



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BÁSICAS DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NEUROCIÊNCIAS

**EFEITOS DO EXERCÍCIO FÍSICO PARENTAL EM ESTEIRA SOBRE A MEMÓRIA  
ESPACIAL E A PLASTICIDADE SINÁPTICA NO HIPOCAMPO DE FILHOTES DE RATOS  
WISTAR**

Dissertação de Mestrado

**Ethiane Segabinazi**

Porto Alegre  
2016

Ethiane Segabinazi

**EFEITOS DO EXERCÍCIO FÍSICO PARENTAL EM ESTEIRA SOBRE A MEMÓRIA  
ESPACIAL E A PLASTICIDADE SINÁPTICA NO HIPOCAMPO DE FILHOTES DE RATOS  
WISTAR**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Neurociências, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre.

**Orientadora:** Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Simone Marcuzzo

Porto Alegre  
2016

Dedico essa dissertação às pessoas mais importantes da minha vida: meus pais (Sérgio e Margarida), meus irmãos (Fabiane e Alexandre) e meus sobrinhos e cunhado (Felipe, Carmela e Erasmo).

## AGRADECIMENTOS

- Primeiramente, a Deus por ouvir minhas preces;
- À minha orientadora, Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Simone Marcuzzo, por todos os ensinamentos, pela amizade, paciência e confiança no decorrer dessa longa caminhada;
- Aos amigos do PND: André, Chris, Filipe, Figue, Fran, Gabi e Otávio, pelo empenho e dedicação no trabalho em equipe, pela amizade, troca de conhecimento e pelos momentos de descontração;
- Agradecimento especial à Francele Valente Piazza por todo conhecimento que sempre compartilhou comigo desde a minha graduação até aqui, pela ajuda com a imuno e DO e principalmente pela amizade;
- Aos queridos amigos do laboratório de Histofisiologia Comparada: Silvia, Heloísa, Bruna, Pati e Ramiro, pelas discussões científicas e auxílio em experimentos, pelas risadas, conversas e companheirismo. Agradecimento especial a Helo, que nos ajudou diversas vezes nos experimentos;
- A Marília, pela amizade, parceria, apoio e sugestões;
- A Camila, Núbia, Fran Lirio, Charlanne e Nicoli pela paciência, compreensão, risadas, festas e amizade;
- Aos amigos que ganhei com o mestrado: Lizeth, Krislei, Luiza e Flávia, pelo apoio, troca de conhecimento e parceria;
- Aos meus orientadores da vida, Sérgio e Margarida Segabinazi, pelo amor incondicional, apoio e carinho que sempre devotaram a mim;
- Ao meu irmão Alexandre, pela grande amizade e companheirismo de sempre;
- À minha irmã Fabiane, pelo amor, incentivo e por juntamente ao Erasmo ter me dado dois presentões que alegram as nossas vidas: Felipe e Carmela;
- Às minhas tias queridas: Leonida e Jenny, pelo apoio, carinho e orações;
- Às minhas amigas de longa data, por todo apoio e por tudo que representam na minha vida: Angela, Juliana, Thayná e Josiane. Amo muito vocês!
- Aos amigos que a UFRGS me trouxe: Marcus Michels, Igor, Carlinha, Ane, Marcos Kulman e Mel pelo carinho, apoio, festas, risadas e pela amizade. Cada um tem um lugar especial no meu coração. Agradecimento especial ao Marcus Michels e ao Igor por serem pessoas extraordinárias na minha vida e pelo auxílio com o artigo e referências, AMO TODOS VOCÊS!
- À dona Maria, Sr. Tolotti e Rudá pela amizade, carinho e apoio, vocês são muito especiais para mim;
- À banca avaliadora, pelas sugestões e disponibilidade;
- Ao CNPq, pela bolsa de estudos e financiamento da pesquisa;

- Ao Programa de Pós-Graduação em Neurociências da UFRGS, pela oportunidade de estudo.

“ Eu aprendi que todos querem viver no topo da montanha, mas toda felicidade e crescimento ocorre quando você está escalando-a.”

*William Shakespeare*

## LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

### Língua Portuguesa

|                          |   |
|--------------------------|---|
| ATP.....                 | Trifosfato de Adenosina                           |
| BDNF.....                | Fator Neurotrófico Derivado do Encéfalo           |
| CA.....                  | Corno de Ammon                                    |
| cols.....                | Colaboradores                                     |
| DNA.....                 | Ácido desoxirribonucléico                         |
| DNMT1.....               | DNA metiltransferase 1                            |
| EUA.....                 | Estados Unidos da América                         |
| FGF.....                 | Fator de Crescimento de Fibroblasto               |
| GAP-43.....              | Proteína 43 Associada ao Crescimento              |
| GD.....                  | Giro Denteado                                     |
| IGF-1.....               | Fator de Crescimento semelhante a Insulina tipo 1 |
| LTP.....                 | Potenciação de Longa Duração                      |
| LTD.....                 | Depressão de Longa Duração                        |
| LPS.....                 | Lipopolissacarídeo                                |
| miRNAs.....              | microRNAs   |
| O <sub>2</sub> .....     | Oxigênio Molecular                                |
| OMS.....                 | Organização Mundial da Saúde                      |
| PSD-95.....              | Proteína de Densidade Pós-Sináptica 95            |
| RNA <sub>m</sub> .....   | Ácido Ribonucleico Mensageiro                     |
| VO <sub>2</sub> máx..... | Consumo Máximo de Oxigênio                        |

### Língua Inglesa

|            |   |
|------------|---|
| ACOG.....  | <i>American College of Obstetrician and Gynecologists</i> |
| DOHaD..... | <i>Developmental Origins of Health and Disease</i>        |

## ARTIGO

|                                     |   |
|-------------------------------------|---|
| AOI.....                            | Area of interest  |
| ARC.....                            | Activity-regulated cytoskeleton-associated protein          |
| BDNF.....                           | Brain-derived neurotrophic factor                           |
| BSA.....                            | Bovine Serum Albumin  |
| CA.....                             | Cornus Ammonis  |
| cm.....                             | Centimeters   |
| DAB.....                            | 3,3- diaminobenzidine                                       |
| days/week.....                      | Days per week   |
| DG.....                             | Dentate Gyrus   |
| DNA.....                            | Deoxyribonucleic acid                                       |
| E.....                              | East  |
| E.....                              | Exercised mothers   |
| EE.....                             | Offspring from exercised fathers and mothers                |
| ES.....                             | Offspring from exercised fathers and sedentary mothers      |
| G.....                              | Gestational day   |
| GluN2B.....                         | Glutamate [N-methyl D-aspartate] receptor subunit epsilon-2 |
| g.....                              | Grams   |
| h.....                              | Hours   |
| H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ..... | Dihydrogen dioxide  |
| H&E.....                            | Hematoxylin and Eosin                                       |
| i.p.....                            | Intraperitoneal   |
| IU.....                             | International unit  |
| log.....                            | Logarithm   |
| M.....                              | Molar   |
| m/mim.....                          | Meters per minute   |
| mg/Kg.....                          | Milligrams per kilogram                                     |
| mg/mL.....                          | Milligrams per milliliter                                   |
| min.....                            | Minutes   |



|                |  |
|----------------|--|
| min/day.....   | Minutes per day                                      |
| miRNAs.....    | microRNAs  |
| ml.....        | Milliliter   |
| mm.....        | Millimeter   |
| mRNA.....      | Messenger RNA  |
| N.....         | North  |
| ° C.....       | Degrees Celsius                                      |
| OD.....        | Optical densitometry                                 |
| P.....         | Postnatal day  |
| <i>p</i> ..... | <i>p value</i>                                       |
| PBS.....       | Phosphate buffer saline                              |
| PBS-Tx.....    | PBS containing 0,1% Triton X-100                     |
| pH.....        | Potential of hydrogen                                |
| PSD-95.....    | Postsynaptic density protein 95                      |
| s.....         | Seconds  |
| S.....         | Sedentary mothers                                    |
| S.....         | South  |
| SE.....        | Offspring from sedentary father and exercised mother |
| SEM.....       | Standard error of mean                               |
| SNAP-25.....   | Synaptosomal-associated protein 25                   |
| SS.....        | Control offspring                                    |
| SYP.....       | Synaptophysin  |
| T test.....    | T-test   |
| USA.....       | United States of America                             |
| W.....         | West   |

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1: Tipos de exercício físico quanto a motivação. A) Exercício físico voluntário em roda de corrida de livre acesso. B) Exercício físico forçado em tanque de natação e esteira ergométrica adaptada para ratos. Adaptado de Brooks e Dunnet (2009) e Spindler (2012). ..... 3
- Figura 2: A) Circuito de treinamento acrobático composto por obstáculos como rampas, gangorras e escadas. B) Exercício de força em sistema de agachamento com sobrecarga. Adaptado de Black et al. (1990) e Tamaki et al. (1992)..... 4
- Figura 3: Experiências maternas como, por exemplo, subnutrição, exposição ao estresse crônico ou infecções podem alterar o metabolismo materno, levando a um prejuízo da funcionalidade placentária, o que por sua vez, pode modificar a transmissão de fatores de crescimento e nutrientes. Dessa maneira, a programação epigenética de células somáticas e germinativas da prole é modificada, podendo influenciar o seu fenótipo ou ainda de outra próxima geração. Modificado de Bale, 2015. Modificado de Bale, 2015..... 10
- Figura 4: Hipótese sobre a relação entre a dose de exercício materno e efeitos no epigenoma e fenótipo dos filhos. Adaptado de Chalk e Brown (2014). ..... 11
- Figura 5: Desenho esquemático evidenciando que a exposição paterna a diversos fatores ambientais previamente à concepção pode transmitir informação às próximas gerações via alterações epigenéticas em células germinativas. Modificado de Curley et al. (2011)..... 12
- Figura 6 : Provável mecanismo pelo qual o exercício físico induz modificações epigenéticas nos espermatozoides. O exercício físico influencia o metabolismo e o eixo HHT na geração F0, que, por sua vez, alteram as marcas epigenéticas no período da espermatogênese. Metilação de DNA, modificação de histonas e dos níveis de RNAs não codificantes nos espermatozoides são as alterações epigenéticas mais importantes que podem causar uma mudança fenotípica na prole. Modificado de Murachov et al. (2015)..... 14
- Figura 7: Na maioria dos mamíferos a espermatogênese dura cerca de 6 a 8 semanas, na maior parte desse período, a linhagem germinativa encontra-se suscetível a fatores ambientais que podem modular as suas marcas epigenéticas, que por sua vez, podem modificar o fenótipo da prole. Adaptado de Bale, 2015. .... 15
- Figura 8: Metilação do DNA na linhagem germinativa como um dos mecanismos epigenéticos propostos para a transmissão de informação às próximas gerações. As marcas epigenéticas necessitam passar ilesas pelos ciclos de reprogramação epigenética no zigoto e embrião para poder transmitir a informação à prole. Adaptado de Hughes (2014). ..... 15
- Figura 9: Esquema de um corte coronal do encéfalo de um rato no nível do hipocampo, mostrando as três vias que conectam as diferentes estruturas da formação hipocampal (Adaptado de Purves, 2010). ..... 16

## SUMÁRIO

|   |             |
|---|-------------|
| <b>RESUMO.....</b>  | <b>VII</b>  |
| <b>ABSTRACT .....</b>   | <b>VIII</b> |
| <b>LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS.....</b>  | <b>IX</b>   |
| <b>LISTA DE FIGURAS.....</b>  | <b>XII</b>  |
| <b>LISTA DE TABELAS.....</b>  | <b>XIV</b>  |
| <b>SUMÁRIO.....</b>   | <b>XV</b>   |
| <b>1. INTRODUÇÃO .....</b>  | <b>1</b>    |
| 1.1. Exercício Físico.....  | 1           |
| 1.2. Efeitos do Exercício Físico sobre o Sistema Nervoso.....   | 4           |
| 1.3. Exercício Físico Parental.....   | 6           |
| 1.3.1. Exercício Físico Maternal .....  | 6           |
| 1.3.2. Exercício Físico Paternal.....   | 11          |
| 1.4. Hipocampo, Memória e Exercício Físico.....   | 15          |
| 1.5. Plasticidade Sináptica e Exercício Físico .....  | 19          |
| <b>2. JUSTIFICATIVA E HIPÓTESE.....</b>   | <b>22</b>   |
| <b>3. OBJETIVOS .....</b>   | <b>23</b>   |
| 3.1. Objetivo Geral .....   | 23          |
| 3.2. Objetivos Específicos .....  | 23          |
| <b>4. MÉTODOS, RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>   | <b>24</b>   |
| 4.1. Artigo: <b>Parental exercise is safe for the physical and sensorimotor development but does not alter synaptic plasticity or the spatial memory of Wistar rat offsprings.</b><br>..... | 24          |
| <b>5. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS .....</b>   | <b>48</b>   |
| <b>6.REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>   | <b>50</b>   |

## 1. INTRODUÇÃO

### 1.1. Exercício Físico: Conceito

A atividade física pode ser definida como qualquer movimento do corpo realizado pelos músculos esqueléticos e que provoque gasto de energia como, por exemplo, tarefas domésticas, laborais, de lazer ou deslocamentos. Por outro lado, o exercício físico consiste em um tipo de atividade física planejada, estruturada e repetitiva (Caspersen et al., 1985). No Brasil, segundo o Ministério do Esporte (2015), 54,1% da população entre 14 e 75 anos pratica algum exercício físico e os 45,9% restantes são sedentários, o que corresponde a 67 milhões de pessoas. Essa mesma pesquisa também revelou que as modalidades de atividade física mais praticadas pelos brasileiros são a caminhada, em primeiro lugar, seguida de ciclismo, corrida, musculação, ginástica e academia.

Nos últimos anos, a incidência global do sedentarismo tem aumentado de forma preocupante, sendo que na Argentina 68,3% da população é sedentária, 40,5% nos EUA, 48% na Itália, 15,6% na Índia, 52,4% na África do Sul e 20,8% na Rússia (Brasil, Ministério do Esporte, 2015). Está bem consolidado na literatura que o sedentarismo pode levar ao desenvolvimento de doenças crônicas e que a atividade física regular está inversamente associada à grande parte das causas de mortalidades em adultos (Guimarães & Ciolac, 2014; Brown et al. 2012). A Organização Mundial de Saúde (OMS, 2011) recomenda a prática semanal de no mínimo 150 minutos de exercício físico moderado para adultos, como medida de combate ao sedentarismo.

A prática regular de atividade física faz parte de um estilo de vida saudável e pode proporcionar inúmeros efeitos benéficos à saúde, como a redução do risco de acidente vascular cerebral, de mortalidade relacionada a doenças cardiovasculares, do desenvolvimento de diabetes *mellitus* tipo II, depressão, fraturas osteoporóticas, obesidade, câncer de mama e câncer de colo (Aune et al., 2015; Boyle et al., 2012; Cauley et al., 2013; Kovács et al., 2015; Kuwahara et al., 2015; Lee e Paffenbarger, 1998; Merom et al., 2016; Wu et al., 2013). De fato, o exercício físico é capaz de influenciar o funcionamento de diversos sistemas, uma vez que melhora funções hemodinâmicas, hormonais, metabólicas, neurológicas, respiratórias e cardíacas (Fletcher et al., 1996).

Além de ser considerado uma medida preventiva, o exercício físico pode ser utilizado como terapia coadjuvante em várias patologias, tais como: hipertensão arterial, osteoartrite, diabetes *mellitus*, aterosclerose, doença coronariana, osteoporose, disfunção erétil e obesidade (Donnelly et al., 2009; Loprinzi & Edwards, 2015; Taket al., 2005; Zanesco e Antunes, 2007). Pesquisas pré-clínicas tem contribuído na elucidação dos mecanismos de ação que embasam os efeitos do exercício físico sobre a saúde, os quais dependem da modalidade, intensidade, frequência e duração do treino (Gomes da Silva et al., 2016; Narath et al., 2001).

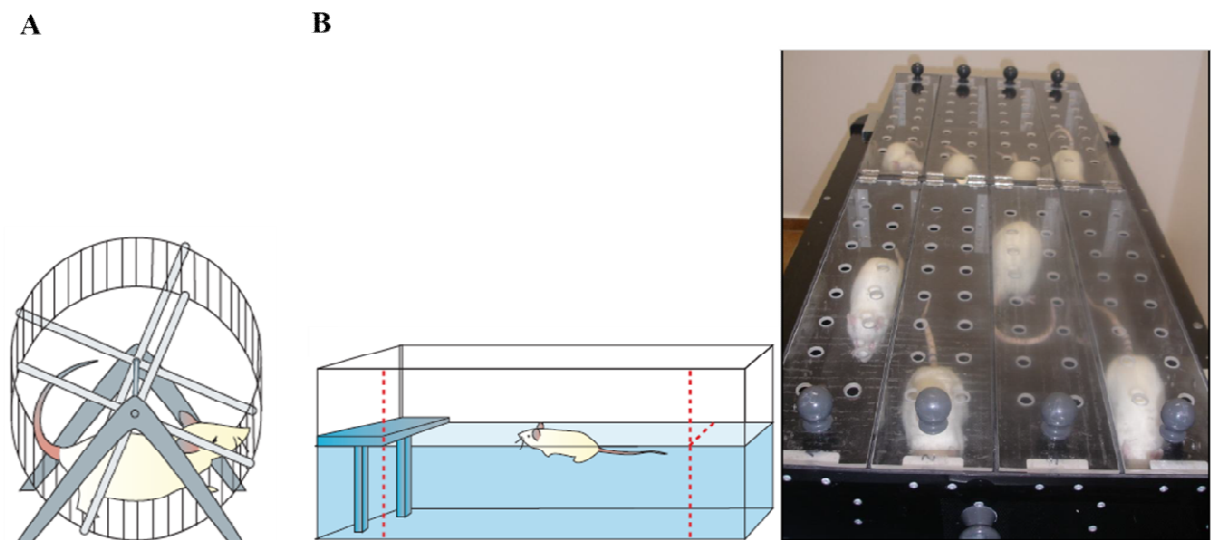
O exercício físico pode ser classificado quanto a intensidade e motivação. Conforme o primeiro critério, o exercício é dividido em leve, moderado ou intenso. Essa categorização é baseada na taxa de consumo máximo de oxigênio ( $VO_{2m\acute{a}x}$ ), o qual consiste na capacidade máxima de captação e utilização do oxigênio inspirado pelo organismo para gerar trabalho. Protocolos de exercício leve são determinados na faixa de 20% a 50% do  $VO_{2m\acute{a}x}$ , protocolos de exercício moderado na faixa de 50% a 70% do  $VO_{2m\acute{a}x}$  e protocolos de exercício intensos levam ao consumo maior que 80% do  $VO_{2m\acute{a}x}$  (Drummond et al., 2005).

Conforme a fonte de energia utilizada para o exercício físico, ele pode ser ainda classificado em duas categorias: anaeróbico (de resistência) ou aeróbico. O exercício anaeróbico ou de resistência consiste em atividades realizadas em alta intensidade durante períodos curtos como arremesso de peso e lançamento de dardo (8 a 10 segundos), os quais demandam energia proveniente do metabolismo anaeróbico através dos sistemas fosfagênio e glicolítico. Tais vias metabólicas disponibilizam energia de forma rápida aos músculos para esforço máximo, sem a utilização de  $O_2$ . Em contrapartida, o exercício aeróbico envolve atividades físicas prolongadas como corrida de longas distâncias (duração superior a 180 segundos) e utilizam o metabolismo oxidativo como fonte energética. Nesse sistema, o ATP é produzido na presença de  $O_2$  através de uma série de reações a nível das mitocôndrias, o que torna esse sistema mais lento no aporte energético em comparação aos sistemas anaeróbicos. Durante o início de uma atividade física todos os sistemas energéticos estão ativados, mas a intensidade e duração do esforço definirão o sistema predominante (Fundação Vale, 2013).

Estudos experimentais mostram que o exercício de baixa a moderada intensidade tem efeitos positivos para funções cognitivas e patologias como isquemia cerebral e privação de oxigênio e glicose. Por outro lado, exercícios de alta intensidade tem efeitos negativos nesses casos devido ao estresse provocado pelo nível de esforço (Scopel et al., 2006; Shih et al., 2013; Shimada et al., 2013; Soya et al., 2007). No entanto, a função motora pode ser aprimorada por protocolos de exercício físico de alta intensidade (Yang et al., 2012). Isso

sugere que os efeitos do exercício físico dependem da sua intensidade e da susceptibilidade do alvo de estudo.

Quanto à motivação, o exercício pode ser classificado como voluntário ou forçado, sendo que essa classificação se aplica melhor a protocolos utilizados na pesquisa básica (Figura 1). Estudos que avaliam efeitos de exercício forçado costumam realizar treinamento de nado forçado ou corrida em esteira ergométrica adaptada para animais (Figura 1b) (Ke et al., 2011; Radáket al., 2001). Essa categoria tem a vantagem do controle preciso sobre variáveis como intensidade, frequência e duração do esforço (Dishman et al., 2006). Por outro lado, estudos utilizando exercício voluntário geralmente empregam rodas de corrida com livre acesso (Figura 1a) (Mondonet al., 1985; Russel et al., 1987). Nessa última modalidade, o controle das variáveis torna-se complicado devido à natureza voluntária do esforço, o qual é individual e não padronizado pelo experimentador (Dishman et al., 2006).

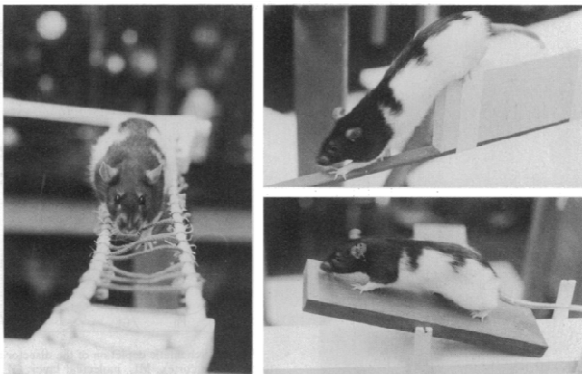


**Figura 1.** Tipos de exercício físico quanto a motivação. A) Exercício físico voluntário em roda de corrida de livre acesso. B) Exercício físico forçado em tanque de natação e esteira ergométrica adaptada para ratos. Adaptado de Brooks e Dunnet (2009) e Spindler (2012).

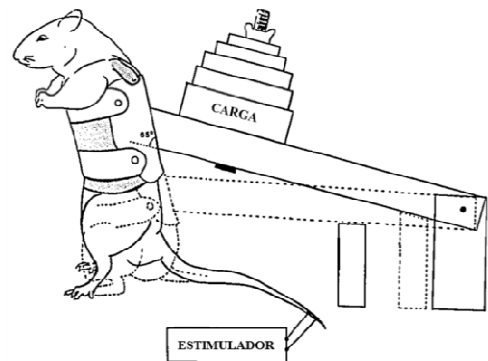
Além de modalidades repetitivas e rítmicas há o exercício acrobático, que consiste no treinamento de animais em circuitos repletos de objetos e obstáculos a serem transpostos (Figura 2a) (Black et al., 1990). Nesse tipo de protocolo o grau de dificuldade progride com o treino, trabalhando o equilíbrio, a coordenação e a aprendizagem motora (Anderson et al., 1996). O exercício acrobático difere dos exercícios forçado e voluntário pelo seu movimento seriado, enquanto que as modalidades forçada e voluntária são constituídas de movimentos contínuos (Lambert et al., 2005). Por fim, existem também os exercícios de força ou

resistência que têm como um objetivo aumentar a força e causar hipertrofia muscular pela utilização de carga (Figura 2b) (Lee et al., 2004). O peso é pode ser adicionado à cauda do animal durante tarefas de natação, em escalada de escadas verticais ou ao tronco do animal em exercícios de agachamento e levantamento de peso por salto vertical em água. Em todos esses protocolos pode-se aumentar a carga gradativamente (Evangelista et al., 2003; Franco et al., 2011; Ilha et al., 2008; Tamaki et al., 1992).

A



B



**Figura 2.** A) Circuito de treinamento acrobático compostos por obstáculos como rampas, gangorras e escadas. B) Exercício de força em sistema de agachamento com sobrecarga. Adaptado de Black et al. (1990) e Tamaki et al. (1992).

Os efeitos do exercício físico também podem ser classificados em agudos e crônicos. Os efeitos dos primeiros podem ser observados logo após a exposição a uma única sessão de exercício físico, enquanto que os efeitos crônicos necessitam de exposição frequente para serem desencadeados (Thompson et al., 2001). No entanto, também é possível se analisar o efeito agudo de um protocolo crônico de exercício físico bem como o efeito tardio de uma sessão única de exercício (Elsner et. al., 2016).

## 1.2. Efeitos do Exercício Físico sobre o Sistema Nervoso

A influência benéfica que o exercício físico exerce sobre a atividade cerebral tem sido muito bem documentada. De fato, o exercício físico provoca interesse nos pesquisadores quanto aos seus efeitos específicos sobre funções cognitivas e também quanto ao seu potencial como estratégia terapêutica não farmacológica frente a patologias neurodegenerativas e/ou psiquiátricas, ou mesmo para manutenção de um encéfalo saudável (Cassilhas et al., 2016).

Em indivíduos saudáveis e senis, a prática de atividade física acelera o processamento cognitivo, aperfeiçoa habilidades mentais, pode levar ao aumento de volume do hipocampo e

do lobo temporal, além de elevar os níveis séricos do Fator Neurotrófico Derivado do Encéfalo (BDNF) (Chodzko e Moore; 1994; Dustman et al., 1984; Elsayed et al., 1980; Erickson et al., 2011). Durante uma atividade física, estruturas cerebrais relacionadas a funções motoras e sensoriais como o córtex motor, cerebelo, núcleos da base, córtex somatossensorial, visual e auditivo exibem grande atividade neuronal. Em menor grau, o hipocampo também apresenta aumento da sua atividade neuronal, demonstrada pelo maior metabolismo de glicose e provavelmente pelo maior fluxo sanguíneo nessas regiões, o que as tornam mais suscetíveis a plasticidade induzida pelo exercício físico (Vissing et al., 1996).

De fato, o exercício é uma fonte de estímulo que pode favorecer as reações moleculares envolvidas no processamento da memória (Roig et al., 2013). Como exemplo disso, pode-se citar a elevação da concentração sérica de neurotransmissores como noradrenalina e dopamina e do fator trófico BDNF após uma única sessão de exercício. Tais alterações podem embasar o efeito positivo que o exercício exerce sobre as fases de codificação, consolidação e retenção da memória (Roig et al., 2013; Winter et al., 2007). Além do aumento na produção de outros fatores tróficos como o Fator de Crescimento de Fibroblasto (FGF), o exercício físico também pode favorecer a neurogênese hipocampal e influenciar positivamente a Potenciação de Longa Duração (LTP) (Gómez-Pinilla et al., 1998; Van Praag et al., 1999b).

Com relação a algumas patologias do sistema nervoso, o exercício físico possui efeito ansiolítico e antidepressivo, proporciona uma melhora cognitiva em portadores de Alzheimer, pode aliviar sintomas motores, de humor e cognitivos em portadores de Parkinson, atenua os sintomas do transtorno de déficit de atenção e hiperatividade (TDAH) e reduz o declínio de habilidades cognitivas e sensorio-motoras causado pelo envelhecimento (Berchicci et al., 2014; de Andrade et al., 2013; Hunsberger et al., 2007; Radak et al., 2001; Raglin, 1990; Reynolds et al., 2016; Yun et al., 2014).

Alguns dos possíveis mecanismos biológicos pelos quais a prática de exercício físico modula a função cerebral têm sido propostos, como por exemplo, a promoção da angiogênese, o aumento na densidade de espinhos dendríticos, o aumento da expressão de BDNF e de marcadores de plasticidade sináptica (sinapsina e sinaptofisina), a influência positiva sobre a neurogênese hipocampal e proliferação astrocítica, bem como a redução do estresse oxidativo e da neuroinflamação (Black et al., 1987; Camiletti et al., 2013; Garcia et al., 2012; Hopkins et al., 2011; Kohman et al., 2013; Li et al., 2005; Van Praag, 1999a). No entanto, a natureza exata pela qual o exercício exerce seus efeitos no encéfalo ainda não foi completamente estabelecida (Morgan et al., 2015).



### 1.3. Exercício Físico Parental

#### 1.3.1. Exercício Físico Maternal

A gravidez é um estado que demanda inúmeras adaptações anatômicas e fisiológicas que tem por objetivo o desenvolvimento fetal. Tais alterações podem ser detectadas logo após a concepção, durante toda gestação e findam quase totalmente nos períodos do puerpério e lactação (Carlin e Alfirevic, 2008; Ouzounian e Elkayam, 2012; Tan e Tan, 2013). Em décadas passadas, as mulheres eram desestimuladas a seguir com práticas de atividade física durante a gravidez, sendo aconselhadas a diminuir ou cessar atividades ocupacionais, especialmente nos estágios finais da gestação. Esse aconselhamento era baseado na crença de em um maior risco de prematuridade devido a um possível aumento da contratilidade uterina pela atividade ou exercício físico (Clarke et al., 2004; Juhl et al., 2008; Spinnewijn et al., 1996).

Somente em meados da década de 90, após o *American College of Obstetrician and Gynecologists* (ACOG) reconhecer que a atividade física regular deveria ser estimulada durante a gestação, a prática começou a ser implantada (ACOG, 1994). De acordo com a ACOG, a atividade física de intensidade leve à moderada é recomendada a todas as grávidas, mesmo as sedentárias que desejam iniciá-la durante a gestação. As gestantes fisicamente ativas antes de engravidar podem manter suas atividades inclusive no primeiro trimestre gestacional. Tanto o exercício aeróbico quanto o anaeróbico são recomendados na gestação e ensaios clínicos têm mostrado que são seguros e não geram efeitos adversos na gestação e nos filhos (Fieril et al., 2014; White et al., 2014; US Department of Health and Human Services, 2008; Uzendoski et al., 1990).

No Brasil, poucas gestantes realizam atividade física e ainda tendem a reduzir suas atividades com o avançar da gestação (Domingues et al., 2007). Isso pode ser relacionado à crença errônea de que o exercício poderia causar parto prematuro, como foi dito anteriormente. No entanto, estudos clínicos têm mostrado que o exercício é benéfico para a gestante, uma vez que diminui os desconfortos relacionados a gravidez, auxilia na manutenção do condicionamento físico e produz bem-estar, e para a prole também, já que diminui a chance de partos prematuros em mulheres com sobrepeso (Guendelman et al., 2013; Heffernan, 2000; Uzendoski et al., 1990).

No âmbito clínico, estudos mostram que os filhos de mães exercitadas têm sua função cognitiva aprimorada. Isso foi evidenciado por um melhor desempenho em escalas de avaliações neonatais, de inteligência e de comunicação oral (Clapp et al., 1999, 1996). A prática de exercício físico durante a gestação também foi relacionada a um incremento no desenvolvimento da linguagem, uma vez que os filhos de mães exercitadas na gravidez apresentavam vocabulário mais complexo aos 15 meses de idade em comparação aos filhos de mães sedentárias (Jukic et al., 2013). No entanto, pouco se sabe sobre os efeitos que o exercício materno pode ter sobre desenvolvimento de outras habilidades cognitivas nas crianças.

Estudos experimentais prévios mostram que protocolos de corrida em esteira ergométrica ou natação durante a gestação podem aumentar a neurogênese hipocampal e os níveis de RNAm de BDNF no hipocampo da prole, além de aprimorar o desempenho dos filhotes em tarefas que avaliam a memória aversiva (esquiva inibitória) e espacial (*T-maze*) (Kim et al., 2007; Lee et al., 2006; Parnpiansil et al., 2003). Gomes da Silva e colaboradores (2016) observaram que os filhotes de mães exercitadas em esteira ergométrica apresentam maior quantidade de neurônios e células da glia no hipocampo, além de possuírem maior conteúdo de BDNF nessa mesma estrutura. Essas alterações podem justificar o melhor desempenho desses animais observado na tarefa do labirinto aquático de Morris (memória espacial) frente aos filhotes de ratas sedentárias.

Protocolos de exercício pré-natal voluntário em roda de corrida também promoveram aumento da neurogênese hipocampal (Bick-Sander et al., 2006) e melhora no desempenho em testes de memória espacial (Akhavan et al., 2008; Robinson et al., 2014) por parte dos filhotes de mães exercitadas. Além de aprimorar a função cognitiva de animais saudáveis, o exercício voluntário durante a gestação foi capaz de proteger neurônios hipocampais contra o dano causado pela hipóxia em ratos neonatos (Akhavan et al., 2012). Também foi verificado que o exercício materno forçado em esteira foi capaz de atenuar o déficit de memória aversiva em filhotes expostos ao Lipopolissacarídeo (LPS) no período pré-natal (Kim et al., 2015).

A gestação é um período crítico para a programação do desenvolvimento do sistema nervoso e uma das janelas de susceptibilidade mais estudadas (Bale, 2015). A metilação do DNA é um dos mecanismos epigenéticos propostos como mediadores da reprogramação fetal a partir de experiências maternas, como por exemplo: deficiência nutricional, estresse e infecções (Figura 3). Fatores ambientais como os citados anteriormente podem influenciar a maturação e o desenvolvimento do encéfalo por meio das alterações que provocam na metilação original do DNA ou mesmo por adicionar mais grupamentos metis, estabelecendo,

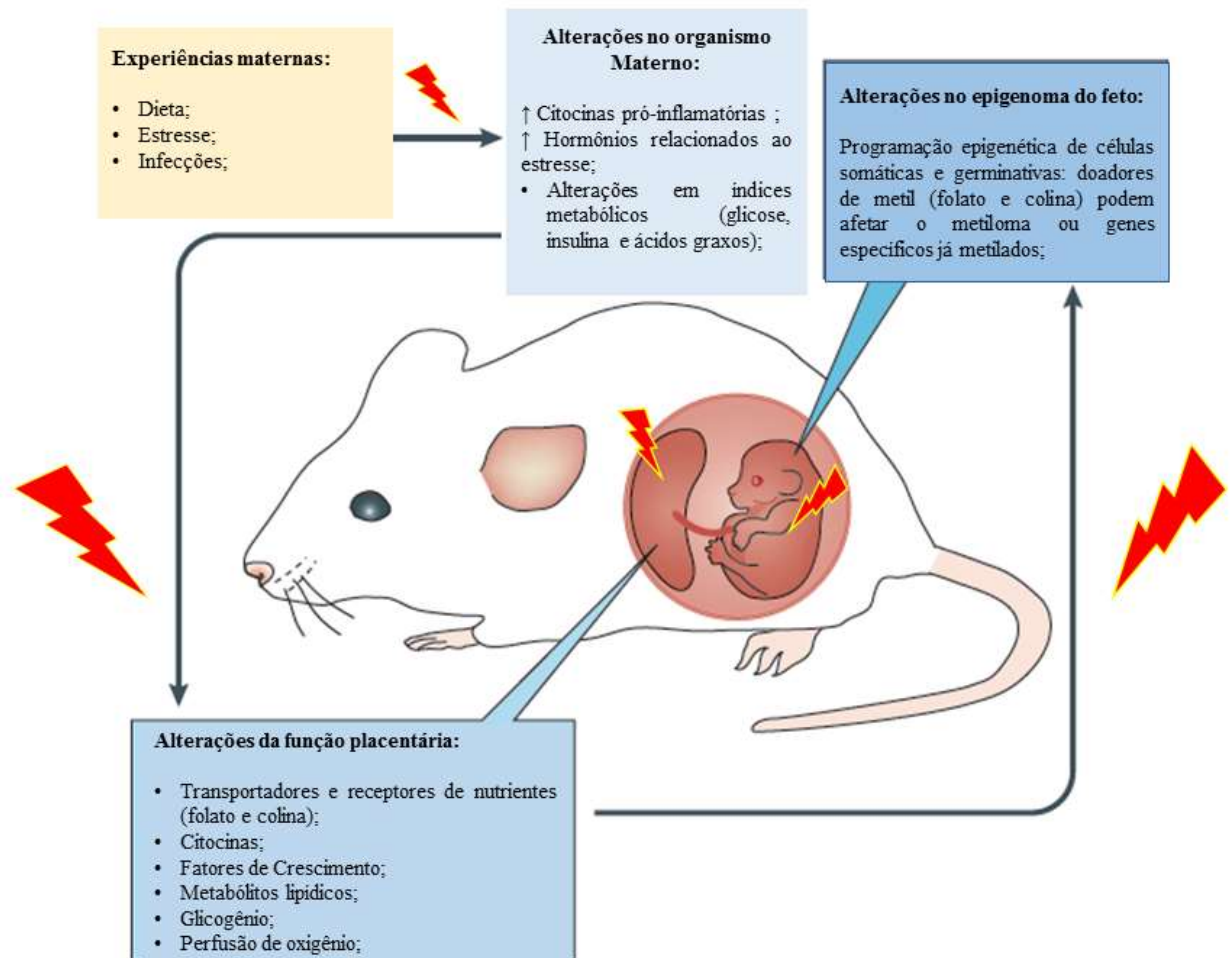
assim, novas marcas epigenéticas, num processo chamado reprogramação (Bale et al., 2010). Os mecanismos precisos pelos quais as experiências maternas podem influenciar a longo prazo a saúde da prole são complexos e dependem, dentre outras características, do tipo de fator ao qual a mãe está se expondo e se o tempo de exposição coincide com a janela de susceptibilidade do desenvolvimento de um determinado sistema. A duração da exposição a um fator ambiental pode definir se sua ação ocorrerá sobre alguns genes específicos ou abrangente a todo o epigenoma. A quantidade de exposição também é importante para estabelecer amplitude de seus efeitos, que podem ser agudos ou mesmo ultrapassar gerações (se houver modificações no epigenoma da linhagem germinativa) (Bale, 2015; Bale et. al., 2010).

Diferentes fatores ambientais, como o estresse pré-natal, dieta e infecções repercutem em fenótipos semelhantes, o que indica que há uma quantidade restrita de sinais que passam do ambiente uterino materno para o feto em desenvolvimento e que distintos fatores podem compartilhar os mesmos mecanismos a fim de reprogramar o desenvolvimento fetal. É provável que uma célula possa responder a uma gama limitada de sinais bioquímicos e que diferentes fatores ambientais possam agir nas mesmas cascatas de sinalização e nos mesmos efetores que modificam as marcas epigenéticas existentes ou criam novas, programando fenótipos similares a partir de experiências distintas. Os sinais evolutivamente mais importantes são os envolvidos no metabolismo energético, os quais podem definir o futuro condicionamento físico do indivíduo, tais como insulina, glicose, ácidos graxos, glicocorticoides e citocinas inflamatórias (Figura 3) (Bale, 2015).

Estudos pré-clínicos observaram que os filhotes de fêmeas que realizaram exercício voluntário em roda de corrida antes e durante a gestação apresentaram melhor tolerância a glicose, menor nível de insulina, triglicerídeos e menor peso corporal e porcentagem de massa gorda em comparação aos filhotes de ratas sedentárias (Standford et. al., 2015). Quando associado a modelos de obesidade materna, o exercício pré-natal tem se mostrado eficaz em proteger a prole dos efeitos da exposição intrauterina a dieta rica em gordura (Bae-Gartz et al., 2016; Raipura et al., 2015; Stanford et al., 2015). Nesses estudos, foi demonstrado que o exercício voluntário materno pode melhorar a tolerância a glicose e aproximar da normalidade os níveis de insulina, de glicose, de GLUT4 muscular, o percentual de gordura e a concentração de IL-6 no soro, hipotálamo e tecido adiposo da prole que foi exposta também a protocolos de dieta materna no período pré-natal para induzir modelo de obesidade materna (Bae-Gartz et al, 2016; Raipura et al., 2015; Stanford et al., 2015).

Vega et al. (2015) relataram que as mães exercitadas e expostas a protocolos de dieta rica em gordura tiveram menor aumento do nível de leptina, corticosterona, glicose, insulina, triglicerídeos, colesterol e estresse oxidativo. Além disso, Wasinski et al. (2015) sugerem que o exercício materno (antes e durante a gestação) é capaz de prevenir o desenvolvimento de obesidade na prole que consumiu dieta rica em gordura no período pós-natal. Nessa pesquisa, os filhotes de mães exercitadas mesmo sendo expostos a uma dieta rica em gordura, apresentaram menor peso, massa gorda, consumo calórico e níveis de IL-6 e maior sensibilidade a insulina em comparação com a prole de mães sedentárias que também consumiram a mesma dieta.

Todos esses dados sugerem que o exercício físico também é um fator ambiental que altera o metabolismo e sistema endócrino materno, como ocorre no caso de infecções, estresse e dieta, mas programa o desenvolvimento da prole de maneira positiva. O exercício seria um fator ambiental benéfico por ter efeito oposto aos desses eventos nocivos, ainda que possa agir sobre os mesmos sistemas e moléculas, mas o fazendo de uma forma diferente para reprogramar o epigenoma da prole de forma que essa manifeste um fenótipo positivo, sobretudo, no metabolismo. De fato, segundo Laker et al. (2014), o exercício materno previne distúrbios metabólicos e a hipermetilação do gene *PgC-1 $\alpha$*  nos filhotes, os quais são provocados pela dieta materna rica em gordura.

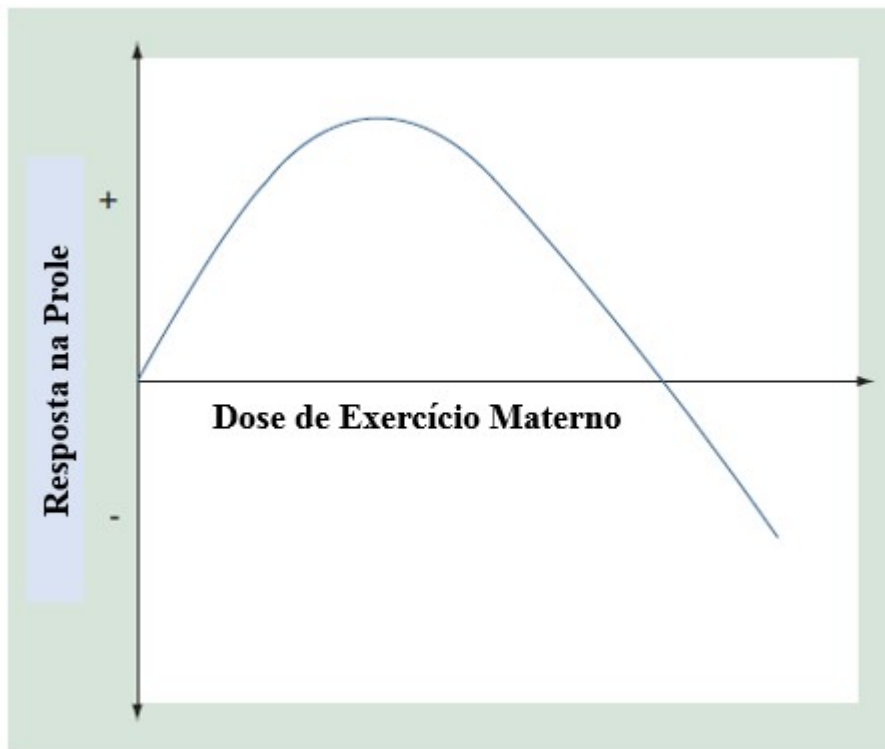


**Figura 3.** Experiências maternas como, por exemplo, subnutrição, exposição ao estresse crônico ou infecções podem alterar o metabolismo materno, levando a um prejuízo da funcionalidade placentária, o que por sua vez, pode modificar a transmissão de fatores de crescimento e nutrientes. Dessa maneira, a programação epigenética de células somáticas e germinativas da prole é modificada, podendo influenciar o seu fenótipo ou ainda de outra próxima geração. Modificado de Bale, 2015.

Quanto a programação do exercício materno sobre o sistema nervoso da prole, já foi relatado anteriormente em estudos pré-clínicos, que essa estratégia leva ao melhor desempenho em tarefas de memória aversiva e espacial da prole bem como eleva os seus níveis hipocámpais de mRNA e do próprio BDNF (Gomes da Silva et al., 2016; Robinson e Bucci, 2014; Akhavan et al., 2008; Kim et al., 2007; Lee et al., 2006; Parnpiansil et al., 2003). Na clínica, foi observado que filhos de mães exercitadas durante a gestação tem sua função cognitiva aprimorada, o que foi evidenciado em avaliações neonatais, de inteligência e de comunicação oral (Clapp et al., 1999, 1996). Esses dados tanto da pesquisa básica quanto da clínica sugerem que o exercício físico durante a gravidez é um estímulo benéfico ao desenvolvimento do sistema nervoso (Gomes da Silva et al., 2016).

Chalk e Brown (2014) sugerem que o exercício pré-natal, quando realizado em intensidade leve a moderada, altera o epigenoma da prole de forma a exercer influência

benéfica sobre o seu desenvolvimento. No entanto, quando o exercício pré-natal é praticado em alta intensidade, seus efeitos sobre a programação epigenética ocorrem em sentido oposto, restringindo o crescimento fetal. Isso deve-se provavelmente ao fato de que o exercício intenso pode ser uma fonte de estresse ao organismo materno. O efeito do exercício gestacional sobre o feto pode ser ilustrado em uma curva dose-resposta. Quanto maior for a intensidade de exercício (dose), mais prejudiciais serão seus efeitos sobre o desenvolvimento da prole (resposta). Já intensidades leves a moderadas (dose mais baixa, nível ótimo de atividade) tem efeitos positivos sobre o desenvolvimento dos filhos (Figura 4). Essa hipótese e a curva dose-resposta foram formuladas com base em dados provenientes de pesquisas pré-clínicas, uma vez que, segundo esses autores, não há estudos investigando os efeitos do exercício materno sobre o epigenoma da prole humana.

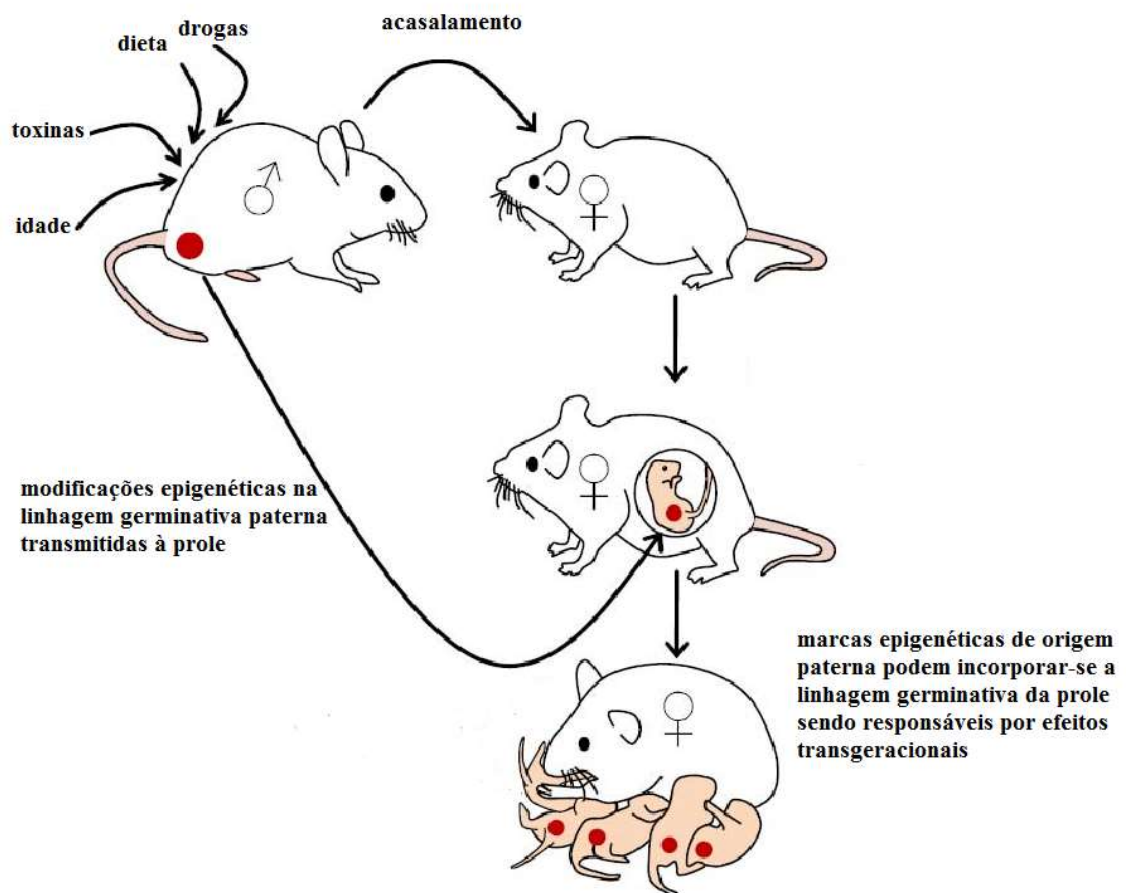


**Figura 4.:** Hipótese sobre a relação entre a dose de exercício materno e efeitos no epigenoma e fenótipo da prole. Adaptado de Chalk e Brow (2014).

### 1.3.2. Exercício Físico Paternal

Recentemente tem aumentado o interesse na observação da influência das experiências de vida/comportamento paternos sobre o desenvolvimento da prole. Estudos têm relacionado a exposição dos pais a fatores ambientais como dieta, drogas e toxinas antes da concepção,

com alterações no fenótipo dos filhos e também dos netos, o que sugere efeitos transgeracionais (Curley et al., 2011; Figura 5). Anderson e colaboradores (2006) mostraram que ao submeter camundongos machos a 24 horas de privação alimentar duas semanas antes da concepção, os filhotes apresentaram alterações em níveis séricos de glicose, corticosterona e Hormônio do Crescimento semelhante a Insulina tipo 1 (IGF-1). Da mesma maneira que a nutrição, a exposição dos pais ao álcool e a cocaína também mostrou-se capaz de afetar a prole, sendo documentados efeitos negativos em testes de memória, aprendizado, desenvolvimento motor e volume cerebral (Abel et al., 2004; He et al., 2006; Meek et al., 2007).



**Figura 5.** Desenho esquemático evidenciando que a exposição paterna a diversos fatores ambientais previamente à concepção pode transmitir informação às próximas gerações via alterações epigenéticas em células germinativas. Modificado de Curley et al. (2011).

A influência paternal pode ser mais precisamente avaliada em relação aos seus efeitos sobre a programação fetal. A vantagem em se utilizar modelos paternos está na ausência de fatores como o parto, cuidado pós-natal e lactação. Uma vez que em ambientes laboratoriais os machos não participam da criação dos filhotes, a transmissão paterna da informação

ambiental a prole ocorreria de maneira pura, sem sofrer influência de vieses como pode acontecer na transmissão materna (Bale, 2015).

Um provável mecanismo que pode explicar como as experiências paternas programam a saúde da prole e/ou de gerações seguintes são as modificações epigenéticas, tais como metilação de DNA, metilação e acetilação de histonas e expressão de microRNAs durante a espermatogênese dos progenitores (Figura 6, 7 e 8 Hughes, 2014). Por exemplo, camundongos obesos expressam de forma anormal 11 microRNAs em seu esperma e, em consequência disso, as duas gerações seguintes apresentam resistência à insulina (Fullston et al., 2013). Por outro lado, o perfil metabólico da prole feminina desses camundongos obesos foi restaurado quando esses foram expostos a natação e/ou alteração na dieta, tendo os níveis de microRNAs espermáticos aberrantes normalizados (McPherson et al., 2015).

Na hipótese de Murashov et al. (2016), é sugerido que experiências paternas, como o exercício físico crônico causariam alterações metabólicas no organismo do progenitor (F0), tais como: aumento da formação de ROS (espécies reativas de oxigênio), danos ao DNA, estresse oxidativo e alterações no eixo hipotálamo-hipófise-testículo (HHT). Esses eventos teriam ação direta sobre o epigenoma dos espermatozoides influenciando a metilação do DNA, as modificações de histonas e os níveis de miRNAs espermáticos. As alterações metabólicas causadas pelo exercício crônico anteriormente mencionadas, podem levar às mesmas epimutações no espermatozoide de uma forma indireta. Nesse processo, as alterações metabólicas provocadas pelo exercício levariam a modificações no sistema endócrino e nervoso, sobretudo no hipotálamo, o qual pode influenciar novamente o metabolismo, numa alça de retroalimentação. Esses sistemas produziriam hormônios, neuropeptídeos e fatores tróficos que induziriam as epimutações, já descritas anteriormente, nas células germinativas. Os autores supõe que as experiências paternas alterem os níveis de miRNA no espermatozoide via eixo HHT. Ambas as formas causam epimutações que podem resultar em transmissão de traços adquiridos a próxima geração (Figura 6).



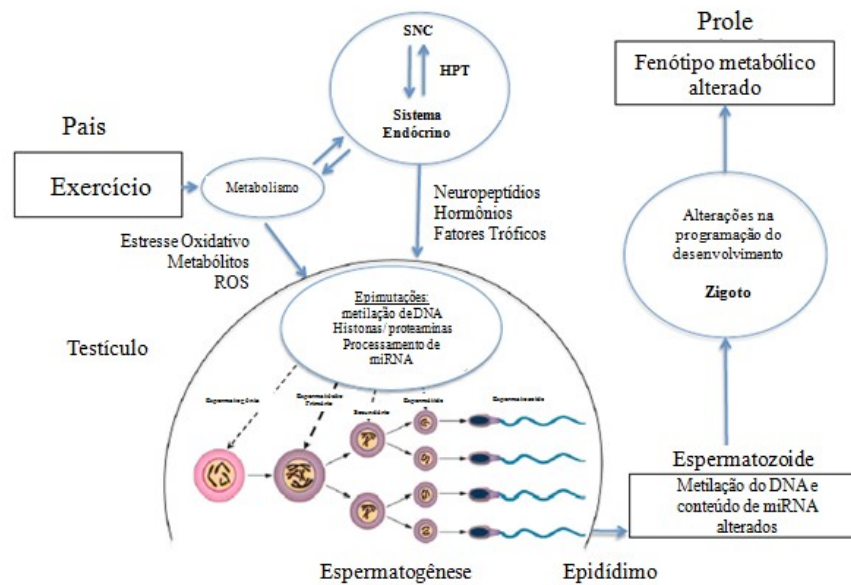
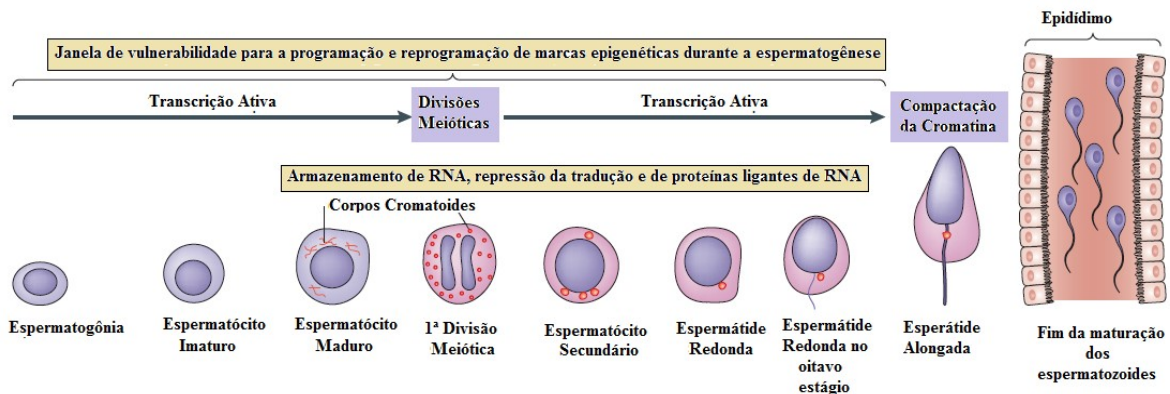


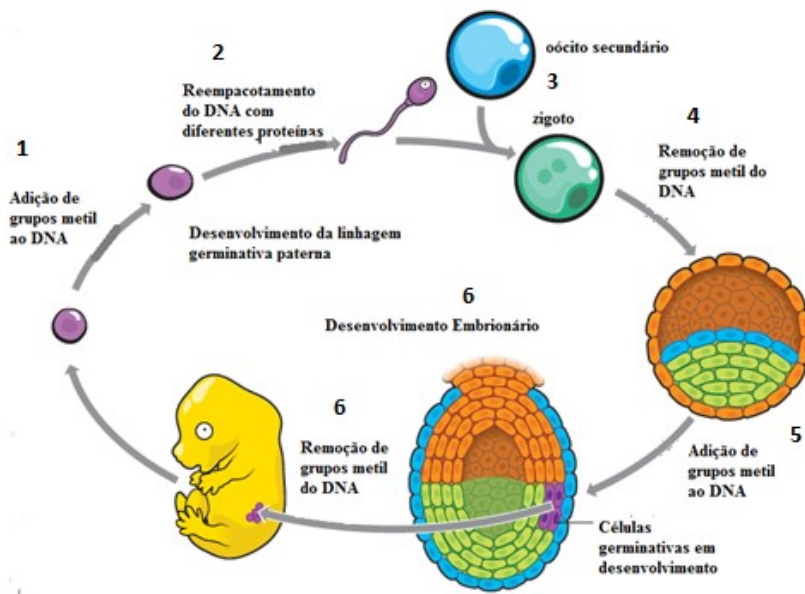
Figura 6: Provável mecanismo pelo qual o exercício físico induz modificações epigenéticas nos espermatozoides. O exercício físico influencia o metabolismo e o eixo HHT na geração F0, que, por sua vez, alteram as marcas epigenéticas no período da espermatogênese. Metilação de DNA, modificação de histonas e dos níveis de RNAs não codificantes nos espermatozoides são as alterações epigenéticas mais importantes que podem causar uma mudança fenotípica na prole. Modificado de Murachov et al. (2016).

Os escassos estudos pré-clínicos e clínicos abordando o papel do exercício físico paterno na programação da saúde da prole investigam seus efeitos metabólicos (Murashov et al., 2016), o desenvolvimento embrionário e fetal (McPherson et al., 2013) e o peso ao nascimento (Fan et al., 2015). Em um estudo desenvolvido por Yin e cols. (2013), o exercício físico forçado em esteira ergométrica nos camundongos pais foi capaz de gerar efeitos positivos no encéfalo dos filhotes machos. Os autores relataram melhora de parâmetros de locomoção, de memória espacial durante a tarefa do Labirinto Aquático de Morris e do conteúdo de BDNF e de reelina (glicoproteína envolvida na plasticidade sináptica) no hipocampo dos filhotes.

A maioria dos estudos dessa temática concentra-se em investigar os efeitos prejudiciais de experiências paternas negativas sobre a vida dos seus descendentes. São poucos estudos com enfoque na influência de um estilo de vida saudável e transmissão de benefícios à saúde das futuras gerações. São necessários estudos que abordem os efeitos da exposição parental a experiências positivas, para que se compreendam os seus mecanismos de ação e posterior utilização como estratégia profilática frente à exposição a fatores ambientais nocivos.



**Figura 7:** Na maioria dos mamíferos, a espermatogênese dura cerca de 6 a 8 semanas. No decorrer desse período, a linhagem germinativa encontra-se suscetível a fatores ambientais que podem modular as suas marcas epigenéticas e, por sua vez, modificar o fenótipo da prole. Adaptado de Bale, 2015.



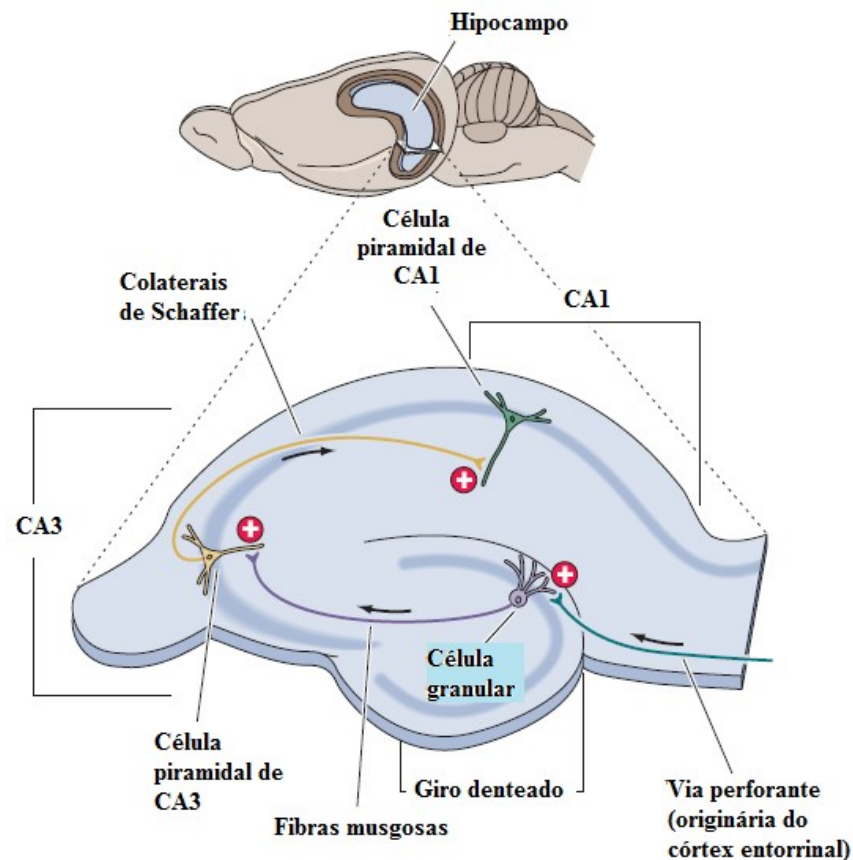
**Figura 8.** Metilação do DNA na linhagem germinativa como um dos mecanismos epigenéticos propostos para a transmissão de informação às próximas gerações. As marcas epigenéticas necessitam passar ilesas pelos ciclos de reprogramação epigenética no zigoto e embrião para poder transmitir a informação à prole. Adaptado de Hughes (2014).

#### 1.4. Hipocampo, Memória e Exercício Físico

Dentre as várias estruturas encefálicas, o hipocampo é uma das mais estudadas e com maior plasticidade na fase adulta, estando relacionada ao processamento da memória espacial (Cassilhas et al., 2016; Leuner et al., 2010). Quanto a sua morfologia, apresenta-se como um córtex trilaminar dobrado sobre si mesmo que localiza-se no lobo temporal dos hemisférios cerebrais (El Falougy et al., 2008; Squire et al., 2004). Segundo sua divisão anatômica é constituído pelo Corno de Amon e giro denteado (GD). O Corno de Amon, por sua vez, é

subdivido em quatro regiões (CA1, CA2, CA3 e CA4) e há um predomínio de neurônios piramidais (Langston et al., 2010; El Falougy et al., 2008; Figura 9). O giro denteado (GD) é constituído por 3 camadas: a molecular (mais externa), a granular (intermediária) e a camada de células polimórficas, também chamada de hilo do giro denteado (GD), a qual é a camada mais profunda e é composta por pelo menos 21 tipos diferentes de neurônios (Amaral e Witter, 1989; Amaral, 1978; Blackstad et al., 1970).

O termo formação hipocampal inclui o giro denteado (GD), o hipocampo, o complexo subicular (subículo, pré-subículo e parassubículo) e o córtex entorrinal. Essas estruturas estão interligadas formando um circuito composto por três vias: a via perforante (que se origina no córtex entorrinal e termina no GD); as fibras musgosas, que seguem das células granulares do GD até CA3; e as colaterais de Schaffer das células piramidais de CA3, que terminam sobre CA1 (Figura 9) e por fim, eferências partem de CA1 com destino ao subículo (Langston et al., 2010). Em cada um desses três contatos sinápticos excitatórios pode-se observar o fenômeno de plasticidade sináptica funcional chamado de LTP, que consiste no aumento da eficácia dessas sinapses e que está envolvido na formação e evocação de memórias (Bennett, 2000; Bliss e Collingridge, 1993).



**Figura 9.** Esquema de um corte coronal do encéfalo de um rato no nível do hipocampo, mostrando as três vias que conectam as diferentes estruturas da formação hipocampal (Adaptado de Purves, 2010).

A região ventral do hipocampo está envolvida principalmente com processos relacionados a ansiedade, enquanto o hipocampo dorsal atua majoritariamente no aprendizado e memória, sobretudo a espacial (Bannerman et al.; 2014). Sendo assim, o hipocampo faz parte do sistema límbico tendo papel crucial em processos emocionais, como o medo condicionado. No processamento de uma informação aversiva, o hipocampo transmite a amígdala informações a respeito do contexto, nela se dá a associação entre o contexto do ambiente e o evento nocivo, enquanto no hipocampo ocorre a consolidação do contexto em que ocorreu o evento nocivo (Sanders et al., 2003).

Além de compor o sistema límbico, o hipocampo também é responsável pelo processamento e consolidação de memórias declarativas. Memórias explícitas ou declarativas se referem ao conhecimento de coisas, indivíduos, lugares e ao significado que eles carregam. Esse tipo de memória pode ser classificada em duas categorias: episódica e semântica. A memória episódica consiste em recordações de eventos experimentados pelo indivíduo em meio a um contexto (tempo e espaço). Já a memória semântica é o oposto, consiste no conhecimento de um fato sem levar em consideração o contexto no qual ocorreu a sua aprendizagem (Sharma et al., 2010).

Em 1976, o grupo de pesquisa de O'Keefe mostrou a existência de neurônios no hipocampo de ratos que respondem somente quando o animal encontra-se numa localização específica do seu meio, denominando esses neurônios como "célula de lugar" e os relacionando com a memória espacial. A memória espacial requer a integridade hipocampal, sendo considerada um tipo de memória episódica, uma vez que diz respeito a retenção de informações sobre a localização em um determinado ambiente (Paul et al., 2009; Sharma et al., 2010). Experimentalmente, a memória espacial pode ser avaliada em testes comportamentais como o labirinto aquático de Morris, labirinto em T, teste de objeto reposicionado, labirinto radial, entre outros (Kim et al., 2006; Parnpiansil et al., 2003; Pereira et al., 2007; Revsin et al., 2009).

Recentemente, estudos têm associado o exercício físico a aprendizagem e a memória espacial, as quais são dependentes do hipocampo (Cassilhas et al., 2016). Lees e Hopkins (2013) atribuíram a melhora de índices acadêmicos, funções cognitivas e psicossociais de crianças à prática de exercício aeróbico. O exercício físico também foi associado positivamente ao desempenho de adolescentes no labirinto aquático de Morris virtual (Herting et al., 2012). Em estudos de neuroimagem, foi observado que o volume hipocampal de crianças ativas fisicamente era maior em comparação às sedentárias e, conseqüentemente, as

primeiras demonstraram melhor desempenho em tarefas de memória (Chaddock et al., 2010). Cassilhas e colaboradores (2007, 2012) observaram que tanto o exercício aeróbico, quanto o de resistência, aprimoram a memória espacial de humanos e roedores.

As diferentes regiões do hipocampo têm uma capacidade plástica e possuem determinados tipos celulares que podem responder de maneira diferente ao exercício físico (Voss et al., 2013). Um estudo prévio mostra que o GD de camundongos pode duplicar a quantidade de neurônios após exposição ao exercício físico (van Praag et al., 1999a). Além de potencializar a neurogênese hipocampal, o exercício físico também aumenta a arborização dendrítica e modula a liberação e utilização de neurotransmissores, induzindo a neuroplasticidade por meio desses e outros mecanismos (Eadie et al., 2005; Meeusen et al., 2005; Meeusen et al., 1995; Stranahan et al., 2007; Stranahan et al., 2006; van Praag et al., 2005).

Filhotes de mães submetidas a diferentes protocolos de exercício físico durante a gestação têm sua memória espacial aprimorada em testes como labirinto em T e labirinto aquático de Morris. Esse achado pode ser atribuído a influência benéfica do exercício materno sobre a neurogênese hipocampal, níveis de RNAm de BDNF e da própria neurotrofina no hipocampo da prole (Gomes da Silva et al., 2016; Lee et al., 2006; Kim et al., 2007; Parnpiansil et al., 2003). Filhos de camundongos machos exercitados anteriormente ao acasalamento também tiveram melhor desempenho no labirinto aquático de Morris, aumento nos níveis de BDNF e da neurogênese hipocampal (Yin et al.; 2013).

Com base nesses dados pré-clínicos, nós acreditamos que o exercício físico parental, de ambos os progenitores, pode programar positivamente a neuroplasticidade no hipocampo da prole e por consequência, o seu desempenho cognitivo, sobretudo a memória espacial. Os parâmetros de plasticidade que supomos ser influenciados benéficamente pelo exercício parental são: a neurogênese hipocampal (proliferação, sobrevivência e diferenciação de células progenitoras em novos neurônios na camada granular do GD) e a plasticidade sináptica (modificação da eficiência de uma sinapse ou formações de novos contatos sinápticos). Esses mecanismos podem ser justificados, dentre outras razões, pelo provável aumento dos níveis de fatores de crescimento, como o BDNF, o qual analisaremos no futuro.

Aqui, avaliamos a expressão de sinaptofisina na região do hilo do giro denteado, como um indicativo de formação de novas sinapses. Também como perspectiva, analisaremos futuramente a expressão de reelina no hipocampo, uma glicoproteína extracelular envolvida na organização/migração dos neurônios durante o período fetal e que, na vida pós-natal, promove a maturação neuronal, modulando a eficiência sináptica pelo aumento da LTP

(Durakoglugil et. al., 2009; Qiu et al., 2007; Qiu et al., 2006). No hipocampo adulto, é expressa no hilo do giro denteado e no estrato lacuoso-molecular do Corno de Amon (Pesold et. al., 1998). Estudos sugerem que a relina tem a importante função de manutenção da integridade sináptica, colaborando assim, com a manifestação comportamental do aprendizado e memória em tarefas espaciais (Pujadas et. al., 2010; Herz & Chen, 2006).

Assim, avaliando os níveis dessas duas proteínas teremos informações complementares a respeito dos efeitos do exercício físico parental sobre aspectos diferentes da plasticidade sináptica: sinaptogênese (sinaptofisina) e integridade e funcionamento da sinapse (reelina). Essa avaliação é importante pois a plasticidade sináptica no hipocampo é considerada fundamental para o processamento da memória (Shih et al., 2013), podendo ser um mecanismo pelo qual o exercício programa positivamente o desempenho cognitivo da prole.

### **1.5. Plasticidade Sináptica e Exercício Físico**

A neuroplasticidade pode ser definida como a capacidade que o sistema nervoso possui de alterar a organização e função (mecanismos e processos fisiológicos) de suas estruturas em resposta a experiência (treinamento, aprendizado ou mesmo a um dano) (Cai et al., 2014). A neuroplasticidade é intensa nos períodos iniciais do desenvolvimento e vai diminuindo com o passar da idade, mas acompanha o indivíduo até o fim da vida (Cai et al., 2014; Gomes da Silva et al., 2016). Há diversos tipos de plasticidade, entre elas, podemos citar a regenerativa, axônica, sináptica e dendrítica (Navarro et al., 2007; Men et et al., 2003; Christopherson et al., 2005; Losonczy et al., 2008). A plasticidade sináptica pode ser a base da formação de memórias. Ela consiste em alterações do funcionamento ou eficiência de uma sinapse que podem durar horas ou períodos maiores, o que é observado nos fenômenos de LTP e Depressão de Longa Duração (LTD) (Malinow e Malenka, 2002). Na fase tardia da LTP pode ocorrer estabilização de sinapses existentes ou até mesmo a formação de novos contatos sinápticos pelo brotamento de espinhos dendríticos (Toni et al., 1999).

A sinaptogênese requer a interação entre neurônios pré e pós-sinápticos por meio de proteínas estruturais, moléculas de adesão e proteínas associadas às vesículas pré-sinápticas (Fang et al, 2013; Kim and Sheng, 2004; Washbourne et al., 2004). A pesquisa básica se vale de marcadores pré-sinápticos (sinaptofisina, sinapsina) e pós-sinápticos (PSD-95, neuroligina I) para analisar a formação de novos contatos sinápticos (Fang et al., 2013; Fernandes et al.,

2013). No presente estudo, a plasticidade sináptica no hipocampo da prole de ratos Wistar foi avaliada utilizando-se como marcador a sinaptofisina. Esse marcador é uma glicoproteína presente nas membranas de vesículas pré-sinápticas do terminal axonal. Sugere-se que modificações no seu conteúdo estão relacionadas a alterações vesiculares (Calhoun et al., 1996; Nithianantharajah et al., 2004; Schmitt et al., 2009; Wiedenmann et al., 1986). A plasticidade sináptica no hipocampo é considerada imprescindível para o processamento da memória (Shih et al., 2013) e estudos básicos têm demonstrado que ela pode ser um dos mecanismos que justificam o melhor desempenho cognitivo por parte dos indivíduos que o praticam, como descrito a seguir.

Hescham et al. (2009) observaram que o exercício voluntário em roda de corrida de livre acesso aumentou os níveis de sinaptofisina no hipocampo de ratos jovens e saudáveis. Revilla e cols. (2014) verificaram que um modelo de Alzheimer causava um decréscimo na expressão de sinaptofisina e PSD-95 no hipocampo de camundongos. Entretanto, os níveis desses marcadores foram restaurados nos animais submetidos a um protocolo de exercício voluntário em roda de corrida de livre acesso.

Protocolos de exercício forçado também se mostraram capazes de influenciar a plasticidade sináptica no hipocampo de animais. A corrida em esteira ergométrica adaptada para ratos atenuou o declínio da expressão de sinaptofisina, PSD-95, neuroligina 1 e  $\beta$ -neurexina de ratos submetidos a um modelo de estresse (Fang et al., 2013). O exercício de intensidade leve em esteira também produziu um aumento da plasticidade sináptica de animais expostos a um modelo de isquemia cerebral (Shih et al., 2013). Em contrapartida, nesse mesmo estudo de Shih, o treinamento de alta intensidade gerou estresse evidenciado por altos níveis de corticosterona e não teve efeito benéfico sobre a memória espacial e parâmetros de plasticidade sináptica, o que ressalta a diferença dos efeitos quando o mesmo tipo de exercício é feito em intensidades diferentes.

No que se refere à influência do exercício parental sobre a plasticidade sináptica hipocampal da prole, foi observada uma maior expressão de reelina (glicoproteína extracelular envolvida na plasticidade sináptica) na camada granular e de células piramidais do giro denteado (GD) e região CA2 e CA3 do hipocampo de filhotes de mães exercitadas voluntariamente durante a gestação. Entretanto, esse estudo não encontrou diferença significativa entre os níveis de sinaptofisina no hipocampo de filhotes de mães sedentárias ou exercitadas (Herring et al., 2012). Yin et al. (2013) observaram que os filhotes de camundongos machos exercitados previamente a concepção possuíam níveis elevados de

reelina em CA1,CA2,CA3 e GD em comparação com os filhotes de camundongos sedentários.

Não foram encontrados estudos na literatura com o objetivo de avaliar o efeito do exercício de ambos os progenitores sobre a cognição e plasticidade dos filhotes. Entretanto, pelo exposto anteriormente, já tem sido visto que o exercício parental pode causar benefícios à cognição dos descendentes e a plasticidade sináptica pode ser um dos prováveis mecanismos que justificam esse efeito.



## 2. JUSTIFICATIVA E HIPÓTESE

Estudos epidemiológicos relacionam a influência de fatores ambientais no início da vida com alterações genéticas no indivíduo, determinando o padrão de saúde-doença dos descendentes (Ravelli et al., 1976; van Os e Selten, 1998). Essas ideias atualmente estão agrupadas em um ramo de conhecimento científico sob a nomenclatura de “origens desenvolvimentais da saúde e doença” (conhecido pela sigla DOHaD, do inglês *Developmental Origins of Health and Disease*). Esse ramo descreve como o início da vida interage com fatores parentais e ambientais, induzindo ajustes precoces e determinantes de desfechos ao longo da vida.

Essa programação do organismo da prole acontece tanto negativa, induzindo o desenvolvimento de doenças na vida adulta como obesidade, diabetes, doenças mentais, quanto positivamente. Intervenções benéficas nessas janelas de tempo poderiam reduzir os riscos e também limitar a transmissão de doenças para a próxima geração. As pesquisas nesse âmbito possuem implicações substanciais para as sociedades em transição e para a política de saúde global. Porém muito se estuda sobre os efeitos adversos no desenvolvimento e pouco se sabe sobre estratégias para prevenir doenças.

O exercício físico parental poderia programar benéficamente o desenvolvimento fetal. Portanto, é necessário investigar seus mecanismos de ação para talvez utilizá-lo futuramente como estratégia profilática ou terapêutica frente à exposição pré-natal a fatores ambientais nocivos. Além disso, é imprescindível conhecer os efeitos de diferentes modalidades e intensidades de exercício parental sobre a prole, para que se possa orientar essa prática corretamente, sem colocar em risco a saúde dos progenitores e filhos. Visto isso, a hipótese do presente estudo é que a atividade física de ambos os progenitores (pai antes da concepção e mãe durante a gestação) module benéficamente o desenvolvimento da prole, a função cognitiva e a plasticidade sináptica no hipocampo.

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1. Objetivo Geral**

Investigar se o exercício físico parental exerce efeito benéfico no desenvolvimento, na memória espacial e na plasticidade sináptica do hipocampo de filhotes de ratos Wistar.

#### **3.2. Objetivos Específicos**

Analisar os efeitos do exercício físico paterno (prévio à concepção) e materno (durante o período gestacional) sobre:

- O peso absoluto e relativo das glândulas adrenais das progenitoras, como uma medida indireta do nível de estresse;
- O ganho de peso corporal e a função sensório-motora dos filhotes, no intuito de averiguar se o protocolo de exercício físico afeta o desenvolvimento da prole;
- A memória espacial dos filhotes;
- A expressão da proteína sinaptofisina na região do hilo do giro denteado (GD) do hipocampo dos filhotes;