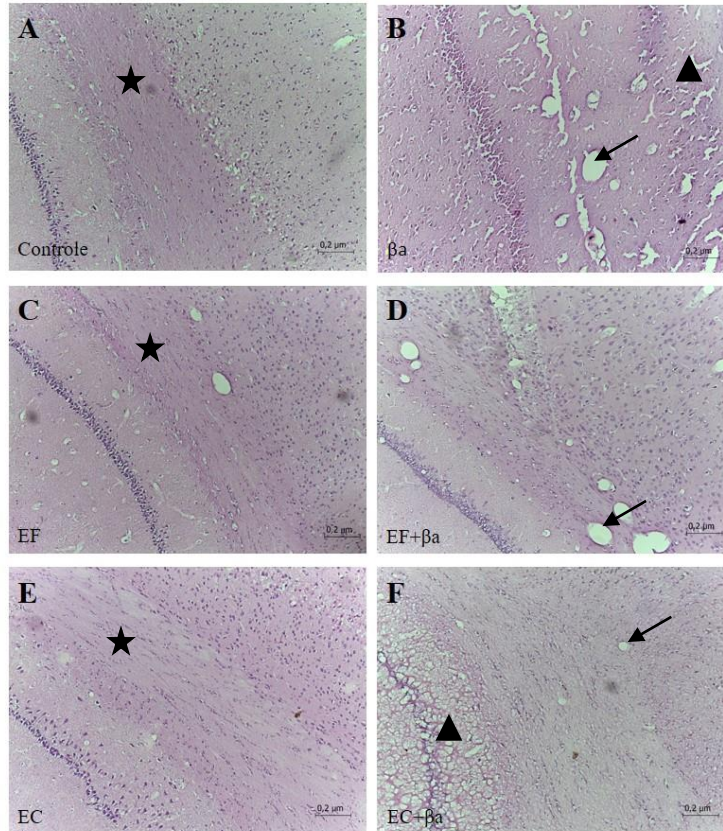
Na peroxidação lipídica hipocampal [isto é, substância reativa ao ácido tiobarbitúrico (TBARS)] foram encontradas diferenças entre os grupos ($P = 0,002$, $H_{(6)} = 18,46$; Fig. 13B). A infusão de βa aumentou a peroxidação lipídica hipocampal em comparação com o grupo controle ($U = 2,000$, $P = 0,0023$). Os animais βa submetidos ao EF ou ao EC apresentaram menor peroxidação lipídica comparados ao grupo βa que não foi submetido a nenhuma intervenção ($U = 4,00$, $P = 0,004$ para EF + βa ; $U = 5,00$, $P = 0,006$ para EC + βa ; Fig. 13B).

A capacidade antioxidante total foi avaliada pela FRAP, e foram encontradas diferenças entre os grupos ($F_{(5,40)} = 2,52$, $P = 0,04$; Fig. 13C). Uma diminuição significativa foi observada no grupo βa quando comparado ao grupo controle ($t_{(12)} = 3,34$, $P = 0,006$; Fig. 13C). Não houve diferenças significativas na capacidade antioxidante total no hipocampo nos grupos de intervenção em comparação ao grupo βa ($t_{(13)} = 1,16$; $P = 0,26$ para EF + βa ; $t_{(13)} = 0,94$; $P = 0,36$ para EC + βa ; Fig. 13C).

5.1.4 O EF e o EC evitam a desorganização morfológica do hipocampo causados pela neurotoxicidade induzida pela proteína βa

Os resultados da análise histológicas das lâminas coradas com HE mostraram que os neurônios da região CA1 no hipocampo do grupo controle (Fig. 14A) apresentaram-se de maneira organizada com estrutura morfológica normal. Por outro lado, o grupo βa (Fig. 14B) apresentou desorganização hipocampal evidente, formando estruturas como vacúolos. Os treinamentos com o EF e com o EC evitaram, ao menos em parte, a desorganização celular causada pela infusão de βa (Fig. 14D e 14F). Os grupos submetidos aos treinamentos de EF e de EC mantiveram a organização tecidual característica do hipocampo (Fig. 14C e 14E).

Figura 14. A infusão de β a promove desorganização morfológica no tecido hipocampal (B) e o EF e o EC evitam os danos causados pela β a (D e F). Lâminas cerebrais por coloração com HE. As setas apontam os vacúolos; as estrelas apontam a organização do tecido, com células em posição paralela e em camadas; e o triângulo aponta para a atrofia e desorganização tecidual. A: Grupo Controle; B: grupo β a; C: grupo EF; D: EF+ β a, E: EC; F: EC+ β a (coloração HE, x40).



Fonte: Os autores (2019).

5.2 Estudo 2: O exercício físico e o exercício cognitivo são capazes de reverter os déficits de memória em modelo de Doença de Alzheimer relacionado à neurotoxicidade de beta amiloide

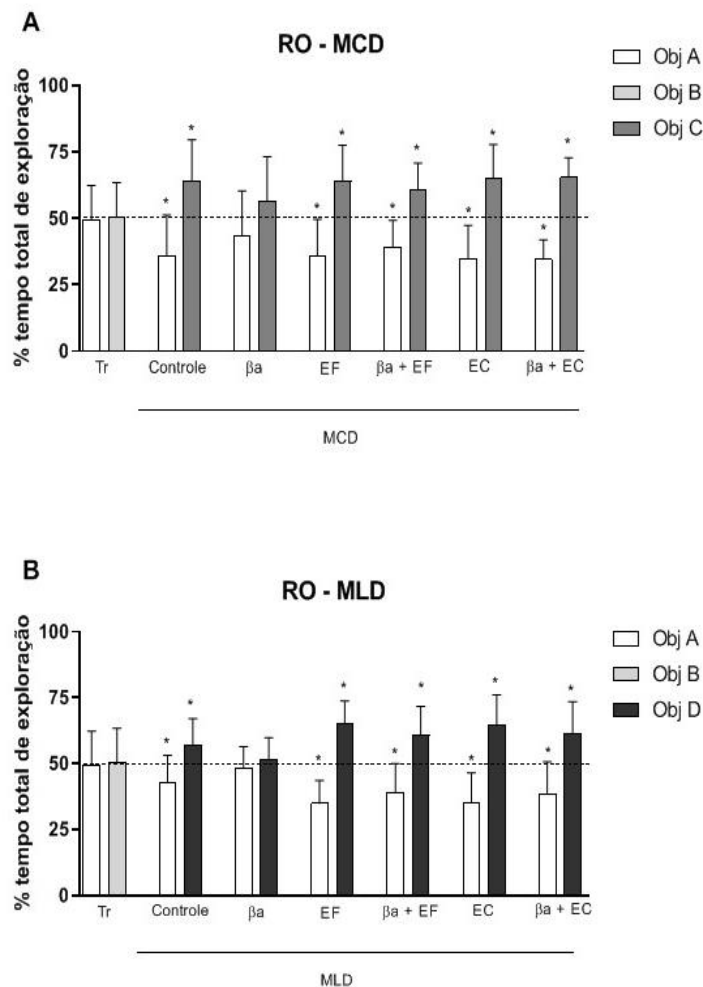
Os resultados deste estudo originaram um manuscrito científico original que está submetido para revisão na revista *Frontiers in Behavioral Neuroscience* (anexo 3).

5.2.1 Memória de reconhecimento de objeto (RO)

Na sessão de treino no RO os animais exploraram cada objeto (A e B) por uma porcentagem do tempo total de exploração semelhante (nos gráficos, os dados estão

apresentados como a média de todos grupos: objeto A = $51,24 \pm 10,75\%$, B = $48,76 \pm 10,75\%$; $P < 0,05$ para todos os grupos; Controle: $t_{(10)} = 2,11$, $P = 0,06$; β a: $t_{(11)} = 1,08$, $P = 0,30$; EF: $t_{(11)} = 0,70$, $P = 0,49$; β a + EF: $t_{(10)} = 1,61$, $P = 0,14$; EC: $t_{(11)} = 0,21$, $P = 0,83$; β a + EC: $t_{(11)} = 1,42$, $P = 0,18$; Fig. 15A e 15B, tr).

Figura 15. A infusão de proteína β no hipocampo promove déficit de memória de RO. O exercício físico e o cognitivo são capazes de reverter o déficit de memória RO causado pela infusão de $A\beta$ no hipocampo. (A) Memória de curta duração (MCD); (B) Memória de longa duração (MLD). * $P < 0,05$; teste t de uma amostra comparado a uma média teórica de 50%). Os dados são apresentados como média \pm DP (n = 11-12/grupo).



Fonte: Os autores (2019).

No teste para avaliação da MCD, os animais do grupo controle passaram um percentual de tempo maior explorando o novo objeto (Controle: $t_{(10)} = 0,30$, $P = 0,0127$; Fig. 15A), demonstrando que lembraram do objeto familiar. O mesmo foi observado nos grupos EF e EC, que passaram mais tempo explorando o novo objeto (EF: $t_{(11)} = 3,56$, $P = 0,0045$; EC: $t_{(11)} = 4,18$, $P = 0,0015$; Fig. 15A). A infusão da β a prejudicou a

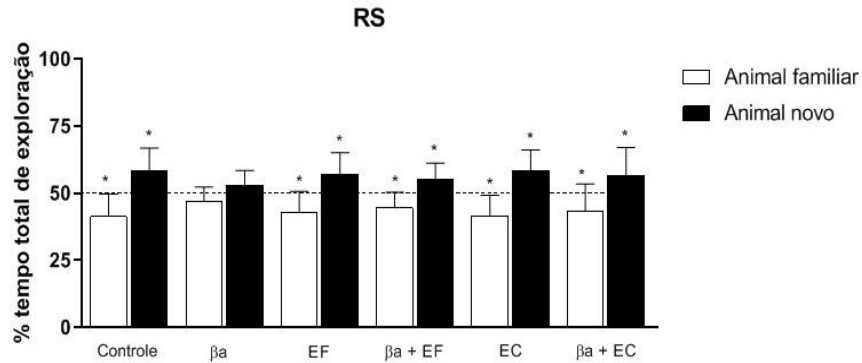
MCD, já que os animais gastaram um percentual de tempo semelhante explorando os objetos familiar e novo (βa : $t_{(11)} = 1,32$, $P = 0,21$, figura 15A). As 4 semanas de tratamento revertem os déficits causados pela neurotoxicidade induzida pela βa ; os animais submetidos à infusão de βa que foram treinados com EF ou EC foram capazes de formar MCD, ou seja, eles exploraram mais de 50% do tempo total de exploração o novo objeto ($\beta a + EF$: $t_{(10)} = 3,59$, $P = 0,0049$; $\beta a + EC$: $t_{(11)} = 7,22$, $P = 0,001$, Fig. 15A).

Na avaliação da MLD, vinte e quatro horas após o treino, os animais dos grupos Controle, EF e EC exploraram o objeto novo por um percentual de tempo maior (Controle: $t_{(10)} = 2,28$, $P = 0,04$; EF: $t_{(11)} = 6,08$, $P = 0,0001$; EC: $t_{(11)} = 4,54$, $P = 0,0008$; MLD, Fig. 15B). Os animais do grupo βa apresentaram comprometimento na MLD, uma vez que passaram cerca de 50% do tempo total de exploração em cada objeto (MLD; βa : $t_{(11)} = 0,74$, $P = 0,47$, Fig. 15B). O EF e o EC conseguiram reverter o dano induzido pela proteína βa , uma vez que os grupos $\beta a + EF$ e $\beta a + EC$ gastaram mais de 50% do tempo total de exploração explorando o novo objeto ($\beta a + EF$: $t_{(10)} = 3,34$, $P = 0,0075$; $\beta a + EC$: $t_{(11)} = 3,28$, $P = 0,007$, Fig. 15B).

5.2.2 Memória de reconhecimento social (RS)

No teste da memória de RS, os animais Controle, EF e EC exploraram o novo rato por maior porcentagem de tempo que o familiar (Controle: $t_{(10)} = 3,43$, $P = 0,0064$; EF: $t_{(11)} = 3,19$, $P = 0,0098$; CE: $t_{(11)} = 3,77$, $P = 0,0031$; Fig. 16). Os animais do grupo βa , no entanto, exploraram aproximadamente 50% do tempo total de exploração cada rato (βa : $t_{(11)} = 1,97$, $P = 0,07$), não conseguindo distinguir entre o rato novo e o familiar. O EF e o EC revertem o efeito deletério da proteína βa na memória de RS, uma vez que os animais tratados gastaram mais de 50% do tempo total de exploração explorando o novo rato ($\beta a + EF$: $t_{(10)} = 3,11$, $P = 0,011$; $\beta a + EC$: $t_{(11)} = 2,29$, $P = 0,042$, Fig. 16).

Figura 16. A infusão de proteína β no hipocampo promove déficit de memória de RS. O exercício físico e o cognitivo são capazes de reverter o déficit de memória de RS causado pela infusão de $A\beta$ no hipocampo. * $P < 0,05$; Teste t de uma amostra (comparado com uma média teórica de 50%). Os dados são apresentados como média \pm DP (n = 11-12/grupo).



Fonte: Os autores (2019).

5.2.3 Testes de controle comportamental

Não houve diferenças entre os grupos no número de elevações ($F_{(5,64)} = 1,171$; $P = 0,33$; tabela 2) e cruzamentos ($F_{(5,64)} = 3,297$; $P = 0,36$; tabela 2) durante a sessão de exploração no CA, mostrando que o tratamento e a cirurgia não afetaram o comportamento exploratório e a atividade locomotora dos animais.

Tabela 2. Diferentes procedimentos de treinamento e a cirurgia estereotaxica não alteraram as características locomotora e exploratória no campo aberto (CA) e o comportamento de ansiedade avaliado no Labirinto em Cruz Elevado (LCE). Os dados são expressos em média \pm DP do número de cruzamentos e elevações no CA e da porcentagem de tempo gasto nos braços abertos no LCE (n = 12 por grupo) ($P > 0,05$; ANOVA uma via).

	Controle	β a	EF	β a + EF	EC	β a + EC	Valor de P
CA							
Elevações (n)	33.4 \pm 9.58	33.2 \pm 6.85	39.4 \pm 12.13	40.4 \pm 10.24	37.6 \pm 7.39	39.0 \pm 11.30	0.33
Cruzamentos (n)	98.5 \pm 27.73	108.0 \pm 16.43	98.9 \pm 18.13	124.2 \pm 24.10	125.3 \pm 20.36	118.0 \pm 17.25	0.09
LCE							
Tempo nos braços abertos (s)	194.9 \pm 45.37	221.1 \pm 41.07	200.6 \pm 32.36	197.5 \pm 48.16	213.8 \pm 37.74	211.7 \pm 39.56	0.58

Fonte: Os autores (2019).

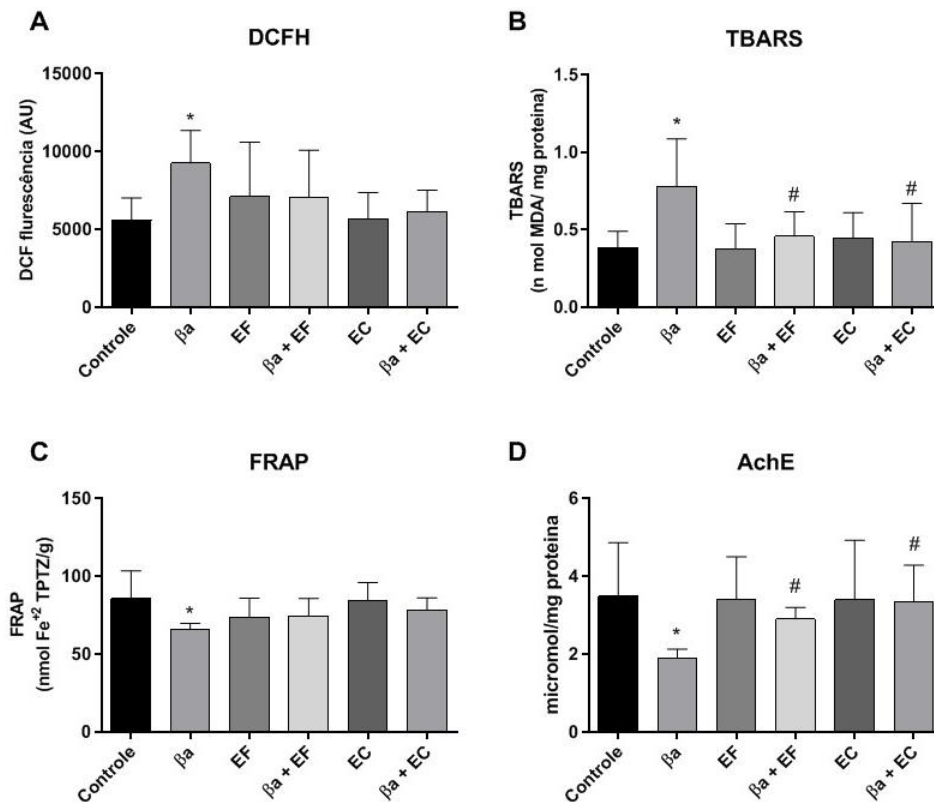
Da mesma forma, os procedimentos não afetaram o comportamento do tipo ansiedade, uma vez que não foram observadas diferenças entre os grupos no teste de LCE ($F_{(5,64)} = 0,7539$; $P = 0,58$; tabela 2).

Esses dados são importantes, pois garantem que os resultados observados nas tarefas de memória estão relacionados aos procedimentos que influenciam na aprendizagem e na memória e não outras alterações comportamentais.

5.2.4 Análises Bioquímicas

Encontramos diferenças entre os grupos nos níveis de EROs, medidos por DCFH ($F_{(5,42)} = 2,767$, $P = 0,03$, Fig. 17A). Os animais β a apresentaram níveis mais altos de EROs em comparação ao grupo controle ($P = 0,033$, Fig. 17A). Nenhuma diferença significativa nos níveis de EROs hipocampal foi observada nos demais grupos.

Figura 17. A infusão hipocampal da proteína β a promove aumento das EROs (DCFH, A) e aumento da peroxidação lipídica (TBARS, B) e diminui a capacidade antioxidante total (C) e a atividade da acetilcolinesterase (D). O EF e o EC realizados durante 4 semanas reverteram as alterações da peroxidação lipídica (B) e da atividade da AchE (D). Os dados de EROs (DCFH, A) e TBARS (B) são apresentados como média e DP e foram analisados por ANOVA seguido pelo teste de Tukey. Os dados de FRAP (C) e AchE (D) são apresentados como mediana e intervalo interquartil e foram analisados pelo teste de Kruskal-Wallis seguido pelo teste de Dunn. * $P < 0,05$, comparado ao controle. # $P < 0,05$, em comparação com grupo β a.



Fonte: Os autores (2019).

A peroxidação lipídica do hipocampo (TBARS) apresentou diferenças entre os grupos ($F_{(5,42)} = 4,464$, $P = 0,002$, Fig. 17B). A infusão de proteína β a aumentou a peroxidação lipídica em comparação com o grupo controle ($P = 0,004$, Fig. 17B). O EF e o EC foram capazes de reverter a peroxidação lipídica aumentada induzida por β a ($P = 0,031$ para β a vs. β a + EF; $P = 0,012$ para β a vs. β a + EC; Fig. 17B).

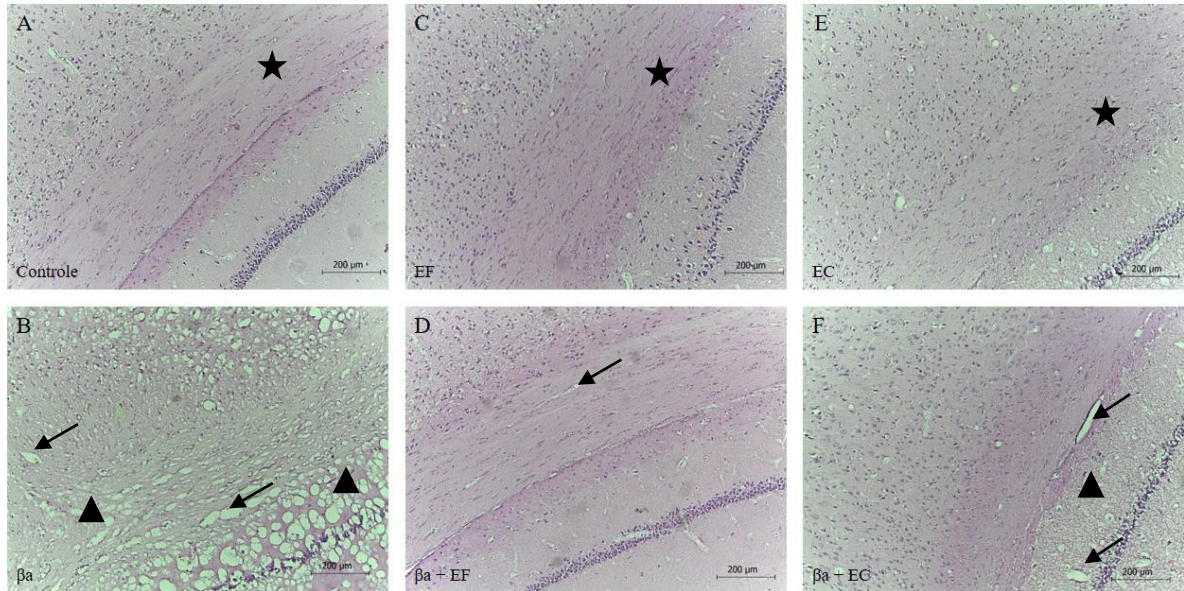
Diferenças na capacidade antioxidante total (medida através da FRAP) foram observadas entre os grupos ($H_{(6)} = 16,44$, $P = 0,0057$, Fig. 17C). A infusão de β a resultou em menor capacidade antioxidante total que o grupo controle ($P = 0,0144$; Fig. 17C). Não foram observadas diferenças significativas entre os outros grupos.

A atividade da acetilcolinesterase (AChE) foi diferente entre os grupos ($H_{(6)} = 18,70$, $P = 0,0022$, Fig. 17D). Os animais infundidos com β a apresentaram diminuição da atividade de acetilcolinesterase comparado ao grupo controle ($P = 0,0080$, Fig. 17D). Ratos β a submetidos ao EF ou ao EC apresentaram maior atividade da AChE do que os ratos β a não submetidos a nenhuma intervenção ($P = 0,0321$ para β a vs. β a + EF; $P = 0,0092$ para β a vs. β a + EC; Fig. 17D).

5.2.5 Análise histológica

Diferenças morfológicas no tecido hipocampal foram observadas entre os grupos. O grupo controle apresentou morfologia normal com organização padrão do tecido (Fig. 18A). Os grupos submetidos ao EF e ao EC apresentaram estrutura morfológica normal, semelhante ao grupo controle (Fig. 18C e 18E).

Figura 18. A infusão de β a promoveu desorganização do tecido hipocampal (B). EF (D) e EC (F) melhoraram a morfologia do tecido nos animais infundidos com β a. Cortes histológicos cerebrais corados por HE (ampliação de 10x). As setas apontam os vacúolos; as estrelas apontam a organização do tecido, com células em posição paralela e em camadas; e o triângulo aponta para a atrofia e desorganização tecidual. A: grupo controle; B: grupo β a; C: grupo EF; D: β a + EF; E: grupo EC; F: β a + EC.



Fonte: Os autores (2019).

A infusão de β a promoveu a formação de estruturas semelhantes a vacúolos, com desorganização tecidual significativa e uma clara perda de tecido neuronal (Fig. 18B). Os animais β a tratados com EF e EC demonstraram melhora na organização do tecido hipocampal previamente alterada pela infusão de β a (Fig. 18D e 18F).

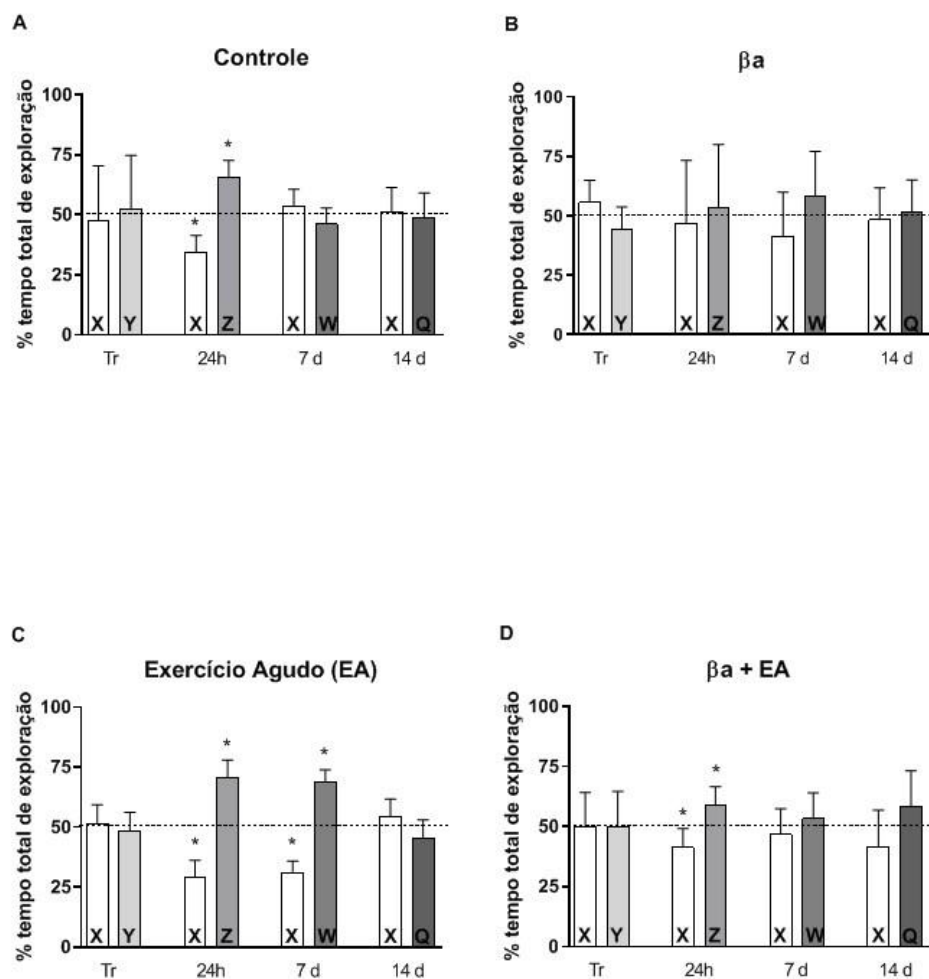
5.3 Estudo 3: Uma sessão de exercício físico realizada logo após a aprendizagem de uma tarefa pode promover a aprendizagem em ratos com déficits cognitivos relacionados à neurotoxicidade de beta amiloide

Os resultados deste estudo originaram um manuscrito científico original que está publicado na revisão na revista *Brain Research* (anexo 4).

5.3.1 Uma única sessão de exercício agudo foi capaz de promover a memória de reconhecimento em animais com déficits cognitivos relacionados à neurotoxicidade de A β

No treino na tarefa de RO, todos os animais exploraram os dois objetos por um tempo semelhante (Fig. 19A-D/tr: $t_{(7)} = 0,2751$, $P = 0,7912$ para controle; $t_{(11)} = 2,077$, $P = 0,0621$ para βa ; $t_{(7)} = 0,5965$, $P = 0,5696$ para EA; $t_{(11)} = 0,05821$, $P = 0,9546$ para $\beta a + EA$).

Figura 19. Uma sessão de exercício agudo realizada após o aprendizado é capaz de promover a persistência da memória em animais controle e a consolidação da memória em animais com déficits cognitivos causados pela neurotoxicidade da βa . Imediatamente após a tarefa de aprendizagem (treino RO), os animais dos grupos EA e $\beta a + EA$ foram submetidos a uma única sessão de exercício aeróbico (corrida em esteira). Os testes de RO foram realizados 24h, 7 dias e 14 dias após o treino, quando um dos objetos foi removido e substituído por um novo (Z, W ou Q). Os dados foram comparados por Teste t de uma amostra, considerando uma média teórica de 50%, e estão apresentados como média \pm DP; * $P < 0,05$ ($n = 8-12$ / grupo).



Fonte: Os autores (2020).

No teste de 24 horas, os animais do grupo controle exploraram significativamente mais de 50% do tempo total da exploração o novo objeto, o que era esperado e denota aprendizado ($t_{(7)} = 6,23$, $P = 0,0004$, Fig. 19A). Embora nos testes de persistência essas diferenças não tenham sido observadas ($t_{(7)} = 1,63$, $P = 0,15$ para 7d; $t_{(7)} = 0,31$, $P = 0,77$ para 14d; Fig. 19A). Como esperado, os animais submetidos à infusão de β a apresentaram déficits na memória de longo prazo, não sendo capazes de diferenciar entre o objeto novo e o familiar, em nenhum dos testes ($t_{(11)} = 0,43$, $P = 0,67$ para 24h; $t_{(11)} = 1,59$, $P = 0,14$ para 7d; $t_{(11)} = 0,45$, $P = 0,66$ para 14d; Fig. 19B).

Os animais do grupo EA apresentaram consolidação da memória no teste de 24 horas ($t_{(7)} = 8,42$, $P < 0,0001$, Fig. 19C) e persistência da memória por até 7 dias ($t_{(7)} = 11,03$, $P < 0,0001$; Fig. 19C), mas não no teste de 14 dias ($t_{(7)} = 1,67$, $P = 0,14$; Fig. 19C). Os animais que receberam infusão de β a e foram submetidos à sessão de exercício agudo (β a + EA) foram capazes de consolidar a memória ($t_{(11)} = 3,81$, $P = 0,002$; Fig. 19D), sem persistência ($t_{(11)} = 1,06$, $P = 0,31$ para 7d; $t_{(11)} = 1,88$, $P = 0,09$ para 14d; Fig. 19D).

5.3.2 Testes de controle comportamental

A infusão intrahipocampal de β a e o exercício agudo não afetaram a capacidade locomotora no campo aberto (Tabela 3 – CA) e o comportamento exploratório durante os 5 minutos de exploração livre nas sessões de treino e testes da tarefa de reconhecimento de objeto (Tabela 3 - RO).

Tabela 3. A infusão de β a ou solução salina e o exercício agudo não alteram a atividade locomotora e exploratória, nem o comportamento de ansiedade. Os dados estão expressos como média (\pm DP) do número de cruzamentos no Campo Aberto (CA), do tempo total de exploração em todas as sessões do RO, e do número de entradas e tempo gasto nos braços abertos durante o teste no Labirinto em cruz elevado (LCE) (n = 8-12/grupo) (P > 0,05; ANOVA unidirecional).

	Controle	β a	EA	β a + EA	Valor de P
CA					
Cruzamentos (n)	51.00 \pm 25.60	36.80 \pm 14.72	64.80 \pm 28.65	66.17 \pm 31.35	0.27
Tempo total de exploração no RO (s)					
Treino	35.00 \pm 12.57	28.33 \pm 9.87	39.50 \pm 17.52	36.50 \pm 18.60	0.67
Teste 24h	37.00 \pm 11.94	18.50 \pm 10.48	35.75 \pm 15.44	39.17 \pm 17.97	0.09
Teste 7d	27.10 \pm 10.80	28.00 \pm 16.91	22.25 \pm 12.61	13.00 \pm 5.44	0.38
Teste 14d	19.50 \pm 14.06	15.50 \pm 6.68	21.25 \pm 11.79	15.83 \pm 9.70	0.78
LCE					
Entradas nos braços abertos (n)	4.25 \pm 2.19	3.25 \pm 2.66	4.00 \pm 3.78	5.75 \pm 0.88	0.41
Tempo nos braços abertos (s)	167.0 \pm 50.50	222.8 \pm 68.50	196.3 \pm 65.07	144.8 \pm 14.19	0.11

Fonte: Os autores (2020).

Da mesma forma, as intervenções não causaram efeitos no número total de entradas e no tempo gasto nos braços abertos durante a sessão de labirinto em cruz elevado, denotando que não alteram o comportamento tipo ansiedade (Tabela 3 – LCE).

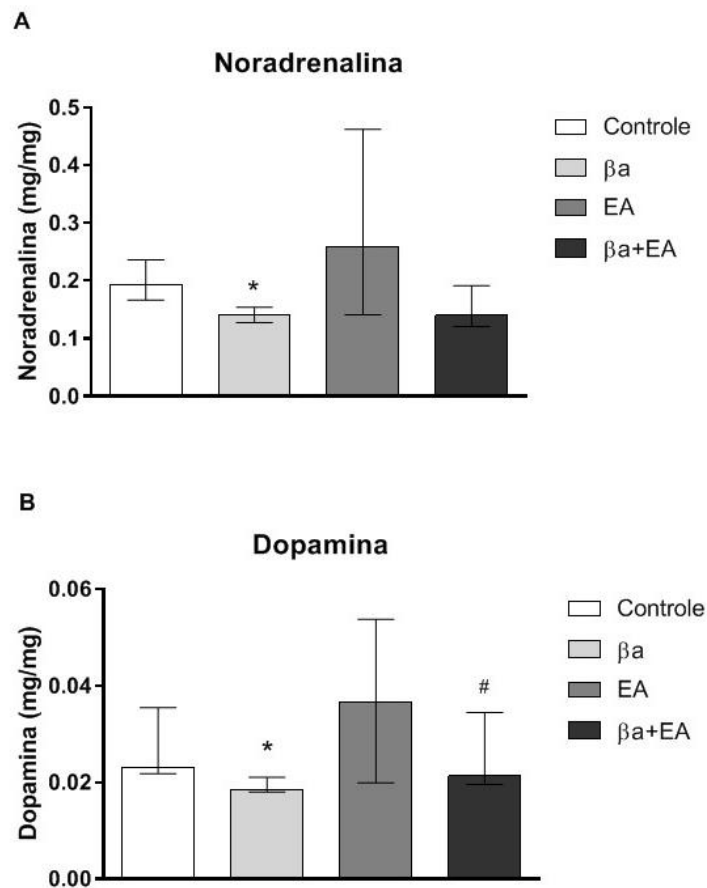
5.3.3 Níveis de noradrenalina e dopamina

Para testar nossa hipótese de que uma sessão de exercício físico aeróbico atuou através do aumento dos níveis de noradrenalina (NE) e dopamina (DOPA), o que influenciaria a consolidação e persistência da memória, medimos os níveis hipocampais desses neurotransmissores por CLAE.

Como ilustrado na figura 20, os animais submetidos à infusão de β a apresentaram diminuição dos níveis de NE e DOPA comparados ao controle (NE: U = 0, P < 0,0001; DOPA: U = 0, P < 0,0001). O EA não conseguiu aumentar os níveis de NE nos animais infundidos com β a comparados ao grupo β a (U = 54, P > 0,999, Fig. 20A). No entanto, esses animais (β a+EA) apresentaram níveis significativamente

mais elevados de dopamina do que o A β animais sem intervenção (U = 18, P = 0,011, Fig. 20B).

Figura 20. O exercício agudo aumenta os níveis hipocampais de dopamina em animais submetidos à neurotoxicidade induzida pela β a. Os animais foram treinados no EA imediatamente após o aprendizado. Após uma única sessão de EA, os hipocampus foram preparados para a medida dos níveis de NE e DOPA por CLAE. Os dados foram comparados pelo teste de Kruskal-Wallis seguido pelo teste de Mann-Whitney; * P < 0,05, comparado ao grupo controle; # P < 0,05, comparado ao grupo β a. Os dados estão apresentados como mediana com intervalo interquartil; n = 4 por grupo, analisado em triplicata.



Fonte: Os autores (2020).

VI. Discussão

O primeiro estudo que compõe esta tese examinou o efeito potencial da prática do exercício físico e do exercício cognitivo durante a vida adulta na prevenção dos déficits na memória de reconhecimento e do estresse e dano oxidativo causados pela neurotoxicidade induzida por β a em um modelo animal usado para estudar a DA. A principal novidade deste estudo é que o treinamento cognitivo apresentou potencial para proteger a memória da neurotoxicidade induzida pela β a de maneira semelhante ao exercício físico, considerando os parâmetros aqui estudados. Sabe-se que intervenções cognitivas podem também influenciar os níveis de BDNF e a plasticidade cerebral (KENNEDY; HARDMAN; MACPHERSON; SCHOLEY *et al.*, 2017), mas de acordo com nosso conhecimento, este é o primeiro relatado na literatura de efeitos do exercício cognitivo no equilíbrio oxidativo do hipocampo.

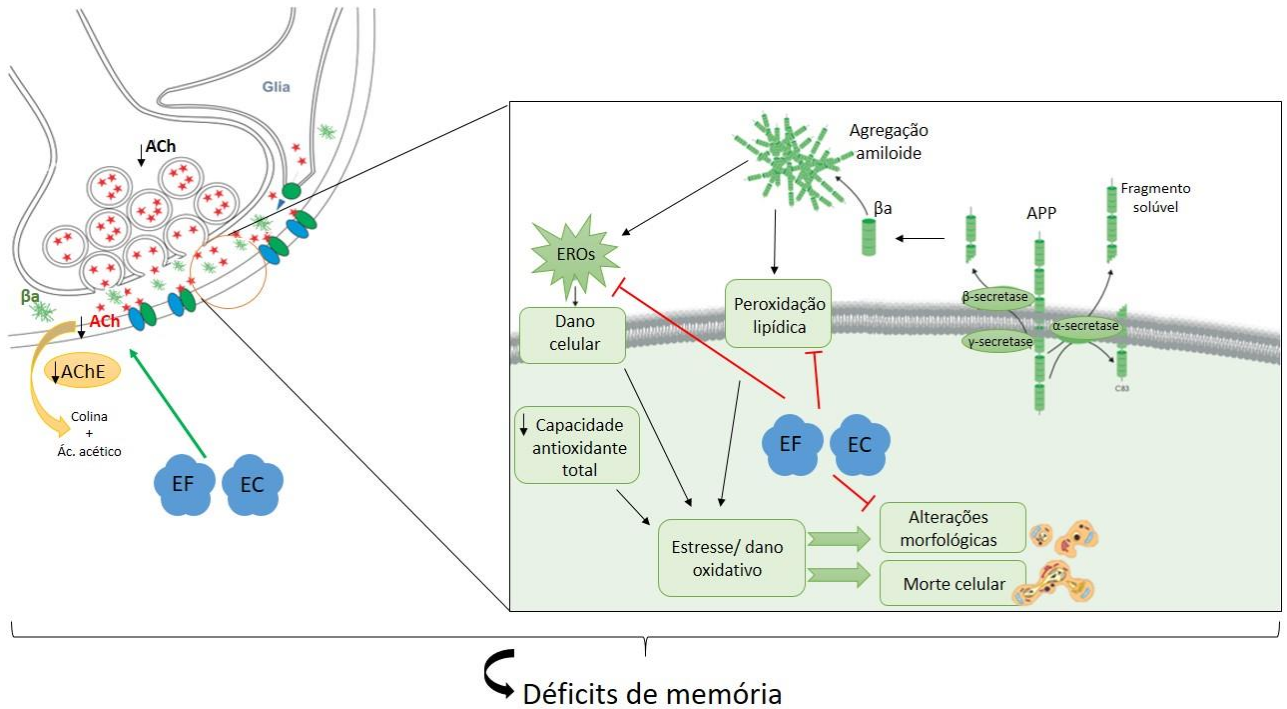
Os resultados do segundo estudo, por sua vez, mostraram que os exercícios físico e cognitivo também são capazes de recuperar os déficits de memória de reconhecimento, diminuindo a peroxidação lipídica e melhorando a atividade da acetilcolinesterase, ambos alterados pela neurotoxicidade induzida pela β a. Além disso, o EF e o EC promoveram uma melhora da organização da morfologia do tecido hipocampal, que é alterada após a infusão de β a. A principal diferença entre este e o primeiro estudo é que, no primeiro promovemos treinamento previamente à indução da neurotoxicidade, demonstrando efeitos protetores dos exercícios estudados, enquanto no segundo realizamos os treinamentos após a injúria, demonstrando efeitos terapêuticos dos exercícios estudados.

Por fim, no terceiro estudo investigamos o potencial do uso do exercício físico como modulador da memória. Nós investigamos os efeitos de uma única sessão de exercício aeróbico (corrida em esteira) realizada após uma aprendizagem na consolidação e persistência da memória. Nossos resultados demonstraram que o exercício agudo é capaz de modular o aprendizado, promovendo a melhoria da memória. Nos animais controles essa melhora foi expressa pela persistência da memória por sete dias, enquanto geralmente não persiste por mais de 24h; já em animais com déficits cognitivos relacionados à neurotoxicidade induzida pela β a, essa melhora foi expressa pela consolidação da memória, o que não ocorreu nos animais β a não submetidos à sessão de exercício.

Existem fortes evidências correlacionais de que o exercício físico reduz o risco de demência e DA em pacientes idosos (WANG; HOLSINGER, 2018). Estudos anteriores usando o mesmo modelo de DA que o nosso já demonstraram efeitos positivos do EF (KHODADADI; GHARAKHANLOU; NAGHDI; SALIMI *et al.*, 2018; KLEIN; HOPPE; SACCOMORI; DOS SANTOS *et al.*, 2019; PRADO LIMA; SCHIMIDT; GARCIA; DARE *et al.*, 2018). Recentemente, duas metanálises demonstraram que a atividade física regular está associada a uma redução de 30 a 40% no risco de desenvolver DA, quando comparada a indivíduos sedentários (AARSLAND; SARDAHAEE; ANDERSEN; BALLARD, 2010; WILLIAMS; PLASSMAN; BURKE; BENJAMIN, 2010). Neste trabalho, o exercício físico melhorou a MCD e MLD, tanto quando utilizado na prevenção como quando utilizado no tratamento dos déficits cognitivos causados pela β a.

Muitos mecanismos podem explicar a neuroproteção induzida pelo exercício físico aeróbico. Um deles é a influência do EF no estresse oxidativo (Figura 21). Aqui, quando realizado previamente à infusão da β a, o EF atuou diminuindo os níveis de EROs e o dano oxidativo (peroxidação lipídica). Quando realizado após a neurotoxicidade induzida pela β a, o EF também reverteu o estresse oxidativo e as alterações na atividade da AChE, esta última não mensurada no estudo 1 por questões de viabilidade técnica. Além da modulação do equilíbrio oxidativo e transmissão colinérgica, outros mecanismos induzidos pelo exercício já relatados na literatura parecem promover efeitos benéficos ao cérebro, incluindo neurogênese, plasticidade sináptica, aumento da produção de BDNF, que promove a sinaptogênese, aumento no fluxo sanguíneo cerebral, melhora na função cognitiva e aumento do volume cerebral (TARI; NOREVIK; SCRIMGEOUR; KOBRO-FLATMOEN *et al.*, 2019; VAYNMAN; YING; GOMEZ-PINILLA, 2004). Dentre os diversos mecanismos citados, a regulação positiva do BDNF é considerada um elemento crucial pelo qual a atividade física melhora a cognição (WANG; HOLSINGER, 2018). Assim, estes outros mecanismos, embora não investigados neste estudo, podem estar envolvidos nos efeitos do EF aeróbico.

Figura 21. Representação esquemática resumindo os efeitos neuroprotetores do EF e do EC demonstrados nos estudos 1 e 2. O modelo de DA utilizado baseado na infusão dos peptídeos β a desencadeia estresse oxidativo (aumento de EROs e da peroxidação lipídica, além da redução da capacidade antioxidante total) que leva à morte neuronal e alterações morfológicas. O peptídeo β a também provoca alterações colinérgicas, incluindo mudanças na atividade da acetilcolinesterase (AChE). Este conjunto de alterações promove déficits de memória. O EF e o EC são capazes de atuar na disfunção colinérgica, na redução dos níveis de EROs e peroxidação lipídica, minimizando as alterações morfológicas hipocampais e protegendo contra os déficits de memória.



Fonte: Os autores (2020).

De qualquer forma, sabe-se que o tempo e as condições físicas muitas vezes são fatores limitantes para a adoção da prática regular de exercício físico. Assim, a investigação de outras estratégias para minimizar os déficits de memória relacionados às demências e DA é indispensável. Algumas evidências mais recentes têm apontado para os efeitos do treinamento cognitivo na memória (HEISZ; CLARK; BONIN; PAOLUCCI *et al.*, 2017; HILL; MOWSZOWSKI; NAISMITH; CHADWICK *et al.*, 2017; KALLIO; OHMAN; KAUTIAINEN; HIETANEN *et al.*, 2017; TREBBASTONI; IMBRIANO; PODDA; RENDACE *et al.*, 2018), de forma que, nesta tese, nos interessamos em verificar se um protocolo de exercício cognitivo poderia ter efeitos semelhantes aos do exercício físico no que diz respeito à memória, e se o exercício cognitivo poderia influenciar o equilíbrio oxidativo e a transmissão colinérgica hipocampal.

Há evidências clínicas significativas para apoiar a eficácia dos exercícios cognitivos para manutenção da cognição (CUI; LIN; SHENG; ZHANG *et al.*, 2018), mas são encontradas poucas evidências sobre os possíveis mecanismos de ação envolvidos. Acredita-se que o treinamento cognitivo possa ajudar a estabilizar, recuperar, e/ou compensar perdas funcionais e estruturais na conectividade cerebral devido aos processos patológicos em andamento (DE WIT; O'SHEA; CHANDLER; BHASKAR *et al.*, 2018). Em geral, esse tipo de intervenção não tem como objetivo influenciar os mecanismos fisiopatológicos subjacentes, mas manter a função cerebral cognitiva por maior tempo possível, à medida que a doença progride, reduzindo a incapacidade e melhorando a qualidade de vida dos pacientes (ZUCHELLA; SINFORIANI; TAMBURIN; FEDERICO *et al.*, 2018). Surpreendentemente, em nossos experimentos mostramos que o exercício cognitivo também é capaz de proteger e recuperar a memória de reconhecimento, promovendo a consolidação das MCD e MLD na tarefa de RO, evitando ou tratando déficits cognitivos relacionados à neurotoxicidade induzida pela β a. No entanto, considerando nossos resultados, apesar deste possível efeito na conectividade cerebral, um dos mecanismos que parece estar envolvido nos efeitos do EC é a proteção contra o estresse oxidativo. O EC, assim como o EF, preveniu e regrediu os níveis de EROs e peroxidação lipídica (Figura 21).

Existem evidências substanciais de que o estresse oxidativo induzido pela produção de EROs, combinado com a baixa capacidade antioxidante das células nervosas, desempenha um papel importante na DA (ROJAS-GUTIERREZ; MUNOZ-ARENAS; TREVINO; ESPINOSA *et al.*, 2017). Aqui, a infusão de β a no hipocampo promoveu estresse oxidativo (isto é, aumento dos níveis de EROs/DCFH e da peroxidação lipídica/TBARS) e prejudicou a capacidade antioxidante total (diminuição da FRAP), alterando a morfologia do tecido hipocampal e promovendo déficits na memória de curto e longo prazo que mimetizam os descritos na DA.

Embora evidências convincentes incluam o estresse oxidativo dentre os mecanismos moleculares da DA, não há uma terapia antioxidante totalmente eficiente (TONNIES; TRUSHINA, 2017). Contudo, terapias de prevenção e de tratamento que atuem no equilíbrio oxidante-antioxidante podem ser estratégias interessantes. O EF e o EC demonstraram atuar evitando e tratando o aumento dos danos oxidativos relacionados à toxicidade hipocampal da β a. Essa ação antioxidante do EF e do EC pode se basear em várias vias que regulam os processos oxidantes, como na

atividade do superóxido dismutase (SOD), glutathione (GSH), glutathione oxidada, glutathione peroxidase, glutathione reductase e catalase (FINKLER; LICHTENBERG; PINCHUK, 2014). Aqui, avaliamos a atividade antioxidante total por FRAP, com base na redução férrica; observamos que animais β a previamente treinados em EF ou EC não apresentaram redução significativa no FRAP, enquanto os não treinados apresentaram. Já os animais β a que foram submetidos ao EF e EC após os danos da β a, não foram capazes de reestabelecer a capacidade antioxidante, embora nestes últimos, assim como nos primeiros, os níveis de EROs e peroxidação lipídica tenham sido reestabelecidos.

Muitos fatores estão envolvidos no aparecimento e progressão da demência, e muitos deles são modificáveis ou suscetíveis a alterações. Portanto, incentivar a implementação de medidas preventivas ao longo da vida pode ser uma estratégia eficaz para impedir o aumento da DA (MRAKIC-SPOSTA; DI SANTO; FRANCHINI; ARLATI *et al.*, 2018). O objetivo do treinamento cognitivo para os idosos não é o de ensinar novas habilidades de desenvolvimento, mas sim o de manter funções (WINOCUR; CRAIK; LEVINE; ROBERTSON *et al.*, 2007). Assim, uma estimulação intensa por meio de exercícios cognitivos para promover a flexibilidade cognitiva pode contribuir para o estabelecimento de conexões sinápticas hipocámpicas estabilizadas, prevenindo danos cognitivos.

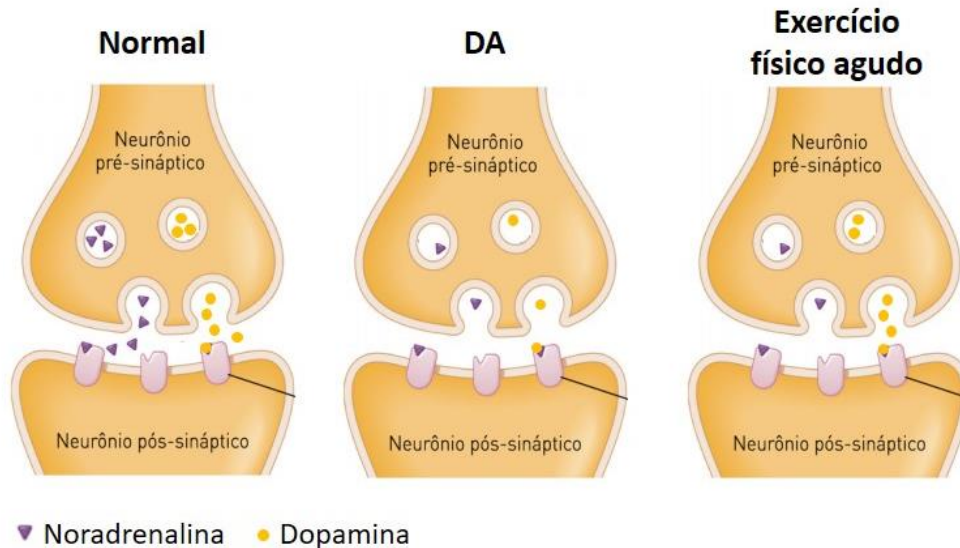
De fato, prevenir parece ser o meio mais eficaz para evitar os danos relacionados a DA. No entanto, também precisamos pensar em formas de tratamento para os casos em que a doença já está estabelecida, e hoje em dia as alternativas são poucas. Como os sintomas da DA começam a aparecer cerca de 20 anos após o aparecimento das alterações fisiopatológicas (KAUSHAL; WANI; BAL; GILL *et al.*, 2019), quando o paciente descobre a doença as alterações neuroquímicas já estão estabelecidas. Na verdade, as terapias medicamentosas para a DA, na melhor das hipóteses, aliviam temporariamente os sintomas e retardam a progressão da doença (HABTEMARIAM, 2019). Assim, estratégias para o tratamento são de fundamental importância. Nós apresentamos duas opções não farmacológicas interessantes que se revelaram eficazes atuando no equilíbrio oxidativo e na função colinérgica. Assim, tanto o EF quanto o EC têm potencial para serem incluídos no tratamento da DA, uma vez que ambas as intervenções podem ser usadas em humanos.

Os efeitos do exercício físico regular na melhora da memória na DA têm sido amplamente demonstrados (CASSILHAS; TUFIK; DE MELLO, 2016; DAO; ZAGAAR;

SALIM; ERIKSEN *et al.*, 2014; ROSSI DARE; GARCIA; ALVES; VENTURA DIAS *et al.*, 2019), inclusive por este trabalho. Por outro lado, as evidências indicando que o exercício agudo desempenha um papel crítico na modulação da cognição, incluindo o aprimoramento dos processos de aprendizado e memória (WINTER; BREITENSTEIN; MOOREN; VOELKER *et al.*, 2007), estão surgindo. Alguns autores acreditam que a prática de exercício físico pode afetar a função cognitiva e motora através de processos neurais, tanto a nível molecular como funcional (EL-SAYES; HARASYM; TURCO; LOCKE *et al.*, 2019; MANG; CAMPBELL; ROSS; BOYD, 2013). Em um estudo anterior do nosso grupo, demonstramos que uma única sessão de exercício aeróbico realizada na janela temporal da consolidação da memória é capaz de melhorar a memória de RO por até 21 dias em animais saudáveis. Além disso, demonstramos que esse efeito é mediado por mecanismos β -adrenérgicos e dopaminérgicos no hipocampo (DA SILVA DE VARGAS; NEVES; ROEHRS; IZQUIERDO *et al.*, 2017).

No presente estudo, verificamos o aumento de NE em animais controle submetidos ao EA, mas apesar da sessão de exercício conseguir reverter os déficits de memória causados pela neurotoxicidade induzida por β_a , não conseguimos verificar nenhum aumento dos níveis de NE no hipocampo dos animais que receberam infusão de β_a (Figura 22). Este efeito pode ser explicado uma vez que a neurotoxicidade induzida por $A\beta$ leva à morte de neurônios noradrenérgicos no hipocampo (BORODOVITSYNA; FLAMINI; CHANDLER, 2017; HAMMERSCHMIDT; KUMMER; TERWEL; MARTINEZ *et al.*, 2013; MOODLEY; CHAN, 2014).

Figura 22. Representação esquemática do papel do exercício físico agudo na modulação da consolidação da memória. As vias dopaminérgicas e noradrenérgicas hipocampais são importantes moduladores da consolidação e persistência da memória, e encontram-se desreguladas na DA. No modelo de infusão de β , ocorre uma diminuição dos níveis de dopamina e noradrenalina hipocampais. O exercício agudo atua aumentando a liberação de dopamina, favorecendo a modulação da consolidação da memória em animais com déficits cognitivos ocasionados pela β .



Fonte: Os autores (2020).

Por outro lado, o EA conseguiu aumentar os níveis de dopamina, tanto nos animais controle quanto nos animais β (Figura 22). O exercício pode atuar promovendo o incremento da liberação de dopamina nas projeções nigroestriatais dorsais e mesolímbicas ventrais durante a sua realização (SACHELI; NEVA; LAKHANI; MURRAY *et al.*, 2019; WINTER; BREITENSTEIN; MOOREN; VOELKER *et al.*, 2007), sendo a realização no período de consolidação, este processo será influenciado (TAKEUCHI; DUSZKIEWICZ; SONNEBORN; SPOONER *et al.*, 2016).

Além disso, o exercício agudo pode promover plasticidade sináptica, modulando diretamente a expressão do receptor de glutamato do tipo AMPA (alfa-amino-3-hidroxi-metil-5-4-isoxazolpropiónico (ou AMPAR - AMPA receptor) na membrana neuronal (VENEZIA; QUINLAN; ROTH, 2017). O aumento da disponibilidade de AMPAR exerce um poderoso controle sobre os limiares de LTP (Potenciação de Longa duração, em inglês, *Long-Term Potentiation*) (HUGANIR; NICOLL, 2013). A fosforilação da subunidade do AMPAR (na subunidade GluR1 na serina 845 - Ser845) por PKA promove a inserção sináptica e diminui a internalização de AMPARs (EHLERS, 2000; OH; DERKACH; GUIRE; SODERLING, 2006). A fosforilação do Ser845 pode, portanto, aumentar a disponibilidade de AMPARs sinápticos e “captura” subsequentes por sinapses adequadamente ativadas e reduzir

o limiar para LTP (KESSELS; MALINOW, 2009). Foi demonstrado que o treinamento físico induz a fosforilação de Ser845 no córtex de roedores após o infarto cortical (MIZUTANI; SONODA; WAKITA; SHIMPO, 2015).

Fatores neurotróficos, incluindo o fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF), também relacionados à plasticidade sináptica e implicadas na potenciação de curto e longo prazo são altamente reguladas após um exercício (TANG; CHU; HUI; HELMESTE *et al.*, 2008). Esse aumento nas catecolaminas e outros fatores, incluindo fatores de crescimento neurotróficos, após o exercício está ligado a uma melhor melhora a curto prazo e sucesso na aprendizagem (WINTER; BREITENSTEIN; MOOREN; VOELKER *et al.*, 2007).

Além da aplicabilidade do EA em jovens em idade escolar, quando o exercício pode ser utilizado como modulador da aprendizagem e assim melhorar o desempenho acadêmico (LABBAN; ETNIER, 2018), implicações importantes também estão relacionadas à potencial utilidade na reabilitação de pacientes (SAGE; BEYER; LAYLOR; LIANG *et al.*, 2016). Adicionalmente, a estratégia do exercício agudo pode ser aplicada junto a população senil, uma vez que os idosos que não conseguem se envolver em atividades de longa duração podem se beneficiar cognitivamente do exercício intensidade moderada por um curto período (SNG; FRITH; LOPRINZI, 2018). A limitada eficácia da terapia farmacológica atual e a preocupação com a segurança de novos medicamentos levam a recomendações de estratégias não farmacológicas que são extremamente importantes para os sintomas comportamentais e psicológicos nas demências (LOI; ERATNE; KELSO; VELAKOULIS *et al.*, 2018).

Por fim, nossos resultados concordam com grande parte da literatura da área, que indica que terapias não farmacológicas podem ser estratégias promissoras na melhora das alterações cognitivas, psicológicas, comportamentais e funcionais na conduta de pacientes com DA e outras demências (FORBES; FORBES; BLAKE; THIESSEN *et al.*, 2015; GARCIA-CASARES; MORENO-LEIVA; GARCIA-ARNES, 2017; ZUCHELLA; SINFORIANI; TAMBURIN; FEDERICO *et al.*, 2018).

VII. Conclusão

O conjunto de resultados apresentados nesta tese confirmam que o EF e o EC realizados ao longo de várias semanas evitam (se realizados antes da infusão de β a) e recuperam (se realizados após da infusão de β a) os déficits na função mnemônica, no equilíbrio oxidativo, na função colinérgica e na morfologia hipocampal relacionados à neurotoxicidade induzida pela proteína β a. O EC e o EF parecem atuar sobre mecanismos de ação semelhantes, pelo menos em relação ao estresse oxidativo, uma vez que outros mecanismos devem estar envolvidos. Portanto, considerando os tipos de memória e os mecanismos investigados neste trabalho, o exercício cognitivo parece ser tão bom quanto o exercício físico para prevenção e tratamento dos déficits de memória relacionados ao estresse oxidativo causado pela β a.

Neste trabalho também propomos a adaptação do Labirinto de Barnes como uma estratégia de treinamento cognitivo, o que se mostrou eficaz na prevenção e na manutenção da memória de curta e de longa duração, já que o EC teve efeitos positivos, conforme mencionado acima.

Nossos resultados também demonstraram que uma única sessão de exercício físico, quando realizada logo após um aprendizado, é capaz de modular a consolidação do mesmo, promovendo a persistência da memória em animais saudáveis e a consolidação da memória em animais com déficits de memória relacionados à neurotoxicidade induzido por β a. A modulação dos níveis de dopamina no hipocampo parece estar relacionada aos efeitos do exercício aeróbico agudo.

Dessa forma, podemos concluir que o uso das estratégias não-farmacológicas aqui estudadas, como o exercício físico regular e agudo, bem como o exercício cognitivo, podem ser alternativas eficazes na complementação dos tratamentos aos pacientes com DA, uma vez que são atividades de fácil acesso, e não limitam a utilização dos tratamentos tradicionais.

VIII. Perspectivas futuras

Após as conclusões aqui levantadas, acreditamos que estudos subsequentes são necessários para elucidar alguns pontos que ainda não estão completamente compreendidos, como: a) investigar os mecanismos adicionais que possam ajudar a explicar os efeitos do EC; b) avaliar os efeitos do EC na persistência da memória; c) investigar se o EC apresenta os mesmos benefícios em outro modelo experimental relacionado à DA; d) investigar outros mecanismos que podem estar envolvidos nos benefícios do exercício agudo em animais com déficits de memória relacionados à neurotoxicidade induzida pela β a; e, e) investigar se a associação do EF e EC poderia potencializar os efeitos observados nas terapias individuais.

Ainda, é importante considerar que, apesar da pesquisa com modelos animais ser fundamental para ajudar os pesquisadores a compreender os mecanismos envolvidos em algumas patologias e possíveis intervenções para promover efeitos preventivos e terapêuticos, é importante que ensaios controlados de longo período sejam conduzidos com humanos para estabelecer sua aplicabilidade clínica.

IX. Referências Bibliográficas

AARSLAND, D.; SARDAHAEE, F. S.; ANDERSSSEN, S.; BALLARD, C. Is physical activity a potential preventive factor for vascular dementia? A systematic review. *Aging Ment Health*, 14, n. 4, p. 386-395, May 2010.

AKIYAMA, H. Inflammatory response in Alzheimer's disease. *Tohoku J Exp Med*, 174, n. 3, p. 295-303, Nov 1994.

ALONSO, A. D.; COHEN, L. S.; CORBO, C.; MOROZOVA, V. *et al.* Hyperphosphorylation of Tau Associates With Changes in Its Function Beyond Microtubule Stability. *Front Cell Neurosci*, 12, p. 338, 2018.

ALZHEIMER'S, A. 2016 Alzheimer's disease facts and figures. *Alzheimers Dement*, 12, n. 4, p. 459-509, Apr 2016.

ALZHEIMER, A.; STELZMANN, R. A.; SCHNITZLEIN, H. N.; MURTAGH, F. R. An English translation of Alzheimer's 1907 paper, "Über eine eigenartige Erkankung der Hirnrinde". *Clin Anat*, 8, n. 6, p. 429-431, 1995.

AMBRÉE, O.; RICHTER, H.; SACHSER, N.; LEWEJOHANN, L. *et al.* Levodopa ameliorates learning and memory deficits in a murine model of Alzheimer's disease. *Neurobiology of aging*, 30, n. 8, p. 1192-1204, 2009.

ANDREATINI, R. A importância dos modelos animais em psiquiatria. *Brazilian Journal of Psychiatry*, 24, n. 4, p. 164-164, 2002.

ARENDRT, T.; BRUCKNER, M. K.; MORAWSKI, M.; JAGER, C. *et al.* Early neurone loss in Alzheimer's disease: cortical or subcortical? *Acta Neuropathol Commun*, 3, p. 10, Feb 10 2015.

ARIDA, R. M.; SCORZA, F. A.; GOMES DA SILVA, S.; CYSNEIROS, R. M. *et al.* Exercise paradigms to study brain injury recovery in rodents. *Am J Phys Med Rehabil*, 90, n. 6, p. 452-465, Jun 2011.

ASSOCIATION, A. s. 2018 Alzheimer's disease facts and figures. *Alzheimer's & Dementia*, 14, n. 3, p. 367-429, 2018.

BADDELEY, A.; ANDERSON, M. C.; EYSENCK, M. W. *Memória*. Porto Alegre: 2011.

BAKER, D. J.; PETERSEN, R. C. Cellular senescence in brain aging and neurodegenerative diseases: evidence and perspectives. *J Clin Invest*, 128, n. 4, p. 1208-1216, Apr 2 2018.

BALERIOLA, J.; WALKER, C. A.; JEAN, Y. Y.; CRARY, J. F. *et al*. Axonally synthesized ATF4 transmits a neurodegenerative signal across brain regions. *Cell*, 158, n. 5, p. 1159-1172, Aug 28 2014.

BARNES, C. A. Memory deficits associated with senescence: a neurophysiological and behavioral study in the rat. *J Comp Physiol Psychol*, 93, n. 1, p. 74-104, Feb 1979.

BARTUS, R. T.; DEAN, R. L., 3rd; BEER, B.; LIPPA, A. S. The cholinergic hypothesis of geriatric memory dysfunction. *Science*, 217, n. 4558, p. 408-414, Jul 30 1982.

BATEMAN, R. J.; AISEN, P. S.; DE STROOPER, B.; FOX, N. C. *et al*. Autosomal-dominant Alzheimer's disease: a review and proposal for the prevention of Alzheimer's disease. *Alzheimers Res Ther*, 3, n. 1, p. 1, Jan 6 2011.

BAYIR, H. Reactive oxygen species. *Crit Care Med*, 33, n. 12 Suppl, p. S498-501, Dec 2005.

BEKINSCHTEIN, P.; CAMMAROTA, M.; IGAZ, L. M.; BEVILAQUA, L. R. *et al*. Persistence of long-term memory storage requires a late protein synthesis- and BDNF- dependent phase in the hippocampus. *Neuron*, 53, n. 2, p. 261-277, Jan 18 2007.

BELL, K. F.; DUCATENZEILER, A.; RIBEIRO-DA-SILVA, A.; DUFF, K. *et al.* The amyloid pathology progresses in a neurotransmitter-specific manner. *Neurobiol Aging*, 27, n. 11, p. 1644-1657, Nov 2006.

BELLEVILLE, S. Cognitive training for persons with mild cognitive impairment. *Int Psychogeriatr*, 20, n. 1, p. 57-66, Feb 2008.

BELLEVILLE, S.; CHERTKOW, H.; GAUTHIER, S. Working memory and control of attention in persons with Alzheimer's disease and mild cognitive impairment. *Neuropsychology*, 21, n. 4, p. 458-469, Jul 2007.

BENNETT, D. A.; WILSON, R. S.; SCHNEIDER, J. A.; EVANS, D. A. *et al.* Education modifies the relation of AD pathology to level of cognitive function in older persons. *Neurology*, 60, n. 12, p. 1909-1915, Jun 24 2003.

BENZIE, I. F.; STRAIN, J. J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Anal Biochem*, 239, n. 1, p. 70-76, Jul 15 1996.

BERNARDO, T. C.; MARQUES-ALEIXO, I.; BELEZA, J.; OLIVEIRA, P. J. *et al.* Physical Exercise and Brain Mitochondrial Fitness: The Possible Role Against Alzheimer's Disease. *Brain Pathol*, 26, n. 5, p. 648-663, Sep 2016.

BEVILAQUA, L. R.; ROSSATO, J. I.; MEDINA, J. H.; IZQUIERDO, I. *et al.* Src kinase activity is required for avoidance memory formation and recall. *Behav Pharmacol*, 14, n. 8, p. 649-652, Dec 2003.

BEYREUTHER, K.; MASTERS, C. L. Amyloid precursor protein (APP) and beta A4 amyloid in the etiology of Alzheimer's disease: precursor-product relationships in the derangement of neuronal function. *Brain Pathol*, 1, n. 4, p. 241-251, Jul 1991.

BIMONTE-NELSON, H. A. The maze book: theories, practice, and protocols for testing rodent cognition. Springer, 2015. 1493921584.

BISAZ, R.; TRAVAGLIA, A.; ALBERINI, C. M. The neurobiological bases of memory formation: from physiological conditions to psychopathology. *Psychopathology*, 47, n. 6, p. 347-356, 2014.

BJÖRKLUND, A.; DUNNETT, S. B. Dopamine neuron systems in the brain: an update. *Trends Neurosci*, 30, n. 5, p. 194-202, May 2007.

BOBBIO, N. O tempo da memória. 1997. 205 p.

BONDAREFF, W.; MOUNTJOY, C. Q.; ROTH, M. Loss of neurons of origin of the adrenergic projection to cerebral cortex (nucleus locus ceruleus) in senile dementia. *Neurology*, 32, n. 2, p. 164-168, Feb 1982.

BONDAREFF, W.; MOUNTJOY, C. Q.; ROTH, M.; ROSSOR, M. N. et al. Neuronal degeneration in locus ceruleus and cortical correlates of Alzheimer disease. *Alzheimer Dis Assoc Disord*, 1, n. 4, p. 256-262, 1987.

BONDI, M. W.; EDMONDS, E. C.; SALMON, D. P. Alzheimer's Disease: Past, Present, and Future. *J Int Neuropsychol Soc*, 23, n. 9-10, p. 818-831, Oct 2017.

BORODOVITSYNA, O.; FLAMINI, M.; CHANDLER, D. Noradrenergic Modulation of Cognition in Health and Disease. *Neural Plast*, 2017, p. 6031478, 2017.

BRAAK, H.; BRAAK, E. Neuropathological stageing of Alzheimer-related changes. *Acta Neuropathol*, 82, n. 4, p. 239-259, 1991.

BRAAK, H.; BRAAK, E. Development of Alzheimer-related neurofibrillary changes in the neocortex inversely recapitulates cortical myelogenesis. *Acta Neuropathol*, 92, n. 2, p. 197-201, Aug 1996.

BRAYNE, C.; INCE, P. G.; KEAGE, H. A.; MCKEITH, I. G. et al. Education, the brain and dementia: neuroprotection or compensation? *Brain*, 133, n. Pt 8, p. 2210-2216, Aug 2010.

BROOKS, G. A.; WHITE, T. P. Determination of metabolic and heart rate responses of rats to treadmill exercise. *J Appl Physiol Respir Environ Exerc Physiol*, 45, n. 6, p. 1009-1015, Dec 1978.

BRUN, A.; LIU, X.; ERIKSON, C. Synapse loss and gliosis in the molecular layer of the cerebral cortex in Alzheimer's disease and in frontal lobe degeneration. *Neurodegeneration*, 4, n. 2, p. 171-177, Jun 1995.

BUDSON, A. E.; SOLOMON, P. R. Memory Loss, Alzheimer's disease, and dementia e-book: A practical guide for clinicians. Elsevier Health Sciences, 2015. 0323316107.

BURDETTE, J. H.; LAURIENTI, P. J.; ESPELAND, M. A.; MORGAN, A. et al. Using network science to evaluate exercise-associated brain changes in older adults. *Front Aging Neurosci*, 2, p. 23, 2010.

BURKE, S. N.; BARNES, C. A. Neural plasticity in the ageing brain. *Nat Rev Neurosci*, 7, n. 1, p. 30-40, Jan 2006.

BUTTERFIELD, D. A.; LAUDERBACK, C. M. Lipid peroxidation and protein oxidation in Alzheimer's disease brain: potential causes and consequences involving amyloid beta-peptide-associated free radical oxidative stress. *Free Radic Biol Med*, 32, n. 11, p. 1050-1060, Jun 1 2002.

BUXBAUM, J. D.; LIU, K. N.; LUO, Y.; SLACK, J. L. et al. Evidence that tumor necrosis factor alpha converting enzyme is involved in regulated alpha-secretase cleavage of the Alzheimer amyloid protein precursor. *J Biol Chem*, 273, n. 43, p. 27765-27767, Oct 23 1998.

CAHILL, L.; MCGAUGH, J. L. Mechanisms of emotional arousal and lasting declarative memory. *Trends Neurosci*, 21, n. 7, p. 294-299, Jul 1998.

CAREAGA, M. B.; TIBA, P. A.; OTA, S. M.; SUCHECKI, D. Pre-test metyrapone impairs memory recall in fear conditioning tasks: lack of interaction with β -adrenergic activity. *Front Behav Neurosci*, 9, p. 51, 2015.

CASSAGNES, L. E.; HERVE, V.; NEPVEU, F.; HUREAU, C. *et al.* The catalytically active copper-amyloid-Beta state: coordination site responsible for reactive oxygen species production. *Angew Chem Int Ed Engl*, 52, n. 42, p. 11110-11113, Oct 11 2013.

CASSILHAS, R. C.; TUFIK, S.; DE MELLO, M. T. Physical exercise, neuroplasticity, spatial learning and memory. *Cell Mol Life Sci*, 73, n. 5, p. 975-983, Mar 2016.

CASTELLANI, R. J.; PERRY, G. Pathogenesis and disease-modifying therapy in Alzheimer's disease: the flat line of progress. *Arch Med Res*, 43, n. 8, p. 694-698, Nov 2012.

CECHETTI, F.; WORM, P. V.; ELSNER, V. R.; BERTOLDI, K. *et al.* Forced treadmill exercise prevents oxidative stress and memory deficits following chronic cerebral hypoperfusion in the rat. *Neurobiol Learn Mem*, 97, n. 1, p. 90-96, Jan 2012.

CHANCE, B.; SCHOENER, B.; OSHINO, R.; ITSHAK, F. *et al.* Oxidation-reduction ratio studies of mitochondria in freeze-trapped samples. NADH and flavoprotein fluorescence signals. *J Biol Chem*, 254, n. 11, p. 4764-4771, Jun 10 1979.

CHEIGNON, C.; FALLER, P.; TESTEMALE, D.; HUREAU, C. *et al.* Metal-catalyzed oxidation of A β and the resulting reorganization of Cu binding sites promote ROS production. *Metallomics*, 8, n. 10, p. 1081-1089, Oct 1 2016.

CHEIGNON, C.; TOMAS, M.; BONNEFONT-ROUSSELOT, D.; FALLER, P. *et al.* Oxidative stress and the amyloid beta peptide in Alzheimer's disease. *Redox Biol*, 14, p. 450-464, Apr 2018.

CHEN, C. C.; WILLIAMS, C. L. Interactions between epinephrine, ascending vagal fibers, and central noradrenergic systems in modulating memory for emotionally arousing events. *Front Behav Neurosci*, 6, p. 35, 2012.

CHEN, X.; GUO, C.; KONG, J. Oxidative stress in neurodegenerative diseases. *Neural Regen Res*, 7, n. 5, p. 376-385, Feb 15 2012.

CHIU, H. L.; CHU, H.; TSAI, J. C.; LIU, D. *et al.* The effect of cognitive-based training for the healthy older people: A meta-analysis of randomized controlled trials. PLoS One, 12, n. 5, p. e0176742, 2017.

CHONG, T. T.; HUSAIN, M. The role of dopamine in the pathophysiology and treatment of apathy. Prog Brain Res, 229, p. 389-426, 2016.

CHOW, V. W.; MATTSON, M. P.; WONG, P. C.; GLEICHMANN, M. An overview of APP processing enzymes and products. Neuromolecular Med, 12, n. 1, p. 1-12, Mar 2010.

CONWAY, M. E. Alzheimer's disease: targeting the glutamatergic system. Biogerontology, Feb 11 2020.

COSCO, T. D.; HOWSE, K.; BRAYNE, C. Healthy ageing, resilience and wellbeing. Epidemiol Psychiatr Sci, 26, n. 6, p. 579-583, Dec 2017.

CRAIK, F. I.; BIALYSTOK, E. Cognition through the lifespan: mechanisms of change. Trends Cogn Sci, 10, n. 3, p. 131-138, Mar 2006.

CRAIK, F. I.; ROSE, N. S. Memory encoding and aging: a neurocognitive perspective. Neurosci Biobehav Rev, 36, n. 7, p. 1729-1739, Aug 2012.

CREMONINI, A. L.; CAFFA, I.; CEA, M.; NENCIONI, A. *et al.* Nutrients in the Prevention of Alzheimer's Disease. Oxid Med Cell Longev, 2019, p. 9874159, 2019.

CROOK, T.; BARTUS, R. T.; FERRIS, S. H.; WHITEHOUSE, P. *et al.* Age-associated memory impairment: Proposed diagnostic criteria and measures of clinical change — report of a national institute of mental health work group. Developmental Neuropsychology, 2, n. 4, p. 261-276, 1986/01/01 1986.

CUI, M. Y.; LIN, Y.; SHENG, J. Y.; ZHANG, X. *et al.* Exercise Intervention Associated with Cognitive Improvement in Alzheimer's Disease. Neural Plast, 2018, p. 9234105, 2018.

DA SILVA DE VARGAS, L.; NEVES, B. S. D.; ROEHRS, R.; IZQUIERDO, I. *et al.* One-single physical exercise session after object recognition learning promotes memory persistence through hippocampal noradrenergic mechanisms. Behav Brain Res, 329, p. 120-126, Jun 30 2017.

DAMASCENO, B. P. [Brain aging. The problem of differential diagnosis between normal and pathologic]. Arq Neuropsiquiatr, 57, n. 1, p. 78-83, Mar 1999.

DANBOLT, N. C. Glutamate uptake. Prog Neurobiol, 65, n. 1, p. 1-105, Sep 2001.

DANYSZ, W.; PARSONS, C. G.; MOBIUS, H. J.; STOFFLER, A. *et al.* Neuroprotective and symptomatological action of memantine relevant for Alzheimer's disease--a unified glutamatergic hypothesis on the mechanism of action. Neurotox Res, 2, n. 2-3, p. 85-97, 2000.

DAO, A. T.; ZAGAAR, M. A.; LEVINE, A. T.; SALIM, S. *et al.* Treadmill exercise prevents learning and memory impairment in Alzheimer's disease-like pathology. Curr Alzheimer Res, 10, n. 5, p. 507-515, Jun 2013.

DAO, A. T.; ZAGAAR, M. A.; SALIM, S.; ERIKSEN, J. L. *et al.* Regular exercise prevents non-cognitive disturbances in a rat model of Alzheimer's disease. Int J Neuropsychopharmacol, 17, n. 4, p. 593-602, Apr 2014.

DE ALMEIDA, A. A.; GOMES DA SILVA, S.; LOPIM, G. M.; VANNUCCI CAMPOS, D. *et al.* Resistance Exercise Reduces Seizure Occurrence, Attenuates Memory Deficits and Restores BDNF Signaling in Rats with Chronic Epilepsy. Neurochem Res, 42, n. 4, p. 1230-1239, Apr 2017.

DE DIEGO, A. M.; GANDÍA, L.; GARCÍA, A. G. A physiological view of the central and peripheral mechanisms that regulate the release of catecholamines at the adrenal medulla. Acta Physiol (Oxf), 192, n. 2, p. 287-301, Feb 2008.

DE WIT, L.; O'SHEA, D.; CHANDLER, M.; BHASKAR, T. *et al.* Physical exercise and cognitive engagement outcomes for mild neurocognitive disorder: a group-randomized pilot trial. Trials, 19, n. 1, p. 573, Oct 19 2018.

DENING, T.; SANDILYAN, M. B. Dementia: definitions and types. *Nurs Stand*, 29, n. 37, p. 37-42, May 13 2015.

DICIERO MIRANDA, M.; DE BRUIN, V. M.; VALE, M. R.; VIANA, G. S. Lipid peroxidation and nitrite plus nitrate levels in brain tissue from patients with Alzheimer's disease. *Gerontology*, 46, n. 4, p. 179-184, Jul-Aug 2000.

DRUMMOND, E.; WISNIEWSKI, T. Alzheimer's disease: experimental models and reality. *Acta Neuropathol*, 133, n. 2, p. 155-175, Feb 2017.

DUYCKAERTS, C.; POTIER, M. C.; DELATOUR, B. Alzheimer disease models and human neuropathology: similarities and differences. *Acta Neuropathol*, 115, n. 1, p. 5-38, Jan 2008.

EADIE, B. D.; REDILA, V. A.; CHRISTIE, B. R. Voluntary exercise alters the cytoarchitecture of the adult dentate gyrus by increasing cellular proliferation, dendritic complexity, and spine density. *J Comp Neurol*, 486, n. 1, p. 39-47, May 23 2005.

EHLERS, M. D. Reinsertion or degradation of AMPA receptors determined by activity-dependent endocytic sorting. *Neuron*, 28, n. 2, p. 511-525, Nov 2000.

EL-SAYES, J.; HARASYM, D.; TURCO, C. V.; LOCKE, M. B. *et al.* Exercise-Induced Neuroplasticity: A Mechanistic Model and Prospects for Promoting Plasticity. *Neuroscientist*, 25, n. 1, p. 65-85, Feb 2019.

ELAHI, F. M.; MILLER, B. L. A clinicopathological approach to the diagnosis of dementia. *Nat Rev Neurol*, 13, n. 8, p. 457-476, Aug 2017.

ELLMAN, G. L.; COURTNEY, K. D.; ANDRES, V., Jr.; FEATHER-STONE, R. M. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochem Pharmacol*, 7, p. 88-95, Jul 1961.

EPIS, R.; GARDONI, F.; MARCELLO, E.; GENAZZANI, A. *et al.* Searching for new animal models of Alzheimer's disease. Eur J Pharmacol, 626, n. 1, p. 57-63, Jan 10 2010.

EPPERLY, T.; DUNAY, M. A.; BOICE, J. L. Alzheimer Disease: Pharmacologic and Nonpharmacologic Therapies for Cognitive and Functional Symptoms. Am Fam Physician, 95, n. 12, p. 771-778, Jun 15 2017.

ERTEN-LYONS, D.; DODGE, H. H.; WOLTJER, R.; SILBERT, L. C. *et al.* Neuropathologic basis of age-associated brain atrophy. JAMA Neurol, 70, n. 5, p. 616-622, May 2013.

ESCHENKO, O.; MELLO-CARPES, P. B.; HANSEN, N. New Insights into the Role of the Locus Coeruleus-Noradrenergic System in Memory and Perception Dysfunction. Neural Plast, 2017, p. 4624171, 2017.

FABEL, K.; WOLF, S. A.; EHNINGER, D.; BABU, H. *et al.* Additive effects of physical exercise and environmental enrichment on adult hippocampal neurogenesis in mice. Front Neurosci, 3, p. 50, 2009.

FACCHINETTI, R.; BRONZUOLI, M. R.; SCUDERI, C. An Animal Model of Alzheimer Disease Based on the Intrahippocampal Injection of Amyloid beta-Peptide (1-42). Methods Mol Biol, 1727, p. 343-352, 2018.

FARZAN, A.; MASHOHOR, S.; RAMLI, R.; MAHMUD, R. Discriminant analysis of intermediate brain atrophy rates in longitudinal diagnosis of Alzheimer's disease. Diagn Pathol, 6, p. 105, Oct 28 2011.

FERNANDES, J.; SOARES, J. C.; DO AMARAL BALIEGO, L. G.; ARIDA, R. M. A single bout of resistance exercise improves memory consolidation and increases the expression of synaptic proteins in the hippocampus. Hippocampus, 26, n. 8, p. 1096-1103, Aug 2016.

FERREIRA-VIEIRA, T. H.; GUIMARAES, I. M.; SILVA, F. R.; RIBEIRO, F. M. Alzheimer's disease: Targeting the Cholinergic System. Curr Neuropharmacol, 14, n. 1, p. 101-115, 2016.

FERRER, M. D.; SUREDA, A.; MESTRE, A.; TUR, J. A. *et al.* The double edge of reactive oxygen species as damaging and signaling molecules in HL60 cell culture. *Cell Physiol Biochem*, 25, n. 2-3, p. 241-252, 2010.

FINKLER, M.; LICHTENBERG, D.; PINCHUK, I. The relationship between oxidative stress and exercise. *J Basic Clin Physiol Pharmacol*, 25, n. 1, p. 1-11, Feb 2014.

FORBES, D.; FORBES, S. C.; BLAKE, C. M.; THIESSEN, E. J. *et al.* Exercise programs for people with dementia. *Cochrane Database Syst Rev*, n. 4, p. Cd006489, Apr 15 2015.

FORLENZA, O. V. Tratamento farmacológico da doença de Alzheimer. *Archives of Clinical Psychiatry (São Paulo)*, 32, p. 137-148, 2005.

FOX, N. C.; FREEBOROUGH, P. A.; ROSSOR, M. N. Visualisation and quantification of rates of atrophy in Alzheimer's disease. *Lancet*, 348, n. 9020, p. 94-97, Jul 13 1996.

GARCIA-CASARES, N.; MORENO-LEIVA, R. M.; GARCIA-ARNES, J. A. [Music therapy as a non-pharmacological treatment in Alzheimer's disease. A systematic review]. *Rev Neurol*, 65, n. 12, p. 529-538, Dec 16 2017.

GARCIA-MESA, Y.; COLIE, S.; CORPAS, R.; CRISTOFOL, R. *et al.* Oxidative Stress Is a Central Target for Physical Exercise Neuroprotection Against Pathological Brain Aging. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 71, n. 1, p. 40-49, Jan 2016.

GARCIA-MESA, Y.; LOPEZ-RAMOS, J. C.; GIMENEZ-LLORT, L.; REVILLA, S. *et al.* Physical exercise protects against Alzheimer's disease in 3xTg-AD mice. *J Alzheimers Dis*, 24, n. 3, p. 421-454, 2011.

GASBARRI, A.; PACKARD, M. G.; CAMPANA, E.; PACITTI, C. Anterograde and retrograde tracing of projections from the ventral tegmental area to the hippocampal formation in the rat. *Brain Res Bull*, 33, n. 4, p. 445-452, 1994.

GASCHLER, M. M.; STOCKWELL, B. R. Lipid peroxidation in cell death. *Biochem Biophys Res Commun*, 482, n. 3, p. 419-425, Jan 15 2017.

GATES, N. J.; SACHDEV, P. S.; FIATARONE SINGH, M. A.; VALENZUELA, M. Cognitive and memory training in adults at risk of dementia: a systematic review. *BMC Geriatr*, 11, p. 55, Sep 25 2011.

GAUDREAU, R.; MOUSSEAU, N. Mitigating Alzheimer's Disease with Natural Polyphenols: A Review. *Curr Alzheimer Res*, 16, n. 6, p. 529-543, 2019.

GERMAN, D. C.; MANAYE, K. F.; WHITE, C. L., 3rd; WOODWARD, D. J. *et al.* Disease-specific patterns of locus coeruleus cell loss. *Ann Neurol*, 32, n. 5, p. 667-676, Nov 1992.

GIBB, W. R.; MOUNTJOY, C. Q.; MANN, D. M.; LEES, A. J. The substantia nigra and ventral tegmental area in Alzheimer's disease and Down's syndrome. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 52, n. 2, p. 193-200, Feb 1989.

GIRALDO, E.; LLORET, A.; FUCHSBERGER, T.; VIÑA, J. A β and tau toxicities in Alzheimer's are linked via oxidative stress-induced p38 activation: protective role of vitamin E. *Redox Biol*, 2, p. 873-877, 2014.

GIRIDHARAN, V. V.; THANDAVARAYAN, R. A.; ARUMUGAM, S.; MIZUNO, M. *et al.* Schisandrin B Ameliorates ICV-Infused Amyloid beta Induced Oxidative Stress and Neuronal Dysfunction through Inhibiting RAGE/NF-kappaB/MAPK and Up-Regulating HSP/Beclin Expression. *PLoS One*, 10, n. 11, p. e0142483, 2015.

GOLDMAN-RAKIC, P. S. The cortical dopamine system: role in memory and cognition. *Adv Pharmacol*, 42, p. 707-711, 1998.

GOULD, E.; BEYLIN, A.; TANAPAT, P.; REEVES, A. *et al.* Learning enhances adult neurogenesis in the hippocampal formation. *Nat Neurosci*, 2, n. 3, p. 260-265, Mar 1999.

GREEN, D. R.; GALLUZZI, L.; KROEMER, G. Mitochondria and the autophagy-inflammation-cell death axis in organismal aging. *Science*, 333, n. 6046, p. 1109-1112, Aug 26 2011.

GREENBERG, D. L.; VERFAELLIE, M. Interdependence of episodic and semantic memory: evidence from neuropsychology. *J Int Neuropsychol Soc*, 16, n. 5, p. 748-753, Sep 2010.

GRIENDLING, K. K.; SORESCU, D.; LASSEGUE, B.; USHIO-FUKAI, M. Modulation of protein kinase activity and gene expression by reactive oxygen species and their role in vascular physiology and pathophysiology. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 20, n. 10, p. 2175-2183, Oct 2000.

GROSSBERG, G. T.; MANES, F.; ALLEGRI, R. F.; GUTIERREZ-ROBLEDO, L. M. *et al.* The safety, tolerability, and efficacy of once-daily memantine (28 mg): a multinational, randomized, double-blind, placebo-controlled trial in patients with moderate-to-severe Alzheimer's disease taking cholinesterase inhibitors. *CNS Drugs*, 27, n. 6, p. 469-478, Jun 2013.

GUERRERO-MUÑOZ, M. J.; GERSON, J.; CASTILLO-CARRANZA, D. L. Tau Oligomers: The Toxic Player at Synapses in Alzheimer's Disease. *Front Cell Neurosci*, 9, p. 464, 2015.

GUZMÁN-RAMOS, K.; MORENO-CASTILLA, P.; CASTRO-CRUZ, M.; MCGAUGH, J. L. *et al.* Restoration of dopamine release deficits during object recognition memory acquisition attenuates cognitive impairment in a triple transgenic mice model of Alzheimer's disease. *Learning & memory*, 19, n. 10, p. 453-460, 2012.

HABTEMARIAM, S. Natural Products in Alzheimer's Disease Therapy: Would Old Therapeutic Approaches Fix the Broken Promise of Modern Medicines? *Molecules*, 24, n. 8, Apr 17 2019.

HALLIWELL, B. Electron transfer. Switches in enzymes. *Nature*, 354, n. 6350, p. 191-192, Nov 21 1991.

HAMMERSCHMIDT, T.; KUMMER, M. P.; TERWEL, D.; MARTINEZ, A. *et al.* Selective loss of noradrenaline exacerbates early cognitive dysfunction and

synaptic deficits in APP/PS1 mice. *Biol Psychiatry*, 73, n. 5, p. 454-463, Mar 1 2013.

HARDY, J.; ALLSOP, D. Amyloid deposition as the central event in the aetiology of Alzheimer's disease. *Trends Pharmacol Sci*, 12, n. 10, p. 383-388, Oct 1991.

HARDY, J. A.; HIGGINS, G. A. Alzheimer's disease: the amyloid cascade hypothesis. *Science*, 256, n. 5054, p. 184-185, Apr 10 1992.

HARLEY, C. W. Norepinephrine and dopamine as learning signals. *Neural Plast*, 11, n. 3-4, p. 191-204, 2004.

HASHIMOTO, M.; KATAKURA, M.; HOSSAIN, S.; RAHMAN, A. *et al.* Docosahexaenoic acid withstands the A β (25-35)-induced neurotoxicity in SH-SY5Y cells. *J Nutr Biochem*, 22, n. 1, p. 22-29, Jan 2011.

HEBERT, L. E.; WEUVE, J.; SCHERR, P. A.; EVANS, D. A. Alzheimer disease in the United States (2010-2050) estimated using the 2010 census. *Neurology*, 80, n. 19, p. 1778-1783, May 7 2013.

HEISZ, J. J.; CLARK, I. B.; BONIN, K.; PAOLUCCI, E. M. *et al.* The Effects of Physical Exercise and Cognitive Training on Memory and Neurotrophic Factors. *J Cogn Neurosci*, 29, n. 11, p. 1895-1907, Nov 2017.

HILL, N. T.; MOWSZOWSKI, L.; NAISMITH, S. L.; CHADWICK, V. L. *et al.* Computerized Cognitive Training in Older Adults With Mild Cognitive Impairment or Dementia: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Am J Psychiatry*, 174, n. 4, p. 329-340, Apr 1 2017.

HILLMAN, C. H.; ERICKSON, K. I.; KRAMER, A. F. Be smart, exercise your heart: exercise effects on brain and cognition. *Nat Rev Neurosci*, 9, n. 1, p. 58-65, Jan 2008.

HOEIJMAKERS, J. H. DNA damage, aging, and cancer. *N Engl J Med*, 361, n. 15, p. 1475-1485, Oct 8 2009.

HOWARD, R.; MCSHANE, R.; LINDESAY, J.; RITCHIE, C. *et al.* Donepezil and memantine for moderate-to-severe Alzheimer's disease. *N Engl J Med*, 366, n. 10, p. 893-903, Mar 8 2012.

HUANG, X.; ATWOOD, C. S.; HARTSHORN, M. A.; MULTHAUP, G. *et al.* The A beta peptide of Alzheimer's disease directly produces hydrogen peroxide through metal ion reduction. *Biochemistry*, 38, n. 24, p. 7609-7616, Jun 15 1999.

HUGANIR, R. L.; NICOLL, R. A. AMPARs and synaptic plasticity: the last 25 years. *Neuron*, 80, n. 3, p. 704-717, Oct 30 2013.

HULBERT, A. J.; PAMPLONA, R.; BUFFENSTEIN, R.; BUTTEMER, W. A. Life and death: metabolic rate, membrane composition, and life span of animals. *Physiol Rev*, 87, n. 4, p. 1175-1213, Oct 2007.

HYMAN, B. T.; VAN HOESEN, G. W.; DAMASIO, A. R.; BARNES, C. L. Alzheimer's disease: cell-specific pathology isolates the hippocampal formation. *Science*, 225, n. 4667, p. 1168-1170, Sep 14 1984.

IZQUIERDO, I. *Memórias. Estudos Avançados*, 3, p. 89-112, 1989.

IZQUIERDO, I. *Memória*. 2 ed. 2011. 136 p. 9788536325446.

IZQUIERDO, I. *Memória*. 3 ed. 2018. 9788582714911.

IZQUIERDO, I.; MCGAUGH, J. L. Behavioural pharmacology and its contribution to the molecular basis of memory consolidation. *Behav Pharmacol*, 11, n. 7-8, p. 517-534, Nov 2000.

IZQUIERDO, I.; MEDINA, J. H. Memory formation: the sequence of biochemical events in the hippocampus and its connection to activity in other brain structures. *Neurobiol Learn Mem*, 68, n. 3, p. 285-316, Nov 1997.

IZQUIERDO, I.; MEDINA, J. H.; VIANNA, M. R.; IZQUIERDO, L. A. *et al.* Separate mechanisms for short- and long-term memory. *Behav Brain Res*, 103, n. 1, p. 1-11, Aug 1999.

JACK, C. R., Jr.; BENNETT, D. A.; BLENNOW, K.; CARRILLO, M. C. *et al.* NIA-AA Research Framework: Toward a biological definition of Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement*, 14, n. 4, p. 535-562, Apr 2018.

JACOBS, H. I. L.; RIPHAGEN, J. M.; RAMAKERS, I.; VERHEY, F. R. J. Alzheimer's disease pathology: pathways between central norepinephrine activity, memory, and neuropsychiatric symptoms. *Mol Psychiatry*, May 28 2019.

JAHN, H. Memory loss in Alzheimer's disease. *Dialogues Clin Neurosci*, 15, n. 4, p. 445-454, Dec 2013.

JEAN, Y. Y.; BALERIOLA, J.; FA, M.; HENGST, U. *et al.* Stereotaxic Infusion of Oligomeric Amyloid-beta into the Mouse Hippocampus. *J Vis Exp*, n. 100, p. e52805, Jun 17 2015.

JEAN, Y. Y.; RIBE, E. M.; PERO, M. E.; MOSKALENKO, M. *et al.* Caspase-2 is essential for c-Jun transcriptional activation and Bim induction in neuron death. *Biochem J*, 455, n. 1, p. 15-25, Oct 1 2013.

JHA, S. K.; JHA, N. K.; KUMAR, D.; SHARMA, R. *et al.* Stress-Induced Synaptic Dysfunction and Neurotransmitter Release in Alzheimer's Disease: Can Neurotransmitters and Neuromodulators be Potential Therapeutic Targets? *J Alzheimers Dis*, 57, n. 4, p. 1017-1039, 2017.

JHOO, J. H.; KIM, H. C.; NABESHIMA, T.; YAMADA, K. *et al.* Beta-amyloid (1-42)-induced learning and memory deficits in mice: involvement of oxidative burdens in the hippocampus and cerebral cortex. *Behav Brain Res*, 155, n. 2, p. 185-196, Dec 6 2004.

JIA, J.; WEI, C.; CHEN, S.; LI, F. *et al.* The cost of Alzheimer's disease in China and re-estimation of costs worldwide. *Alzheimers Dement*, 14, n. 4, p. 483-491, Apr 2018.

JONES, D. C.; MILLER, G. W. The effects of environmental neurotoxicants on the dopaminergic system: A possible role in drug addiction. *Biochem Pharmacol*, 76, n. 5, p. 569-581, Sep 1 2008.

K Aidanovich-Beilin, O.; Lipina, T.; Vukobradovic, I.; Roder, J. *et al.* Assessment of social interaction behaviors. *J Vis Exp*, n. 48, Feb 25 2011.

Kallio, E. L.; Ohman, H.; Kautiainen, H.; Hietanen, M. *et al.* Cognitive Training Interventions for Patients with Alzheimer's Disease: A Systematic Review. *J Alzheimers Dis*, 56, n. 4, p. 1349-1372, 2017.

Kamenetz, F.; Tomita, T.; Hsieh, H.; Seabrook, G. *et al.* APP processing and synaptic function. *Neuron*, 37, n. 6, p. 925-937, Mar 27 2003.

Kandel, E. R.; Dudai, Y.; Mayford, M. R. The molecular and systems biology of memory. *Cell*, 157, n. 1, p. 163-186, Mar 27 2014.

Karch, C. M.; Goate, A. M. Alzheimer's disease risk genes and mechanisms of disease pathogenesis. *Biol Psychiatry*, 77, n. 1, p. 43-51, Jan 1 2015.

Katche, C.; Tomaiuolo, M.; Dorman, G.; Medina, J. H. *et al.* Novelty during a late postacquisition time window attenuates the persistence of fear memory. *Sci Rep*, 6, p. 35220, Oct 13 2016.

Kaushal, A.; Wani, W. Y.; Bal, A.; Gill, K. D. *et al.* Okadaic Acid and Hypoxia Induced Dementia Model of Alzheimer's Type in Rats. *Neurotox Res*, 35, n. 3, p. 621-634, Apr 2019.

Kelly, S. C.; He, B.; Perez, S. E.; Ginsberg, S. D. *et al.* Locus coeruleus cellular and molecular pathology during the progression of Alzheimer's disease. *Acta Neuropathol Commun*, 5, n. 1, p. 8, Jan 21 2017.

Kennedy, G.; Hardman, R. J.; Macpherson, H.; Scholey, A. B. *et al.* How Does Exercise Reduce the Rate of Age-Associated Cognitive Decline? A Review of Potential Mechanisms. *J Alzheimers Dis*, 55, n. 1, p. 1-18, 2017.

KESSELS, H. W.; MALINOW, R. Synaptic AMPA receptor plasticity and behavior. *Neuron*, 61, n. 3, p. 340-350, Feb 12 2009.

KHODADADI, D.; GHARAKHANLOU, R.; NAGHDI, N.; SALIMI, M. *et al.* Treadmill Exercise Ameliorates Spatial Learning and Memory Deficits Through Improving the Clearance of Peripheral and Central Amyloid-Beta Levels. *Neurochem Res*, 43, n. 8, p. 1561-1574, Aug 2018.

KIM, T. S.; PAE, C. U.; YOON, S. J.; JANG, W. Y. *et al.* Decreased plasma antioxidants in patients with Alzheimer's disease. *Int J Geriatr Psychiatry*, 21, n. 4, p. 344-348, Apr 2006.

KIRK-SANCHEZ, N. J.; MCGOUGH, E. L. Physical exercise and cognitive performance in the elderly: current perspectives. *Clin Interv Aging*, 9, p. 51-62, 2014.

KIROVA, A. M.; BAYS, R. B.; LAGALWAR, S. Working memory and executive function decline across normal aging, mild cognitive impairment, and Alzheimer's disease. *Biomed Res Int*, 2015, p. 748212, 2015.

KLEIN, C. P.; HOPPE, J. B.; SACCOMORI, A. B.; DOS SANTOS, B. G. *et al.* Physical Exercise During Pregnancy Prevents Cognitive Impairment Induced by Amyloid-beta in Adult Offspring Rats. *Mol Neurobiol*, 56, n. 3, p. 2022-2038, Mar 2019.

KLIMOVA, B.; VALIS, M.; KUCA, K. Cognitive decline in normal aging and its prevention: a review on non-pharmacological lifestyle strategies. *Clin Interv Aging*, 12, p. 903-910, 2017.

KNAEPEN, K.; GOEKINT, M.; HEYMAN, E. M.; MEEUSEN, R. Neuroplasticity - exercise-induced response of peripheral brain-derived neurotrophic factor: a systematic review of experimental studies in human subjects. *Sports Med*, 40, n. 9, p. 765-801, Sep 1 2010.

KNOWLER, W. C.; BARRETT-CONNOR, E.; FOWLER, S. E.; HAMMAN, R. F. *et al.* Reduction in the incidence of type 2 diabetes with lifestyle intervention or metformin. *N Engl J Med*, 346, n. 6, p. 393-403, Feb 7 2002.

KOHEN, R.; BEIT-YANNAI, E.; BERRY, E. M.; TIROSH, O. Overall low molecular weight antioxidant activity of biological fluids and tissues by cyclic voltammetry. *Methods Enzymol*, 300, p. 285-296, 1999.

KOIKE, H.; TOMIOKA, S.; SORIMACHI, H.; SAIDO, T. C. *et al.* Membrane-anchored metalloprotease MDC9 has an alpha-secretase activity responsible for processing the amyloid precursor protein. *Biochem J*, 343 Pt 2, p. 371-375, Oct 15 1999.

KOJRO, E.; FAHRENHOLZ, F. The non-amyloidogenic pathway: structure and function of alpha-secretases. *Subcell Biochem*, 38, p. 105-127, 2005.

KOO, J. H.; KANG, E. B.; OH, Y. S.; YANG, D. S. *et al.* Treadmill exercise decreases amyloid-beta burden possibly via activation of SIRT-1 signaling in a mouse model of Alzheimer's disease. *Exp Neurol*, 288, p. 142-152, Feb 2017.

KOPKE, E.; TUNG, Y. C.; SHAIKH, S.; ALONSO, A. C. *et al.* Microtubule-associated protein tau. Abnormal phosphorylation of a non-paired helical filament pool in Alzheimer disease. *J Biol Chem*, 268, n. 32, p. 24374-24384, Nov 15 1993.

KRAMER, A. F.; BHERER, L.; COLCOMBE, S. J.; DONG, W. *et al.* Environmental influences on cognitive and brain plasticity during aging. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 59, n. 9, p. M940-957, Sep 2004.

KUILMAN, T.; MICHALOGLOU, C.; MOOI, W. J.; PEEPER, D. S. The essence of senescence. *Genes Dev*, 24, n. 22, p. 2463-2479, Nov 15 2010.

LABBAN, J. D.; ETNIER, J. L. The Effect of Acute Exercise on Encoding and Consolidation of Long-Term Memory. *J Sport Exerc Psychol*, 40, n. 6, p. 336-342, Dec 1 2018.

LAFERLA, F. M.; GREEN, K. N.; ODDO, S. Intracellular amyloid-beta in Alzheimer's disease. *Nat Rev Neurosci*, 8, n. 7, p. 499-509, Jul 2007.

LAMMICH, S.; KOJRO, E.; POSTINA, R.; GILBERT, S. *et al.* Constitutive and regulated alpha-secretase cleavage of Alzheimer's amyloid precursor protein by a disintegrin metalloprotease. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 96, n. 7, p. 3922-3927, Mar 30 1999.

LANE, C. A.; HARDY, J.; SCHOTT, J. M. Alzheimer's disease. *Eur J Neurol*, 25, n. 1, p. 59-70, Jan 2018.

LANE, R. K.; HILSABECK, T.; REA, S. L. The role of mitochondrial dysfunction in age-related diseases. *Biochim Biophys Acta*, 1847, n. 11, p. 1387-1400, Nov 2015.

LEVY, R. Aging-associated cognitive decline. Working Party of the International Psychogeriatric Association in collaboration with the World Health Organization. *Int Psychogeriatr*, 6, n. 1, p. 63-68, Spring 1994.

LEZAK, M. D.; HOWIESON, D. B.; LORING, D. W.; FISCHER, J. S. *Neuropsychological assessment*. Oxford University Press, USA, 2004. 0195111214.

LIANG, J. H.; XU, Y.; LIN, L.; JIA, R. X. *et al.* Comparison of multiple interventions for older adults with Alzheimer disease or mild cognitive impairment: A PRISMA-compliant network meta-analysis. *Medicine (Baltimore)*, 97, n. 20, p. e10744, May 2018.

LIMAPICHAT, W.; YU, W. Y.; BRANIGAN, E.; LESTER, H. A. *et al.* Key binding interactions for memantine in the NMDA receptor. *ACS Chem Neurosci*, 4, n. 2, p. 255-260, Feb 20 2013.

LIMON, I. D.; DIAZ, A.; MENDIETA, L.; CHAMORRO, G. *et al.* Amyloid-beta(25-35) impairs memory and increases NO in the temporal cortex of rats. *Neurosci Res*, 63, n. 2, p. 129-137, Feb 2009.

LIN, H.; CHAN, R. C.; ZHENG, L.; YANG, T. *et al.* Executive functioning in healthy elderly Chinese people. *Arch Clin Neuropsychol*, 22, n. 4, p. 501-511, May 2007.

LOETCHUTINAT, C.; KOTHAN, S.; DECHSUPA, S.; MEESUNGNOEN, J. *et al.* Spectrofluorometric determination of intracellular levels of reactive oxygen species in drug-sensitive and drug-resistant cancer cells using the 2',7'-dichlorofluorescein diacetate assay. *Radiation Physics and Chemistry*, 72, n. 2, p. 323-331, 2005/02/01/ 2005.

LOI, S. M.; ERATNE, D.; KELSO, W.; VELAKOULIS, D. *et al.* Alzheimer disease: Non-pharmacological and pharmacological management of cognition and neuropsychiatric symptoms. *Australas Psychiatry*, 26, n. 4, p. 358-365, Aug 2018.

LOPEZ, O. L.; KULLER, L. H. Epidemiology of aging and associated cognitive disorders: Prevalence and incidence of Alzheimer's disease and other dementias. *Handb Clin Neurol*, 167, p. 139-148, 2019.

LOUGHLIN, S. E.; FOOTE, S. L.; GRZANNA, R. Efferent projections of nucleus locus coeruleus: morphologic subpopulations have different efferent targets. *Neuroscience*, 18, n. 2, p. 307-319, Jun 1986.

LOVELL, M. A.; EHMANN, W. D.; BUTLER, S. M.; MARKESBERY, W. R. Elevated thiobarbituric acid-reactive substances and antioxidant enzyme activity in the brain in Alzheimer's disease. *Neurology*, 45, n. 8, p. 1594-1601, Aug 1995.

LOVELL, M. A.; ROBERTSON, J. D.; TEESDALE, W. J.; CAMPBELL, J. L. *et al.* Copper, iron and zinc in Alzheimer's disease senile plaques. *J Neurol Sci*, 158, n. 1, p. 47-52, Jun 11 1998.

MALEK, M. H.; HUTTEMANN, M.; LEE, I.; COBURN, J. W. Similar skeletal muscle angiogenic and mitochondrial signalling following 8 weeks of endurance exercise in mice: discontinuous versus continuous training. *Exp Physiol*, 98, n. 3, p. 807-818, Mar 2013.

MANG, C. S.; CAMPBELL, K. L.; ROSS, C. J.; BOYD, L. A. Promoting neuroplasticity for motor rehabilitation after stroke: considering the effects of

aerobic exercise and genetic variation on brain-derived neurotrophic factor. *Phys Ther*, 93, n. 12, p. 1707-1716, Dec 2013.

MANN, D. M. The locus coeruleus and its possible role in ageing and degenerative disease of the human central nervous system. *Mech Ageing Dev*, 23, n. 1, p. 73-94, Sep 1983.

MARCUS, D. L.; THOMAS, C.; RODRIGUEZ, C.; SIMBERKOFF, K. *et al.* Increased peroxidation and reduced antioxidant enzyme activity in Alzheimer's disease. *Exp Neurol*, 150, n. 1, p. 40-44, Mar 1998.

MARKESBERRY, W. R. Oxidative stress hypothesis in Alzheimer's disease. *Free Radic Biol Med*, 23, n. 1, p. 134-147, 1997.

MARKOWITSCH, H. J.; PRITZEL, M. The neuropathology of amnesia. *Prog Neurobiol*, 25, n. 3, p. 189-287, 1985.

MARQUES, P.; SOARES, J. M.; MAGALHAES, R.; SANTOS, N. C. *et al.* The Bounds Of Education In The Human Brain Connectome. *Sci Rep*, 5, p. 12812, Aug 6 2015.

MARTIN, M.; CLARE, L.; ALTGASSEN, A. M.; CAMERON, M. H. *et al.* Cognition-based interventions for healthy older people and people with mild cognitive impairment. *Cochrane Database Syst Rev*, n. 1, p. Cd006220, Jan 19 2011.

MARTORANA, A.; KOCH, G. "Is dopamine involved in Alzheimer's disease?". *Front Aging Neurosci*, 6, p. 252, 2014.

MASTERS, C. L.; BATEMAN, R.; BLENNOW, K.; ROWE, C. C. *et al.* Alzheimer's disease. *Nat Rev Dis Primers*, 1, p. 15056, Oct 15 2015.

MATTHEWS, K. L.; CHEN, C. P.; ESIRI, M. M.; KEENE, J. *et al.* Noradrenergic changes, aggressive behavior, and cognition in patients with dementia. *Biol Psychiatry*, 51, n. 5, p. 407-416, Mar 1 2002.

MATTSON, M. P. Pathways towards and away from Alzheimer's disease. *Nature*, 430, n. 7000, p. 631-639, Aug 5 2004.

MCDADE, E.; BATEMAN, R. J. Stop Alzheimer's before it starts. *Nature*, 547, n. 7662, p. 153-155, Jul 12 2017.

MCGAUGH, J. L. Memory--a century of consolidation. *Science*, 287, n. 5451, p. 248-251, Jan 14 2000.

MCMORRIS, T.; HALE, B. J. Is there an acute exercise-induced physiological/biochemical threshold which triggers increased speed of cognitive functioning? A meta-analytic investigation. *Journal of Sport and Health Science*, 4, n. 1, p. 4-13, 2015/03/01/ 2015.

MELLO-CARPES, P. B.; DA SILVA DE VARGAS, L.; GAYER, M. C.; ROEHRS, R. et al. Hippocampal noradrenergic activation is necessary for object recognition memory consolidation and can promote BDNF increase and memory persistence. *Neurobiol Learn Mem*, 127, p. 84-92, Jan 2016.

MELLO-CARPES, P. B.; VARGAS, L. S. Qualquer perda de memória no idoso é sinal de Alzheimer ou demência? Este e outros neuromitos sobre memória e envelhecimento. *In: IBIES (Ed.). Caçadores de Neuromitos (II): desvendando os mistérios do cérebro. 2 ed., 2017.*

MENEZES, J.; ALVES, N.; BORGES, S.; ROEHRS, R. et al. Facilitation of fear extinction by novelty depends on dopamine acting on D1-subtype dopamine receptors in hippocampus. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 112, n. 13, p. E1652-1658, Mar 31 2015.

MILLER, B. L.; SEELEY, W. W.; MYCHACK, P.; ROSEN, H. J. et al. Neuroanatomy of the self: evidence from patients with frontotemporal dementia. *Neurology*, 57, n. 5, p. 817-821, Sep 11 2001.

MILLUCCI, L.; GHEZZI, L.; BERNARDINI, G.; SANTUCCI, A. Conformations and biological activities of amyloid beta peptide 25-35. *Curr Protein Pept Sci*, 11, n. 1, p. 54-67, Feb 2010.

MISSALE, C.; NASH, S. R.; ROBINSON, S. W.; JABER, M. *et al.* Dopamine receptors: from structure to function. *Physiol Rev*, 78, n. 1, p. 189-225, Jan 1998.

MISZTAL, M.; FRANKIEWICZ, T.; PARSONS, C. G.; DANYSZ, W. Learning deficits induced by chronic intraventricular infusion of quinolinic acid--protection by MK-801 and memantine. *Eur J Pharmacol*, 296, n. 1, p. 1-8, Jan 18 1996.

MIZUTANI, K.; SONODA, S.; WAKITA, H.; SHIMPO, K. Protein kinase C activator, bryostatin-1, promotes exercise-dependent functional recovery in rats with cerebral infarction. *Am J Phys Med Rehabil*, 94, n. 3, p. 239-243, Mar 2015.

MOODLEY, K. K.; CHAN, D. The hippocampus in neurodegenerative disease. *Front Neurol Neurosci*, 34, p. 95-108, 2014.

MOORE, R. Y.; BLOOM, F. E. Central catecholamine neuron systems: anatomy and physiology of the norepinephrine and epinephrine systems. *Annu Rev Neurosci*, 2, p. 113-168, 1979.

MORENO-CASTILLA, P.; RODRIGUEZ-DURAN, L. F.; GUZMAN-RAMOS, K.; BARCENAS-FEMAT, A. *et al.* Dopaminergic neurotransmission dysfunction induced by amyloid- β transforms cortical long-term potentiation into long-term depression and produces memory impairment. *Neurobiol Aging*, 41, p. 187-199, May 2016.

MORRIS, J. C. Clinical dementia rating: a reliable and valid diagnostic and staging measure for dementia of the Alzheimer type. *Int Psychogeriatr*, 9 Suppl 1, p. 173-176; discussion 177-178, 1997.

MORRIS, J. C.; MOHS, R. C.; ROGERS, H.; FILLENBAUM, G. *et al.* Consortium to establish a registry for Alzheimer's disease (CERAD) clinical and neuropsychological assessment of Alzheimer's disease. *Psychopharmacol Bull*, 24, n. 4, p. 641-652, 1988.

MOSKALEV, A. A.; SHAPOSHNIKOV, M. V.; PLYUSNINA, E. N.; ZHAVORONKOV, A. *et al.* The role of DNA damage and repair in aging through the prism of Koch-like criteria. *Ageing Res Rev*, 12, n. 2, p. 661-684, Mar 2013.

MOSSELLO, E.; BALLINI, E. Management of patients with Alzheimer's disease: pharmacological treatment and quality of life. *Ther Adv Chronic Dis*, 3, n. 4, p. 183-193, Jul 2012.

MOWSZOWSKI, L.; BATCHELOR, J.; NAISMITH, S. L. Early intervention for cognitive decline: can cognitive training be used as a selective prevention technique? *Int Psychogeriatr*, 22, n. 4, p. 537-548, Jun 2010.

MRAKIC-SPOSTA, S.; DI SANTO, S. G.; FRANCHINI, F.; ARLATI, S. et al. Effects of Combined Physical and Cognitive Virtual Reality-Based Training on Cognitive Impairment and Oxidative Stress in MCI Patients: A Pilot Study. *Front Aging Neurosci*, 10, p. 282, 2018.

NAVA-MESA, M. O.; JIMÉNEZ-DÍAZ, L.; YAJEYA, J.; NAVARRO-LOPEZ, J. D. GABAergic neurotransmission and new strategies of neuromodulation to compensate synaptic dysfunction in early stages of Alzheimer's disease. *Front Cell Neurosci*, 8, p. 167, 2014.

NAZEM, A.; SANKOWSKI, R.; BACHER, M.; AL-ABED, Y. Rodent models of neuroinflammation for Alzheimer's disease. *J Neuroinflammation*, 12, p. 74, Apr 17 2015.

NIROGI, R.; ABRAHAM, R.; JAYARAJAN, P.; MEDAPATI, R. B. et al. Difference in the norepinephrine levels of experimental and non-experimental rats with age in the object recognition task. *Brain Res*, 1453, p. 40-45, May 9 2012.

NOBILI, A.; LATAGLIATA, E. C.; VISCOMI, M. T.; CAVALLUCCI, V. et al. Dopamine neuronal loss contributes to memory and reward dysfunction in a model of Alzheimer's disease. *Nat Commun*, 8, p. 14727, Apr 3 2017.

NUNOMURA, A.; PERRY, G.; ALIEV, G.; HIRAI, K. et al. Oxidative damage is the earliest event in Alzheimer disease. *J Neuropathol Exp Neurol*, 60, n. 8, p. 759-767, Aug 2001.

OH, M. C.; DERKACH, V. A.; GUIRE, E. S.; SODERLING, T. R. Extrasynaptic membrane trafficking regulated by GluR1 serine 845 phosphorylation primes

AMPA receptors for long-term potentiation. J Biol Chem, 281, n. 2, p. 752-758, Jan 13 2006.

OHKAWA, H.; OHISHI, N.; YAGI, K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. Anal Biochem, 95, n. 2, p. 351-358, Jun 1979.

PALMER, A. M.; BURNS, M. A. Selective increase in lipid peroxidation in the inferior temporal cortex in Alzheimer's disease. Brain Res, 645, n. 1-2, p. 338-342, May 9 1994.

PARIKH, V.; BERNARD, C. S.; NAUGHTON, S. X.; YEGLA, B. Interactions between A β oligomers and presynaptic cholinergic signaling: age-dependent effects on attentional capacities. Behav Brain Res, 274, p. 30-42, Nov 1 2014.

PARSONS, C. G.; GRUNER, R.; ROZENTAL, J.; MILLAR, J. *et al.* Patch clamp studies on the kinetics and selectivity of N-methyl-D-aspartate receptor antagonism by memantine (1-amino-3,5-dimethyladamantan). Neuropharmacology, 32, n. 12, p. 1337-1350, Dec 1993.

PATTERSON, C.; FEIGHTNER, J. W.; GARCIA, A.; HSIUNG, G. Y. *et al.* Diagnosis and treatment of dementia: 1. Risk assessment and primary prevention of Alzheimer disease. Cmaj, 178, n. 5, p. 548-556, Feb 26 2008.

PAULA, J. J. d.; MALLOY-DINIZ, L. F. Executive functions as predictors of functional performance in mild Alzheimer's dementia and mild cognitive impairment elderly. Estudos de Psicologia (Natal), 18, p. 117-124, 2013.

PAXINOS, G.; WATSON, C. The rat brain in stereotaxic coordinates. 4 ed. Academic Press, 1986.

PENA-BAUTISTA, C.; VIGOR, C.; GALANO, J. M.; OGER, C. *et al.* Plasma lipid peroxidation biomarkers for early and non-invasive Alzheimer Disease detection. Free Radic Biol Med, 124, p. 388-394, Aug 20 2018.

PEPEU, G.; GIOVANNINI, M. G.; BRACCO, L. Effect of cholinesterase inhibitors on attention. Chem Biol Interact, 203, n. 1, p. 361-364, Mar 25 2013.

PEREZ, S. E.; LAZAROV, O.; KOPRICH, J. B.; CHEN, E. Y. *et al.* Nigrostriatal dysfunction in familial Alzheimer's disease-linked APP^{swe}/PS1DeltaE9 transgenic mice. *J Neurosci*, 25, n. 44, p. 10220-10229, Nov 2 2005.

PETERSEN, R. C.; DOODY, R.; KURZ, A.; MOHS, R. C. *et al.* Current concepts in mild cognitive impairment. *Arch Neurol*, 58, n. 12, p. 1985-1992, Dec 2001.

PETERSEN, R. C.; STEVENS, J. C.; GANGULI, M.; TANGALOS, E. G. *et al.* Practice parameter: early detection of dementia: mild cognitive impairment (an evidence-based review). Report of the Quality Standards Subcommittee of the American Academy of Neurology. *Neurology*, 56, n. 9, p. 1133-1142, May 8 2001.

PHILLIPS, C.; BAKTIR, M. A.; DAS, D.; LIN, B. *et al.* The Link Between Physical Activity and Cognitive Dysfunction in Alzheimer Disease. *Phys Ther*, 95, n. 7, p. 1046-1060, Jul 2015.

PIETZUCH, M.; KING, A. E.; WARD, D. D.; VICKERS, J. C. The Influence of Genetic Factors and Cognitive Reserve on Structural and Functional Resting-State Brain Networks in Aging and Alzheimer's Disease. *Front Aging Neurosci*, 11, p. 30, 2019.

POWERS, E. T.; MORIMOTO, R. I.; DILLIN, A.; KELLY, J. W. *et al.* Biological and chemical approaches to diseases of proteostasis deficiency. *Annu Rev Biochem*, 78, p. 959-991, 2009.

PRADO LIMA, M. G.; SCHIMIDT, H. L.; GARCIA, A.; DARE, L. R. *et al.* Environmental enrichment and exercise are better than social enrichment to reduce memory deficits in amyloid beta neurotoxicity. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 115, n. 10, p. E2403-e2409, Mar 6 2018.

PRATICO, D. Oxidative stress hypothesis in Alzheimer's disease: a reappraisal. *Trends Pharmacol Sci*, 29, n. 12, p. 609-615, Dec 2008.

PRINCE, M.; COMAS-HERRERA, A.; KNAPP, M.; GUERCHET, M. *et al.* World Alzheimer report 2016: improving healthcare for people living with dementia: coverage, quality and costs now and in the future. 2016.

RAMESH, T.; KIM, S. W.; SUNG, J. H.; HWANG, S. Y. et al. Effect of fermented Panax ginseng extract (GINST) on oxidative stress and antioxidant activities in major organs of aged rats. *Exp Gerontol*, 47, n. 1, p. 77-84, Jan 2012.

RAZ, N.; LINDENBERGER, U.; RODRIGUE, K. M.; KENNEDY, K. M. et al. Regional brain changes in aging healthy adults: general trends, individual differences and modifiers. *Cereb Cortex*, 15, n. 11, p. 1676-1689, Nov 2005.

RAZ, N.; RODRIGUE, K. M.; HAACKE, E. M. Brain aging and its modifiers: insights from in vivo neuromorphometry and susceptibility weighted imaging. *Ann N Y Acad Sci*, 1097, p. 84-93, Feb 2007.

ROBBINS, T. W.; EVERITT, B. J. A role for mesencephalic dopamine in activation: commentary on Berridge (2006). *Psychopharmacology (Berl)*, 191, n. 3, p. 433-437, Apr 2007.

ROBINSON, N. B.; KRIEGER, K.; KHAN, F. M.; HUFFMAN, W. et al. The current state of animal models in research: A review. *Int J Surg*, 72, p. 9-13, Dec 2019.

ROIG, M.; SKRIVER, K.; LUNDBYE-JENSEN, J.; KIENS, B. et al. A single bout of exercise improves motor memory. *PLoS One*, 7, n. 9, p. e44594, 2012.

ROIG, M.; THOMAS, R.; MANG, C. S.; SNOW, N. J. et al. Time-Dependent Effects of Cardiovascular Exercise on Memory. *Exerc Sport Sci Rev*, 44, n. 2, p. 81-88, Apr 2016.

ROJAS-GUTIERREZ, E.; MUNOZ-ARENAS, G.; TREVINO, S.; ESPINOSA, B. et al. Alzheimer's disease and metabolic syndrome: A link from oxidative stress and inflammation to neurodegeneration. *Synapse*, 71, n. 10, p. e21990, Oct 2017.

ROSS, J. A.; REYES, B. A. S.; VAN BOCKSTAELE, E. J. Amyloid beta peptides, locus coeruleus-norepinephrine system and dense core vesicles. *Brain Res*, 1702, p. 46-53, Jan 1 2019.

ROSSATO, J. I.; BEVILAQUA, L. R.; IZQUIERDO, I.; MEDINA, J. H. *et al.* Dopamine controls persistence of long-term memory storage. *Science*, 325, n. 5943, p. 1017-1020, Aug 21 2009.

ROSSI DARE, L.; GARCIA, A.; ALVES, N.; VENTURA DIAS, D. *et al.* Physical and cognitive training are able to prevent recognition memory deficits related to amyloid beta neurotoxicity. *Behav Brain Res*, 365, p. 190-197, Jun 3 2019.

ROSSNER, S.; SASTRE, M.; BOURNE, K.; LICHTENTHALER, S. F. Transcriptional and translational regulation of BACE1 expression--implications for Alzheimer's disease. *Prog Neurobiol*, 79, n. 2, p. 95-111, Jun 2006.

ROYALL, D. R.; PALMER, R.; CHIODO, L. K.; POLK, M. J. Declining executive control in normal aging predicts change in functional status: the Freedom House Study. *J Am Geriatr Soc*, 52, n. 3, p. 346-352, Mar 2004.

RUSSELL, S. J.; KAHN, C. R. Endocrine regulation of ageing. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 8, n. 9, p. 681-691, Sep 2007.

RUSSO, S. J.; NESTLER, E. J. The brain reward circuitry in mood disorders. *Nat Rev Neurosci*, 14, n. 9, p. 609-625, Sep 2013.

SACHELI, M. A.; NEVA, J. L.; LAKHANI, B.; MURRAY, D. K. *et al.* Exercise increases caudate dopamine release and ventral striatal activation in Parkinson's disease. *Mov Disord*, Oct 4 2019.

SAGE, M. D.; BEYER, K. B.; LAYLOR, M.; LIANG, C. *et al.* A single session of exercise as a modulator of short-term learning in healthy individuals. *Neurosci Lett*, 629, p. 92-98, Aug 26 2016.

SALTHOUSE, T. A. Aging and measures of processing speed. *Biol Psychol*, 54, n. 1-3, p. 35-54, Oct 2000.

SARA, S. J. Locus Coeruleus in time with the making of memories. *Curr Opin Neurobiol*, 35, p. 87-94, Dec 2015.

SASO, L.; FIRUZI, O. Pharmacological applications of antioxidants: lights and shadows. *Curr Drug Targets*, 15, n. 13, p. 1177-1199, 2014.

SCHUTZ, R. A.; IZQUIERDO, I. Effect of brain lesions on rat shuttle behavior in four different tests. *Physiol Behav*, 23, n. 1, p. 97-105, Jul 1979.

SCUDERI, C.; STECCA, C.; VALENZA, M.; RATANO, P. *et al.* Palmitoylethanolamide controls reactive gliosis and exerts neuroprotective functions in a rat model of Alzheimer's disease. *Cell Death Dis*, 5, p. e1419, Sep 11 2014.

SEGAL, S. K.; COTMAN, C. W.; CAHILL, L. F. Exercise-induced noradrenergic activation enhances memory consolidation in both normal aging and patients with amnesic mild cognitive impairment. *J Alzheimers Dis*, 32, n. 4, p. 1011-1018, 2012.

SEHGAL, M.; SONG, C.; EHLERS, V. L.; MOYER, J. R., Jr. Learning to learn - intrinsic plasticity as a metaplasticity mechanism for memory formation. *Neurobiol Learn Mem*, 105, p. 186-199, Oct 2013.

SELKOE, D. J. The molecular pathology of Alzheimer's disease. *Neuron*, 6, n. 4, p. 487-498, Apr 1991.

SELKOE, D. J. Translating cell biology into therapeutic advances in Alzheimer's disease. *Nature*, 399, n. 6738 Suppl, p. A23-31, Jun 24 1999.

SELKOE, D. J.; HARDY, J. The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease at 25 years. *EMBO Mol Med*, 8, n. 6, p. 595-608, Jun 2016.

SHARMA, K. Cholinesterase inhibitors as Alzheimer's therapeutics (Review). *Mol Med Rep*, 20, n. 2, p. 1479-1487, Aug 2019.

SIES, H.; CADENAS, E. Oxidative stress: damage to intact cells and organs. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 311, n. 1152, p. 617-631, Dec 17 1985.

SLOANE, P. D.; ZIMMERMAN, S.; SUCHINDRAN, C.; REED, P. *et al.* The public health impact of Alzheimer's disease, 2000-2050: potential implication of treatment advances. *Annu Rev Public Health*, 23, p. 213-231, 2002.

SMITH, J. C.; NIELSON, K. A.; WOODARD, J. L.; SEIDENBERG, M. *et al.* Physical activity reduces hippocampal atrophy in elders at genetic risk for Alzheimer's disease. *Front Aging Neurosci*, 6, p. 61, 2014.

SNG, E.; FRITH, E.; LOPRINZI, P. D. Temporal Effects of Acute Walking Exercise on Learning and Memory Function. *Am J Health Promot*, 32, n. 7, p. 1518-1525, Sep 2018.

SNOW, N. J.; MANG, C. S.; ROIG, M.; MCDONNELL, M. N. *et al.* The Effect of an Acute Bout of Moderate-Intensity Aerobic Exercise on Motor Learning of a Continuous Tracking Task. *PLoS One*, 11, n. 2, p. e0150039, 2016.

SOKOLOFF, P.; DIAZ, J.; LE FOLL, B.; GUILLIN, O. *et al.* The dopamine D3 receptor: a therapeutic target for the treatment of neuropsychiatric disorders. *CNS Neurol Disord Drug Targets*, 5, n. 1, p. 25-43, Feb 2006.

SQUIRE, L. R. Memory systems of the brain: a brief history and current perspective. *Neurobiol Learn Mem*, 82, n. 3, p. 171-177, Nov 2004.

SQUIRE, L. R.; DEDE, A. J. Conscious and unconscious memory systems. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 7, n. 3, p. a021667, Mar 2 2015.

STATTON, M. A.; ENCARNACION, M.; CELNIK, P.; BASTIAN, A. J. A Single Bout of Moderate Aerobic Exercise Improves Motor Skill Acquisition. *PLoS One*, 10, n. 10, p. e0141393, 2015.

STELLA, F.; CANONICI, A. P.; GOBBI, S.; GALDUROZ, R. F. *et al.* Attenuation of neuropsychiatric symptoms and caregiver burden in Alzheimer's disease by motor intervention: a controlled trial. *Clinics (Sao Paulo)*, 66, n. 8, p. 1353-1360, 2011.

STEPANICHEV, M. Y.; MOISEEVA, Y. V.; LAZAREVA, N. A.; GULYAEVA, N. V. Studies of the effects of fragment (25-35) of beta-amyloid peptide on the behavior of rats in a radial maze. *Neurosci Behav Physiol*, 35, n. 5, p. 511-518, Jun 2005.

STRANAHAN, A. M.; KHALIL, D.; GOULD, E. Running induces widespread structural alterations in the hippocampus and entorhinal cortex. *Hippocampus*, 17, n. 11, p. 1017-1022, 2007.

SUDA, S.; UEDA, M.; SAKURAZAWA, M.; NISHIYAMA, Y. et al. Clinical and neuroradiological progression in diffuse neurofibrillary tangles with calcification. *J Clin Neurosci*, 16, n. 8, p. 1112-1114, Aug 2009.

SUMMERS, M. J.; SAUNDERS, N. L. Neuropsychological measures predict decline to Alzheimer's dementia from mild cognitive impairment. *Neuropsychology*, 26, n. 4, p. 498-508, Jul 2012.

SUN, L. N.; QI, J. S.; GAO, R. Physical exercise reserved amyloid-beta induced brain dysfunctions by regulating hippocampal neurogenesis and inflammatory response via MAPK signaling. *Brain Res*, 1697, p. 1-9, Oct 15 2018.

SVENSSON, M.; LEXELL, J.; DEIERBORG, T. Effects of Physical Exercise on Neuroinflammation, Neuroplasticity, Neurodegeneration, and Behavior: What We Can Learn From Animal Models in Clinical Settings. *Neurorehabil Neural Repair*, 29, n. 6, p. 577-589, Jul 2015.

SZABADI, E. Functional neuroanatomy of the central noradrenergic system. *J Psychopharmacol*, 27, n. 8, p. 659-693, Aug 2013.

SZUHANY, K. L.; BUGATTI, M.; OTTO, M. W. A meta-analytic review of the effects of exercise on brain-derived neurotrophic factor. *J Psychiatr Res*, 60, p. 56-64, Jan 2015.

TABET, N. Acetylcholinesterase inhibitors for Alzheimer's disease: anti-inflammatories in acetylcholine clothing! *Age Ageing*, 35, n. 4, p. 336-338, Jul 2006.

TAKEUCHI, T.; DUSZKIEWICZ, A. J.; SONNEBORN, A.; SPOONER, P. A. *et al.* Locus coeruleus and dopaminergic consolidation of everyday memory. *Nature*, 537, n. 7620, p. 357-362, Sep 15 2016.

TALENS, R. P.; CHRISTENSEN, K.; PUTTER, H.; WILLEMSEN, G. *et al.* Epigenetic variation during the adult lifespan: cross-sectional and longitudinal data on monozygotic twin pairs. *Aging Cell*, 11, n. 4, p. 694-703, Aug 2012.

TANG, S. W.; CHU, E.; HUI, T.; HELMESTE, D. *et al.* Influence of exercise on serum brain-derived neurotrophic factor concentrations in healthy human subjects. *Neurosci Lett*, 431, n. 1, p. 62-65, Jan 24 2008.

TARI, A. R.; NOREVIK, C. S.; SCRIMGEOUR, N. R.; KOBRO-FLATMOEN, A. *et al.* Are the neuroprotective effects of exercise training systemically mediated? *Prog Cardiovasc Dis*, 62, n. 2, p. 94-101, Mar - Apr 2019.

TAYLOR, R. S.; BROWN, A.; EBRAHIM, S.; JOLLIFFE, J. *et al.* Exercise-based rehabilitation for patients with coronary heart disease: systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Am J Med*, 116, n. 10, p. 682-692, May 15 2004.

TEIXEIRA, J. B.; SOUZA JUNIOR, P. R. B. d.; HIGA, J.; THEME FILHA, M. M. Mortality from Alzheimer's disease in Brazil, 2000-2009. *Cadernos de Saúde Pública*, 31, p. 850-860, 2015.

TEXIDO, L.; MARTIN-SATUE, M.; ALBERDI, E.; SOLSONA, C. *et al.* Amyloid beta peptide oligomers directly activate NMDA receptors. *Cell Calcium*, 49, n. 3, p. 184-190, Mar 2011.

THOMAS, R.; FLINDTGAARD, M.; SKRIVER, K.; GEERTSEN, S. S. *et al.* Acute exercise and motor memory consolidation: Does exercise type play a role? *Scand J Med Sci Sports*, 27, n. 11, p. 1523-1532, Nov 2017.

TIIMAN, A.; PALUMAA, P.; TOUGU, V. The missing link in the amyloid cascade of Alzheimer's disease - metal ions. *Neurochem Int*, 62, n. 4, p. 367-378, Mar 2013.

TONNIES, E.; TRUSHINA, E. Oxidative Stress, Synaptic Dysfunction, and Alzheimer's Disease. *J Alzheimers Dis*, 57, n. 4, p. 1105-1121, 2017.

TREBBASTONI, A.; IMBRIANO, L.; PODDA, L.; RENDACE, L. *et al.* Cognitive Training in Patients with Alzheimer's Disease: Findings of a 12-month Randomized Controlled Trial. *Curr Alzheimer Res*, 15, n. 5, p. 452-461, Mar 14 2018.

TRILLO, L.; DAS, D.; HSIEH, W.; MEDINA, B. *et al.* Ascending monoaminergic systems alterations in Alzheimer's disease. translating basic science into clinical care. *Neurosci Biobehav Rev*, 37, n. 8, p. 1363-1379, Sep 2013.

UNSWORTH, N.; ENGLE, R. W. On the division of short-term and working memory: an examination of simple and complex span and their relation to higher order abilities. *Psychol Bull*, 133, n. 6, p. 1038-1066, Nov 2007.

VALENZUELA, M. J.; SACHDEV, P. Brain reserve and cognitive decline: a non-parametric systematic review. *Psychol Med*, 36, n. 8, p. 1065-1073, Aug 2006.

VAN PRAAG, H.; SHUBERT, T.; ZHAO, C.; GAGE, F. H. Exercise enhances learning and hippocampal neurogenesis in aged mice. *J Neurosci*, 25, n. 38, p. 8680-8685, Sep 21 2005.

VANHEES, L.; RAUCH, B.; PIEPOLI, M.; VAN BUUREN, F. *et al.* Importance of characteristics and modalities of physical activity and exercise in the management of cardiovascular health in individuals with cardiovascular disease (Part III). *Eur J Prev Cardiol*, 19, n. 6, p. 1333-1356, Dec 2012.

VARADARAJAN, S.; KANSKI, J.; AKSENOVA, M.; LAUDERBACK, C. *et al.* Different mechanisms of oxidative stress and neurotoxicity for Alzheimer's A beta(1--42) and A beta(25--35). *J Am Chem Soc*, 123, n. 24, p. 5625-5631, Jun 20 2001.

VARGAS, L. S.; RAMIRES LIMA, K.; PIAIA RAMBORGER, B.; ROEHRS, R. *et al.* Catecholaminergic hippocampal activation is necessary for object recognition memory persistence induced by one-single physical exercise session. *Behav Brain Res*, p. 112356, Nov 12 2019.

VAYNMAN, S.; YING, Z.; GOMEZ-PINILLA, F. Exercise induces BDNF and synapsin I to specific hippocampal subfields. *J Neurosci Res*, 76, n. 3, p. 356-362, May 1 2004.

VENEZIA, A. C.; QUINLAN, E.; ROTH, S. M. A single bout of exercise increases hippocampal Bdnf: influence of chronic exercise and noradrenaline. *Genes Brain Behav*, 16, n. 8, p. 800-811, Nov 2017.

VENKATESHAPPA, C.; HARISH, G.; MAHADEVAN, A.; SRINIVAS BHARATH, M. M. *et al.* Elevated oxidative stress and decreased antioxidant function in the human hippocampus and frontal cortex with increasing age: implications for neurodegeneration in Alzheimer's disease. *Neurochem Res*, 37, n. 8, p. 1601-1614, Aug 2012.

VERGHESE, P. B.; CASTELLANO, J. M.; HOLTZMAN, D. M. Apolipoprotein E in Alzheimer's disease and other neurological disorders. *Lancet Neurol*, 10, n. 3, p. 241-252, Mar 2011.

VILLEMAGNE, V. L.; BURNHAM, S.; BOURGEAT, P.; BROWN, B. *et al.* Amyloid beta deposition, neurodegeneration, and cognitive decline in sporadic Alzheimer's disease: a prospective cohort study. *Lancet Neurol*, 12, n. 4, p. 357-367, Apr 2013.

VIVINETTO, A. L.; SUAREZ, M. M.; RIVAROLA, M. A. Neurobiological effects of neonatal maternal separation and post-weaning environmental enrichment. *Behav Brain Res*, 240, p. 110-118, Mar 1 2013.

WANG, R.; HOLSINGER, R. M. D. Exercise-induced brain-derived neurotrophic factor expression: Therapeutic implications for Alzheimer's dementia. *Ageing Res Rev*, 48, p. 109-121, Dec 2018.

WANG, R.; REDDY, P. H. Role of Glutamate and NMDA Receptors in Alzheimer's Disease. *J Alzheimers Dis*, 57, n. 4, p. 1041-1048, 2017.

WANG, X.; WANG, W.; LI, L.; PERRY, G. *et al.* Oxidative stress and mitochondrial dysfunction in Alzheimer's disease. *Biochim Biophys Acta*, 1842, n. 8, p. 1240-1247, Aug 2014.

WELLER, J.; BUDSON, A. Current understanding of Alzheimer's disease diagnosis and treatment. *F1000Res*, 7, 2018.

WENG, T. B.; PIERCE, G. L.; DARLING, W. G.; VOSS, M. W. Differential Effects of Acute Exercise on Distinct Aspects of Executive Function. *Med Sci Sports Exerc*, 47, n. 7, p. 1460-1469, Jul 2015.

WILLIAMS, J. W.; PLASSMAN, B. L.; BURKE, J.; BENJAMIN, S. Preventing Alzheimer's disease and cognitive decline. *Evid Rep Technol Assess (Full Rep)*, n. 193, p. 1-727, Apr 2010.

WILSON, P. T.; SPITZER, R. L. Major changes in psychiatric nomenclature. Reconciling existing psychiatric medical records with the new American Psychiatric Association Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders. *Hosp Community Psychiatry*, 19, n. 6, p. 169-174, Jun 1968.

WILSON, R. S.; MENDES DE LEON, C. F.; BARNES, L. L.; SCHNEIDER, J. A. *et al.* Participation in cognitively stimulating activities and risk of incident Alzheimer disease. *Jama*, 287, n. 6, p. 742-748, Feb 13 2002.

WINOCUR, G.; CRAIK, F. I.; LEVINE, B.; ROBERTSON, I. H. *et al.* Cognitive rehabilitation in the elderly: overview and future directions. *J Int Neuropsychol Soc*, 13, n. 1, p. 166-171, Jan 2007.

WINTER, B.; BREITENSTEIN, C.; MOOREN, F. C.; VOELKER, K. *et al.* High impact running improves learning. *Neurobiol Learn Mem*, 87, n. 4, p. 597-609, May 2007.

WOODS, B.; AGUIRRE, E.; SPECTOR, A. E.; ORRELL, M. Cognitive stimulation to improve cognitive functioning in people with dementia. *Cochrane Database Syst Rev*, n. 2, p. Cd005562, Feb 15 2012.

WYSS-CORAY, T. Inflammation in Alzheimer disease: driving force, bystander or beneficial response? Nat Med, 12, n. 9, p. 1005-1015, Sep 2006.

XU, W.; TAN, L.; WANG, H. F.; JIANG, T. *et al.* Meta-analysis of modifiable risk factors for Alzheimer's disease. J Neurol Neurosurg Psychiatry, 86, n. 12, p. 1299-1306, Dec 2015.

YAN, R.; VASSAR, R. Targeting the beta secretase BACE1 for Alzheimer's disease therapy. Lancet Neurol, 13, n. 3, p. 319-329, Mar 2014.

YIN, Y.; REN, Y.; WU, W.; WANG, Y. *et al.* Protective effects of bilobalide on Abeta(25-35) induced learning and memory impairments in male rats. Pharmacol Biochem Behav, 106, p. 77-84, May 2013.

YU, F.; XU, B.; SONG, C.; JI, L. *et al.* Treadmill exercise slows cognitive deficits in aging rats by antioxidation and inhibition of amyloid production. Neuroreport, 24, n. 6, p. 342-347, Apr 17 2013.

ZANUSO, S.; SACCHETTI, M.; SUNDBERG, C. J.; ORLANDO, G. *et al.* Exercise in type 2 diabetes: genetic, metabolic and neuromuscular adaptations. A review of the evidence. Br J Sports Med, 51, n. 21, p. 1533-1538, Nov 2017.

ZAROW, C.; VINTERS, H. V.; ELLIS, W. G.; WEINER, M. W. *et al.* Correlates of hippocampal neuron number in Alzheimer's disease and ischemic vascular dementia. Ann Neurol, 57, n. 6, p. 896-903, Jun 2005.

ZHANG, G.; LI, J.; PURKAYASTHA, S.; TANG, Y. *et al.* Hypothalamic programming of systemic ageing involving IKK-beta, NF-kappaB and GnRH. Nature, 497, n. 7448, p. 211-216, May 9 2013.

ZHANG, L.; TANG, W.; CHAO, F. L.; ZHOU, C. N. *et al.* Four-month treadmill exercise prevents the decline in spatial learning and memory abilities and the loss of spinophilin-immunoreactive puncta in the hippocampus of APP/PS1 transgenic mice. Neurobiol Dis, 136, p. 104723, Mar 2020.

ZHANG, X. Q.; LI, L.; HUO, J. T.; CHENG, M. *et al.* Effects of repetitive transcranial magnetic stimulation on cognitive function and cholinergic activity in the rat hippocampus after vascular dementia. *Neural Regen Res*, 13, n. 8, p. 1384-1389, Aug 2018.

ZUCHELLA, C.; SINFORIANI, E.; TAMBURIN, S.; FEDERICO, A. *et al.* The Multidisciplinary Approach to Alzheimer's Disease and Dementia. A Narrative Review of Non-Pharmacological Treatment. *Front Neurol*, 9, p. 1058, 2018.

ANEXOS

ANEXO 1. Cópia do certificado de aprovação da Comissão de Ética para o Uso de Animais da Unipampa



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DO PAMPA
(Lei nº 11.640, de 11 de janeiro de 2008)



Pró-Reitoria de Pesquisa, Pós-Graduação e Inovação (PROPII)

COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS - CEUA

Fone: (55)3911-0200, E-mail: ceua@unipampa.edu.br

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO DE PROTOCOLO PARA USO DE ANIMAIS EM PESQUISA

Número de protocolo da CEUA: 014/2017

Título: Efeitos da terapia cognitiva e do exercício físico em um modelo animal de Doença de Alzheimer.

Data da aprovação: 14/06/2017

Período de vigência do projeto: 14/06/2019

Pesquisador(a): Pâmela Billig Mello Carpes

Campus: Uruguaiiana

Telefone: (55) 99661-2454

E-mail: pamelacarpes@unipampa.edu.br

CEUA

Finalidade	() Ensino (X) Pesquisa
Espécie/Linhagem/Raça	Ratos Wistar
Nº de animais	184
Peso/Idade	250-300g / 90 dias
Sexo	Machos
Origem	Biotério Central da Universidade Federal de Santa Maria


Profª. Drª. Vanusa Manfredini
Coordenadora CEUA/UNIPAMPA

ANEXO 2. Artigo publicado na revista *Behavioral Brain Research* (resultados do estudo 1).

Behavioural Brain Research 365 (2019) 190–197



Contents lists available at ScienceDirect

Behavioural Brain Research

journal homepage: www.elsevier.com/locate/bbr

Research report

Physical and cognitive training are able to prevent recognition memory deficits related to amyloid beta neurotoxicity



Leticia Rossi Dare^a, Alexandre Garcia^a, Niege Alves^a, Daniel Ventura Dias^b,
Mauren Assis de Souza^a, Pâmela B Mello-Carpes^{a,*}

^a Physiology Research Group, Federal University of Pampa, Multicentric Graduate Program in Physiological Sciences - SBFis/Unipampa, Uruguaiana, RS, Brazil

^b Department of Structural Biology, Federal University of Triangulo Mineiro, Uberaba, MG, Brazil

ARTICLE INFO

Keywords:

Alzheimer disease
Object recognition memory
Oxidative stress
Antioxidant capacity

ABSTRACT

Alzheimer's disease (AD) is characterized by the presence of amyloid- β (A β), oxidative damage and neuronal degeneration, which, together with other pathological events, promote progressive memory loss and cognitive decline. Non-pharmacological strategies have been studied to provide some protection against the development of AD. Considering that physical exercise neuroprotective effects on prevention of cognitive deficits are well elucidated, it is important to clarify the effects of cognitive training, and verify if they are similar or comparable to those observed for physical exercise. Here we divided male adult Wistar rats in six groups: control, which rats were not submitted to any intervention; A β , which rats were submitted to hippocampal infusion of A β ; physical exercise (PE), which rats were submitted to 4 weeks of PE training; PE + A β , which rats were submitted to 4 weeks of PE training followed by hippocampal infusion of A β ; cognitive exercise (CE), which rats were submitted to 4 weeks of CE training; and, CE + A β , which rats were submitted to 4 weeks of CE training followed by hippocampal infusion of A β . Ten days after A β infusion, short (STM) and long-term (LTM) object recognition memory, as well as hippocampal oxidative stress (ROS levels by DCFH test), lipid peroxidation (TBARS), total antioxidant capacity (FRAP) and hippocampal histology were evaluated. Both PE and CE were effective in protect cognitive function against memory deficits related to A β neurotoxicity, preventing oxidative stress and damage and hippocampal cellular disorganization. So, cognitive training seems to be as good as physical training in the prevention of memory deficits related to A β and seems to share some mechanisms of actions, as oxidative stress prevention.

1. Introduction

Neurodegenerative diseases, as Alzheimer's disease (AD), are attracting growing concern considering the increase in its patient population, mainly elderly. AD is characterized by the presence of amyloid- β (A β) protein aggregations, phosphorylated tau protein into neurofibrillary tangles [1], neuroinflammation [2], oxidative damage [3] and neuronal and synaptic degeneration [4]. These brain alterations contribute to promote progressive memory loss and cognitive decline.

The impaired recognition of familiar objects/locations and difficulties in distinguishing them from novel objects/locations is one of the early traits of cognitive decline, which is observed in patients with AD [5]. Recognition memory is the ability to distinguish novel and familiar stimuli, and the hippocampus is important both for spatial and object recognition memory [6]. Study shows that A β is able to alter the object

recognition memory [7]. It is important to explore this type of memory, which might help in understanding the related pathologies and in developing new forms to prevent various neurodegenerative and neuropsychological diseases [6].

Pharmaceutical approaches to treat AD have had very limited success until now, and even when a safe and effective disease-modifying agent is approved, the cost of its chronic administration and its complex delivery logistics may still leave many elderly humans underserved [8]. In this sense, non-pharmacological strategies have been studied and the actual data suggest that lifelong experiences, such as education, exercise, socialization, enriched environment and cognitive stimulation, may provide some protection against the development of AD later in life [9–11].

Physical exercise has important known neuroprotective effects, protecting cognitive functions on dementia and neurodegenerative

* Corresponding author at: Stress, Memory and Behavioral Laboratory, Federal University of Pampa, Campus Uruguaiana, BR 472, km 592 PO box 118, 97500-970, Uruguaiana, RS, Brazil.

E-mail address: pamelacarpes@unipampa.edu.br (P.B. Mello-Carpes).

<https://doi.org/10.1016/j.bbr.2019.03.007>

Received 28 November 2018; Received in revised form 19 February 2019; Accepted 2 March 2019

Available online 04 March 2019

0166-4328/© 2019 Elsevier B.V. All rights reserved.

ANEXO 3. Carta de submissão de manuscrito à revista *Frontiers in Behavioral Neuroscience* (resultados do estudo 2).

07/03/2020

Gmail - Frontiers: Your manuscript submission - 541195



Leticia Rossi Daré <lerossidare@gmail.com>

Frontiers: Your manuscript submission - 541195

Frontiers In Behavioral Neuroscience Editorial Office
 <behavioralneuroscience.editorial.office@frontiersin.org>
 Responder a: Frontiers In Behavioral Neuroscience Editorial Office
 <behavioralneuroscience.editorial.office@frontiersin.org>
 Para: lerossidare@gmail.com

7 de março de 2020
 13:10

Dear Dr Dare,

Frontiers In Behavioral Neuroscience Editorial Office has sent you a message. Please click 'Reply' to send a direct response

We are pleased to inform you that we have received the manuscript "REVERSING MEMORY DEFICITS IN AN ALZHEIMER'S DISEASE MODEL RELATED TO AMYLOID BETA NEUROTOXICITY USING PHYSICAL AND COGNITIVE EXERCISE" to be considered for publication in Frontiers in Behavioral Neuroscience, section Learning and Memory.

You can access the review forum and track the progress of your manuscript using the following link:
<http://www.frontiersin.org/Journal/MySubmission.aspx?stage=100>

If you have already created a Frontiers account using a different email address, please add this one as a secondary email to your Frontiers profile following this link:
<http://loop.frontiersin.org/settings/email>
 For any questions on the above, you can contact support@frontiersin.org

You will receive a notification as soon as the interactive review forum is activated and you receive access the review reports. You will then be able to interact directly with the reviewers in the interactive review forum and also re-submit a revised manuscript.

Best regards,

Your Frontiers In Behavioral Neuroscience team

Frontiers | Editorial Office - Collaborative Peer Review
www.frontiersin.org | twitter.com/FrontiersIn
 Avenue du Tribunal Federal 34
 1005 Lausanne, Switzerland | T 41 (21) 510 17 25

MANUSCRIPT DETAILS

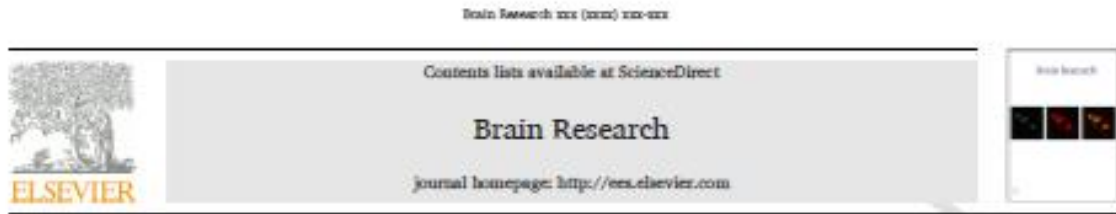
Manuscript title: REVERSING MEMORY DEFICITS IN AN ALZHEIMER'S DISEASE MODEL RELATED TO AMYLOID BETA NEUROTOXICITY USING PHYSICAL AND COGNITIVE EXERCISE
 Manuscript ID: 541195
 Submitted By: Pâmela Billig Mello-Carpes
 Authors: Leticia R. Daré, Alexandre Garcia, Caroline B. Soares, Lulza Lopes, Ben-Hur S. Neves, Daniel V. Dias, Pâmela Billig Mello-Carpes
 Journal: Frontiers in Behavioral Neuroscience, section Learning and Memory

Research Topic: From Oxidative Stress to Cognitive Decline - Towards Novel Therapeutic Approaches
 Article type: Original Research
 Submitted on: 07 Mar 2020

ADDITIONAL INFORMATION

In order to enable a smooth and efficient review process, please familiarize yourself with the Frontiers review guidelines:
http://www.frontiersin.org/Journal/ReviewGuidelines.aspx?s=2015&name=learning_and_memory

To take part in the Resource Identification Initiative please cite antibodies, genetically modified organisms, software tools, data, databases and services using the corresponding catalog number and RRID in the text of your article. Please see here for more information: http://www.frontiersin.org/files/pdf/letter_to_author.pdf

ANEXO 4. Artigo publicado na revista *Brain Research* (resultados do estudo 3).

Research report

One physical exercise session promotes recognition learning in rats with cognitive deficits related to amyloid beta neurotoxicity

Leticia Rossi Daré, Alexandre Garcia, Ben-Hur Nevez, Pâmela B. Mello-Carpes*

Physiology Research Group, Stress, Memory and Behavior Lab, Federal University of Pampa, Uruguaiana, RS, Brazil

ARTICLE INFO

Keywords

Running
Strength exercise
Acute exercise
Amyloid- β neurotoxicity
Alzheimer's disease

ABSTRACT

Alzheimer's disease is a progressive neurodegenerative pathological process that causes memory loss and cognitive impairment. One of the pathological characteristics of Alzheimer's disease is the amyloid- β protein aggregation on the brain. The regular practice of physical exercise is a consolidated strategy on the prevention of cognitive deficits; however, little is known about the effects of acute exercise on memory. We hypothesize that one physical exercise session could act as a modulator of learning. Here we investigated the effects of one single session of running (aerobic) or strength (anaerobic) exercise on memory deficits related to neurotoxicity induced by amyloid- β . Male Wistar rats were submitted to stereotaxic surgery to intrahippocampal infusion of amyloid- β protein or saline (control). Ten days after the surgery the rats were submitted to the object recognition (OR) memory task. Immediately after the OR learning session, some rats were submitted to one treadmill running or strength exercise session. Then, the animals were submitted to memory tests 24 h, 7, and 14 days after the OR learning. We demonstrated that one physical exercise session, both aerobic as anaerobic, performed after learning improves learning and memory, promoting memory persistence in control rats and memory consolidation in rats submitted to amyloid- β neurotoxicity model. Notably, the effects of the aerobic exercise session seem to be more prominent, since they also reflect in an improvement of object discrimination index for 7 days in control animals. We verified that the mechanisms involved in the effects of aerobic exercise include the dopaminergic system activation. The mechanisms involved in the anaerobic exercise effects seem to be others since no alterations on hippocampal dopamine or noradrenaline levels were detected.

1. Introduction

Alzheimer's disease (AD) is the most common form of dementia in elderly (Cunningham et al., 2015). It is a progressive neurodegenerative pathological process that causes memory loss and cognitive impairment (Norton et al., 2014).

In the last decades, two main mechanisms related to AD have been widely investigated. The cleavage of amyloid precursor protein (APP) by β -secretase, which leads to an increase of amyloid- β (A β) protein in the extracellular space (Wang et al., 2012); and the tau protein hyperphosphorylation (Suda et al., 2009). Both are toxic to the brain and interfere the synaptic function (Masters et al., 2015) since the biochemical and molecular changes induce neuronal damage. More recently, the AD and the A β neurotoxicity have been related to alterations in noradrenergic and dopaminergic projections to the hippocampus and entorhinal cortex (Mitchell et al., 2011; Nam et al., 2019; Storga et al., 1996).

Many models have been used to try to understand AD's pathology. However, most of them only replicate some of the characteristics of AD (Drummond and Wisniewski, 2017), and nowadays there is no model that reproduces all the complexity of AD. The intrahippocampal injection of A β 25-35 peptide is widely used to study AD, and mimic some pathological characteristics of the disease, causing molecular and cellular alterations that lead to memory deficits (Yin et al., 2013). Considering that AD affects brain structures involved in the consolidation and persistence of different memory types, as the prefrontal cortex and hippocampus (Fjell et al., 2014), memory loss is the main characteristic of this disease.

The cognitive decline is followed by, in the most advanced phase, behavioral changes (Bosboom and Almeida, 2016), which lead to the loss of life quality (Conde-Sala et al., 2016). So, the look for therapeutic strategies that ameliorate and/or delay the symptoms and increase the quality of life of AD patients is important. The neuroprotective potential of regular physical exercise practice and its influence in neural plasticity, improving learning and memory, is al-

* Corresponding author at Stress, Memory and Behavior Lab, Federal University of Pampa, BR 472 km 592 - Po box 118 - ZIP 97500-970, Uruguaiana, RS, Brazil.
E-mail address: pamelacarpes@ufpampa.edu.br (P.B. Mello-Carpes).

<https://doi.org/10.1016/j.brainres.2020.146916>

Received 12 February 2020; Received in revised form 4 May 2020; Accepted 28 May 2020
Available online xxx
0006-8960/© 2020.