

A MELHORA DA MEMÓRIA DE RECONHECIMENTO DE OBJETOS INDUZIDA PELO EXERCÍCIO FÍSICO ENVOLVE ATIVAÇÃO HORADRENÉRGICA HIPOCAMPAL

Ben-Hur S. das Neves^{1*}, Liane da Silva de Vargas², Karine Ramires Lima¹, Rithiele Gonçalves¹,
Pâmela Billig Mello-Carpes³

1. Estudante de IC do Grupo de Pesquisa em Fisiologia- UNIPAMPA, bolsista PROBIC/FAPERGS.
2. Doutoranda; Programa de pós-graduação em Ciências Biológicas: Fisiologia, UFRGS, bolsista CAPES.
3. Orientadora; Universidade Federal do Pampa, campus Uruguai/ RS.

Resumo:

Os mecanismos fisiológicos relacionados com os diferentes tipos de memórias vêm sendo elucidados nos últimos anos. A consolidação da memória de reconhecimento de objetos (RO) envolve, entre outros mecanismos, a ativação de áreas que projetam fibras noradrenérgicas para outras regiões cerebrais, incluindo o hipocampo. Considerando que o exercício físico tem efeitos sobre o sistema noradrenérgico, o objetivo desse trabalho foi investigar os efeitos de uma única sessão de exercício físico na consolidação e persistência da memória de RO e o envolvimento do sistema noradrenérgico. Nesse estudo nós mostramos que uma única sessão de exercício físico aeróbico, imediatamente após a aprendizagem, promove a persistência da memória de RO por, no mínimo, 21 dias e aumenta os níveis de noradrenalina no hipocampo.

Autorização legal:

Todos os experimentos foram conduzidos de acordo com o "Principle of laboratory animal care" (NIH publicação 80-23, revisado 1996).

Palavras-chave:

exercício físico agudo; persistência da memória; sistema noradrenérgico.

Apoio financeiro:

PROCAD/CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior)

Trabalho selecionado para a JNIC pela instituição:
UNIPAMPA.

Introdução:

Um crescente corpo literário científico vem elucidando os mecanismos envolvidos na formação de diferentes tipos de memórias. A consolidação de memórias de longa duração envolve diversos processos metabólicos, que ocorrem principalmente no hipocampo (9).

Além disso, a persistência da memória de longa duração envolve mecanismos que atuam ativando áreas específicas do cérebro, como a área tegmentar ventral (ATV) e a região CA1 do hipocampo (8).

Previamente, nosso grupo demonstrou que a ativação da via do Núcleo do Trato Solitário - Núcleo Paragigantocelular – *Locus coeruleus* (NTS – PGI - LC) é necessária para a consolidação da memória de reconhecimento de objetos (RO) e que essa ativação culmina no aumento da liberação de noradrenalina (NA) na região CA1 do hipocampo (14). Além disso, outro estudo nosso, mais recente, mostrou que a infusão de um bloqueador beta-adrenérgico na região CA1 do hipocampo prejudica a consolidação da memória de RO, enquanto que a infusão de NA promove persistência dessa memória (13). Adicionalmente, a aprendizagem da tarefa de RO promove o aumento dos níveis de noradrenalina no hipocampo (13). Esses resultados sugerem que a ativação noradrenérgica é necessária para a consolidação e persistência da memória de RO.

Paralelamente, estudos com exercício físico aeróbico crônico têm demonstrado um impacto positivo na plasticidade neural, sobrevivência celular, neurogênese e aumento da síntese de BDNF (do inglês, *Brain-Derived Neurotrophic Factor*) (5-6, 11), melhorando a função cognitiva (4, 17). No entanto, pouco se sabe a respeito dos efeitos do exercício físico agudo no sistema nervoso central, principalmente no desempenho cognitivo. O exercício físico, por si, é capaz de promover o aumento dos níveis de NA (3, 16, 18), e até uma única sessão de exercício físico poderia ter esse efeito (18).

Considerando que a NA é um importante neurotransmissor envolvido na consolidação e persistência da memória de reconhecimento, e que o exercício físico é um comportamento não invasivo que favorece a liberação de noradrenalina, nosso objetivo foi investigar o efeito de uma única sessão de

exercício físico aeróbico, imediatamente após o aprendizado, na consolidação e persistência da memória de RO.

Metodologia:

Para esse estudo foram utilizados 39 ratos Wistar (3 meses de idade) obtidos do biotério da Universidade Federal de Santa Maria (RS/Brasil). Eles foram alojados 4 por caixas e mantidos sob ciclo claro/escuro de 12 h (parte clara a partir das 7 h), temperatura de 23 ± 2 °C e humidade de $50 \pm 10\%$, com acesso livre a comida e água.

Os ratos foram divididos em quatro grupos: (i) naive, somente para a mensuração de níveis de NA; (ii) controle, no qual os animais foram treinados somente na tarefa de RO; (iii) habituação em esteira, no qual os ratos foram habituados na esteira e treinados na tarefa de RO; e (iv) exercício físico, no qual os ratos foram habituados na esteira, treinados na tarefa de RO e, imediatamente após, submetidos a uma única sessão de exercício físico em esteira por 30 minutos.

A sessão de exercício físico agudo consistiu em uma corrida em esteira ergométrica própria para ratos pelo período de 30 minutos, a uma velocidade de 60-70% do VO_2 máximo, sendo realizada imediatamente após o treino da tarefa de RO (1-2). Antes do início do protocolo de RO, os ratos do grupo (iii) e (iv) realizaram uma habituação na esteira por 10 min por dia durante 4 dias, a uma velocidade de 2 m/min, sendo que no 5º dia foi realizado um teste de VO_2 máximo indireto (1). O teste de VO_2 indireto foi realizado para determinar a intensidade individual do exercício. O tempo de fadiga (min) e o volume de trabalho (m/min) foram considerados como uma medida indireta de consumo máximo de VO_2 (inicialmente foi imposta uma velocidade baixa com aumento de 5 m/min a cada 3 minutos até que o rato fosse incapaz de manter a corrida) (1).

Para tarefa de reconhecimento de objetos (RO), todos os animais foram habituados ao aparato de teste, que consiste numa caixa de madeira, durante 20 min/dia por 4 dias. No 5º dia os ratos foram novamente colocados na caixa com dois diferentes objetos (nomeados O e P) para livre exploração durante 5 minutos (sessão de treino). A sessão de teste foi realizada 24h, 7, 14 e 21 dias após a sessão de treino. Para cada sessão de teste, o objeto O foi mantido e o objeto P foi substituído por um novo objeto (nomeados Q, R, S ou T). O tempo gasto explorando cada objeto foi anotado e expressado em porcentagem do tempo total de exploração (14).

Trinta minutos após o treino de RO parte dos animais ($n=3$ /grupo) foi eutanasiada e os cérebros foram isolados para retirada dos hipocampus, sendo estes rapidamente preparados para a mensuração dos níveis de noradrenalina por meio da técnica de HPLC.

Os resultados do RO, mensurados pelo percentual de tempo de exploração dos diferentes objetos, foram analisados através do teste t de uma amostra, considerando uma média teórica de 50%; os resultados das análises bioquímicas (HPLC) foram comparados usando ANOVA de duas vias seguida de pos-hoc de Bonferroni. Foram considerados significativos valores de $P \leq 0,05$.

Resultados e Discussão:

Nossos resultados mostram que houve persistência da memória dos animais submetidos ao exercício agudo após a tarefa de RO. Além disso, podemos observar um aumento nos níveis hipocampais de noradrenalina nestes animais.

No treino do RO, os ratos de todos os grupos exploraram os dois objetos por uma porcentagem similar do tempo total de exploração ($P > 0,05$). Já nos testes, os animais do grupo controle exploraram significativamente mais que 50% do tempo total de exploração o novo objeto no teste de 24h ($P = 0,003$), mas não nos testes realizados 7, 14 ou 21 dias após o treino ($P > 0,05$). Os animais que foram habituados na esteira foram capazes de lembrar o objeto familiar até 14 dias após o treino de RO, explorando significativamente mais que 50% do tempo total de exploração o objeto novo até esse dia ($P < 0,05$), mas foram incapazes de reconhecer o novo objeto no teste de 21 dias ($P > 0,05$), mostrando uma boa consolidação da memória de RO, mas uma persistência inferior se comparada aos animais que foram expostos a uma única sessão de exercício físico imediatamente após o treino de RO, os quais foram capazes de lembrar do objeto familiar por no mínimo 21 dias após o treino, gastando significativamente mais que 50% do tempo total de exploração o objeto novo no teste dos diferentes dias ($P \leq 0,05$), mostrando uma boa consolidação e persistência da memória de RO.

Nós demonstramos previamente que a ativação da via NTS-PGi-LC é necessária para a consolidação da memória de RO e culmina na liberação de noradrenalina (NA) no hipocampo (14). Enquanto a infusão de timolol (bloqueador beta-adrenérgico) após o treino de RO prejudica a consolidação da memória, a infusão de NA após a aprendizagem promove

a persistência da memória por no mínimo 21 dias (13). Esses resultados indicam que existe um envolvimento do sistema noradrenérgico hipocampal na consolidação da memória de RO, e sugere que a NA poderia promover a persistência da memória de RO.

O exercício físico é conhecido por aumentar os níveis de NA no cérebro (10, 12). Experimentos feitos com microdiálise mostraram que o corrida em esteira promove aumento da liberação de NA no cérebro de ratos, e esse efeito é sustentado através da duração da corrida (16).

Estudos sobre os efeitos do exercício físico crônico na aprendizagem e memória podem ser facilmente encontrados na literatura (7, 15), mas não é tão simples o engajamento das pessoas na prática regular de exercício físico. Nesse sentido, conhecer o efeito de uma única sessão de exercício físico na memória é importante, podendo representar uma alternativa importante para o tratamento de déficits cognitivos.

Nossos resultados do HPLC demonstraram que houve um aumento dos níveis de noradrenalina no hipocampo dos animais do grupo controle, habituação em esteira e exercício físico quando, se comparados ao grupo naive ($P < 0.001$). Além disso, o aumento do nível de noradrenalina no hipocampo de ratos do grupo exercício físico foi significativamente maior que os demais grupos ($P < 0,05$).

Apesar de a aprendizagem promover aumento de NA, esse aumento é maior se os animais são submetidos a uma única sessão de exercício físico, ratificando resultados já descritos na literatura que demonstram que o exercício físico aeróbico é capaz de ativar o sistema noradrenérgico (10, 12). Assim, nossos achados sugerem que a persistência da memória promovida pelo exercício agudo está relacionada à ativação noradrenérgica. Estudos mostram que os receptores alfa e beta-adrenérgicas hipocampais participam da consolidação da memória (13).

Conclusões:

Os resultados desse estudo fornecem novas evidências acerca do papel da NA hipocampal na consolidação e persistência da memória de RO, e mostram que uma única sessão de exercício, quando realizado imediatamente a aquisição da memória, contribui para a ativação do sistema noradrenérgico, aumentando nos níveis de NA no hipocampo e promovendo a persistência da memória.

Referências bibliográficas

1. Brooks GA, White TP. 1978. Determination of metabolic and heart rate responses of rats to treadmill exercise. *Journal of applied physiology: respiratory, environmental and exercise physiology* **45**: 1009-1015.
2. Cechetti F, Worm PV, Elsner VR, Bertoldi K, Sanches E, Ben J, Siqueira IR, Netto CA. 2012. Forced treadmill exercise prevents oxidative stress and memory deficits following chronic cerebral hypoperfusion in the rat. *Neurobiology of learning and memory* **97**: 90-96.
3. Chatterton RT, Jr., Vogelsong KM, Lu YC, Ellman AB, Hudgens GA. 1996. Salivary alpha-amylase as a measure of endogenous adrenergic activity. *Clin Physiol* **16**: 433-448.
4. Churchill JD, Galvez R, Colcombe S, Swain RA, Kramer AF, Greenough WT. 2002. Exercise, experience and the aging brain. *Neurobiology of aging* **23**: 941-955.
5. Farmer J, Zhao X, van Praag H, Wodtke K, Gage FH, Christie BR. 2004. Effects of voluntary exercise on synaptic plasticity and gene expression in the dentate gyrus of adult male Sprague-Dawley rats in vivo. *Neuroscience* **124**: 71-79.
6. Filippov V, Kronenberg G, Pivneva T, Reuter K, Steiner B, Wang LP, Yamaguchi M, Kettenmann H, Kempermann G. 2003. Subpopulation of nestin-expressing progenitor cells in the adult murine hippocampus shows electrophysiological and morphological characteristics of astrocytes. *Molecular and cellular neurosciences* **23**: 373-382.
7. Hotting K, Roder B. 2013. Beneficial effects of physical exercise on neuroplasticity and cognition. *Neuroscience and biobehavioral reviews* **37**: 2243-2257.
8. Izquierdo I, Bevilaqua LR, Rossato JI, Bonini JS, Medina JH, Cammarota M. 2006. Different molecular cascades in different sites of the brain control memory consolidation. *Trends in neurosciences* **29**: 496-505.
9. Izquierdo I, Medina JH. 1997. Memory formation: the sequence of biochemical events in the hippocampus and its connection to activity in other brain structures. *Neurobiology of learning and memory* **68**: 285-316.
10. Kitaoka R, Fujikawa T, Miyaki T, Matsumura S, Fushiki T, Inoue K. 2010. Increased noradrenergic activity in the ventromedial hypothalamus during treadmill running in rats. *Journal of nutritional science and vitaminology* **56**: 185-190.
11. Kobil T, Liu QR, Gandhi K, Mughal M, Shaham Y, van Praag H. 2011. Running is the neurogenic and neurotrophic stimulus in environmental enrichment. *Learn Mem* **18**: 605-609.
12. Meeusen R, De Meirleir K. 1995. Exercise and

- brain neurotransmission. *Sports Med* **20**: 160-188.
13. **Mello-Carpes PB, da Silva de Vargas L, Gayer MC, Roehrs R, Izquierdo I. 2016.** Hippocampal noradrenergic activation is necessary for object recognition memory consolidation and can promote BDNF increase and memory persistence. *Neurobiology of learning and memory* **127**: 84-92.
14. **Mello-Carpes PB, Izquierdo I. 2013.** The Nucleus of the Solitary Tract --> Nucleus Paragigantocellularis --> Locus Coeruleus --> CA1 region of dorsal hippocampus pathway is important for consolidation of object recognition memory. *Neurobiology of learning and memory* **100**: 56-63.
15. **Neves BH, Menezes J, Souza MA, Mello-Carpes PB. 2015.** Physical exercise prevents short and long-term deficits on aversive and recognition memory and attenuates brain oxidative damage induced by maternal deprivation. *Physiology & behavior* **152**: 99-105.
16. **Pagliari R, Peyrin L. 1995.** Norepinephrine release in the rat frontal cortex under treadmill exercise: a study with microdialysis. *J Appl Physiol (1985)* **78**: 2121-2130.
17. **Radak Z, Kaneko T, Tahara S, Nakamoto H, Pucso J, Sasvari M, Nyakas C, Goto S. 2001.** Regular exercise improves cognitive function and decreases oxidative damage in rat brain. *Neurochemistry international* **38**: 17-23.
18. **Segal SK, Cotman CW, Cahill LF. 2012.** Exercise-induced noradrenergic activation enhances memory consolidation in both normal aging and patients with amnesic mild cognitive impairment. *Journal of Alzheimer's disease : JAD* **32**: 1011-1018.