



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS MÉDICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NEUROPSIQUIATRIA E
CIÊNCIAS DO COMPORTAMENTO

MATHEUS SANTOS DE SOUSA FERNANDES

INVESTIGAÇÃO DOS EFEITOS DO TREINAMENTO FÍSICO EM PARÂMETROS
METABÓLICOS CELULARES E MITOCONDRIAIS NO CÓRTEX PRÉ-
FRONTAL E HIPOCAMPO DE RATOS JUVENIS SUBMETIDOS A
DESNUTRIÇÃO PROTEICA MATERNA

Recife

2023

MATHEUS SANTOS DE SOUSA FERNANDES

**INVESTIGAÇÃO DOS EFEITOS DO TREINAMENTO FÍSICO EM PARÂMETROS
METABÓLICOS CELULARES E MITOCONDRIAS NO CÓRTEX PRÉ-
FRONTAL E HIPOCAMPO DE RATOS JUVENIS SUBMETIDOS A
DESNUTRIÇÃO PROTEICA MATERNA**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Neuropsiquiatria e Ciências do Comportamento do Centro de Ciências Médicas da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito para obtenção do título de doutor em Neuropsiquiatria e Ciências do Comportamento.

Área de Concentração: Neurociências

Orientadora: Prof Dr Tony Meireles dos Santos

Coorientadora: Prof^ª Dr^a Claudia Jacques Lagranha

Recife

2023

Catálogo na fonte:
Bibliotecário: Aécio Oberdam, CRB4: 1895

F363i Fernandes, Matheus Santos de Sousa.
Investigação dos efeitos do treinamento físico em parâmetros metabólicos
celulares e mitocondriais no córtex pré-frontal e hipocampo de ratos juvenis submetidos
a desnutrição proteica materna / Matheus Santos de Sousa Fernandes – 2023.
111 p.

Orientador: Tony Meireles dos Santos
Tese (doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Ciências
Médicas. Programa de Pós-Graduação em Neuropsiquiatria e Ciências do
Comportamento. Recife, 2023.
Inclui referências e anexos.

1. Atividade física. 2. Exercício físico. 3. Deficiência proteica. 4. Sistema nervoso.
Santos, Tony Meireles dos (orientador). II. Título.

616.804 CDD (23.ed.)

UFPE (CCS 2023 - 198)

MATHEUS SANTOS DE SOUSA FERNANDES

**INVESTIGAÇÃO DOS EFEITOS DO TREINAMENTO FÍSICO EM PARÂMETROS
METABÓLICOS CELULARES E MITOCONDRIAS NO CÓRTEX PRÉ-FRONTAL
E HIPOCAMPO DE RATOS JUVENIS SUBMETIDOS A DESNUTRIÇÃO
PROTEICA MATERNA**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Neuropsiquiatria e Ciências do Comportamento do Centro de Ciências Médicas da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito para obtenção do título de doutor em Neuropsiquiatria e Ciências do Comportamento.
Área de Concentração: Neurociências

Aprovado em: 29/03/2023

BANCA EXAMINADORA

Profº Dr. Fabrício Oliveira Souto

Universidade Federal de Pernambuco – UFPE

Profº Dr. Raphael Fabrício de Souza

Universidade Federal de Sergipe

Profº Dr. Diorginis José Soares Ferreira

Universidade Federal do Vale do São Francisco - UNIVASF

Profº. Dr. Anderson Apolônio da Silva Pedroza

Centro Universitário Facol - Facol

Profº. Dr. Tony Meireles dos Santos

Universidade Federal de Pernambuco - UFPE

Recife

2023

Dedico este trabalho à Deus, meus pais, minha esposa e todos aqueles que me auxiliaram em mais essa etapa da minha vida, amo vocês.

AGRADECIMENTOS

Agradeço inicialmente ao meu DEUS por me conceder o privilégio de servi-lo e de possuir a salvação em Cristo Jesus, me dando a oportunidade de uma vida.

Aos meus pais João Fernandes e Juberlândia Santos de Sousa Fernandes, por me ensinarem o caminho do caráter, honestidade, honra e respeito, por todo amor, carinho em todos os momentos de minha vida, amo vocês.

A minha esposa Gabriela Carvalho, mulher sábia, perfeita, única e maravilhosa, fonte de inspiração para minha vida, que me completa, entende e cuida de mim em todos os detalhes, sem você meu amor nada disso seria possível, te amo para sempre.

A todos os meus familiares amo vocês do fundo do meu coração.

Ao meu orientador Prof. Dr. Tony Meireles dos Santos, obrigado por toda orientação, trabalho, companheirismo e dedicação em todos os momentos desta trajetória de doutorado.

A minha orientadora, mãe científica, mentora e fonte de inspiração genuína para minha vida acadêmica e pessoal Profa. Dra. Claudia Jacques Lagranha, obrigado por nunca ter desistido de mim e da construção da minha carreira acadêmica, por me ensinar o caminho pela qual eu devo andar sempre, como uma mãe faz com o filho, verdadeiramente amo a senhora, gratidão.

Aos membros e professores da banca de avaliação da minha qualificação e defesa de tese, verdadeiramente obrigado por toda dedicação em corrigir meu trabalho.

Ao LABMEX, agradeço a todos os meus colegas de laboratório que me auxiliaram em todos os momentos teóricos e práticos deste projeto.

Aos meus amigos e colegas de profissão, obrigado pelo companheirismo, força e incentivo.

Aos meus mestres em todos os níveis de formação que passei graduação, especialização (*Lato sensu*), Mestrado e Doutorado, vocês foram e são essenciais para mim sempre.

“Não to mandei eu? Esforça-te e tem bom ânimo; não pases, nem te espantes, porque o Senhor, teu Deus, é contigo, por onde quer que andares.” (ALMEIDA, 1995, p.307)

RESUMO

Os diferentes tipos de desnutrição ainda continuam presentes ao redor do mundo. Dentre elas, a desnutrição proteica materna (DPM) causa disfunções em sistemas orgânicos, incluindo o sistema nervoso. Por outro lado, o treinamento físico aeróbio (TFA) surge visando atenuar estas condições. Com isso, avaliamos o efeito do TFA em intensidade moderada sobre indicadores de função mitocondrial, balanço oxidativo e estresse de retículo endoplasmático no córtex pré-frontal (CPF) e hipocampo de ratos *Wistar* machos submetidos à DPM. Aos 30 dias de vida, filhotes machos foram divididos em 4 grupos: Desnutrido Sedentário (DS), Desnutrido Treinado (DT), Normonutrido Sedentário (NS) e Normonutrido Treinado (NT). Os grupos treinados realizaram exercício físico por 4 semanas, 5 dias por semana, 1 hora por dia, a 50% de sua capacidade máxima de corrida em esteira. Aos 60 dias de vida, os animais foram eutanasiados para retirada do músculo esquelético, CPF e o hipocampo visando analisar biomarcadores de função mitocondrial (citrato sintase, NAD, NADH e razão NAD/NADH), estresse oxidativo (MDA e carbonilas), atividade antioxidante enzimática (Superóxido Dismutase-SOD, Catalase-CAT e Glutathione S Transferase-GST), não-enzimática (Glutathione Reduzida-GSH, Glutathione Oxidada-GSSG, Estado REDOX-GSH/GSSG e sulfidrilas), Níveis de expressão de genes ligados ao estresse de retículo (*PERK*, *ATF6*, *GRP78*) e do fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF). No CPF e hipocampo, inicialmente observamos da DPM isoladamente, depois associada ao TFA. Neste sentido, observamos que a DPM reduziu citrato sintase no CPF. Em MDA e carbonilas não houve diferenças. No sistema antioxidante enzimático houve redução significativa em CAT e GST. Nas defesas não enzimáticas, não observamos diferença significativa. No TFA associado à DPM observamos os seguintes resultados no CPF. Houve incremento em citrato sintase e NADH, com redução da razão NAD/NADH. Nos marcadores de estresse oxidativo, encontramos redução significativa em carbonilas. Nos antioxidantes enzimáticos, houve um aumento em SOD, CAT e GST. Além disso, nos não enzimáticos observamos aumento nos níveis de GSH e sulfidrilas. No hipocampo, a DPM não alterou citrato sintase, NAD, NADH e NAD/NADH. No sistema antioxidante enzimático a DPM reduziu significativamente SOD, CAT e GST. Nos não enzimáticos houve redução significativa apenas em sulfidrilas. O TFA associado à DPM não houve diferença nos níveis de citrato, NAD, e NAD/NADH. No entanto, em NADH houve aumento significativo. No antioxidante enzimático, o TFA aumentou a atividade de SOD, CAT e GST. Adicionalmente, promoveu incremento em GSH e GSSG. Em GSH/GSSG e sulfidrilas não houve diferença significativa. Em seguida, analisamos a expressão gênica de *GRP78*, *PERK*,

ATF6 e BDNF no CPF e hipocampo. No CPF observamos aumento na expressão de *GRP78*, *ATF6 e BDNF* em resposta a DPM. Quando associada ao TFA, ele reduziu a expressão de *GRP78*, *ATF6 e BDNF*. No hipocampo, houve um aumento na expressão de *PERK*, *ATF6 e BDNF*. No entanto, quando associado ao TFA houve redução na expressão de *PERK*, *ATF6*, *BDNF*. O TFA promoveu melhoria em indicadores de funcionalidade mitocondrial, estresse oxidativo, defesas antioxidante enzimática e não enzimática, e marcadores de estresse de retículo endoplasmático no CPF e hipocampo de ratos machos *Wistar* submetidos a DPM.

Palavras-Chave: atividade física; exercício físico; deficiência proteica; sistema nervoso.

ABSTRACT

The different types of malnutrition are still present around the world. Among them, maternal protein malnutrition (MPM) causes dysfunctions in organ systems, including the nervous system. On the other hand, aerobic physical training (APT) appears to mitigate these conditions. Therefore, we evaluated the effect of APT at moderate intensity on indicators of mitochondrial function, oxidative balance, and endoplasmic reticulum stress in the prefrontal cortex (PFC) and hippocampus of male Wistar rats submitted to MPM. At 30 days of age, male pups were divided into 4 groups: Sedentary Malnourished (LS), Trained Malnourished (LT), Sedentary Normonourished (NS) and Trained Normonourished (NT). Trained groups performed physical exercise for 4 weeks, 5 days a week, 1 hour a day, at 50% of their maximum treadmill running capacity. At 60 days of life, the animals were euthanized to remove the skeletal muscle, PFC and hippocampus in order to analyze biomarkers of mitochondrial function (citrate synthase, NAD, NADH and NAD/NADH ratio), oxidative stress (MDA and carbonyls), antioxidant activity enzymatic (Superoxide Dismutase-SOD, Catalase-CAT and Glutathione S Transferase-GST), non-enzymatic (Reduced Glutathione-GSH, Oxidized Glutathione-GSSG, REDOX State-GSH/GSSG and sulfhydryl's), Expression levels of genes linked to stress reticulum (PERK, ATF6, GRP78) and brain-derived neurotrophic factor (BDNF). In the PFC and hippocampus, we initially observed MPM alone, later associated with TFA. In this sense, we observed that DPM reduced citrate synthase in CPF. In MDA and carbonyls there were no differences. In the enzymatic antioxidant system, there was a significant reduction in CAT and GST. In non-enzymatic defenses, we did not observe a significant difference. In the APT associated with MPM, we observed the following results in the PFC. There was an increase in citrate synthase and NADH, with a reduction in the NAD/NADH ratio. In oxidative stress markers, we found a significant reduction in carbonyls. In enzymatic antioxidants, there was an increase in SOD, CAT, and GST. In addition, in non-enzymatic drugs, we observed an increase in the levels of GSH and sulfhydryl's. In the hippocampus, MPM did not change citrate synthase, NAD, NADH and NAD/NADH. In the enzymatic antioxidant system, DPM significantly reduced SOD, CAT, and GST. In non-enzymatic there was a significant reduction only in sulfhydryl's. There was no difference in citrate, NAD, and NAD/NADH levels associated with MPM. However, in NADH there was a significant increase. In the enzymatic antioxidant, APT increased the activity of SOD, CAT, and GST. Additionally, it promoted an increase in GSH and GSSG. In GSH/GSSG and sulfhydryl's there was no significant difference. Next, we analyzed the gene expression of GRP78, PERK, ATF6 and BDNF in the PFC and hippocampus. In the PFC we observed an

increase in the expression of GRP78, ATF6 and BDNF in response to DPM. When associated with APT, it reduced the expression of GRP78, ATF6 and BDNF. In the hippocampus, there was an increase in the expression of PERK, ATF6 and BDNF. However, when associated with APT, there was a reduction in the expression of PERK, ATF6, BDNF. APT promoted improvement in indicators of mitochondrial functionality, oxidative stress, enzymatic and non-enzymatic antioxidant defenses, and markers of endoplasmic reticulum stress in the PFC and hippocampus of male Wistar rats submitted to MPM.

Key Words: physical activity; physical exercise; protein deficiency; nervous system.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 -	Participação e conexões excitatórias e inibitórias do córtex pré-frontal com diferentes áreas cerebrais e suas repercussões.....	26
Figura 2 -	Estrutura do hipocampo no cérebro de roedores e humano, bem como suas interações funcionais.....	28
Figura 3 -	Alterações no hipocampo decorrentes do Alzheimer. Retirado Hernández e colaboradores, 2010.....	30
Figura 4 -	Mecanismos molecular de promoção do Estresse de Reticulo Endoplasmático.....	34
Figura 5 -	Desenho experimental utilizado durante o estudo.....	43
Figura 6 -	Atividade de citrato sintase no músculo esquelético de ratos <i>Wistar</i> (normonutridos e desnutridos) após quatro semanas de TFA; (NS = 5; DS = 9; NT = 4; DT = 6); *p=0.04.....	50
Figura 7 -	Atividade de citrato sintase no córtex pré-frontal de ratos <i>Wistar</i> (normonutridos e desnutridos) após quatro semanas de TFA; (NS = 5; DS = 4; NT = 5; DT = 6);*p=0.02.....	51
Figura 8 -	Cinética da oxidorredução de nucleotídeos de piridina no córtex pré-frontal de ratos <i>Wistar</i> rats (normonutridos e desnutridos) após quatro semanas de TFA; A) NAD ⁺ (NS = 5; DS = 10; NT = 5; DT = 11); B) NADH (NS = 6; DS = 7; NT = 7; DT = 6); C) razão NAD ⁺ /NADH (NS = 4; DS = 5; NT = 5; DT = 6); *p=0.03; **p<0.002, ***p=0.0005.	52
Figura 9 -	Níveis de marcadores de estresse oxidativo no córtex pré-frontal de ratos <i>Wistar</i> rats (normonutridos e desnutridos) após quatro semanas de TFA; A) MDA (NS = 7; DS = 8; NT = 9; DT = 9); B) Carbonilas (NS = 4; DS = 10; NT = 8; DT = 8); *p=0.01, **p=0.004.....	54
Figura 10 -	Atividade enzimática antioxidante no córtex pré-frontal de ratos <i>Wistar</i> rats (normonutridos e desnutridos) após quatro semanas de TFA; A) SOD	

	(NS = 7; DS = 8; NT = 9; DT = 9; *p=0.02); B) Catalase (NS = 6; DS = 10; NT = 9; DT = 8, *p=0.03, **p=0.003); C) GST (NS = 4; DS = 10; NT = 8; DT = 8, *p=0.02 e p=0.04, respectivamente).....	55
Figura 11 -	Atividade não enzimática antioxidante no córtex pré-frontal de ratos <i>Wistar</i> (normonutridos e desnutridos) após quatro semanas de TFA; A) GSH (NS = 4; DS = 8; NT = 6; DT = 7, **p=0.001, ***p=0.0003); B) GSSG (NS = 4; DS = 6; NT = 7; DT = 7); C) Razão GSH/GSSG (NS = 4; DS = 7; NT = 5; DT = 5, *p=0.04); D) Sulfidrilas (NS = 5; DS = 8; NT = 8; DT = 8, *p=0.01).....	57
Figura 12 -	Expressão gênica (mRNA) no hipocampo de ratos <i>Wistar</i> (normonutridos e desnutridos) após quatro semanas de TFA; A) GRP78 (NS; n = 5; LS; n = 5; NT; n = 4; DT; n = 5); B) PERK (NS; n = 5; DS; n = 4; NT; n = 5; DT; n = 4); C) ATF6 (NS; n = 5; DS; n = 5; NT; n = 6; DT; n = 5); D) BDNF; (NS; n = 4; DS; n = 5; NT; n = 5; DT; n = 5); ****p<0.0001.	59
Figura 13 -	Atividade de citrato sintase no córtex hipocampo de ratos <i>Wistar</i> rats (normonutridos e desnutridos) após quatro semanas de TFA; (NS = 4; DS = 7; NT = 5; DT = 7); *p<0.02.	60
Figura 14 -	Cinética da oxido redução de nucleotídeos de piridina no hipocampo de ratos <i>Wistar</i> rats (normonutridos e desnutridos) após quatro semanas de TFA; A) NAD ⁺ (NS = 10; DS = 9; NT = 7; DT = 8); B) NADH (NS = 8; DS = 7; NT = 6; DT = 6, *p=0.04, p**=0.002); C) razão NAD ⁺ /NADH (NS = 6; DS = 7; NT = 7; DT = 8, *p=0.03).....	62
Figura 15 -	Níveis de marcadores de estresse oxidativo no hipocampo de ratos <i>Wistar</i> rats (normonutridos e desnutridos) após quatro semanas de TFA; A) MDA (NS = 6; DS = 6; NT = 7; DT = 7); B) Carbonilas (NS = 3; DS = 4; NT = 3; DT = 5).....	63
Figura 16 -	Atividade enzimática antioxidante no hipocampo de ratos <i>Wistar</i> rats (normonutridos e desnutridos) após quatro semanas de TFA; A) SOD (NS = 5; DS = 8; NT = 8; DT = 9, *p=0.01, ***p<0.0001); B) Catalase (NS = 6; DS =	

8; NT = 4; DT = 5, *p=0.03 e p=0.04, respectivamente); C) GST (NS = 5; DS = 8; NT = 7; DT = 8, **p=0.001, ***p=0.0008).....64

Figura 17 - Atividade não enzimática antioxidante no hipocampo de ratos *Wistar* rats (normonutridos e desnutridos) após quatro semanas de TFA; A) GSH (NS = 5; DS = 8; NT = 7; DT = 9*p=0.03); B) GSSG (NS = 5; DS = 8; NT = 6; DT = 7, **p=0.02 e p=0.01, respectivamente); C) Razão GSH/GSSG (NS = 5; DS = 6; NT = 5; DT = 6, *p=0.02, **p=0.004); D) Sulfidrilas (NS = 5; DS = 7; NT = 7; DT = 7, **p=0.03).....66

Figura 18 - Expressão gênica (mRNA) no hipocampo de ratos Wistar (normonutridos e desnutridos) após quatro semanas de TFA; A) GRP78 (NS; n = 5; DS; n = 5; NT; n = 4; DT; n = 5, ****p<0.0001); B) PERK (NS; n = 5; DS; n = 4; NT; n = 5; DT; n = 4, p<0.0001); C) ATF6 (NS; n = 5; DS; n = 5; NT; n = 6; DT; n = 5, p<0.0001); D) BDNF; (NS; n = 4; DS; n = 5; NT; n = 5; DT; n = 5, p<0.0001).....68

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Composição dietética ofertada aos animais <i>Wistar</i> (Normo e Desnutridos)	
		43
Tabela 2 -	Sequência de oligonucleotídeos	
	utilizados.....	48

LISTAS DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACSM - *American College Sports Medicine*

ATP- Adenosina Tri Fosfato

ATF4- Ativador do Fator de Transcrição 4

BDNF - Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro

CAT - Catalase

CHOP - Proteína Homóloga C

CPF - Córtex Pré-Frontal

CPT - Carnitina Palmitoil Transferase

CTE - Cadeia Transportadora de Elétrons

DC - Doenças Crônicas

DS - Desnutridos Sedentários

DT - Desnutridos Treinados

DNA - Ácido Desoxirribonucleico

DNPH - 2,4 Diitrofenilhidrazina

DPM - Desnutrição Proteica Materna

EFA - Exercício Físico Aeróbio

EO - Estresse Oxidativo

ERE - Estresse de Retículo Endoplasmático

EROS - Espécies Reativas de Oxigênio

ERN - Espécies Reativas de Nitrogênio

FADH₂ - Flavina Adenina Dinucleotídeo Reduzida

GD - Giro Dentado

GST - Glutathione S Transferase

GSH - Glutathiona Reduzida

GSSG - Glutathiona Oxidada

GSH/GSSG - Razão entre Glutathionas Reduzida e Oxidada

GPx - Glutathiona Peroxidase

GTP- Guanosina Tri Fosfato

GRP78 - Proteína Regulada por Glicose 78

IRE-1 -Inositol que requer quinase 1

MDA - Malonaldeído

NAD - Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo

NADH - Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo Reduzida

NEM - N-ethylmaleimida

NIH - *National Institutes of Health*

NOS - Óxido Nítrico Sintase

NS - Normonutridos Sedentários

NT - Normonutridos Treinados

O₂ - Oxigênio

OMS - Organização Mundial da Saúde

PERK- Proteína Quinase do Retículo Endoplasmático

RE - Retículo Endoplasmático

REDOX - Balanço de Oxi-redução

RPM - Rotações por minuto

SOD - Superóxido Dismutase

TFA - Treinamento Físico Aeróbico

U/A - Unidade Arbitrária

VO2 Máx - Volume de Oxigênio Máximo

LISTAS DE UNIDADES DE MEDIDA

C° - Celsius

L- Litros

mL - Mililitro

mM- Milimolar

mg - Miligrama

nM - Nanomolar

nm - Nanômetros

pH - Ponto de Hidrogênção

μM – Micromoles

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	22
2	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	24
2.1	DESNUTRIÇÃO PROTEICA MATERNA: UM PANORAMA CONTEMPORÂNEA	24
2.2	NEUROBIOLOGIA	25
2.2.1	Aspectos Neurobiológicos do Córtex Pré-Frontal	25
2.2.2	Aspectos Neurobiológicos do Hipocampo	28
2.2.3	Estresse Oxidativo, Funcionalidade Mitocondrial e Desnutrição Proteica Materna	30
2.3	ESTRESSE DE RETÍCULO ENDOPLASMÁTICO	33
2.3.1	Estresse de Retículo Endoplasmático e Desnutrição	35
2.4	TREINAMENTO FÍSICO AERÓBIO E CÉREBRO	36
2.4.1	Treinamento Físico Aeróbico, Estresse Oxidativo e de Retículo Endoplasmático	39
3	HIPÓTESE	41
4	OBJETIVOS	42
4.1	OBJETIVO GERAL	42
4.2	OBJETIVO ESPECÍFICO	42
5	MATERIAIS E MÉTODOS	43
5.1	AMOSTRA E INDUÇÃO DA DESNUTRIÇÃO	43
5.2	GRUPOS EXPERIMENTAIS	44
5.3	ASPECTOS ÉTICOS	44
5.4	PROTOCOLO DE TREINAMENTO FÍSICO E TESTE DE ESFORÇO FÍSICO	44
5.5	PROCESSO DE EUTANÁSIA E REMOÇÃO DO CÓRTEX PRÉ-FRONTAL E HIPOCAMPO	44
5.6	PROCESSAMENTO DO MATERIAL BIOLÓGICO PARA ANÁLISE DE BIOMARCADORES DE ESTRESSE OXIDATIVO	45
5.7	DOSAGEM DE PROTEÍNA	45
5.8	CINÉTICA DA OXIDAÇÃO DE NUCLEOTÍDEOS DE PIRIDINA (NAD ⁺ /NADH)	45
5.9	QUANTIFICAÇÃO DA ATIVIDADE DA ENZIMA CITRATO SINTASE	45

5.10	BIOMARCADORES DE ESTRESSE OXIDATIVO	46
5.10.1	Medida da substância reativa no ácido tiobarbitúrico (TBARS)	46
5.10.2	Oxidação proteica	46
5.11	ATIVIDADE ENZIMÁTICA ANTIOXIDANTE	46
5.11.1	Superóxido dismutase (SOD)	46
5.11.2	Catalase (CAT)	47
5.11.3	Glutathione S transferase (GST)	47
5.12	ATIVIDADE NÃO ENZIMÁTICA ANTIOXIDANTE	47
5.12.1	Glutathione Reduzida (GSH), Oxidada (GSSG) e Estado REDOX (GSH/GSSG)	47
5.12.2	Sulfidrilas (Tióis totais)	47
5.13	EXTRAÇÃO DO RNA MENSAGEIRO	48
5.13.1	Análise de Expressão Gênica por <i>Real Time PCR</i> (RT-PCR)	48
6	ANÁLISE ESTATÍSTICA	49
7	RESULTADOS	50
7.1	Atividade da enzima citrato sintase no músculo esquelético de ratos <i>Wistar</i> normonutridos e desnutridos	50
7.1.1	Atividade da enzima citrato sintase no córtex pré-frontal de ratos <i>Wistar</i> normonutridos e desnutridos	51
7.2	Cinética da oxidorredução dos nucleotídeos de piridina (NAD ⁺ /NADH) no córtex pré-frontal de ratos <i>Wistar</i> normonutridos e desnutridos	51
7.3	Indicadores de estresse oxidativo no córtex pré-frontal de ratos <i>Wistar</i> normonutridos e desnutridos	53
7.4	Componentes antioxidantes enzimáticos no córtex pré-frontal de ratos <i>Wistar</i> normonutridos e desnutridos	54
7.5	Componentes antioxidantes não enzimáticos no córtex pré-frontal de ratos <i>Wistar</i> normonutridos e desnutridos	56
7.6	Expressão Gênica de Marcadores de Estresse de Retículo Endoplasmático e Fator Neurotrófico no córtex pré-frontal de ratos <i>Wistar</i> normonutridos e desnutridos	58
7.7	Atividade da enzima citrato sintase no hipocampo de ratos <i>Wistar</i> normonutridos e desnutridos	60

7.8	Cinética da oxidação do nucleotídeo de piridina (NAD ⁺ /NADH) no hipocampo de ratos <i>Wistar</i> normonutridos e desnutridos	61
7.9	Indicadores de estresse oxidativo no hipocampo de ratos <i>Wistar</i> normonutridos e desnutridos	62
7.10	Componentes antioxidantes enzimáticos no hipocampo de ratos <i>Wistar</i> normonutridos e desnutridos	63
7.11	Componentes antioxidantes não enzimáticos no hipocampo de ratos <i>Wistar</i> normonutridos e desnutridos	65
7.12	Expressão Gênica de Marcadores de Estresse de Retículo Endoplasmático e Fator Neurotrófico no hipocampo de ratos <i>Wistar</i> normonutridos e desnutridos	67
8	DISCUSSÃO	70
8.1	Cortéx Pré-Frontal	70
8.2	Hipocampo	72
9	CONCLUSÃO	76
	REFERÊNCIAS	77
	ANEXO A – COMITÊ DE ÉTICA	90
	ANEXO B – ARTIGO DE REVISÃO SISTEMÁTICA PUBLICADO INTITULADO: EFFECT OF PHYSICAL EXERCISE ON NEUROPLASTICITY AND BRAIN FUNCTION: A SYSTEMATIC REVIEW IN HUMAN AND ANIMAL STUDIES	91
	ANEXO C – ARTIGO DE ORIGINAL DA TESE NA <i>BRAIN RESEARCH</i> INTITULADO: UNDERNUTRITION DURING DEVELOPMENT MODULATES ENDOPLASMIC RETICULUM STRESS GENES IN THE HIPPOCAMPUS OF JUVENILE RATS: INVOLVEMENT OF OXIDATIVE STRESS	106
	ANEXO D – SEGUNDO ARTIGO ORIGINAL DA TESE EM SUBMISSÃO	107
	ANEXO E - PUBLICAÇÕES DURANTE O PERÍODO DE DOUTORADO	108

1 INTRODUÇÃO

Atualmente, mesmo com a intensificação de políticas públicas voltadas ao combate à fome, ainda observamos taxas elevadas de desnutrição principalmente encontradas em países subdesenvolvidos e em desenvolvimento (GROVER; EE, 2009). Além disso, essa condição destaca-se como um importante problema de saúde pública, estando associada diretamente a gênese de doenças crônicas degenerativas (NORMAN; PICHARD; LOCHS; PIRLICH, 2008; YOO; HA; CHOI; KIM *et al.*, 2018). A condição de desnutrição pode ser encontrada em diversas faixas etárias, principalmente em crianças e adolescentes (BHUTTA; BERKLEY; BANDSMA; KERAC *et al.*, 2017; FÁVARO-MOREIRA; KRAUSCH-HOFMANN; MATTHYS; VEREECKEN *et al.*, 2016). Dentro da perspectiva epidemiológica, estudos apontam que, a desnutrição possui multicausalidade, dentre as quais incluem a redução da ingestão proteica e no consumo de macro e micronutrientes, capazes de proporcionar desregulações energéticas, além de exercerem papel crucial na gênese de distúrbios metabólicos e desregulação de sistemas fisiológicos incluindo o sistema nervoso central (DEUTZ; BAUER; BARAZZONI; BIOLO *et al.*, 2014; WELLS; SAWAYA; WIBAEK; MWANGOME *et al.*, 2020; WICÍŃSKI; ADAMKIEWICZ; ADAMKIEWICZ; ŚNIEGOCKI *et al.*, 2019).

Modelos experimentais, identificaram efeitos degenerativos da desnutrição sobre o córtex nervoso e hipocampo, podendo comprometer processos relacionados a memória, função executiva, busca pelo alimento, controle motor e metabólico (CALIXTO, 2015; CHOPRA, 1991). O córtex pré-frontal é uma estrutura cerebral essencial para a formação de metas e objetivos, bem como planejar estratégias de ação selecionando habilidades cognitivas e motoras para sua execução (UYLINGS; GROENEWEGEN; KOLB, 2003). Estudos demonstram que em ratos desnutridos ocorrem modificações em neurotransmissores dopaminérgicos e serotoninérgicos no córtex pré-frontal e hipocampo (MOKLER; MCGAUGHY; BASS; MORGANE *et al.*, 2019; MORGANE; MOKLER; GALLER, 2002). Esses impactos, são causados de maneira direta pela baixa oferta proteica podendo levar a apoptose das células neurais (VIAL-DAHMER; DA ROSA-SANTOS; SILVA; ARANTES *et al.*, 2021).

Dentre as alterações celulares e moleculares decorrentes do processo de desnutrição, está a disfunção na bioenergética mitocondrial, que acarreta produção excessiva de espécies reativas de oxigênio (EROs), resultando em estresse oxidativo, com respectiva diminuição

nas defesas antioxidantes enzimática e não enzimática (SANTANA; FERREIRA; BRAZ; SOUSA *et al.*, 2019). Em contrapartida, ferramentas não farmacológicas dentre as quais destaca-se o treinamento físico moderado aparece como uma ferramenta capaz de atenuar os efeitos deletérios da desnutrição (LEANDRO; DA SILVA RIBEIRO; DOS SANTOS; BENTO-SANTOS *et al.*, 2012). Estudos em tecidos não cerebrais demonstram que o treinamento físico aeróbio em intensidade moderada promove melhorias na funcionalidade mitocondrial e redução da produção excessiva de EROs, com subsequente aumento nas defesas antioxidantes (SILVA PEDROZA; BERNARDO; PEREIRA; ANDRADE SILVA *et al.*, 2021). Entretanto, até o presente momento pouco se sabe sobre os efeitos, em ratos juvenis submetidos a desnutrição perinatal, do treinamento físico em intensidade moderada em aspectos ligados ao metabolismo oxidativo no córtex pré-frontal e hipocampo.

Por isso, a presente tese objetivou avaliar o efeito do treinamento físico aeróbio em intensidade moderada sobre parâmetros da função mitocondrial, balanço oxidativo, marcadores de estresse de retículo endoplasmático e de ativação neuronal no córtex pré-frontal e hipocampo de ratos *Wistar* machos submetidos à desnutrição proteica materna.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 DESNUTRIÇÃO PROTEICA MATERNA: UM PANORAMA CONTEMPORÂNEO

Mesmo com o avanço das políticas públicas destinadas ao combate à fome, a desnutrição ainda afeta milhões de pessoas ao redor do planeta (AMPONG, ISAAC; WATKINS, ADAM; GUTIERREZ-MERINO, JORGE; IKWUOBE, JOHN *et al.*, 2020). Um inquérito realizado entre os anos de 2012-2014, acerca da insegurança alimentar no mundo, constatou que 805 milhões de pessoas ainda encontram-se subalimentadas cronicamente (SMITH; RABBITT; COLEMAN-JENSEN, 2017).

Dentro dos diferentes tipos de desnutrição, destaca-se a pôr redução nos níveis de proteínas da dieta (SEMBA, 2016). As proteínas possuem estruturas bioquímicas variáveis, e exercem funções estruturais, metabólicas, imunológicas, dentre outras (NELSON; COX, 2018). Quando a privação deste macronutriente ocorre em períodos de alta vulnerabilidade biológica, como gestação e lactação, é possível observar a ocorrência de efeitos deletérios nos sistemas fisiológicos (CHRISTIANS; SHERGILL; ALBERT, 2021). Essas alterações podem promover modificações na homeostase orgânica, repercutindo em problemas relacionados a saúde a curto e longo prazo (BRANCO; CAMARGO; BATISTA; VETTORAZZI *et al.*, 2017).

As repercussões provenientes de DPM podem promover insultos a nível celular e molecular (NASCIMENTO, L.; FREITAS, C. M.; SILVA-FILHO, R.; LEITE, A. C. *et al.*, 2014). Ferreira e colaboradores (2019) buscaram compreender no tronco encefálico os possíveis efeitos deletérios promovidos pela DPM na funcionalidade energética das mitocôndrias, e em componentes pró e antioxidante. Para tal, foram utilizadas ratas *Wistar* com 90 dias de idade, expostas durante a gestação a uma dieta com 8% de caseína, proteína de alto valor biológico. Os filhotes, 150 dias de vida, foram eutanasiados para retirada do tronco encefálico, onde foram feitos os devidos procedimentos experimentais. Foram encontradas reduções significantes na taxa de controle respiratório de complexos mitocondriais I e II, incrementos substanciais nos níveis de produção de espécies reativas de oxigênio (EROS), concentração de nitrito, atividade enzimática óxido nítrico sintase (NOS) e na produção de malonaldeído (MDA). Por outro lado, foi observado a redução da enzima antioxidante superóxido dismutase (SOD). Com isso, os autores observaram que a DPM em estágios do desenvolvimento é capaz de promover disfunção energética mitocondrial e em componentes do metabolismo oxidativo no tronco encefálico (FERREIRA, D. J. S.;

PEDROZA, A. A.; BRAZ, G. R. F.; FERNANDES, M. P. *et al.*, 2019). Essas modificações podem resultar em menor utilização de substratos energéticos, favorecendo o acúmulo excessivo de EROS, associado a redução de defesas enzimáticas e não enzimáticas antioxidantes (FERREIRA, D.; PEDROZA, A.; BRAZ, G.; FERNANDES, M. *et al.*, 2019).

As alterações promovidas pela DPM não ocorrem apenas no âmbito celular e molecular, mas também podem ser observadas a nível psicológico e comportamental (RUSHMORE; MCGAUGHY; MOKLER; ROSENE, 2020). Batista e colaboradores (2017) observaram os efeitos da exposição por duas semanas à DPM no comportamento de ansiedade, na vida adulta da prole de ratas Wistar desnutridas por dieta com 6% de caseína durante a gestação. Para avaliação destes componentes foram utilizados o teste de labirinto de cruz elevado, padrão ouro para avaliação do possível comportamento de ansiedade, e teste de frequência de vocalização ultrassônica produzida pelos filhotes, que é utilizado como indicador de ansiedade. Os filhotes de ratas desnutridas apresentaram comportamentos defensivos e elevação de vocalizações ultrassônicas em comparação aos alimentados por dieta normoproteica. Estes resultados sugerem que a DPM é responsável pelo aumento da ansiedade (BATISTA; VERONESI; RIBEIRO; GIUSTI-PAIVA *et al.*, 2017). Com isso, fica evidente que a DPM é capaz de promover alterações psicológicas crônicas.

Desta forma, pode-se sugerir que a DPM durante fases críticas do desenvolvimento, seja um preditor para o desenvolvimento de doenças crônicas degenerativas, como obesidade, diabetes mellitus doença hepática gordurosa não alcoólica, cardiovasculares e neurodegenerativas (AMPONG, I.; WATKINS, A.; GUTIERREZ-MERINO, J.; IKWUOBE, J. *et al.*, 2020; INGENBLEEK, 2020; SILVA, S. C. A.; BRAZ, G. R. F.; DO NASCIMENTO, L. C. P.; SANTANA, D. F. *et al.*, 2019; SUTTON; CENTANNI; BUTLER, 2010).

2.2 NEUROBIOLOGIA

2.2.1 Aspectos Neurobiológicos do Córtex Pré-Frontal

Dentro das áreas que compõem a região do córtex cerebral, atualmente tem se dado destaque ao CPF. Na classificação e divisão numérica estabelecida por Brodmann, o CPF ocupa áreas 9, 10 e 46 referentes a regiões motoras primárias e pré-motoras em humanos (STROTZER, 2009; ZILLES; AMUNTS, 2010). Entretanto em animais, principalmente roedores a localização anatômica do CPF ainda se encontra difusa e imprecisa (UYLINGS; GROENEWEGEN; KOLB, 2003). Funcionalmente, o CPF está envolvido fundamentalmente em processos cognitivos superiores, conhecidas como funções executivas

incluindo: processos organizacionais, entrada de estímulos sensoriais, atenção, gerenciamento de informações para memória de trabalho, controle de objetivos e comportamental (BAHMANI; CLARK; MERRIKHI; MUELLER *et al.*, 2019; GENOVESIO; TSUJIMOTO; NAVARRA; FALCONE *et al.*, 2014; KU; BODNER; ZHOU, 2015; ROSEN; AMSO; MCLAUGHLIN, 2019).

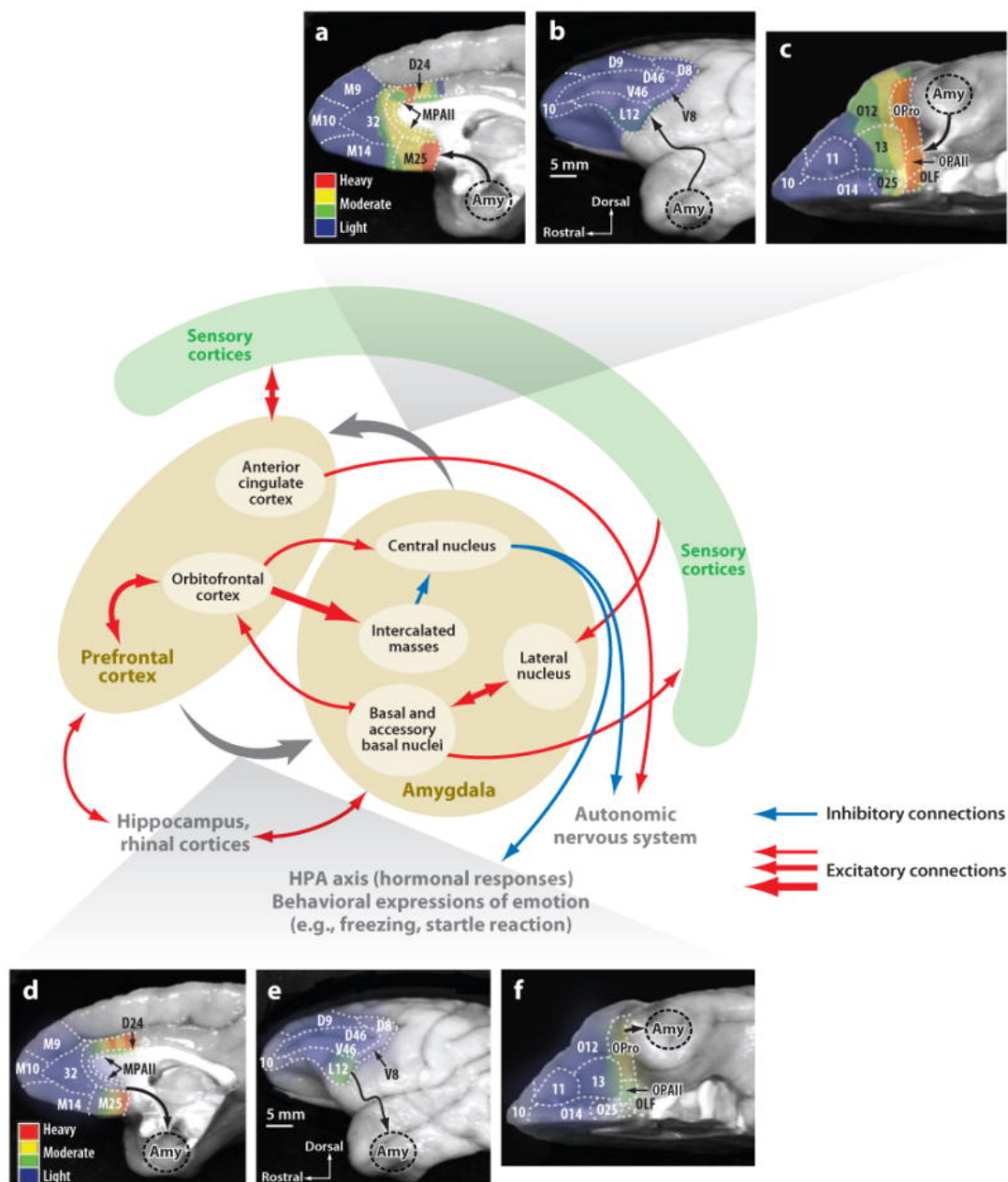


Figura 1 - Participação e conexões excitatórias e inibitórias do córtex pré-frontal com diferentes áreas cerebrais e suas repercussões. Retirado de SALZMAN, C. Daniel; FUSI, Stefano. Emotion, cognition, and mental state representation in amygdala and prefrontal cortex. Annual review of neuroscience, v. 33, p. 173-202, 2010.

É importante destacar que disfunções morfofuncionais no CPF podem estar relacionadas ao surgimento e progressão de condições fisiopatológicas (KALIN, 2019). Estudos de imagem utilizando ressonância magnética, demonstram que pacientes com transtornos neuropsiquiátricos tais como ansiedade e esquizofrenia possuem alterações em regiões frontais do córtex cerebral, incluindo o CPF (PARK; MOGHADDAM, 2017; ZHOU; FAN; QIU; JIANG, 2015). Adicionalmente, estudos em crianças (não autistas vs autistas) visando analisar os prejuízos no desenvolvimento do CPF na porção dorsolateral, apontam uma redução significativa no volume desta área cerebral em crianças acometidas por autismo (CARPER; COURCHESNE, 2005). Além disso, sujeitos com autismo demonstram um aumento de moléculas responsáveis por promoverem apoptose celular (p53 e Bcl2), com consequente redução componentes anti-apoptóticos (ARAGHI-NIKNAM; FATEMI, 2003).

A literatura científica também aponta que pacientes acometidos por distúrbios metabólicos tais como sobrepeso e obesidade, possuem danos em funções executivas. Uma revisão sistemática com meta-análise realizada por Yang e colaboradores (2017), utilizando 72 estudos e 4,904 sujeitos com sobrepeso/obesidade verificou que os pacientes com obesidade apresentaram redução em funções executivas, incluindo controle inibitório, flexibilidade cognitiva, memória de trabalho, tomada de decisão, fluência verbal e planejamento. Em contrapartida, os participantes com sobrepeso observaram déficits significativos apenas no controle inibitório e memória de trabalho. Os autores discutem que os mecanismos envolvidos nessa condição estão relacionados a uma maior resposta inflamatória, presença de hipertensão arterial sistêmica, fatores genéticos e ambientais tais como o aumento na ingestão de dietas altamente calóricas. Por fim, os autores também atribuem o déficit nas funções executivas aos baixos níveis de atividade física destes sujeitos (YANG; SHIELDS; GUO; LIU, 2018).

Yanagisawa e colaboradores (2010), avaliaram o efeito do exercício físico moderado agudo em ciclo ergômetro (50% do VO₂ pico) em 20 participantes saudáveis. Em seus resultados, observou-se melhora no desempenho cognitivo por tempo de reação através do *Stroop test*. Esses achados, justificam-se por uma maior ativação de regiões laterais do CPF em resposta ao exercício físico avaliada por espectroscopia de infravermelho multicanal (YANAGISAWA; DAN; TSUZUKI; KATO *et al.*, 2010). Isso demonstra, que a inter-relação entre funcionalidade do CPF e exercício físico em humanos e animais nas condições de saúde e doença surgem como um campo altamente promissor (DONG; ZHAO; LIN; LIANG *et al.*, 2018; GHALANDARI-SHAMAMI; NOURIZADE; YOUSEFI; VAFAEI *et al.*, 2019; SILVEIRA; PRADO; BRIETZKE; COELHO-JÚNIOR *et al.*, 2019).

2.2.2 Aspectos Neurobiológicos do Hipocampo

O hipocampo é uma das estruturas cerebrais com maior número de investigações científicas disponíveis. Um dos estudos pioneiros foi realizado em 1957 onde foi observada a perda da capacidade de formar novas memórias declarativas após a remoção cirúrgica do hipocampo e estruturas próximas do lobo temporal visando tratamento da epilepsia (KNIERIM, 2015). Anatomicamente, o hipocampo localiza-se em regiões temporais ocupando as áreas de Brodmann 34, 35 e 36 em cérebros humanos em roedores localizam-se no lobo temporal, limita-se com a cisterna ambiens (STROTZER, 2009; ZILLES; AMUNTS, 2010).

Funcionalmente, o hipocampo desempenha um papel importante na formação e consolidação da memória, regulação das emoções, ansiedade e estresse (BANNERMAN; RAWLINS; MCHUGH; DEACON *et al.*, 2004; BARTSCH; WULFF, 2015). É imprescindível destacar que a criação e estabelecimento de “novas memórias” e o aprendizado são dependentes de múltiplos fatores incluindo a neurogênese que ocorre principalmente nas regiões 1, 2 e 3 do corno de amon e giro dentado (GD) (ANACKER; HEN, 2017; GONÇALVES; SCHAFFER; GAGE, 2016).

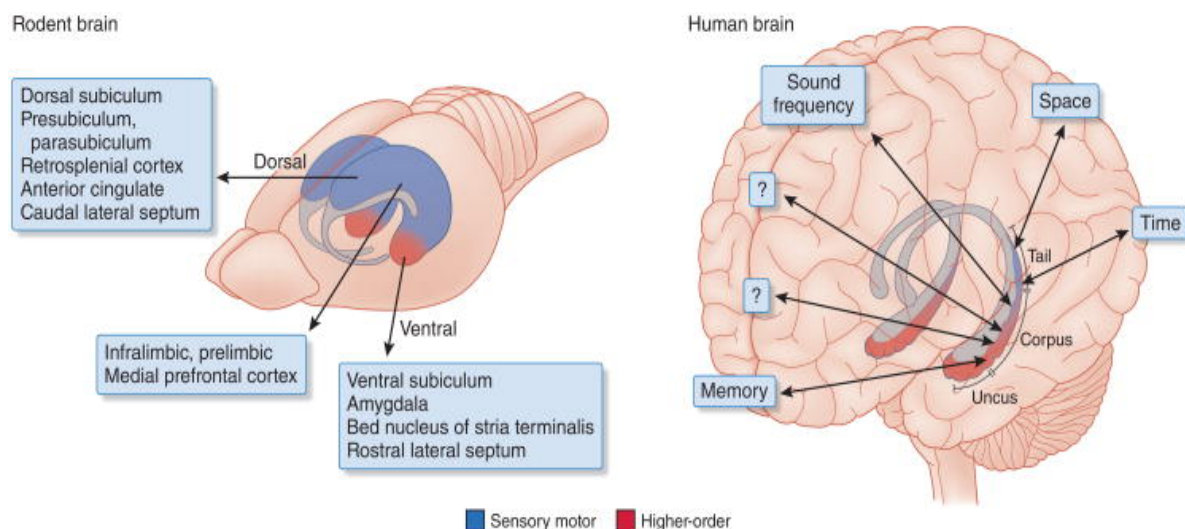


Figura 2 - Estrutura do hipocampo no cérebro de roedores e humano, bem como suas interações funcionais. Retirado de LISMAN, John et al. Viewpoints: how the hippocampus contributes to memory, navigation, and cognition. Nature neuroscience, v. 20, n. 11, p. 1434-1447, 2017.

Por outro lado, inúmeras condições patológicas incluindo Parkinson e Alzheimer estão atreladas a disfunções do hipocampo (DAS; HWANG; POSTON, 2019; ZOKAEI; HUSAIN, 2019). O Parkinson consiste em uma doença neurodegenerativa progressiva com perdas em neurônios dopaminérgicos, associado a prejuízos cognitivos e comportamentais. Estudos com diferentes abordagens metodológicas apontam que associações entre os sistemas dopaminérgicos, plasticidade sináptica e o hipocampo são fundamentais para o estabelecimento de sintomas motores e não motores em pacientes com Parkinson (CALABRESI; CASTRIOTO; DI FILIPPO; PICCONI, 2013).

A doença de Alzheimer é uma das formas mais comuns de demência que afeta cerca de 50 milhões de pessoas ao redor do mundo, acometendo principalmente idosos, e sendo responsável por incremento de morbidades e taxa de mortalidade (HODSON, 2018; OBOUDYAT; GLAZER; SEIFAN; GREER *et al.*, 2013). Esta condição possui uma sintomatologia característica que inclui (1) demência, (2) danos na capacidade de memória, (3) disfunções em funções executivas trazendo comprometimento nas atividades de vida diária (sentar, levantar, caminhar, manusear objetos etc.), incrementando a dependência (BALLARD; GAUTHIER; CORBETT; BRAYNE *et al.*, 2011; SCHELTENS; BLENNOW; BRETELER; DE STROOPER *et al.*, 2016; SORIA LOPEZ; GONZÁLEZ; LÉGER, 2019).

Estudos de neuroimagem utilizando ressonância magnética, demonstram que pacientes com Alzheimer possuem atrofia em regiões cerebrais incluindo os lobos mediais temporal e parietal e corno de amon 1 do hipocampo em estágios iniciais de pré-demência e com pequenos comprometimentos em capacidades cognitivas tais como a memória (DE FLORES; LA JOIE; CHÉTELAT, 2015; MOODLEY; CHAN, 2014). Além disso, Karthick e colaboradores utilizando um modelo de mimetização da doença de Alzheimer em ratos adultos também observou neurodegeneração por modulação da expressão gênica diferencial de receptores glutamatérgicos e colinérgicos no hipocampo após aplicação de placas β -amiloides insolúveis, refletindo mudanças no sistema de circuitos neurais subjacentes aos comprometimentos de aprendizagem e memória, estes achados em diferentes modelos de estudos apontam a necessidade de se investigar essas regiões visando encontrar biomarcadores e alvos terapêuticos, para melhorar a qualidade de vida destes pacientes (KARTHICK; NITHIYANANDAN; ESSA; GUILLEMIN *et al.*, 2019).

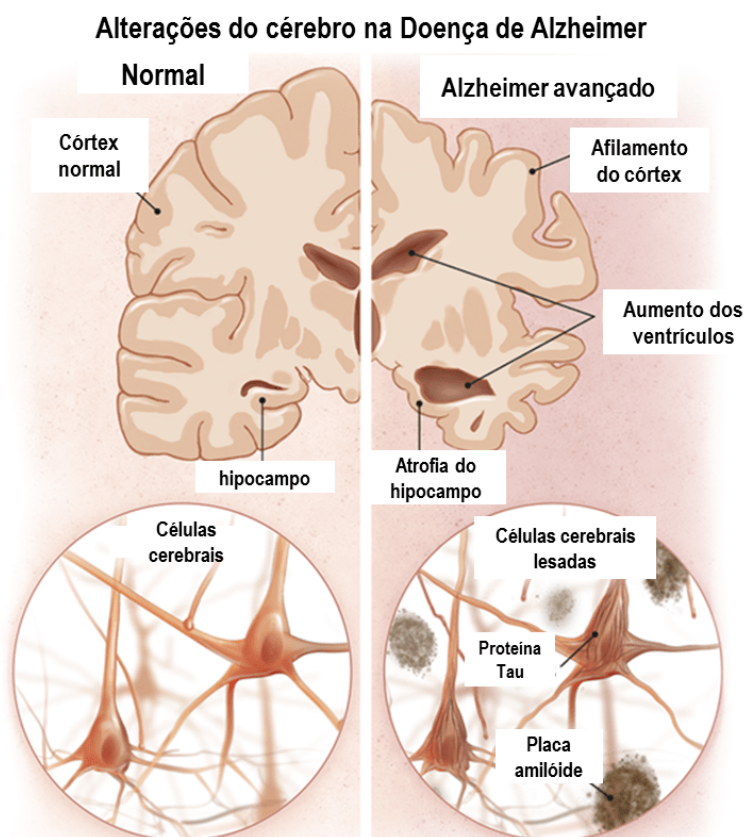


Figura 3 - Alterações no hipocampo decorrentes do Alzheimer. Retirado Hernández e colaboradores, 2010.

2.2.3 Estresse Oxidativo, Funcionalidade Mitocondrial e Desnutrição Proteica Materna

Dentro das alterações promovidas pela DPM, podemos destacar as que ocorrem no metabolismo energético (FERREIRA; LIU; FERNANDES; LAGRANHA, 2016). Dentre elas, o estresse oxidativo (EO), destaca-se atuando como um dos principais efeitos deletérios em decorrência de uma redução drástica na oferta de proteína da dieta (BELCHIOR; FREIRE-JÚNIOR; DA COSTA; VASSALLO, 2021). A descrição do EO, inicia-se pela observação e entendimento da teoria de EROS, que foi descrita por D.Harman e colaboradores em 1956, que aborda a produção fisiológica destes compostos, sendo responsáveis por diversas funcionalidades, sinalizações celulares e ativação/inativação de reações químicas em nosso organismo (HARMAN, 1956).

No entanto, apesar de possuírem esta relevância na homeostase corporal, se faz necessário estabelecer a manutenção do equilíbrio entre sua produção e remoção de nosso corpo, caso contrário são capazes de promover danos na morfofuncionalidade celular, incluindo ataques a macromoléculas constituintes da membrana plasmática e ou DNA

(DIONÍSIO; AMARAL; RODRIGUES, 2021), associando-se a síntese de doenças crônicas degenerativas (THIRUPATHI; PINHO; UGBOLUE; HE *et al.*, 2020).

Nas últimas décadas, estudos vem demonstrando que além de estar relacionada a disfunções no balanço de oxidorredução (REDOX), a DPM pode promover alterações em organelas citoplasmáticas incluindo o reticulo endoplasmático (VICTOR; SARADA; RAMKUMAR, 2021), e principalmente as mitocôndrias pelo seu papel fundamental em processos de respiração intracelular e produção de ATP (HENZE; MARTIN, 2003). Esta organela citoplasmática possui duas membranas (1) interna, e (2) externa, além de um espaço entre as membranas (PEREIRA; SOUZA; PAZIN; DORTA, 2012).

A produção de energia química na forma de ATP, ocorre a partir de dois processos principais mediados pela participação do oxigênio (O₂), o primeiro é o ciclo de Krebs, foi descoberta por Adolf Hans Krebs em 1938, e considerada um integrante da respiração intracelular. Esta é composta basicamente por dez reações químicas que ocorrem na matriz mitocondrial e possuem rotas anfibólicas (anabólicas e catabólicas), tendo com desfecho a síntese de Guanosina Tri Fosfato (GTP) além de aceptores de elétrons em sua forma reduzida sendo eles, o Flavina Adenina Dinucleotideo (FADH₂) e a Nicotinamida Adenina Dinucleotideo (NADH), que serão utilizados no direcionamento do fluxo eletrônico na cadeia transportadora de elétrons (CTE), que consiste em cinco complexos proteicos aderidos a membrana mitocondrial interna, tendo como desfecho a produção aproximadamente 36-38 moléculas de ATP (ALABDULADHEM; BORDONI, 2021; NELSON; COX, 2018).

Visto, a importância das mitocôndrias na manutenção da homeostase corporal, principalmente no âmbito energético, estudos tem observado a sua suscetibilidade em sofrer modificações morfofuncionais em resposta à variabilidade ambiental, dentre elas as diversas manifestações de desnutrição (VAN ZUTPHEN; CIAPAITE; BLOKS; ACKERELEY *et al.*, 2016). Ferreira e colaboradores, (2016) utilizaram um modelo de DPM em ratas *Wistar* alimentadas durante o período de gestação e lactação (8% de caseína) com diferentes padrões etários (100 e 150 dias), com objetivo observar os efeitos deste protocolo nutricional no tronco encefálico de filhotes machos em relação ao balanço oxidativos e indicadores de bioenergética mitocondrial, observaram como principais resultados, aumentos em indicadores de EO (Malonaldeído) e redução em componentes do sistema antioxidantes enzimáticos (Superóxido Dismutase-SOD, Catalase-CAT, Glutathione S Transferase-GST, entre outras) e não enzimático (Tiois totais, glutathione reduzida-GSH, entre outros). Adicionalmente, os autores observaram diminuição em indicadores de respiração mitocondrial e atividade dos complexos mitocôndrias I e II, além de uma superprodução de

EROS e ERNS (espécies reativas de nitrogênio) no tronco encefálico (FERREIRA, D. J. S.; PEDROZA, A. A.; BRAZ, G. R. F.; FERNANDES, M. P. *et al.*, 2019; FERREIRA; LIU; FERNANDES; LAGRANHA, 2016). Já no tecido cardíaco em animais de 100 dias, os autores observaram redução no consumo de oxigênio e controle respiratório, além de aumento do EO e redução das defesas antioxidantes. Por fim, os autores concluíram que a DPM promove alterações no balanço oxidativo e causa disfunções nas mitocôndrias (NASCIMENTO, L.; FREITAS, C. M.; SILVA-FILHO, R.; LEITE, A. C. R. *et al.*, 2014).

Para combater ao estabelecimento do EO, o nosso organismo dispõe de defesas antioxidantes que atuam de maneira fundamental, na prevenção e contenção da produção excessiva de EROS e ERNS. Estas podem ser divididas em duas classes principais (1) enzimática e (2) não enzimática. Dentre os componentes do sistema antioxidante enzimático estão SOD, CAT, GST, Glutathionas peroxidase (GPx), dentre outras que agem por mecanismos de prevenção, impedindo e/ou controlando a síntese excessiva de EROS envolvidos com as reações em cadeia que levam a propagação e amplificação dos danos oxidativos (ALKADI, 2020; VAN LENTE, 1993). Por exemplo, CAT e GPx atuam no propósito de conter a produção excessiva e acúmulo de H₂O₂, um dos principais promotores dos danos oxidativos, alterações na membrana plasmática e ácido desoxirribonucleico (DNA) (BARBOSA; COSTA; ALFENAS; DE PAULA *et al.*, 2010). Por outro lado, as defesas antioxidantes não enzimáticas são encontradas especialmente na alimentação por meio de vitaminas, minerais e compostos fenólicos, incluindo carotenos, vitamina E (tocoferol) e vitamina C (ácido ascórbico) (BAST; VAN DER PLAS; VAN DEN BERG; HAENEN, 1996; CHAKRABORTHY; RAMANI; SHERLIN; PREMKUMAR *et al.*, 2014; HALLIWELL; RAFTER; JENNER, 2005). Estes são capazes de ativar vias compostas por moléculas tais quais GSH, GSSG e Tióis totais que possuem atuação cooperativa na inibição da peroxidação de lipídios e na proteção contra danos oxidativos no DNA. No entanto, sua atuação pode variar de acordo com sua biodisponibilidade celular e no tecido em qual atua, podendo não ser capaz de inibir a propagação e aumento excessivo de EROS (THOMAS; POLAND; HONZATKO, 1995).

Neste sentido, investigações produzidos pelo nosso grupo de pesquisa e disponíveis na literatura científica demonstram que a DPM é capaz de promover redução na atividade destes sistemas antioxidantes em diversos tecidos corporais, podendo levar ao EO e disfunções metabólicas associadas (FERREIRA; DA SILVA PEDROZA; BRAZ; DA SILVA-FILHO *et al.*, 2016; FERREIRA, D. J. S.; PEDROZA, A. A.; BRAZ, G. R. F.; FERNANDES, M. P. *et al.*, 2019; NASCIMENTO, L.; FREITAS, C. M.; SILVA-FILHO, R.; LEITE, A. C. R. *et al.*,

2014; SILVA PEDROZA; BERNARDO; PEREIRA; ANDRADE SILVA *et al.*, 2021; SILVA, SEVERINA CÁSSIA ANDRADE; BRAZ, GLAUBER RUDÁ FEITOZA; DO NASCIMENTO, LUCIANA CAROLINE PAULINO; SANTANA, DAVID FILIPE *et al.*, 2019). No entanto, ainda existem lacunas do conhecimento a serem elucidadas visando conhecer o real comportamento destas vias sob condições de estresse nutricional, e quais estratégias devem ser aplicadas visando sua atenuação e/ou progressão a estados patológicos severos.

2.3 ESTRESSE DE RETÍCULO ENDOPLASMÁTICO

As células eucariontes possuem diversas organelas citoplasmáticas que contribuem para manutenção da homeostase corporal. Dentre elas encontra-se o retículo endoplasmático (RE) que está envolvido na regulação do metabolismo do cálcio, biossíntese de lipídeos e dobramento de proteínas (ALMANZA; CARLESSO; CHINTHA; CREEDICAN *et al.*, 2019; SCHWARZ; BLOWER, 2016). No entanto, a exposição celular ao estresse promovido por múltiplos fatores incluindo, EO, disfunção mitocondrial, processos inflamatórios, dentre outros, pode provocar a instalação do estresse de retículo endoplasmático (ERE) (DANDEKAR; MENDEZ; ZHANG, 2015; SENFT; RONAI, 2015; SPRENNKLE; SIMS; SÁNCHEZ; MEARES, 2017).

O acúmulo de proteínas mal, ou não dobradas, repercute no aumento da liberação da proteína regulada pela glicose 78 (GRP78), associada a outros fatores de sinalização celular aderidos à membrana do RE, incluindo Inositol que requer quinase 1 (IRE1), dupla proteína quinase ativada por Ácido Ribonucleico (RNA) semelhante ao retículo quinase endoplasmático (PERK) e fator de transcrição de ativação 6 (ATF6), resultando em na ativação do ERE (ESTÉBANEZ; DE PAZ; CUEVAS; GONZÁLEZ-GALLEGO, 2018; LI; LIU; CAI; LI *et al.*, 2018). A ativação da sinalização IRE1 produz regulação na tradução de proteínas ligadas ao ERE envolvidas no dobramento, maturação, transporte e degradação de proteínas podendo ativar diretamente JNK (c-Jun N-terminal quinase) e regular a apoptose (OAKES; PAPA, 2015; QI; CHEN, 2019). A PERK ativada fosforila o fator de iniciação eucariótica 2^o (eIF2^o) para diminuir a tradução de RNA mensageiro e a carga de proteína no RE, enquanto a tradução de ATF4 é ativada pelo eixo PERK-eIF2 α , que por sua vez inicia as transcrições de fatores apoptóticos, incluindo a proteína homóloga C (CHOP), que pode ser regulada positivamente na via ATF6 (QI; CHEN, 2019).

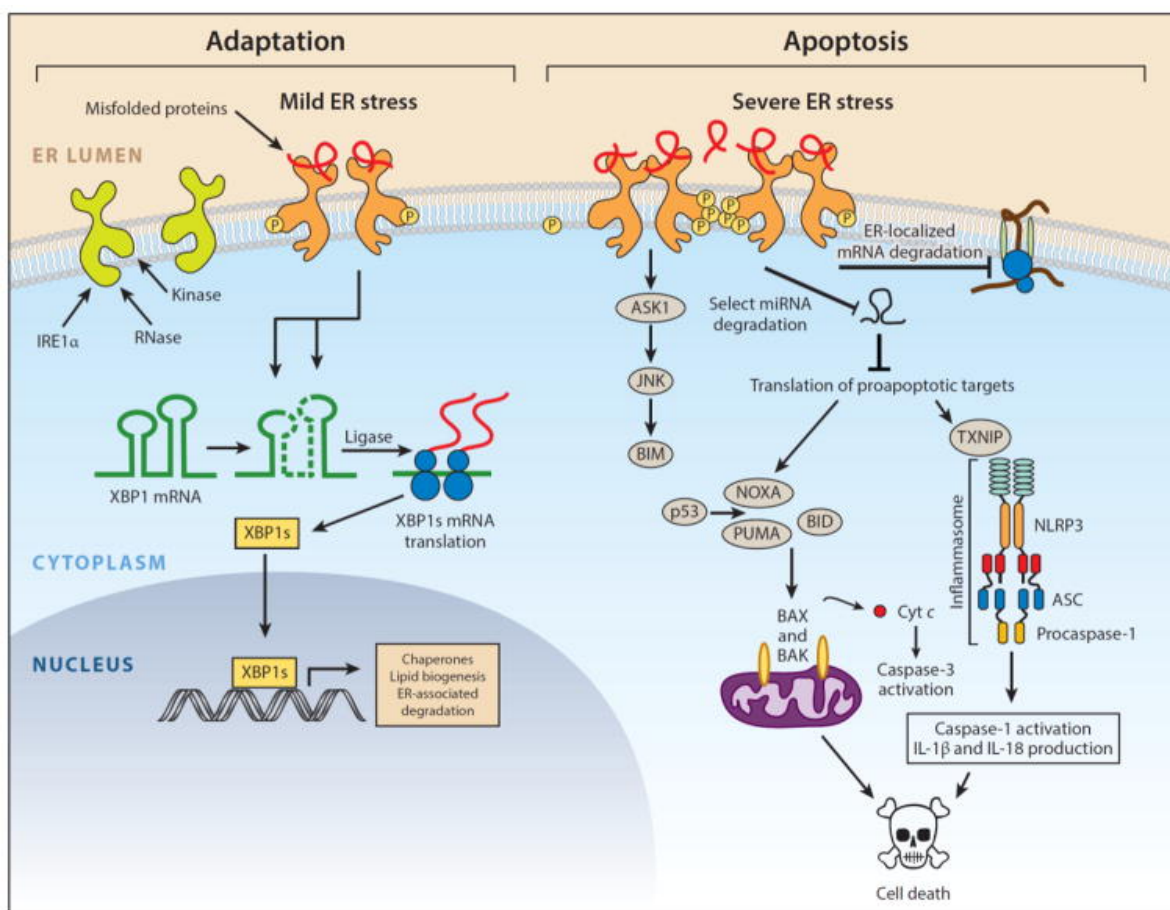


Figura 4 - Mecanismo molecular de promoção do Estresse de Reticulo Endoplasmático. Retirado de RASHID, Harun-Or et al. ER stress: Autophagy induction, inhibition, and selection. *Autophagy*, v. 11, n. 11, p. 1956-1977, 2015.

A literatura científica vem demonstrando a participação efetiva do ERE em diversos fenótipo fisiopatológico, tais como o diabetes mellitus tipo 2, obesidade, doenças cardiovasculares, depressão e outras condições neurodegenerativas (BACK; KAUFMAN, 2012; LI; JIANG; LU; HU *et al.*, 2018; MAO; HU; RUAN; JI *et al.*, 2019; XIANG; WANG; ZHANG; HAN, 2017; YILMAZ, 2017). Kong e colaboradores (2018) utilizando modelo farmacológico para indução de diabetes mellitus tipo 2 em camundongos, detectaram alterações substanciais na funcionalidade cognitiva e morte neuronal na região do córtex cerebral e hipocampo. Os autores sugerem que estes resultados ocorreram devido a maiores níveis das proteínas relacionados à vias de sinalização do ERE tais como: Proteína Regulada por Glicose 78 (GRP78), Inositol que requer quinase 1 (IRE-1) e apoptose celular, quando comparados ao grupo controle não diabético (KONG; MA; GUO; XU *et al.*, 2018). Em outro trabalho, Wu e colaboradores (2016) utilizando um modelo de lesão na coluna vertebral em camundongos C57BL/6J, visualizaram que o estabelecimento destas lesões e da imobilidade

foram capazes de promover aumento na ativação da micróglia associando-se com maior neuroinflamação. Além disso, aos autores também observaram um aumento na atividade celular de GRP78, isso demonstra uma capacidade acentuada de ERE em modelos com danos no córtex cerebral, tálamo e hipocampo. Em seguida, como principais desfechos deste estudo, os autores encontraram prejuízos causados pela lesão na coluna vertebral em associação com esses processos em indicadores de neurogênese, função cognitiva e comportamento semelhante a depressão nestes roedores (WU; ZHAO; KUMAR; LIPINSKI *et al.*, 2016). Portanto, estes dados sugerem que a investigação de diferentes mecanismos ligados ao ERE e suas repercussões em áreas cerebrais distintas e em estados de saúde e doença devem ser intensificados visando melhor elucidação de mecanismos indutores de neuropatias, e possíveis agentes terapêuticos para minimizar os efeitos deletérios da ativação das vias de ERE.

2.3.1 Estresse de Retículo Endoplasmático e Desnutrição

Os impactos deletérios da desnutrição são sistêmicos, ou seja, afetam todos os órgãos de nosso organismo, principalmente quando ocorre em períodos críticos para o desenvolvimento (DE BANDT, 2015; MÜLLER; KRAWINKEL, 2005). Os efeitos no metabolismo energético destacam-se como causador de distúrbios psicofisiológicos e o estabelecimento de doenças crônicas na fase adulta (DOS REIS ARAUJO; LUBACZEUSKI; CARNEIRO, 2022). Vale ressaltar que a gênese destas condições é multifatorial, sendo explicada por vários processos moleculares e celulares, incluindo o ERE (OAKES, 2020; QI; CHEN, 2019).

No entanto, em condições ambientes e clínicas desfavoráveis o dobramento destas proteínas é prejudicado levando a ativação de uma cascata complexa de sinalização celular levando a ativação de fatores transcricionais incluindo ATF6, PERK e IRE-1 que por sua vez regulam os níveis de tradução e podem encaminhar essas proteínas não ou mal dobradas para rotas de apoptose celular (QI; CHEN, 2019). A literatura científica, demonstra o papel do ERE como componente da fisiopatologia de diversas doenças crônicas incluindo cardiovasculares, obesidade e certos tipos de câncer, entretanto sua atuação mediada por condições ambientais prejudiciais tais com a desnutrição em diferentes tecidos corporais ainda não está clara (OAKES, 2017). Em um estudo recente, Fernandes e colaboradores, 2022 avaliaram os impactos de 4 semanas de exposição a desnutrição proteica materna (durante os períodos de gestação e lactação) no hipocampo de ratos Wistar nos níveis de

expressão gênica de ATF6, GRP78 e PERK. Os resultados demonstraram um aumento na expressão de ATF6 e PERK. Os autores sugerem que a associação entre a DPM e o aumento transcricional possa influenciar na degeneração neuronal nesta área cerebral fundamental para o estabelecimento e controle da memória e emocional, culminando em quadros patológicos incluindo o Alzheimer (FERNANDES; PEDROZA; DE ANDRADE SILVA; DE LEMOS *et al.*, 2022).

Adicionalmente, outras evidências demonstram a ligação entre desnutrição e ERE com outras desregulações metabólicas incluindo os processos inflamatórios e EO, que merecem maiores níveis de investigação visando o entendimento dos diferentes mecanismos moleculares regulados pela desnutrição e suas repercussões em estados fisiológicos e patológicos (BAÑULS; DE MARAÑÓN; CASTRO-VEGA; LÓPEZ-DOMÉNECH *et al.*, 2019; DE LUCA; HANKARD; BORYS; SINNETT *et al.*, 2017; GREY; GONZALES; ABERA; LELIJVELD *et al.*, 2021). Por fim, deve-se incentivar o estabelecimento de políticas públicas que tenha cada vez mais por objetivo extinguir os casos desnutrição e a fome no mundo evitando efeitos devastadores na saúde levando ao aumento na mortalidade precoce (VAN DEN BROECK, 1995).

2.4 TREINAMENTO FÍSICO AERÓBIO E CÉREBRO

Conceitualmente, o TFA pode ser definido como uma forma de exercitação que se utiliza predominantemente do oxigênio para oxidar substratos orgânicos (carboidratos e lipídeos, principalmente) visando a obtenção de altas quantidades de energia na forma de ATP. Além disso, esta modalidade caracteriza-se pela execução de padrões de intensidade leves à moderados com extensão da duração do esforço físico (CAPUTO; OLIVEIRA; GRECO; DENADAI, 2009). Podemos compreender o TFA, através de diferentes áreas do conhecimento incluindo a bioquímica, fisiologia e biomecânica. Dentre elas a bioquímica do exercício aparece destacadamente neste processo (WILMORE; KNUTTGEN, 2003).

As principais reações químicas ligadas ao funcionamento do sistema aeróbio estão, o ciclo de Krebs e CTE, que fornecem um saldo energético aproximado de 36-38 moléculas de ATP. Entretanto a maior quantidade de energia produzida é oriunda da beta-oxidação mitocondrial, que se utiliza do transporte de ácidos graxos através de proteínas transportadoras denominadas carnitina palmitoil transferase (CPT) produzindo um saldo energético aproximado de 129 moléculas de ATP, que auxiliam na produção de modificações

em componentes periféricos e centrais do nosso organismo (CURI; LAGRANHA; G JR; PITHON-CURI *et al.*, 2003; SCHULZ, 1991).

Estas encontram-se na musculatura estriada esquelética que por sua vez, sofre modificações funcionais em decorrência da utilização constante do metabolismo aeróbio para fornecimento de energia durante o esforço físico de longa duração e padrão de intensidade leve à moderado (GUIMARÃES; DE ANDRADE ADELL; DE FELÍCIO, 2010; MINAMOTO, 2005). Incluindo, alterações destaca-se o aumento no número de fibras tipo I, ou vermelhas, ou de contração lenta, incremento de mioglobina e número de mitocôndrias (BOUVIERE; FORTUNATO; DUPUY; WERNECK-DE-CASTRO *et al.*, 2021; GUIMARÃES; DE ANDRADE ADELL; DE FELÍCIO, 2010). Além disso, este processo de condicionamento físico aeróbio tem por finalidade o aumento na aptidão cardiorrespiratória, que possui como principal indicador o volume de oxigênio máximo ($VO_2Máx$), que conceitualmente refere-se à quantidade de oxigênio que o organismo consegue absorver e utilizar durante a realização de esforços físicos incluindo atividade e exercício físico. A literatura científica demonstra que a redução nos níveis de $VO_2máx$ associa-se com o surgimento de patologias metabólicas incluindo obesidade e neurodegenerativas (CHOI; CHANDRASEKARAN; DEMAREST; KRISTIAN *et al.*, 2014; RAISTENSKIS; SIDLAUSKIENE; STRUKCINSKIENE; UĞUR BAYSAL *et al.*, 2016). Deste modo, entender as repercussões do TFA no microambiente cerebral é fundamental para manutenção de sua homeostase, além de poder utilizá-lo como ferramenta não farmacológica no combate ao estabelecimento de diferentes condições patológicas ligadas ao cérebro.

O cérebro é um dos principais órgãos de nosso organismo, atuando com regulações centrais e periféricas de inúmeras funções incluindo contração muscular, ritmo cardiorrespiratório, secreção de hormônios, neurotransmissão e dentre outras (ANOKHIN, 2017; RAICHLE, 2010). Além disso, destaca-se pelo planejamento, execução e controle de funções cognitivas incluindo memória, controle inibitório, aprendizado, linguagem e armazenamento de informações (NAKAJIMA; SCHMITT, 2020; VAN DE GEER; JASPARS, 1966). O funcionamento cerebral adequado garante protetividade contra o estabelecimento de doenças neuropsiquiátricas, incluindo transtornos e doenças tais como ansiedade, depressão, Parkinson e Alzheimer (BEITZ, 2014). Além disso, a mediação deste funcionamento depende da estimulação e atuação de vários mecanismos neurais, incluindo neurogênese, transmissão sináptica, produção de fatores neurotrófico e angiogênese. Neste sentido, evidências demonstram que ferramentas ligadas ao estilo de vida incluindo o TFA

são capazes de modular positivamente estes mecanismos e devem ser profundamente investigados. Zeev e colaboradores, 2022 apontam que o TFA é capaz de promover neurogênese através da ativação de vias de sinalização molecular e celular ligado a produção de fatores neurotrófico incluindo BDNF, em condições de saúde e clínicas desfavoráveis como por exemplo Alzheimer e disfunções cognitivas (BEN-ZEEV; SHOENFELD; HOFFMAN, 2022). A produção de novos neurônios em resposta ao TFA ocorre devido a sinalizações e estímulos em células neuro-progenitoras localizadas em áreas ou regiões cerebrais incluindo o hipocampo, podendo deste modo atenuar desfechos adversos (DE SOUSA FERNANDES; ORDÔNIO; SANTOS; SANTOS *et al.*, 2020).

Além disso, a formação destas novas células possibilita o incremento na conectividade sináptica e tráfego de substâncias ou mediadores químicos que atuam de modo adjuvante na promoção e desenvolvimento da plasticidade cerebral (BEKINSCHTEIN; CAMMAROTA; MEDINA, 2014; MARTIN; GRIMWOOD; MORRIS, 2000; NEVES; COOKE; BLISS, 2008; VON BOHLEN UND HALBACH; VON BOHLEN UND HALBACH, 2018). Mu e colaboradores, 2022 aplicaram 12 semanas de TFA em esteira no modelo de Alzheimer em camundongos, que foram capazes de promover aumento no número de sinapses, parâmetros estruturais sinápticos, aumento na expressão de sinaptofisina (marcador de atividade pré-sináptico) e complexidade dendrítica no córtex pré-frontal e hipocampo. O fortalecimento de plasticidade sináptica pode representar uma explicação fundamental para os benefícios cognitivos e comportamentais (MU; CAI; GU; YU *et al.*, 2022).

Por fim, evidências consistentes semelhantemente observam que o TFA é capaz de atuar efetivamente na produção de vasos sanguíneos cerebrais que favorecem o incremento no tráfego de nutrientes e oxigênio, repercutindo em maiores níveis na plasticidade cerebrais e desfechos positivos na atividade e função cerebral. Morland e colaboradores, 2017 utilizando camundongos selvagens aplicaram com frequência de 5 vezes por semana durante 7 semanas, como resultados observou-se o aumento na expressão de lactato sanguíneo culminando em maiores níveis do fator de crescimento endotelial e densidade capilar, sendo fundamentais para prevenção e reabilitação de desfechos catastróficos incluindo acidente vascular encefálico e doenças crônicas causadas em parte pela diminuição da motricidade regular (MORLAND; ANDERSSON; HAUGEN Ø; HADZIC *et al.*, 2017).

Além destas evidências, o cenário de crescimento alarmante da inatividade física com estabelecimento do comportamento sedentário é considerado como um problema de saúde pública pela Organização Mundial da Saúde (OMS). Sendo responsável em grande

parte pelo surgimento de doenças cardiovasculares, obesidade, diabetes mellitus tipo 2 e certos tipos de câncer levando ao aumento da mortalidade (BELLETTIERE; HEALY; LAMONTE; KERR *et al.*, 2019; BIDDLE; GARCÍA BENGOCHEA; PEDISIC; BENNIE *et al.*, 2017; DESPRÉS, 2016; GILCHRIST; HOWARD; AKINYEMIJU; JUDD *et al.*, 2020). Desta forma, o *American College Sports Medicine (ACSM)* recomenda que se realize 300 minutos de atividades aeróbias em intensidade moderada (60-80% do VO₂ Máx), ou 150 minutos em intensidade vigorosa, incluindo o TFA (80-95% do VO₂ Máx) (PESCATELLO; RIEBE; THOMPSON, 2014), visando desenvolver uma melhor condição de saúde psicofisiológica.

2.4.1 Treinamento Físico Aeróbio, Estresse Oxidativo e de Reticulo Endoplasmático

O controle da homeostase energética é fundamental para manutenção do funcionamento celular. Entretanto, distúrbios energéticos podem ocorrer em resposta a desregulações ambientais e genéticos, levando ao estabelecimento de doenças crônicas incluindo cardiovasculares, metabólicas e diversos tipos de câncer. Dentre elas destacam-se as duas formas de estresse celular: EO e ERE (SENFTE; RONAI, 2015). O EO é um processo complexo que se caracteriza basicamente por desbalanço entre a produção excessiva de espécies reativas principalmente de oxigênio e nitrogênio associado a redução de defesas antioxidantes, culminando em danos severos na morfofuncionalidade da célula. Esse processo, relaciona-se com outras condições incluindo a disfunção mitocondrial, desregulação do metabolismo de cálcio e proteínas (BHATTI; BHATTI; REDDY, 2017; KUDRYAVTSEVA; KRASNOV; DMITRIEV; ALEKSEEV *et al.*, 2016; LIN; BEAL, 2006).

Sabe-se que EO também influencia no surgimento do ERE que se caracteriza por anormalidades no processo de dobramento das proteínas mediada pela ativação de fatores de sinalização celulares descritos anteriormente na presente tese. A literatura científica demonstra que a associação destes fatores implica na amplificação do estresse celular levando a produção de efeitos deletérios tais como taxas elevadas de apoptose levando ao estado de disfunção orgânica e condições patológicas incluindo diabetes mellitus e doenças neurodegenerativas (ASHRAF; SHEIKH, 2015; NAKKA; PRAKASH-BABU; VEMUGANTI, 2016). Na tentativa de atenuação destas condições, preconiza-se a utilização de estratégias ligadas ao estilo de vida incluindo a prática do TFA (DANDEKAR; MENDEZ; ZHANG, 2015).

A atuação desta modalidade de treinamento físico é amplamente conhecida por seus efeitos benéficos na regulação do EO em condições de saúde e doença. Park e colaboradores, 2022 utilizando exercício físico aeróbico moderado (55% do VO₂ máximo) durante 4 semanas com frequência de 3 vezes por semana em mulheres com obesidade. Nos resultados aumento o status antioxidante total, além da redução do fator de necrose tumoral alfa relacionado ao processo inflamatório (PARK; NICKERSON, 2022). Em condições nutricionais adversas, incluindo a desnutrição proteica materna que aumenta a produção de EO de acordo com diversas evidências em tecidos incluindo tecido cardíaco e nervoso, Pedroza e colaboradores 2021, identificou redução nos níveis de indicadores de EO com consequente aumento das defesas antioxidantes no tecido cardíaco após 4 semanas de TFA em ratos Wistar desnutridos (SILVA PEDROZA; BERNARDO; PEREIRA; ANDRADE SILVA *et al.*, 2021).

Fernandes e colaboradores, 2022 também observaram no hipocampo efeitos semelhantes utilizando o mesmo modelo de DPM e TFA, isso aponta para reprodutibilidade do modelo e validade dos resultados obtidos. Quando tratamos do ERE, os resultados do TFA também demonstram-se efetivos (SILVA PEDROZA; BERNARDO; PEREIRA; ANDRADE SILVA *et al.*, 2021). Cheng e colaboradores, 2022 demonstram que o TFA em modelo aquático durante 8 semanas demonstrou eficácia na regulação de diferentes marcadores do ERE incluindo ATF6, CHOP, GRP78 e PERK que atuam no controle traducional, bem como ativação e translação de fatores apoptose (CHENG; DUN; CHENG; RIPLEY-GONZALEZ *et al.*, 2022). Em um estudo, pioneiro Fernandes e colaboradores observaram no hipocampo alterações similares promovidas pelo TFA em esteira durante 4 semanas com frequência de 5 dias por semana e duração da sessão de 60 minutos em ratos Wistar expostos a DPM. Os autores sugerem que o controle destes dois processos (EO e ERE) é essencial para manutenção da estabilidade fisiológica prevenindo o estabelecimento de distúrbios energéticos severos, se mostrando uma ferramenta potencial para elaboração de estudos futuros em diferentes condições experimentais e clínicas, trazendo benefícios a saúde (CHENG; DUN; CHENG; RIPLEY-GONZALEZ *et al.*, 2022; FERNANDES; PEDROZA; DE ANDRADE SILVA; DE LEMOS *et al.*, 2022).

3 HIPÓTESE

No presente estudo, trabalhamos a hipótese de que o treinamento físico aeróbio em intensidade moderada na idade juvenil restaurará a função mitocondrial, reduz o estresse oxidativo e de retículo endoplasmático, e a ativação neural no córtex pré-frontal e hipocampo de ratos *Wistar* machos desnutridos durante o período de gestação e lactação.

4 OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o efeito do treinamento físico aeróbio em intensidade moderada sobre parâmetros da função mitocondrial, balanço oxidativo, estresse de retículo endoplasmático e ativação neural no córtex pré-frontal e hipocampo de ratos *Wistar* machos submetidos à desnutrição proteica materna.

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Avaliou-se e será avaliado aos 60 dias de vida:

- Indicadores da função mitocondrial (atividade de citrato sintase e níveis de NAD^+ e NADH no músculo esquelético, córtex pré-frontal e hipocampo),
- Indicadores de Estresse Oxidativo (Malonaldeído: peroxidação lipídica e Carbonilas: oxidação de proteínas);
- Atividade Enzimática Antioxidante: Superóxido dismutase (SOD), Catalase (CAT), Glutathione S Transferase (GST),
- Atividade Não Enzimática Antioxidante: Níveis de Glutathione reduzida (GSH), Glutathione oxidada (GSSG), estado REDOX e Tióis totais;
- Expressão de genes ligados ao estresse de retículo endoplasmático (*PERK*, *ATF6* e *GRP78*) no córtex pré-frontal e hipocampo de ratos *Wistar* machos desnutridos no período perinatal.
- Expressão gênica do fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF)

5 MATERIAIS E MÉTODOS

5.1 AMOSTRA E INDUÇÃO DA DESNUTRIÇÃO

Foram utilizados ratos machos da linhagem *Wistar* oriundos da colônia do Departamento de Fisiologia da Universidade Federal de Pernambuco. Os animais foram mantidos em biotério de experimentação com temperatura de 22 ± 2 °C, ciclo claro-escuro de 12/12 horas no Centro Acadêmico de Vitoria-UFPE. Após o período de adaptação, as ratas quando em período estral, foram colocadas para acasalar na proporção duas fêmeas para um macho (SILVA PEDROZA; BERNARDO; PEREIRA; ANDRADE SILVA *et al.*, 2021).

Desse modo, foram utilizadas oito progenitoras (com ninhada de oito filhotes cada), sendo que, de cada progenitora utilizou-se dois filhotes para cada análise experimental. As progenitoras foram divididas em dois grupos de acordo com a dieta fornecida: controle (C, caseína a 17%) e desnutridas (D, caseína a 8%) (Tabela 1). Na lactação, as progenitoras receberam dieta experimental conforme o seu respectivo grupo e após o desmame (21 dias de idade), todos os filhotes alimentaram-se de dieta normo-proteica (Caseína 17%) para suprir todas as necessidades nutricionais durante a fase de crescimento.

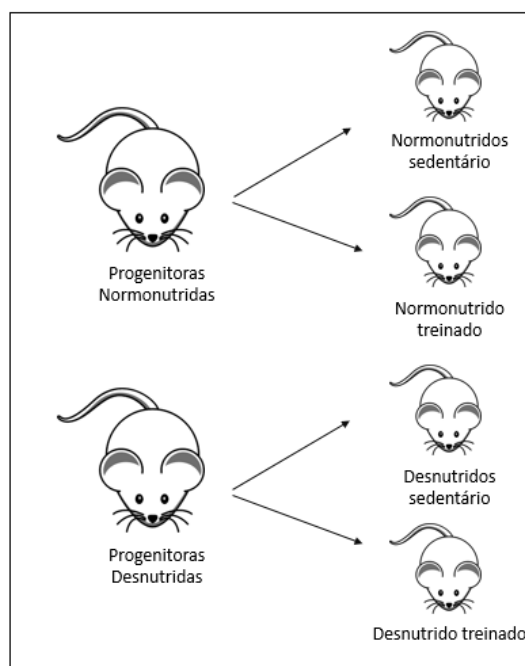


Figura 5 - Modelo experimental utilizado durante o estudo

Tabela 1 - Composição dietética ofertada aos animais *Wistar* (Normo e Desnutridos).

Ingredientes	Quantidade*
--------------	-------------

	(8 % de Caseína)	(17% de Caseína)
Caseína	88,0 g	194,0 g
Mix Vitamínico	10,0 g	10,0 g
Mix Mineral	35,0 g	35,0 g
Celulose	50,0 g	50,0 g
Bi tartarato de Colina	2,5 g	2,5 g
DL-Metionina	3,0 g	3,0 g
Óleo de Soja	76,0 ml	76,0 ml
Amido de Milho	503,486 g	397,486 g
Amido Dextrinizado	132,0 g	132,0 g

*Quantidade para 1 kg de dieta. Descrito por Reeves, (REEVES; NIELSEN; FAHEY, 1993)

5.2 GRUPOS EXPERIMENTAIS

Aos 30 dias de vida, os grupos normonutridos (N) e desnutridos (D) foram subdivididos em sedentários (NS e DS) e treinados (NT e DT).

5.3 ASPECTOS ÉTICOS

A utilização do modelo animal foi aprovada pelo Comitê de ética no uso de animais da Universidade Federal de Pernambuco (CEUA-UFPE), com número de processo 0060/2018. A manipulação e o cuidado com os animais seguiram as recomendações do *National Institutes of Health (NIH)*.

5.4 PROTOCOLO DE TREINAMENTO FÍSICO E TESTE DE ESFORÇO FÍSICO

O protocolo de treinamento físico aeróbio foi realizado em intensidade moderada, utilizando-se de esteira ergométrica Inbramed modelo KT 10200 adaptada para ratos, de acordo com o protocolo experimental previamente publicado (BRAZ; FERREIRA; PEDROZA; DA SILVA *et al.*, 2015; SILVA PEDROZA; BERNARDO; PEREIRA; ANDRADE SILVA *et al.*, 2021), que consistiu em quatro semanas de treinamento aeróbio com frequência de 5 dias.sem⁻¹, duração de 60 min.dia⁻¹ a 50% da velocidade máxima em teste aeróbio (VO_{2máx}). Um teste de esforço incremental máximo foi realizado no 6º dia de cada uma das quatro semanas de treinamento, com finalidade de estabelecer e certificar-se sobre a manutenção do padrão de velocidade e intensidade moderada a 50% da VO_{2máx} conforme protocolo publicado anteriormente. Os grupos NS e DS permaneceram nas gaiolas, no mesmo ambiente dos animais treinados.

5.5 PROCESSO DE EUTANÁSIA E REMOÇÃO DO CÓRTEX PRÉ-FRONTAL E HIPOCAMPO

Os animais foram decapitados com a utilização da guilhotina e foram removidos o córtex pré-frontal, hipocampo e músculos esqueléticos sóleo e extensor longo dos dedos rapidamente. Os tecidos foram armazenados em freezer -20 °C apenas para posteriores análises.

5.6 PROCESSAMENTO DO MATERIAL BIOLÓGICO PARA ANÁLISE DE BIOMARCADORES DE ESTRESSE OXIDATIVO

Para as análises bioquímicas, os tecidos foram homogeneizados em tampão de extração (Tris base 100 mM, pH 7,5; EDTA 10 mM; NP 40 (0,1%), com coquetel de inibidores de protease). Para quantificação proteica e demais análises as amostras foram centrifugadas a 4°C, por 5 min e somente o sobrenadante foi utilizado (BRAZ; PEDROZA; NOGUEIRA; DE VASCONCELOS BARROS *et al.*, 2016; DA SILVA PEDROZA; LOPES; MENDES DA SILVA; BRAZ *et al.*, 2015).

5.7 DOSAGEM DE PROTEÍNA

A concentração de proteína da suspensão de cada tecido foi determinada pelo método de Bradford (BRADFORD, 1976; HE, 2011), em comprimento de onda de 595 nm. A absorbância foi considerada diretamente proporcional à concentração de proteína de solução de albumina de soro bovino 1% utilizada como padrão.

5.8 CINÉTICA DA OXIDAÇÃO DE NUCLEOTÍDEOS DE PIRIDINA (NAD⁺ / NADH)

Alterações na oxidação e redução de nucleotídeos de piridina na suspensão no homogenato (1 mg/ml) foi avaliada em um espectrofotômetro durante 1 minuto (Biochrom Libra S12 UV-Visible, Estados Unidos) usando comprimento de excitação e emissão de 340 e 370 nm respectivamente. A extensão da oxidação dos nucleotídeos de piridina foi calculada em função do decaimento da fluorescência, com controle de temperatura e agitação. A calibração interna foi realizada pela adição de quantidades conhecidas de NADH (LEHNINGER; VERCESI; BABABUNMI, 1978).

5.9 QUANTIFICAÇÃO DA ATIVIDADE DA ENZIMA CITRATO SINTASE

A citrato sintase é a primeira enzima no ciclo de Krebs e catalisa a condensação de acetil-CoA com oxaloacetato para formar citrato (WIEGAND; REMINGTON, 1986). Sua avaliação é utilizada como um indicador de função mitocondrial e também de treinabilidade. Dessa forma, foi avaliada a atividade enzimática nos músculo esqueléticos sóleo e extensor longo dos dedos, córtex pré-frontal e hipocampo de todos os grupos experimentais (LE

PAGE; NOIREZ; COURTY; RIOU *et al.*, 2009). Tal procedimento consiste em uma reação contendo (em mmol /L) 100 de Tris-HCL, 1 de MgCl₂, 1 EDTA, 0,2 5,5-ditiobis (ácido 2-nitrobenzóico), 3 acetil-CoA redutase, 5 oxaloacetato e 0,3 mg /mL de homogeneizado. A atividade da citrato sintase foi avaliado durante 3 min no comprimento de onda de 420nm, e os resultados expressos em U/mg proteína (ALP; NEWSHOLME; ZAMMIT, 1976).

5.10 BIOMARCADORES DE ESTRESSE OXIDATIVO

5.10.1 Medida da substância reativa ao ácido tiobarbitúrico (TBARS)

Para dosagem de malonaldeído (MDA) foi utilizada a técnica colorimétrica de Buege e Aust (1978), com finalidade de avaliar a peroxidação lipídica. Para isso, uma alíquota do homogenato de córtex pré-frontal e hipocampo foram associadas ao ácido tricloroacético (TCA) a 30% e Tris-HCL (3mM, pH 7,4) após este momento foi realizada uma centrifugação a 3.000 rotações por minuto (RPM) em 10 minutos e adição de ácido tiobarbitúrico a 0,73%, reagindo com os produtos da peroxidação lipídica e formando um composto de coloração rosada. Em seguida, o composto foi incubado por quinze minutos a 100^o C. Após este processo, foi utilizada uma cubeta de quartzo para leitura da absorbância a 535 nm. Os resultados foram expressos em milimoles por miligrama (mg) de proteína (BUEGE; AUST, 1978).

5.10.2 Oxidação proteica

Para avaliação do nível de oxidação de proteínas foi realizada a análise de carbonilas descritas por Reznick e Packer (1994). Ao homogenato, mantido em gelo, foi adicionado TCA 30% e levado à centrifuga por 14 minutos a 1.180g. Após centrifugação o sobrenadante foi descartado e o pellet ressuspendido em 10mM de 2,4 dinitrofenilhidrazina (DNPH) e incubado em sala escura a temperatura ambiente por uma hora com agitações programadas a cada 15 minutos. Após período de incubação, as amostras foram lavadas em tampão etil/acetato e centrifugadas três vezes e o pellet ressuspendido em 6M de hidrócloro de guanidina, incubado por 30 minutos a 37°C e a absorbância verificada a 370nm. Os resultados foram expressos em mM/mg de proteína (REZNICK; PACKER, 1994).

5.11 ATIVIDADE ENZIMÁTICA ANTIOXIDANTE

5.11.1 Superóxido dismutase (SOD)

A atividade da superóxido dismutase foi avaliada através do método da oxidação da adrenalina, o qual compete com a SOD podendo ser medido em espectrofotômetro a 480nm.

Em uma cubeta de quartzo de 1mL, foi adicionado tampão carbonato 0,1M (pH10,2), EDTA 0,1mM, amostra e adrenalina 150mM. A diminuição na absorbância foi seguida por 90 segundos a 30°C no comprimento de onda de 480nm e os resultados expressos em U/mg proteína (MISRA; FRIDOVICH, 1972).

5.11.2 Catalase (CAT)

A atividade da catalase (CAT) foi avaliada através da decomposição do peróxido de hidrogênio (H_2O_2), verificada por uma absorbância de 240 nm numa temperatura de 20°C. Em um meio de reação, contendo tampão fosfato 50mM (pH 7,0) amostra e H_2O_2 0,3mM. A absorbância foi analisada durante 3 minutos e os resultados expressos em U/mg (AEBI, 1984).

5.11.3 Glutathione S transferase (GST)

Foi realizada a atividade da Glutathione-S-Transferase (GST) descrita por Habig (1974). O procedimento constituiu da adição de tampão fosfato de potássio 0,1M (pH 6,5); EDTA 1mM; GSH 1mM; amostra e 1-cloro-2,4-dinitrobenzeno (CDNB) 1mM. A atividade enzimática foi avaliada a partir da formação de 2,4-dinitrofenil-s-glutathione (DNP-SG) por minuto a 30°C, sendo monitorada via espectrofotômetro com comprimento de onda igual a 340nm. A atividade da GST foi expressa em U/mg proteína (HABIG; PUBST, 1974).

5.12 ATIVIDADE NÃO ENZIMÁTICA ANTIOXIDANTE

5.12.1 Glutathione Reduzida (GSH), Oxidada (GSSG) e Estado REDOX (GSH/GSSG)

O meio para realização do ensaio foi composto por tampão fosfato 0,1M (pH 8,0) contendo EDTA 5mM e amostra, o qual foi incubado com O-Phthaldialdehyde (OPT) 1mg/mL em temperatura ambiente por 15 minutos. Depois da incubação, sua fluorescência foi analisada em um comprimento de excitação e emissão de 350nm e 420nm, respectivamente. Para análise dos níveis de GSSG, as amostras foram incubadas com N-ethylmaleimida (NEM) 0,04M por 30 minutos a temperatura ambiente seguido pela adição do tampão NaOH 0.1M ao meio. Em seguida, as amostras foram incubadas com o-Phthaldialdeído (OPT) 1mg/mL em temperatura ambiente por 15 minutos e tiveram sua fluorescência comparada a uma curva de concentrações conhecidas de GSSG. O estado redox foi determinado pela razão GSH/GSSG com previamente descrito (HISSIN; HILF, 1976).

5.12.2 Sulfidrilas (Tióis totais)

O conteúdo total de tióis ligado à proteína foi descrito por Aksenov e Markesbery (2001) (AKSENOV; MARKESBERY, 2001). A redução de 5,5-ditiobis (ácido 2-nitrobenzóico) pelos grupos tiol foi medida em homogenato contendo 200 miligramas de proteína, resultando na geração de um composto com pigmentação amarela, cuja absorção é medida espectrofotometricamente a 412 nm (ELLMAN, 1959; WALMSLEY; ABERNETHY; FITZGERALD, 1987).

5.13 EXTRAÇÃO DO RNA MENSAGEIRO

RNA total foi obtido pelo método de extração com isotiocianato de guanidina usando o reagente Trizol. Inicialmente os tecidos foram lisados usando Trizol, depois de 5 minutos de incubação, à temperatura ambiente, foi acrescentado clorofórmio e centrifugados a 12000 g por 15 minutos. A fase aquosa foi transferida a outro tubo, adicionado de isopropanol gelado e depois incubação por 10 minutos à temperatura ambiente e nova centrifugação a 12000 g por 10 minutos. O RNA formado foi lavado com etanol a 75% e centrifugado a 7000 g por 5 minutos. O sedimento de RNA (pellet) foi ressuspensão em água livre de RNase, em alíquotas e armazenado.

A quantificação do RNA foi realizada em duplicata diluindo as amostras 1:150 em água isenta de RNase. A absorbância da amostra foi determinada por espectrofotometria nos comprimentos de onda de 260 nm (correspondente ao pico de absorção de RNA) e 280 nm (correspondente ao pico de absorção de proteínas). Para a análise da pureza do RNA, foi dividido o valor da absorbância obtido a 260 nm pelo obtido a 280 nm, e apenas amostras que apresentaram a razão 260/280 igual ou superior a 1.8, foi utilizado para as análises de RT-PCR (SANTANA; FERREIRA; BRAZ; SOUSA *et al.*, 2019).

5.13.1 Análise de Expressão Gênica por *Real Time PCR (RT-PCR)*

As reações foram realizadas para os genes (*PERK*, *ATF6*, *GRP78*, *BDNF*, *B2M*), todos os parâmetros foram avaliados utilizando concentrações constantes de RNA mensageiro e seguindo as normas do fabricante do kit SuperScript® III Platinum® SYBR® Green One-Step qRT-PCR Kit (Invitrogen, USA). Usando também a expressão do gene B2M como o gene normalizador para cada amostra e a quantificação da expressão foi de acordo com o cálculo da concentração relativa, ou $2^{\Delta\Delta Ct}$ (PFAFFL, 2006).

Tabela 2 - Sequência de Oligonucleotídeos sintetizados:

Genes	<i>Foward primer (5' - 3')</i>	<i>Reverse primer (3' - 5')</i>
-------	--------------------------------	---------------------------------

<i>PERK</i>	TGTGCAGGAAGGAGAACCTTA	GGCCAACATTAATCAGATTCCATAC
<i>ATF6</i>	TCGAAGGGATCACCTGCTAT	CGAGGAGCTTTTGATGTGGA
<i>GRP78</i>	CGTCGTATGTGGCCTTCACT	ATTCCAAGTGCGTCCGATGA
<i>BDNF</i>	ACG GTC ACA GTC CTT GAA AAG	GGA TTG CAC TTG GTC TCG TA
<i>B2M</i>	TGACCGTGATCTTTCTGGTG	ACTTGAATTTGGGGAGTTTTCTG

6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Foi realizada a análise descritiva dos dados, sendo estes expressos em média e erro padrão da média (EPM) para dados paramétricos ou mediana com escore máximo e mínimo para dados não paramétricos. Todos os dados obtidos no presente projeto foram submetidos a análise de normalidade dos dados utilizando o teste de *Shapiro Wilk*. Os dados com distribuição paramétrica foram analisados pelo teste de variância *ANOVA Two-Way* (Grupos vs Intervenção), seguido do *post-test* de *Tukey* para observância de múltiplas comparações. Entretanto, para os dados que não obtiveram distribuição paramétrica, utilizou-se o teste de Kruska-Wallis, seguido pelo *post test* de *Dunn* para múltiplas comparações. O nível de significância em todos os casos foi mantido em $p < 0,05$.

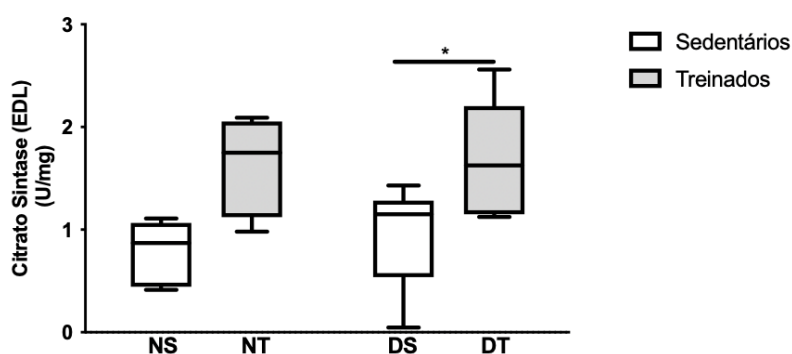
A construção e armazenamento da matriz de dados foi realizada no *Microsoft Excel*, versão *Windows*, USA, 2016 e as análises estatística foram realizadas no *software Graphpad Prisma v.6.0* (GraphPad Software Inc, La Jolla, CA, USA).

7 RESULTADOS

7.1 Atividade da enzima citrato sintase no músculo esquelético de ratos *Wistar* normonutridos e desnutridos.

Inicialmente, nos realizamos no músculo extensor longo dos dedos a atividade de citrato sintase visando demonstrar adaptabilidade aeróbia nos ratos *Wistar* promovida pelas 4 semanas de treinamento físico. Quando comparamos o efeito isolado da DPM não foram observadas diferenças estatisticamente significantes (DS: 1.166 ± 0.16 U/mg de proteína vs NS: 0.778 ± 0.32 U/mg de proteína, $p = 0.92$). Semelhantemente, quando avaliamos o efeito isolado do TFA não observamos significância estatística entre os grupos NT (1.64 ± 0.50 U/mg de proteína vs NS: 0.778 ± 0.32 U/mg de proteína, $p = 0.07$). Entretanto, quando comparamos os efeitos associados entre DPM e TFA, pudemos observamos um aumento de 64.30% na atividade de citrato sintase no grupo DT quando comparado ao grupo DS (1.804 ± 0.54 U/mg de proteína vs 1.166 ± 0.16 nmol/ mg de proteína, $p = 0.04$).

Figura 6 - Atividade de citrato sintase no músculo esquelético de ratos *Wistar* (normonutridos e desnutridos) após quatro semanas de TFA; (NS = 5; DS = 9; NT = 4; DT = 6); * $p=0.04$

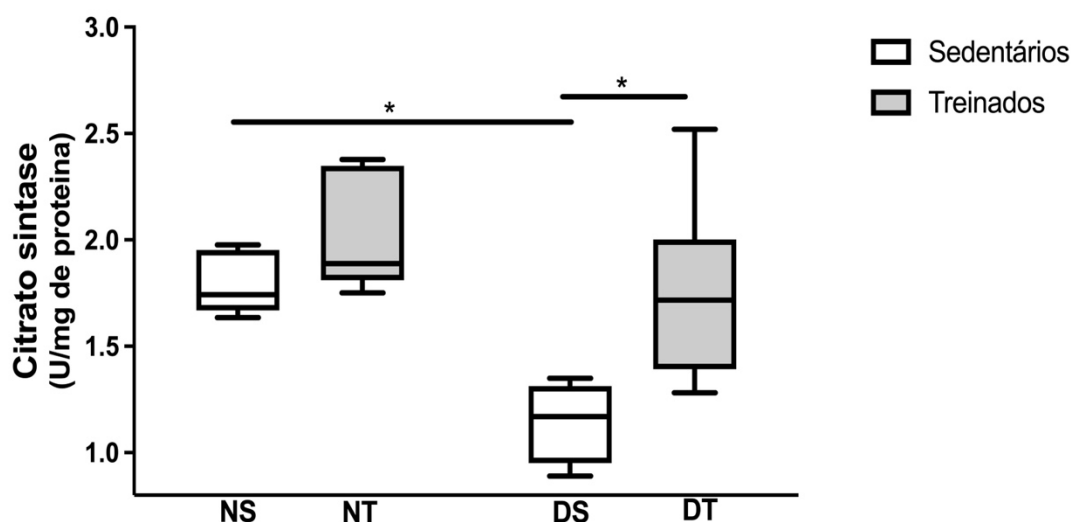


7.1.1 Atividade da enzima citrato sintase no córtex pré-frontal de ratos *Wistar* normonutridos e desnutridos.

No presente estudo nós analisamos a atividade da enzima citrato sintase no córtex pré-frontal (Figura 7). Esta enzima é responsável por mediar a formação do ácido cítrico no ciclo de Krebs, que consiste em produto de uma relação de condensação entre o acetil-

coenzima A (Acetil-CoA) e o oxalacetato. Nossos dados demonstraram que os ratos DS apresentaram uma redução significativa de 56.94% ($1.145 \pm 0,19$ U/mg de proteína, $p = 0,02$) na atividade de citrato sintase em comparação aos ratos NS ($1.797 \pm 0,15$ U/mg de proteína). Adicionalmente, quando avaliamos o efeito do treinamento físico aeróbio nos ratos NS e NT, não houve diferenças significantes ($p = 0,58$). Entretanto, quando realizamos a comparação os dois grupos desnutridos, observamos que o grupo desnutrido treinado (DT) apresentou um aumento significativo de 34,53% ($1.749 \pm 0,43$, $p = 0,03$ U/mg de proteína), em comparação ao grupo DS ($1.145 \pm 0,19$ U/mg proteína).

Figura 7 - Atividade de citrato sintase no córtex pré-frontal de ratos *Wistar* (normonutridos e desnutridos) após quatro semanas de TFA; (NS = 5; DS = 4; NT = 5; DT = 6); * $p=0.02$.



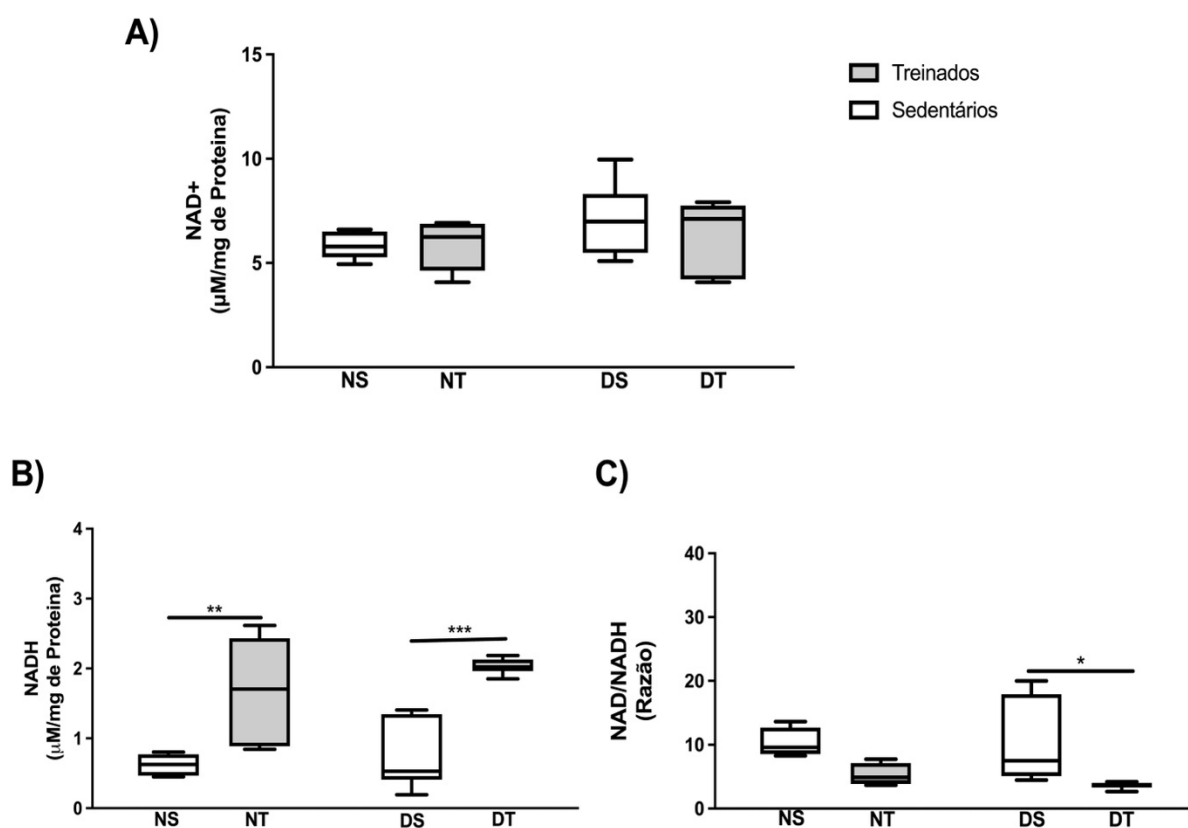
7.2 Cinética da oxidorredução dos nucleotídeos de piridina (NAD^+ / $NADH$) no córtex pré-frontal de ratos *Wistar* normonutridos e desnutridos.

Em seguida, avaliamos as mudanças na oxidação e redução de nucleotídeos de piridina, esses compostos podem atuar como indicadores de função mitocondrial através de associação com a fosforilação oxidativa (ZHAO; JIANG; ZHANG; YU, 2019). Nos níveis de nicotinamida adenina dinucleotídeo em sua forma oxidada (NAD^+), não foram observadas diferenças significantes entre todos os grupos (Figura 8A). Similarmente, nos níveis de Nicotinamida adenina dinucleotídeo em sua forma reduzida ($NADH$) não foram visualizadas diferenças significantes entre os grupos DS e NS ($p = 0,92$) (Figura 8.B).

No entanto, quando comparamos os grupos normonutridos, o grupo de ratos NT obteve um aumento significativo de 63,09% ($1.684 \pm 0,70$ uM/mg de proteína, $p = 0,002$), após 4 semanas de TFA em relação ao grupo NS ($0.622 \pm 0,15$ uM/mg de proteína). Em adição, nos também comparamos os dois grupos desnutridos. Neste sentido, quando visualizamos o efeito associativo entre desnutrição e TFA, podemos observar que o grupo DT apresentou um incremento significativo de 56.33% ($1.841 \pm 0,51$ uM/mg de proteína, $p = 0,005$), em comparação com o grupo DS ($0.804 \pm 0,53$ uM/mg de proteína).

Por último, analisamos a razão de oxidorredução (NAD^+/NADH), não houve diferenças significantes entre os grupos DS e NS ($p = 0.99$), bem como na comparação entre os grupos NT e NS ($p = 0.28$). Em contraste, quando comparamos os grupos DT e DS, os ratos sedentários obtiveram um incremento significativo de 66,26% ($10.697 \pm 6,85$ uM/mg de proteína, $p = 0,03$), em relação aos ratos treinados ($3.610 \pm 0,54$ uM/mg de proteína), (Figura 8C).

Figura 8 - Cinética da oxidorredução de nucleotídeos de piridina no córtex pré-frontal de ratos *Wistar* rats (normonutridos e desnutridos) após quatro semanas de TFA; A) NAD^+ (NS = 5; DS = 10; NT = 5; DT = 11); B) NADH (NS = 6; DS = 7; NT = 7; DT = 6); C) razão NAD^+/NADH (NS = 4; DS = 5; NT = 5; DT = 6); * $p=0.03$; ** $p<0.002$, *** $p=0.0005$.



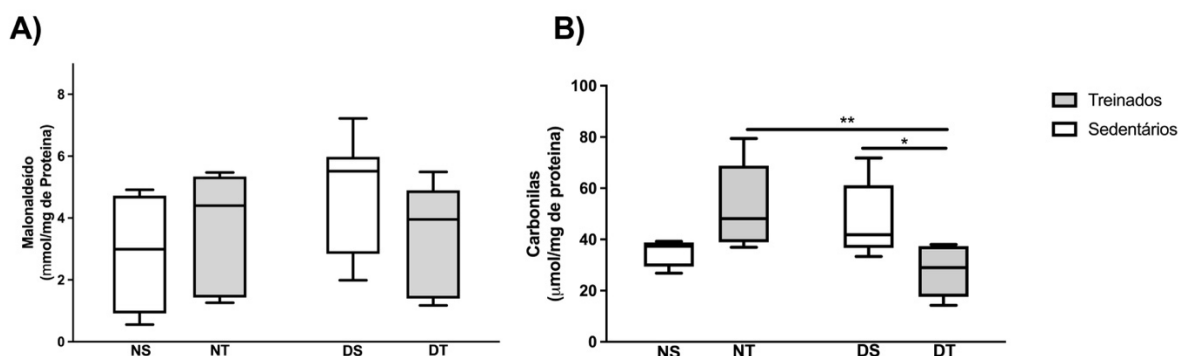
7.3 Indicadores de estresse oxidativo no córtex pré-frontal de ratos *Wistar* normonutridos e desnutridos.

Visando elucidar os reais efeitos da desnutrição proteica materna sobre indicadores do estresse oxidativo nós avaliamos os níveis de malonaldeído (MDA), este é um dos mediadores do processo de peroxidação lipídica, além dos níveis de carbonilas responsáveis por danos na membrana celular, em resposta ao aumento da oxidação de proteínas (DALLE-DONNE; ROSSI; GIUSTARINI; MILZANI *et al.*, 2003). Com isso, na análise de MDA (Figura 9.A), quando comparados os grupos DS e NS, não foram observadas diferenças significantes (4.893 ± 1.87 vs 3.007 ± 1.74 mmol/mg de proteína, $p = 0.21$). Em adição, também não foram visualizadas diferenças significantes nos grupos NT e NS (3.471 ± 1.96 vs 3.007 ± 1.74 mmol/mg de proteína, $p = 0.95$), bem como DT e DS (3.381 ± 1.76 vs 4.893 ± 1.87 mmol/mg de proteína, $p = 0.34$).

Além disso, na análise de carbonilas (Figura 9.B) de maneira similar não encontramos diferenças significantes entre os grupos DS e NS (48.36 ± 14.1 vs 35.18 ± 5.66 mmol/mg de proteína, $p = 0.33$), bem como nos NT e NS (54.13 ± 16.6 vs 35.18 ± 5.66 μmol/mg de proteína, $p = 0.16$). No entanto, quando comparamos os grupos DS e DT, os animais sedentários demonstraram uma elevação significativa de 75.60% (48.36 ± 14.1 vs $27.21 \pm$

10.4 $\mu\text{mol}/\text{mg}$ de proteína, $p = 0.004$) nos níveis de carbonilas no córtex pré-frontal, quando comparados com os ratos que realizaram TFA por 4 semanas.

Figura 9 - Níveis de marcadores de estresse oxidativo no córtex pré-frontal de ratos *Wistar* (normonutridos e desnutridos) após quatro semanas de TFA; A) MDA (NS = 7; DS = 8; NT = 9; DT = 9); B) Carbonilas (NS = 4; DS = 10; NT = 8; DT = 8); * $p=0.01$, ** $p=0.004$.



7.4 Componentes antioxidantes enzimáticos no córtex pré-frontal de ratos *Wistar* normonutridos e desnutridos.

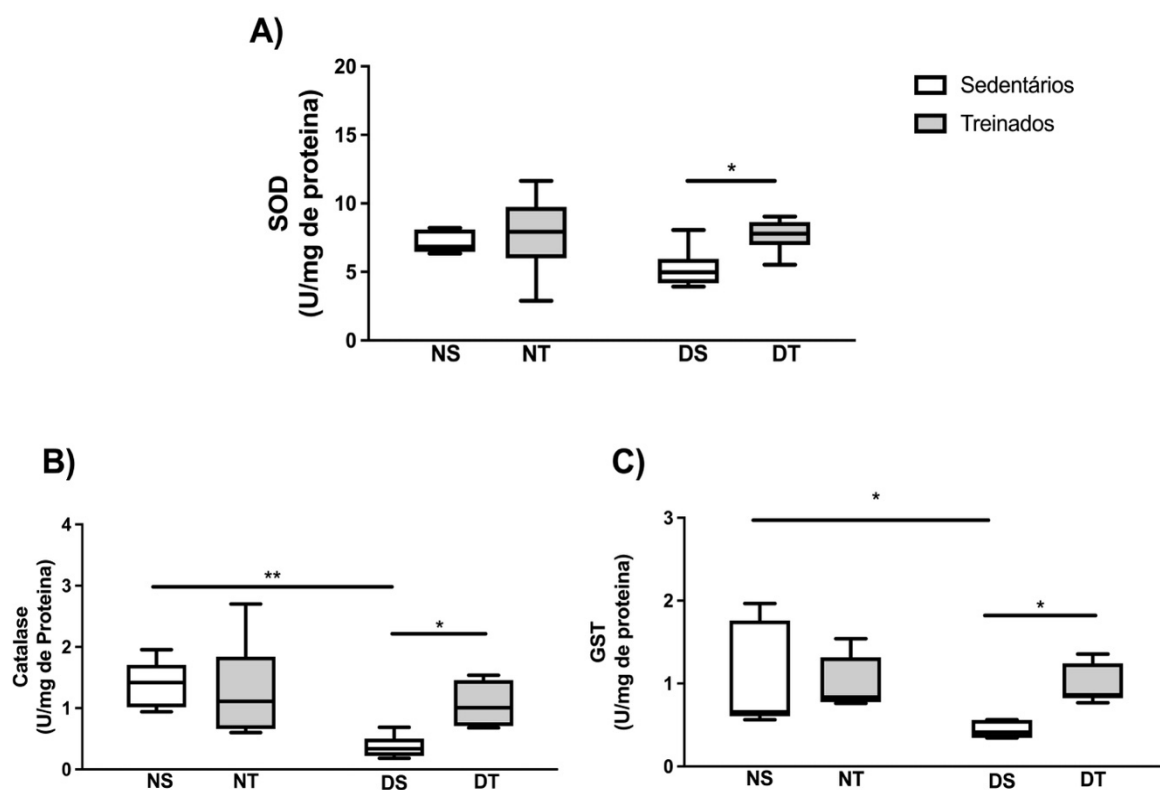
Por outro lado, nós avaliamos a atividade de enzimas constituintes do sistema antioxidante: superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e glutathione S transferase (GST). Na análise da enzima SOD responsável pela catalisação a dismutação do superóxido em oxigênio (O_2) e peróxido de hidrogênio (H_2O_2) (Figura 10.A), não foram encontradas diferenças significantes quando comparados os grupos DS e NS (7.679 ± 1.16 vs 7.133 ± 0.82 U/mg de proteína, $p = 0.16$), da mesma forma que nos grupos NT e NS (7.133 ± 0.82 vs 7.817 ± 2.66 U/mg de proteína, $p = 0.87$). Entretanto, quando comparamos os grupos DT e DS, observamos um aumento significativo de 31.74% (7.679 ± 1.16 vs 5.242 ± 1.32 U/mg de proteína, $p=0.02$).

De maneira similar, quando analisamos a CAT (Figura 10.B) que atua na decomposição do H_2O_2 em 2 moléculas de água (H_2O) e 2 moléculas de O_2 . Neste sentido, quando avaliamos apenas o efeito da desnutrição através da comparação entre os grupos DS e NS, visualizamos que o grupo DS apresentou uma redução significativa na atividade de catalase em 295.39% (0.365 ± 0.17 vs 1.372 ± 0.39 U/mg de proteína, $p = 0.003$), em relação ao grupo NS. No entanto, quando comparamos os grupos NT e NS não observamos

diferenças significantes (1.282 ± 0.75 vs 1.372 ± 0.39 U/mg de proteína, $p = 0.98$). Em seguida, ao compararmos os grupos DT e DS, notamos que os ratos que participaram do TFA em 4 semanas apresentarem um aumento significativo em sua atividade enzimática de 65.23% (1.049 ± 0.36 vs 0.365 ± 0.17 U/mg de proteína, $p = 0.03$) em relação aos ratos sedentários.

Em seguida, também analisamos a atividade de GST (Figura 10.C), enzima chave no processo de detoxificação metabólica através da redução da atividade xenobióticos, através da promoção de ataques nucleofílicos por glutathiona reduzida (GSH) em átomos eletrolíticos de carbono, enxofre e nitrogênio. Além disso, promove a catalisação e conjugação da GSH. Com isso, nossos resultados demonstraram uma redução significativa na atividade de GST no grupo DS de 144.61% (0.441 ± 0.09 vs 1.078 ± 0.64 U/mg de proteína, $p = 0.02$). No entanto, nos grupos NT e NS não foram observadas diferenças significantes (0.975 ± 0.23 vs 1.07 ± 0.64 U/mg de proteína, $p = 0.98$). Entretanto, quando avaliamos os grupos DT e DS, observamos que os ratos treinados por 4 semanas obtiveram um aumento significativo na atividade de GST em 44.19% (0.975 ± 0.23 vs 0.441 ± 0.09 U/ mg de proteína, $p = 0.04$).

Figura 10 - Atividade enzimática antioxidante no córtex pré-frontal de ratos *Wistar* (normonutridos e desnutridos) após quatro semanas de TFA; A) SOD (NS = 7; DS = 8; NT = 9; DT = 9; * $p=0.02$); B) Catalase (NS = 6; DS = 10; NT = 9; DT = 8, * $p=0.03$, ** $p=0.003$); C) GST (NS = 4; DS = 10; NT = 8; DT = 8, * $p=0.02$ e $p=0.04$, respectivamente).



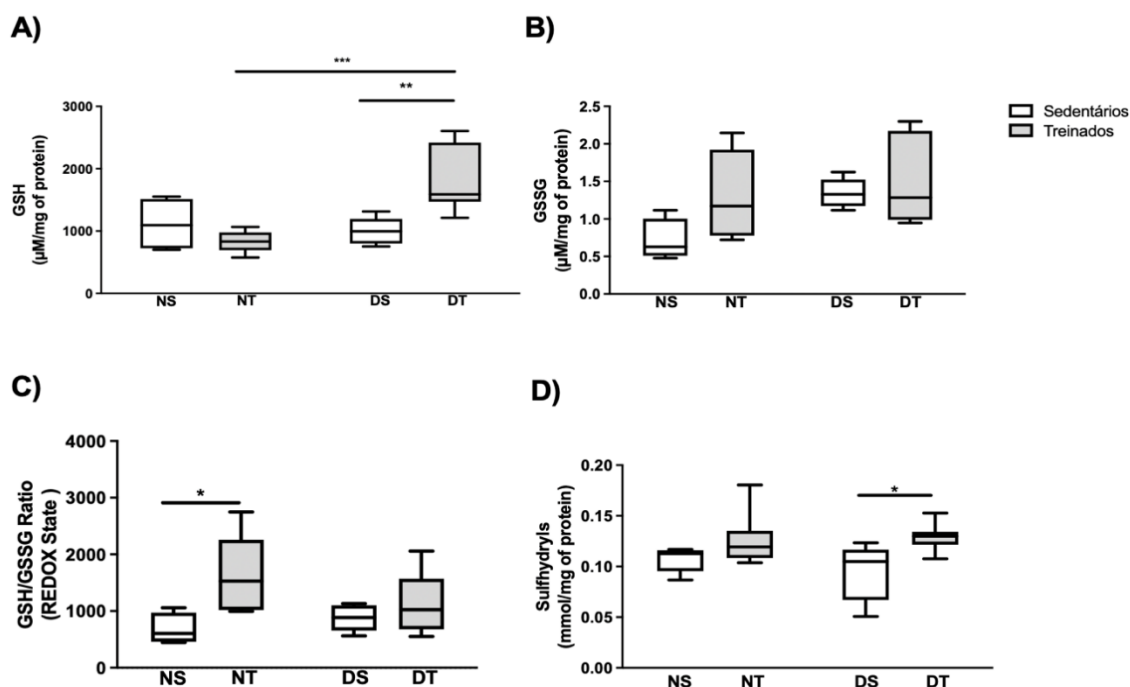
7.5 Componentes antioxidantes não enzimáticos no córtex pré-frontal de ratos *Wistar* normonutridos e desnutridos.

Em seguida, avaliamos o conteúdo de GSH (Figura 11.A) onde não foram observadas diferenças significantes entre os grupos DS e NS (1007.111 ± 203.904 vs 1110.508 ± 427.329 $\mu\text{M}/\text{mg}$ de proteína, $p = 0.96$). De mesmo modo, quando comparamos os grupos NT e NS apenas para visualizarmos o efeito do TFA em 4 semanas também não foram obtidas diferenças significantes (832.047 ± 174.221 $\mu\text{mol}/\text{mg}$ de proteína, $p = 0.62$). No entanto, quando comparamos os grupos DT e DS, foi visualizado um aumento significativo de 45.15% nos ratos que realizaram o TFA em 4 semanas (1836.109 ± 530.195 vs 1007.11 ± 203.904 $\mu\text{M}/\text{mg}$ de proteína, $p = 0.001$). Em adição, foram observados os níveis de glutathiona oxidada (GSSG, Figura 11.B), que auxilia na desativação de EROS, na preservação de grupos tiols presentes nas proteínas e estimar o Estado REDOX nos sistemas biológicos. Nos grupos DS e NS não foram observadas diferenças significantes (1.344 ± 0.19 vs 0.713 ± 0.28 $\mu\text{M}/\text{mg}$ de proteína, $p = 0.22$). Similarmente, também não foram visualizadas significância nos grupos NT e NS (1.287 ± 0.56 vs 0.713 ± 0.28 $\mu\text{M}/\text{mg}$ de proteína, $p = 0.24$), bem como nos grupos DT e DS (1.491 ± 0.59 vs 1.344 ± 0.19 $\mu\text{M}/\text{mg}$ de proteína, $p = 0.95$).

Adicionalmente, analisamos a razão entre GSH/GSSG (Figura 11.C) conhecida como estado de redução e oxidação (REDOX), que implica na transferência de elétrons com variabilidade de reatividade, levando a uma modificação do estado de oxidação. Em relação aos grupos DS e NS não foram encontradas diferenças significantes (855.102 ± 218.3 vs 678.781 ± 278.0 , $p = 0.93$). No entanto, ao compararmos os grupos NT e NS, podemos observar que o grupo de ratos treinados por 4 semanas obteve um incremento significativo nos níveis desta razão entre composto não enzimáticos de 57.97% (1615.135 ± 712.2 vs 678.781 ± 278.0 , $p = 0.04$). Em relação os grupos DT e DS não houve diferença significativa (1105.757 ± 572.4 vs 855.102 ± 218.3 , $p = 0.80$).

Por fim, analisamos os níveis de sulfidrilas (Figura 11.D) no CPF estes animais. Ao compararmos os grupos DS e NS não foram visualizadas diferenças significantes (0.095 ± 0.03 vs 0.107 ± 0.01 mmol/mg de proteína, $p = 0.74$). Similarmente, ao compararmos os grupos NT e NS, também não foram encontradas diferenças estatisticamente significantes (0.126 ± 0.02 vs 0.107 ± 0.01 mmol/mg de proteína, $p = 0.42$). No entanto, quando comparamos os grupos DT e DS, para visualização dos possíveis efeitos do TFA em 4 semanas, observamos que os ratos treinados obtiveram um aumento significativo de 26.53% (0.129 ± 0.01 vs 0.095 ± 0.03 mmol/mg de proteína, $p = 0.01$).

Figura 11 - Atividade não enzimática antioxidante no córtex pré-frontal de ratos *Wistar* (normonutridos e desnutridos) após quatro semanas de TFA; A) GSH (NS = 4; DS = 8; NT = 6; DT = 7, ** $p=0.001$, *** $p=0.0003$); B) GSSG (NS = 4; DS = 6; NT = 7; DT = 7); C) Razão GSH/GSSG (NS = 4; DS = 7; NT = 5; DT = 5, * $p=0.04$); D) Sulfidrilas (NS = 5; DS = 8; NT = 8; DT = 8, * $p=0.01$).



7.6 Expressão Gênica de Marcadores de Estresse de Retículo Endoplasmático e Fator Neurotrófico no córtex pré-frontal de ratos *Wistar* normonutridos e desnutridos

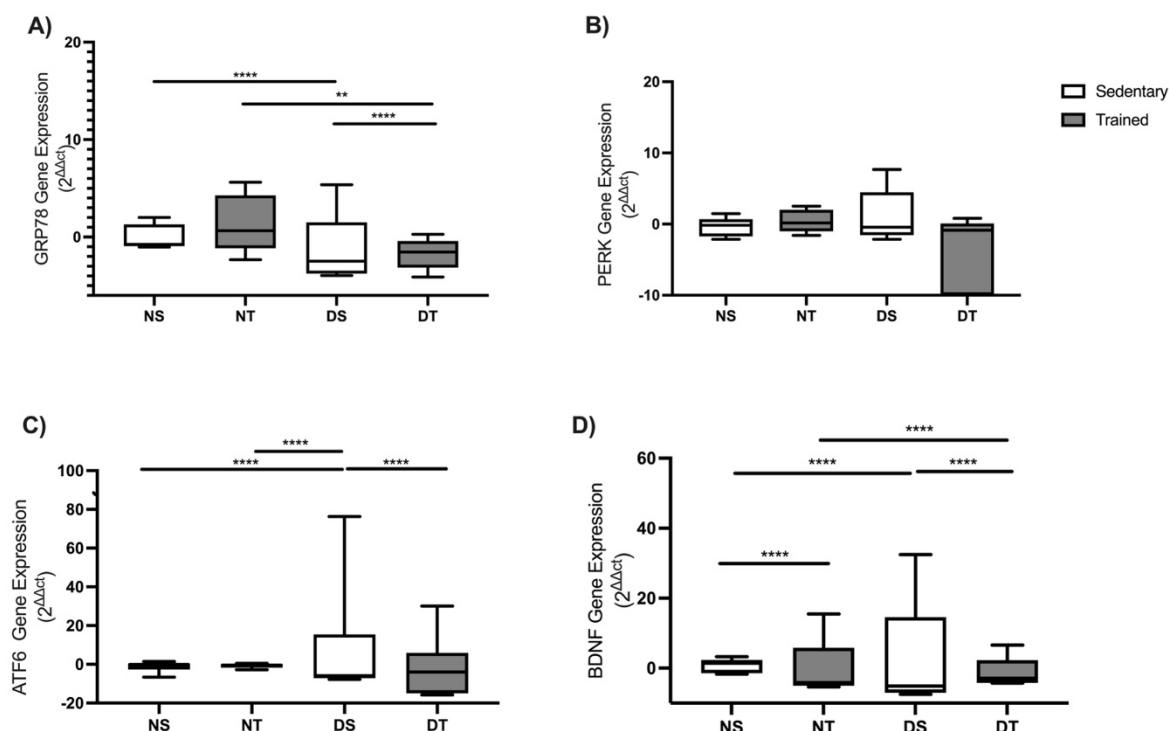
Em seguida, avaliamos mais indicativos do efeito da desnutrição proteica materna e TFA em genes ligados ao estresse de retículo endoplasmático. Inicialmente, avaliamos o GRP78, que facilita a montagem e enovelamento de proteínas. No grupo DS foi encontrado um aumento significativo na expressão gênica em relação ao grupo NS (DS: 8.474 ± 0.394 vs NS: 1.000 ± 0.381 2^{ddCt} , $p < 0.0001$); (Figura 12.A). Então, quando comparamos os grupos NT e NS, não observamos mudanças estatisticamente significativas (NT: 1.543 ± 0.172 vs NS: 1.000 ± 0.381 2^{ddCt} , $p = 0.626$). Porém, ao comparar os grupos que sofreram DPM, o grupo DT reduziu significativamente a expressão desse marcador quando comparado ao grupo DS (DT: 3.300 ± 0.118 vs DS: 8.474 ± 0.394 2^{ddCt} , $p < 0.0001$).

Na etapa seguinte foi avaliada a PERK responsável por controlar a homeostase do retículo endoplasmático, por meio da sinalização de situações de estresse, apoptose e autofagia. Nenhuma diferença significativa foi encontrada entre todos os grupos experimentais (DS: 1.485 ± 0.371 vs NS: 1.000 ± 0.298 2^{ddCt} , $p = 0.73$; NT: 1.032 ± 0.360 vs NS: 1.000 ± 0.298 2^{ddCt} , $p = 0.99$; DT: 1.710 ± 0.268 vs DS: 1.485 ± 0.371 2^{ddCt} , $p = 0.96$); (Figura 12.B).

Em associação com os genes anteriores, avaliamos que o ATF6 é um importante sinal molecular para o estresse do RE em condições de baixo enovelamento de proteínas e sua degradação. Inicialmente, observou-se que o grupo DS apresentou aumento significativo na expressão desse gene em relação ao grupo NS (DS: 76.321 ± 0.509 vs NS: 1.000 ± 0.459 2^{ddCt} , $p < 0.0001$). No entanto, nos grupos NT e NS não houve diferenças significativas (NT: 1.487 ± 0.482 vs 1.000 ± 0.459 2^{ddCt} , $p = 0.99$). Por fim, foi identificada redução nos níveis de expressão de ATF6 no grupo DT quando comparado ao grupo DS (DT: 30.110 ± 2.564 vs DS: 76.321 ± 0.509 2^{ddCt} , $p < 0.0001$); (Figura 12C).

Por fim, foi avaliada a expressão do Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro (BDNF), um importante regulador da morfofuncionalidade neural e da função cognitiva, e observamos que o DPM foi capaz de aumentar significativamente a expressão do BDNF (DS: 32.480 ± 0.934 vs NS: 1.000 ± 0.838 2^{ddCt} , $p < 0.0001$). Quando a resposta TFA foi avaliada isoladamente, o grupo NT obteve um aumento significativo na expressão de BDNF em relação ao grupo NS (NT: 15.450 ± 0.614 vs NS: 1.000 ± 0.838 2^{ddCt} , $p < 0.0001$). Surpreendentemente, o grupo DT reduziu significativamente os níveis de BDNF quando comparado ao grupo DS (DT: 6.600 ± 2.564 vs 32.480 ± 0.934 2^{ddCt} , $p < 0.0001$), (Figura 12.D).

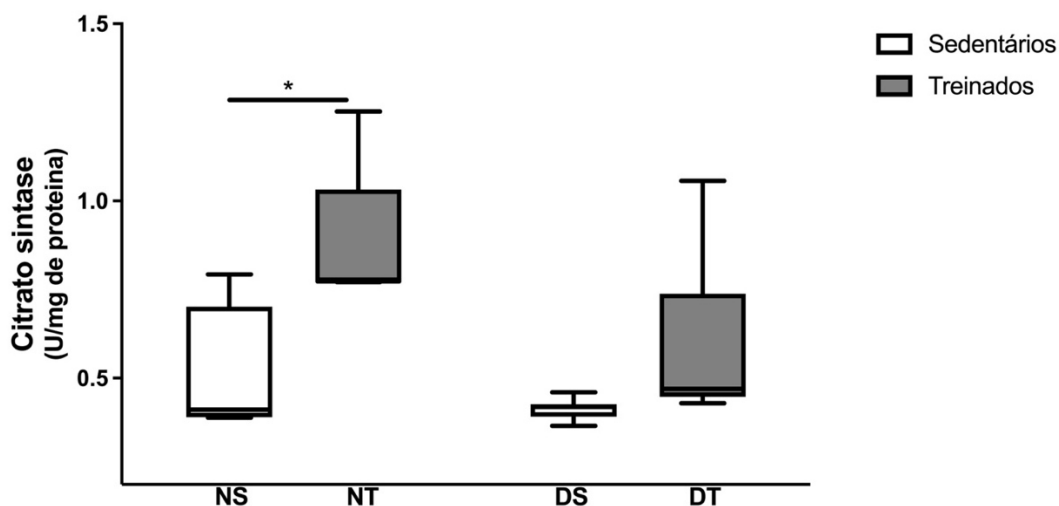
Figure 12 - Expressão gênica (mRNA) no córtex pré-frontal de ratos Wistar (normonutridos e desnutridos) após quatro semanas de TFA; A) GRP78 (NS; n = 5; DS; n = 5; NT; n = 4; DT; n = 5); B) PERK (NS; n = 5; DS; n = 4; NT; n = 5; DT; n = 4); C) ATF6 (NS; n = 5; DS; n = 5; NT; n = 6; DT; n = 5); D) BDNF; (NS; n = 4; DS; n = 5; NT; n = 5; DT; n = 5); **** $p < 0.0001$.



7.7 Atividade da enzima citrato sintase no hipocampo de ratos *Wistar* normonutridos e desnutridos.

Após finalizarmos as análises com CPF, nós realizamos medida da atividade da enzima citrato sintase (Figura 13), no hipocampo. Nossas análises demonstraram que não houve diferenças significantes na atividade desta enzima entre os grupos DS e NS (0.414 ± 0.03 vs 0.501 ± 0.20 U/mg de proteína, $p = 0.86$). Entretanto, quando comparamos os grupos NT e NS, observamos que os ratos que participaram durante 4 semanas do TFA, apresentaram um aumento significativo de 42.83% (0.876 ± 0.21 U/mg de proteína, $p = 0.02$) na atividade de citrato sintase, em relação aos ratos sedentários (0.414 ± 0.03 U/mg de proteína). Em relação aos grupos DT e DS não foram observadas diferenças significantes (0.585 ± 0.23 vs 0.414 ± 0.03 U/mg de proteína, $p = 0.31$).

Figura 13 - Atividade de citrato sintase no córtex hipocampo de ratos *Wistar* (normonutridos e desnutridos) após quatro semanas de TFA; (NS = 4; DS = 7; NT = 5; DT = 7); * $p < 0.02$.



7.8 Cinética da oxidação do nucleotídeo de piridina ($\text{NAD}^+ / \text{NADH}$) no hipocampo de ratos *Wistar* normonutridos e desnutridos.

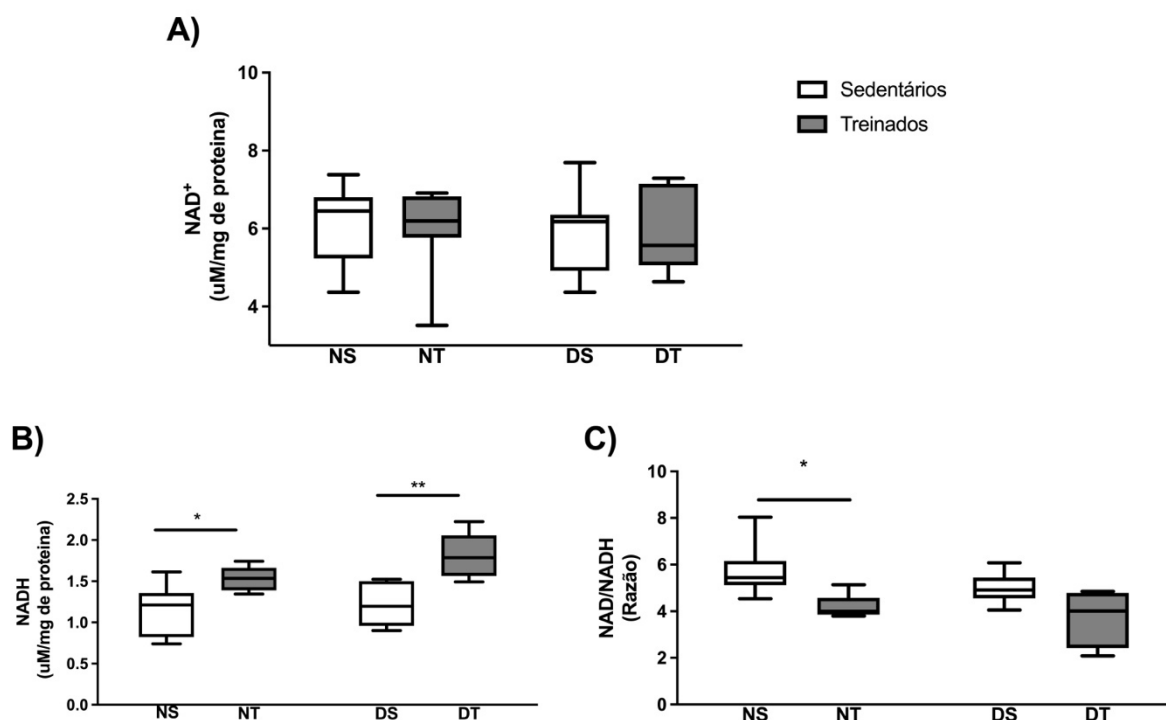
As mudanças nos parâmetros oxidativos e redutores de elementos ligados a nucleotídeos foram avaliados (Figuras 14.A). Nos níveis de NAD^+ , quando comparados, os grupos DS e NS não foram observadas diferenças significantes (5.875 ± 1.03 vs 6.090 ± 1.05 $\mu\text{M}/\text{mg}$ de proteína, $p = 0.991$). Além disso, na comparação dos grupos NT e NS, também não se observou diferenças estatisticamente significante (5.957 ± 1.16 vs 6.090 ± 1.05 $\mu\text{M}/\text{mg}$ de proteína, $p = 0.994$). Por fim, adicionalmente nos grupos DT e DS também não houve diferenças significantes (5.943 ± 1.05 vs 5.875 ± 1.03 $\mu\text{M}/\text{mg}$ de proteína, $p = 0.992$).

Quando analisamos, os níveis NADH (Figura 14.B), similarmente não foram encontradas diferenças significantes entre os grupos DS e NS (1.220 ± 0.25 vs 1.142 ± 0.31 $\mu\text{M}/\text{mg}$ de proteína, $p = 0.93$). No entanto, quando analisamos os grupos NT e NS visualizamos que o TFA foi capaz de promover um aumento significativo de 26.46% (1.533 ± 0.16 vs 1.142 ± 0.31 $\mu\text{M}/\text{mg}$ de proteína, $p = 0.04$), quando comparado aos ratos sedentários. Adicionalmente, quando observamos a associação entre desnutrição proteica materna e TFA, notamos que o grupo DT apresentou um incremento significativo de 32.54% (1.813 ± 0.27 vs 1.220 ± 0.25 $\mu\text{M}/\text{mg}$ de proteína, $p = 0.002$), em relação ao grupo DS.

Por fim, analisamos a razão entre NAD^+/NADH (Figura 14.C), onde não encontramos significância estatística entre os grupos DS e NS (4.986 ± 0.67 vs 5.738 ± 1.06 $\mu\text{M}/\text{mg}$ de proteína, $p = 0.45$). Entretanto, quando comparados os grupos NT e NS observamos uma redução significativa de 37.54% (4.172 ± 0.55 vs 5.738 ± 1.06 $\mu\text{M}/\text{mg}$ de proteína, $p = 0.03$) nos níveis deste aceptor de elétrons no grupo NT quando comparado ao grupo NS. No

entanto, em relação os grupos DT e DS não foram encontradas diferenças significantes (3.739 ± 1.26 vs 4.986 ± 0.67 uM/mg de proteína, $p = 0.18$).

Figura 14 - Cinética da oxidorredução de nucleotídeos de piridina no hipocampo de ratos *Wistar* (normonutridos e desnutridos) após quatro semanas de TFA; A) NAD^+ (NS = 10; DS = 9; NT = 7; DT = 8); B) NADH (NS = 8; DS = 7; NT = 6; DT = 6, $p=0.04$, $p^{**}=0.002$); C) razão NAD^+/NADH (NS = 6; DS = 7; NT = 7; DT = 8, $p=0.03$).

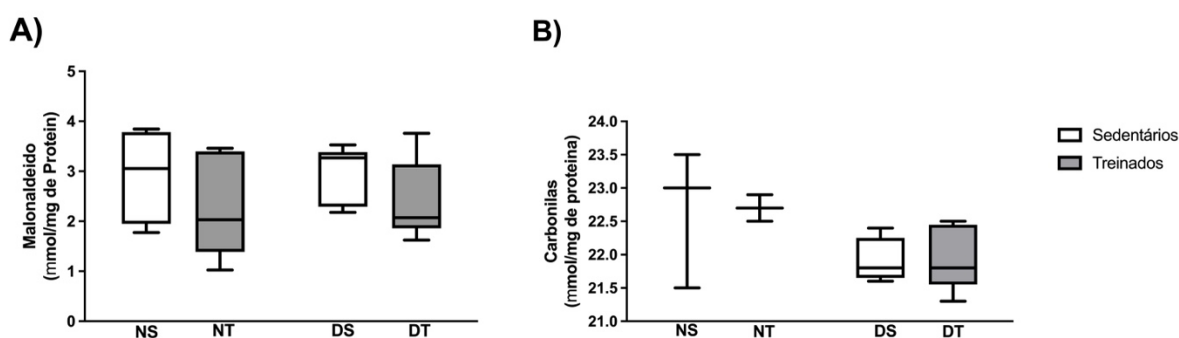


7.9 Indicadores de estresse oxidativo no hipocampo de ratos *Wistar* normonutridos e desnutridos.

Os biomarcadores de estresse oxidativo (MDA e carbonilas) foram avaliados no hipocampo, para visualização conjunta dos efeitos da desnutrição proteica materna e TFA. Em relação aos níveis de MDA (Figura 15.A), não foram encontradas diferenças significantes entre os grupos DS e NS (2.482 ± 0.85 vs 2.917 ± 0.95 mmol/mg de proteína, $p = 0.99$). Quando observado o efeito do treinamento (grupo NT vs NS) não foram visualizadas diferenças estatisticamente significantes entre os animais treinados e não treinados (2.158 ± 0.85 vs 2.917 ± 0.95 mmol/mg de proteína, $p = 0.38$). Por fim foram analisados os grupos DT e DS, onde também não houve diferenças significantes (2.482 ± 0.85 vs 2.984 ± 0.58 mmol/mg de proteína, $p = 0.70$).

Em seguida, analisamos os níveis de oxidação de proteínas através das carbonilas (Figura 15.B) no hipocampo dos ratos *Wistar* normonutridos e desnutridos. Inicialmente, realizamos a comparação entre os grupos DS e NS, onde não se observou diferenças significantes (21.90 ± 0.42 vs 22.66 ± 1.04 mmol/mg de proteína, $p = 0.34$). Além disso, comparamos os grupos NT e NS, onde não foram visualizadas diferenças significantes (22.70 ± 0.20 vs 22.66 ± 1.04 mmol/mg de proteína, $p = 0.99$). Por seguinte, avaliamos o efeito do 4 semanas de TFA nos grupos DT e DS, onde também não houve diferenças estatisticamente significante (21.96 ± 0.29 vs 21.90 ± 0.42 mmol/mg de proteína, $p = 0.99$).

Figura 15 - Níveis de marcadores de estresse oxidativo no hipocampo de ratos *Wistar* (normonutridos e desnutridos) após quatro semanas de TFA; A) MDA (NS = 6; DS = 6; NT = 7; DT = 7); B) Carbonilas (NS = 3; DS = 4; NT = 3; DT = 5).



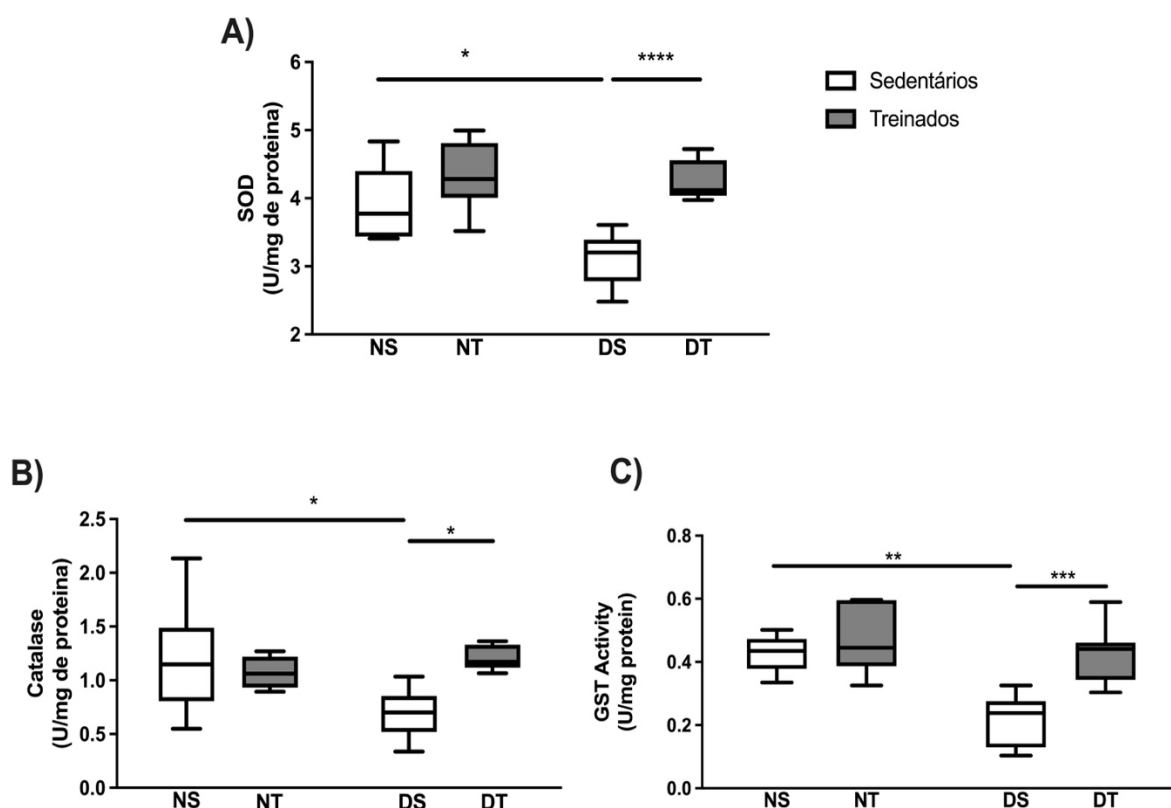
7.10 Componentes antioxidantes enzimáticos no hipocampo de ratos *Wistar* normonutridos e desnutridos.

No hipocampo nós também avaliamos os componentes enzimáticos antioxidantes: SOD, CAT e GST. Na análise da atividade da SOD (Figura 16.A), comparamos os grupos DS e NS, deste modo foi visto que os ratos que sofreram desnutrição durante o período de gestação e lactação apresentaram uma redução significativa de 24.99% (3.113 ± 0.38 vs 3.891 ± 0.57 U/mg de proteína, $p = 0.01$), quando comparados com o grupo NS. Entretanto, quando comparados os grupos NT e NS não foram observadas diferenças significantes (4.311 ± 0.49 vs 3.891 ± 0.57 U/mg de proteína, $p = 0.32$). Por fim, quando observamos os grupos DT e DS, os ratos que realizaram o TFA por 4 semanas apresentaram um aumento significativo de 26.68% (4.246 ± 0.28 vs 3.113 ± 0.38 U/mg de proteína, $p < 0.0001$) em relação ao grupo DS.

Diante destes resultados, também analisamos a atividade da enzima catalase (Figura 16.B). Similarmente, quando comparados os grupos DS e NS observamos que os ratos desnutridos apresentaram uma redução significativamente expressiva de 71.74% (0.694 ± 0.22 vs 1.191 ± 0.53 U/mg de proteína, $p = 0.03$). Novamente, quando comparamos os grupos NT e NS não foram encontradas diferenças estatisticamente significantes (1.072 ± 0.15 vs 1.191 ± 0.53 U/mg de proteína, $p = 0.93$). No entanto, quando analisamos e comparamos os grupos DT e DS, observamos que os ratos treinados aerobiamente obtiveram um incremento significativo de 42.83% (1.213 ± 0.12 vs 0.69 ± 0.22 U/mg de proteína, $p = 0.04$) em relação aos ratos sedentários.

Por último analisamos a atividade de GST (Figura 16.C) no hipocampo de ratos *Wistar* em condições de normonutrição e desnutrição proteica. Com isso, novamente quando observada a atividade desta enzima nos grupos DS e NS, os ratos desnutridos apresentaram uma redução significativa de 96.50% (0.217 ± 0.08 U/mg de proteína vs 0.428 ± 0.06 U/mg de proteína, $p = 0.001$), quando comparado aos ratos normonutridos. Em relação aos grupos NT e NS não observamos diferenças estatisticamente significantes (0.465 ± 0.10 vs 0.428 ± 0.06 U/mg de proteína, $p = 0.88$). Entretanto, quando avaliamos os grupos DT e DS, observamos que os ratos que realizaram o TFA em 4 semanas obtiveram um aumento significativo de 48.49% (0.422 ± 0.10 vs 0.217 ± 0.22 U/mg de proteína, $p = 0.0008$) em relação aos animais desnutridos sedentários.

Figura 16 - Atividade enzimática antioxidante no hipocampo de ratos *Wistar* (normonutridos e desnutridos) após quatro semanas de TFA; A) SOD (NS = 5; DS = 8; NT = 8; DT = 9, * $p=0.01$, *** $p<0.0001$); B) Catalase (NS = 6; DS = 8; NT = 4; DT = 5, * $p=0.03$ e $p=0.04$, respectivamente); C) GST (NS = 5; DS = 8; NT = 7; DT = 8, ** $p=0.001$, *** $p=0.0008$).



7.11 Componentes antioxidantes não enzimáticos no hipocampo de ratos *Wistar* normonutridos e desnutridos.

Em seguida, decidimos avaliar os componentes antioxidantes não enzimáticos GSH, GSSG e a razão GSH/GSSG fundamentais para o processo de detoxificação celular que pode ocorrer principalmente pelo estresse oxidativo. Na análise dos níveis de GSH (Figura 17.A), quando comparados os grupos DS e NS não foram observadas diferenças significantes (2347.768 ± 479.69 vs 1976.175 ± 364.98 $\mu\text{m}/\text{mg}$ de proteína, $p = 0.94$). No entanto, quando comparamos os grupos NT e NS, observamos que os ratos que realizaram o TFA por 4 semanas exibiram um aumento significativo de (3884.344 ± 1254.55 vs 1976.175 ± 364.98 $\mu\text{m}/\text{mg}$ de proteína, $p = 0.03$), em relação aos ratos sedentários. Adicionalmente, quando avaliamos as respostas produzidas pelo TFA nos grupos DT e DS observamos que os ratos treinados obtiveram um incremento de 41.68% (4025.936 ± 1458.27 vs 2347.768 ± 479.69 $\mu\text{m}/\text{mg}$ de proteína, $p = 0.03$) em comparação aos desnutridos que não realizaram o protocolo de exercício físico aeróbio.

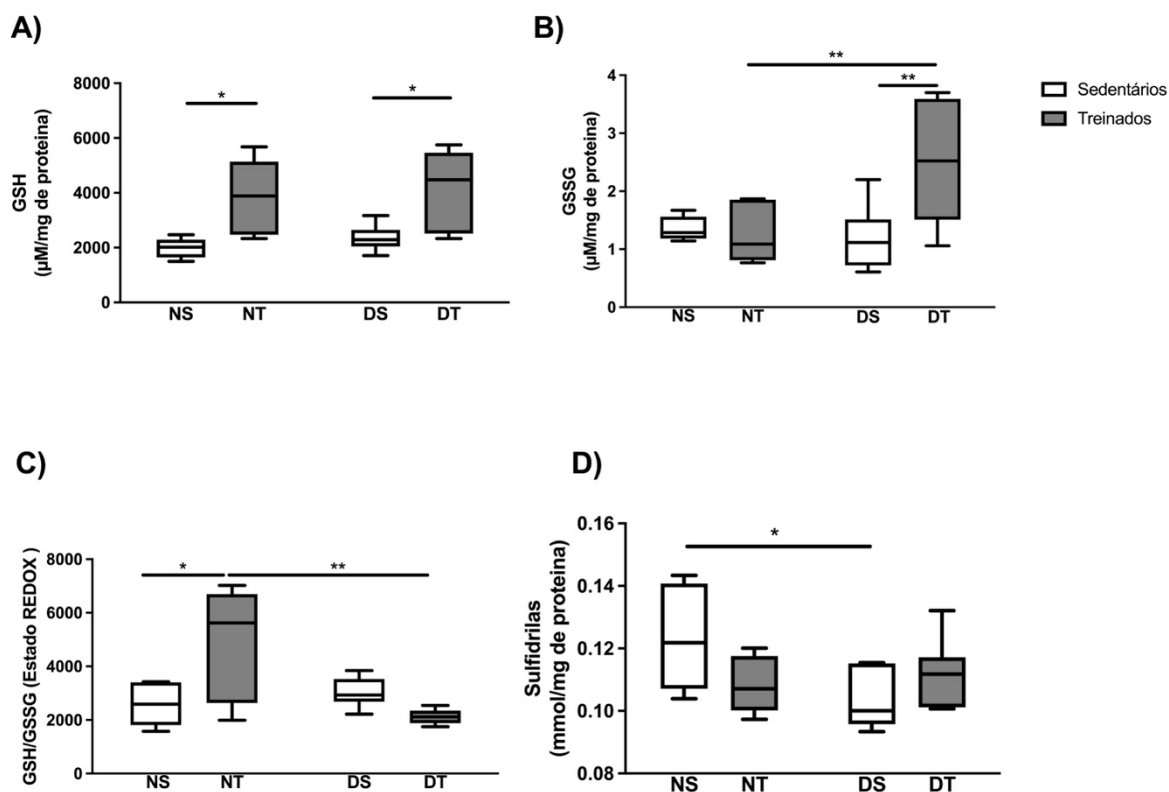
Em seguida, analisamos os níveis de GSSG (Figura 17.B). Quando comparados os grupos DS e NS não foram observadas diferenças significantes (1.231 ± 0.54 vs 1.356 ± 0.21

$\mu\text{M}/\text{mg}$ de proteína, $p = 0.98$). Adicionalmente, quando observados os níveis deste composto não enzimático nos grupos NT e NS também não se observou diferenças estatisticamente significante (1.248 ± 0.51 vs $1.356 \pm 0.281 \mu\text{M}/\text{mg}$ de proteína, $p = 0.99$). Entretanto, quando observado os dois grupos desnutridos, foi visto que os ratos treinados aumentaram significativamente em 49.26% (2.426 ± 1.00 vs $1.231 \pm 0.54 \mu\text{M}/\text{mg}$ de proteína, $p = 0.01$).

Além disso, analisamos a razão GSH/GSSG (Figura 17.C) no hipocampo destes ratos *Wistar* sob diferentes condições nutricionais. Quando comparamos os dois grupos DS e NS não foram encontradas diferenças significantes (3031.441 ± 555.81 vs 2603.214 ± 811.57 , $p = 0.92$). No entanto, quando comparamos os grupos NT e NS, observamos que os ratos que realizaram as 4 semanas de TFA obtiveram um incremento significativo de 46.39% (4855.313 ± 2136.72 vs 2603.214 ± 811.57 , $p = 0.02$), em relação aos sedentários. Por fim, nos grupos DT e DS não foram observadas diferenças significantes (2123.564 ± 276.58 vs 3031.441 ± 555.87 , $p = 0.51$).

Por fim, nós analisamos os níveis de sulfidrilas (Figura 17.D) ou tióis totais importantes removedores de substâncias tóxicas à célula. Em relação aos grupos DS e NS, os animais desnutridos apresentaram uma redução significativa de 19.53% (0.111 ± 0.01 mmol/mg de proteína vs 0.02 ± 0.02 mmol/mg de proteína, $p = 0.03$). Em seguida, comparamos os grupos NT e NS, onde não foram observadas diferenças significantes (0.109 ± 0.01 vs 0.124 ± 0.02 mmol/mg de proteína, $p = 0.20$). Por último, comparamos os grupos DT e DS, onde semelhantemente não foram encontradas diferenças significantes (0.111 ± 0.01 vs 0.103 ± 0.01 mmol/mg de proteína, $p = 0.69$).

Figura 17 - Atividade não enzimática antioxidante no hipocampo de ratos *Wistar* (normonutridos e desnutridos) após quatro semanas de TFA; A) GSH (NS = 5; DS = 8; NT = 7; DT = 9* $p=0.03$); B) GSSG (NS = 5; DS = 8; NT = 6; DT = 7, ** $p=0.02$ e $p=0.01$, respectivamente); C) Razão GSH/GSSG (NS = 5; DS = 6; NT = 5; DT = 6,* $p=0.02$, ** $p=0.004$); D) Sulfidrilas (NS = 5; DS = 7; NT = 7; DT = 7,** $p=0.03$).



7.12 Expressão Gênica de Marcadores de Estresse de Retículo Endoplasmático e Fator Neurotrófico no hipocampo de ratos *Wistar* normonutridos e desnutridos

Após concluída nossa análise associada ao estresse oxidativo, realizamos a expressão gênica dos marcadores de estresse do retículo endoplasmático. Primeiramente, avaliamos o GRP78 (Figura 18.A) que é a chaperona responsável por regular o enovelamento de proteínas regulado pela ativação de UPR. Observamos uma tendência de aumento desse marcador no grupo DS (DS: 1.945 ± 0.356 vs NS: 1.000 ± 0.151 2^{ddCt} , $p=0.08$). Quando comparamos os grupos NT e NS, não observamos significância estatística, mas uma diminuição expressiva no NT (NT: 0.141 ± 0.09 vs NS: 1.000 ± 0.151 2^{ddCt} , $p=0.126$).

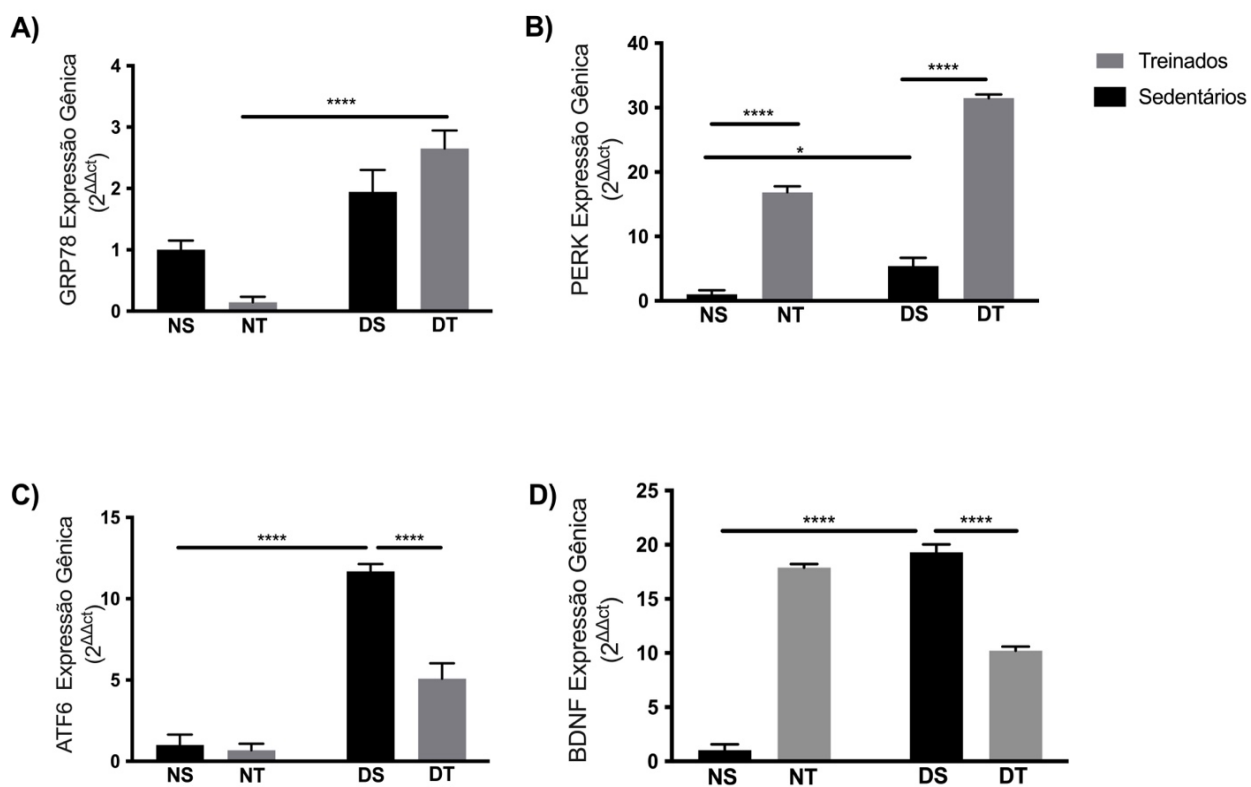
Além disso, não foram encontradas diferenças nos grupos DS e DT após 4 semanas de TFA (DT: 2.650 ± 0.291 vs DS: 1.945 ± 0.356 2^{ddCt} , $p=0.22$), porém quando comparamos NT e DT, GRP78 aumenta significativamente os níveis (NT: 0.141 ± 0.090 vs DT: 2.650 ± 0.291 2^{ddCt} , $p<0.0001$). Em seguida, avaliamos a expressão de PERK (Figura 18.B), que está presente na membrana do retículo endoplasmático e é essencial na mediação da transdução de sinal durante o estresse de retículo endoplasmático e a sobrevivência celular. O grupo DS apresentou um aumento significativo na expressão de PERK quando comparado ao grupo NS (DS: 5.443 ± 1.264 vs NS: 1.000 ± 0.662 2^{ddCt} , $p=0.01$). Então, observamos que o grupo NT

apresentou maiores níveis de expressão de PERK após 4 semanas de TFA, quando comparado ao grupo NS (NT: 16.800 ± 0.943 vs NS: $1.000 \pm 0.662 \cdot 2^{\text{ddCt}}$, $p < 0.0001$). Surpreendentemente, ao comparar os dois grupos expostos ao DPM, o grupo DT apresentou maior aumento na expressão gênica de PERK em relação ao grupo NS (DT: 31.458 ± 0.546 vs DS: $5.443 \pm 1.264 \cdot 2^{\text{ddCt}}$, $p < 0.0001$), na mesma ideia quando comparamos os dois grupos expostos ao TFA, DT apresentou maior aumento nos níveis de PERK (DT: 31.458 ± 0.546 vs NT: $16.800 \pm 0.943 \cdot 2^{\text{ddCt}}$, $p < 0.0001$).

Seguindo nossa análise, avaliamos a expressão do gene ATF6 (Figura 18.C), este gene codifica um fator de transcrição que ativa genes-alvo para a resposta de proteína desdobrada (UPR) durante o estresse de RE. O grupo DS apresentou maior expressão gênica de ATF6, quando comparado ao grupo NS (DS: 11.676 ± 0.453 vs NS: $1.000 \pm 0.645 \cdot 2^{\text{ddCt}}$, $p < 0.0001$). Por outro lado, quando comparados os grupos NT e NS, não foram encontradas diferenças significativas (NT: 0.680 ± 0.405 vs NS: $1.000 \pm 0.645 \cdot 2^{\text{ddCt}}$, $p = 0.97$). No entanto, após 4 semanas de exposição ao TFA, o grupo DT apresentou uma redução significativa na expressão de ATF6 quando comparado ao grupo DS (DT: 5.080 ± 0.946 vs DS: $11.676 \pm 0.453 \cdot 2^{\text{ddCt}}$, $p < 0.0001$), e quando comparamos ambos treinados grupos DT apresentou aumento nos níveis de ATF6 (DT: 5.080 ± 0.946 U/A vs NT: $0.680 \pm 0.405 \cdot 2^{\text{ddCt}}$, $p = 0.0005$).

Vários dados da literatura destacam a relevância do TFA na expressão do BDNF, por isso analisamos a expressão desse gene (Figure 18.D), um importante fator neurotrófico que modula a neuroplasticidade e o desenvolvimento cognitivo. O grupo DS apresentou um aumento significativo nos níveis de expressão de BDNF em relação ao grupo NS (DS: 19.286 ± 0.718 vs $1.000 \pm 0.556 \cdot 2^{\text{ddCt}}$, $p < 0.0001$). Após a intervenção TFA, o grupo NT apresentou níveis mais elevados de BDNF quando comparado ao grupo NS (NT: 17.887 ± 0.336 vs NS: $1.000 \pm 0.556 \cdot 2^{\text{ddCt}}$, $p < 0.0001$). Além disso, o grupo DT demonstrou diminuição significativa na expressão desse fator neurotrófico em relação ao grupo DS (DT: 10.210 ± 0.386 vs DS: $19.286 \pm 0.718 \cdot 2^{\text{ddCt}}$, $p < 0.0001$). Quando comparamos o efeito do treinamento, observamos que o DPM induz uma diminuição significativa nos níveis de BDNF (DT: 10.210 ± 0.386 vs NT: $17.877 \pm 0.336 \cdot 2^{\text{ddCt}}$, $p < 0.0001$).

Figura 18 - Expressão gênica (mRNA) no hipocampo de ratos Wistar (normonutridos e desnutridos) após quatro semanas de TFA; A) GRP78 (NS; n = 5; DS; n = 5; NT; n = 4; DT; n = 5, **** $p < 0.0001$); B) PERK (NS; n = 5; DS; n = 4; NT; n = 5; DT; n = 4, $p < 0.0001$); C) ATF6 (NS; n = 5; DS; n = 5; NT; n = 6; DT; n = 5, $p < 0.0001$); D) BDNF; (NS; n = 4; DS; n = 5; NT; n = 5; DT; n = 5, $p < 0.0001$).



8 DISCUSSÃO

8.1 Cortéx Pré-Frontal

Estudos demonstraram que várias áreas do cérebro, incluindo o córtex, cerebelo e tronco cerebral, quando expostas à desnutrição proteica, são mais vulneráveis ao estresse celular e à disfunção quando expostas ao metabolismo oxidativo (BONATTO; POLYDORO; ANDRADES; CONTE DA FROTA *et al.*, 2006). Para testar isso, investigamos os efeitos do TFA sobre marcadores bioenergéticos mitocondriais, balanço oxidativo e expressão gênica relacionada ao estresse do RE no CPF de ratos Wistar submetidos a DPM, durante períodos críticos de crescimento e desenvolvimento. Em resumo, nosso trabalho observou que o TFA foi capaz de restaurar as alterações causadas pela restrição proteica materna nos indicadores de bioenergética mitocondrial, sistema de defesa antioxidante e estresse de RE no CPF.

Inicialmente, nossos dados demonstraram níveis aumentados de citrato sintase e marcadores NADH do metabolismo oxidativo no grupo DT. Estudos anteriores sugeriram que DPM pode promover danos à função mitocondrial, incluindo a redução do potencial elétrico de membrana e consumo de oxigênio em tecidos centrais e periféricos, o que pode causar disfunção mitocondrial. Essa condição está associada a vários fatores, incluindo produção excessiva de EROs, redução das defesas antioxidantes e desregulação do metabolismo do cálcio (DE SOUSA; BRAZ; FREITAS; DE SANTANA *et al.*, 2018). Pedroza *et al.*, utilizando o mesmo modelo de MPM associado ao TFA, observaram resultados semelhantes na atividade do citrato sintase e NADH. Além disso, após a intervenção, os ratos treinados apresentaram aumento no consumo de oxigênio e na taxa de controle respiratório mitocondrial, apontando para a eficácia deste protocolo em promover adaptações no controle mitocondrial sob condições nutricionais desfavoráveis, e assim proporcionar proteção contra o surgimento de condições patológicas durante idade adulta (SILVA PEDROZA; BERNARDO; PEREIRA; ANDRADE SILVA *et al.*, 2021). Isso sugere que o TFA pode melhorar a bioenergética mitocondrial em diferentes tecidos.

Em seguida, analisamos os níveis de MDA e carbonila indicativos de estresse oxidativo, bem como as defesas antioxidantes enzimáticas e não enzimáticas. Após 4 semanas, o grupo DT apresentou diminuição na oxidação de proteínas, aumento na atividade de SOD, CAT e GST. Grupo carbonilas, na forma de aldeídos e cetonas, são encontrados nas cadeias laterais de proteínas, especialmente através da oxidação de aminoácidos, incluindo arginina, lisina e treonina (ELLIS, 2007). A oxidação excessiva desse componente biológico no cérebro está relacionada a distúrbios comportamentais e doenças neurodegenerativas, como

Alzheimer e Parkinson (CHEN; ZHONG, 2014). Portanto, para mitigar a superprodução de EROs, a ação de diferentes defesas antioxidantes é essencial.

Principalmente, a SOD catalisa a reação do ânion superóxido em peróxido de hidrogênio, que é então desintoxicado em oxigênio e água pela catalase. Por outro lado, a GST atua de forma integrativa catalisando a conjugação de GSH a substratos xenobióticos para desintoxicar o ambiente intracelular. Corroborando nossos achados, Moradi-Kor observou alta atividade de SOD e glutathione peroxidase no CPF após 15 dias de exercício físico voluntário em ratas Wistar adolescentes em um modelo de ansiedade e depressão (MORADI-KOR; DADKHAH; GHANBARI; RASHIDIPOUR *et al.*, 2020). Além disso, estudos de revisão sistemática e meta-análise realizados por De Souza confirmam que o exercício aeróbico pode aumentar a capacidade antioxidante em diferentes regiões do cérebro e promover benefícios na morfologia e funcionalidade (DE SOUZA; DE MORAES; AUGUSTO; DE FREITAS ZANONA *et al.*, 2019).

O sistema não enzimático também desempenha um papel fundamental no combate ao dano oxidativo, atuando em simbiose com antioxidantes enzimáticos (FORMAN; ZHANG; RINNA, 2009). GSH desempenha um papel fundamental na remoção de espécies reativas. Além disso, esses componentes atuam em conjunto com suas enzimas, conhecidas como sistema glutathione, responsável pela desintoxicação de EROs e espécies nitrogenadas (ENS) e eletrófilos produzidos por xenobióticos (SIES, 1999).

Por outro lado, nosso estudo observou que a desnutrição proteica é responsável pela diminuição dos níveis de GSH e tióis totais, reduzindo a eficácia da resposta antioxidante. Esses achados estão de acordo com outros trabalhos em tecidos centrais e periféricos, que observaram a mesma resposta. No entanto, quando a intervenção com TFA foi realizada em intensidade moderada, os níveis de GSH e tióis totais aumentaram significativamente. Esses resultados diferem de Neves e colaboradores (NEVES; MENEZES; SOUZA; MELLO-CARPES, 2015), que não observaram aumento dos níveis de GSH após 8 semanas de TFA no CPF e hipocampo de ratos Wistar submetidos à DPM. A variabilidade na estrutura do treinamento físico em relação à intensidade, duração e frequência pode estar relacionada à discrepância desses resultados (POWERS; RADAK; JI, 2016).

Para entender os possíveis mecanismos envolvidos no efeito DPM e TFA, avaliamos os marcadores de estresse do RE e o BDNF, importantes reguladores do neurodesenvolvimento e da função cognitiva (SCHWARZ; BLOWER, 2016). Nossos dados identificaram que o TFA foi capaz de reverter os efeitos da desnutrição proteica ao diminuir significativamente a expressão de GRP78 e ATF6, componentes importantes na via de

sinalização das células de estresse do RE. Nosso trabalho é o primeiro estudo a avaliar os efeitos do TFA sob condições de déficit proteico no estresse do RE no CPF. Apesar disso, pesquisas com diferentes tecidos como sangue, coração e músculo esquelético e modelos experimentais, incluindo estudos em humanos, demonstraram que a diminuição da expressão desses fatores pelo TFA promove proteção contra doenças cardiometabólicas e neurodegenerativas, embora os mecanismos de promoção desses fatores benéficos não foram totalmente elucidados (DE VICENTE; PINTO; MUÑOZ; ROVINA *et al.*, 2020).

Surpreendentemente, os níveis de BDNF foram menores após TFA em um estudo de DT. Wang e Xu, 2007 sugerindo que a exposição à desnutrição proteica é capaz de reduzir significativamente os níveis de BDNF, levando a pior memória e diminuição do desempenho de aprendizagem em ratos (WANG; XU, 2007). Nossos dados concordam com outros dados apresentados na literatura, onde diferentes modalidades de exercício físico têm sido relatadas como responsáveis pelo aumento dos níveis de BDNF, resultando em altos níveis de plasticidade neuronal e melhora na função cognitiva (DE SOUSA FERNANDES; ORDÔNIO; SANTOS; SANTOS *et al.*, 2020). Como existem poucos estudos sobre a relação entre TFA e BDNF em condições de DPM, estudos futuros em tecido cerebral precisam ser realizados para determinar qual poderia ser a relação causal entre esses parâmetros.

8.2 Hipocampo

Nosso estudo teve como objetivo investigar os efeitos do treinamento físico moderado sobre a função mitocondrial, equilíbrio oxidativo, marcadores de estresse de RE e níveis de fatores neutróficos no hipocampo de ratas Wistar expostas ao DPM, durante o período de gestação e lactação. Nossos dados sugerem que o TFA foi capaz de mitigar as modificações negativas promovidas pela restrição proteica no hipocampo. Além do efeito positivo na função mitocondrial e no equilíbrio oxidativo, observamos que o TFA diminui alguns marcadores de estresse do RE e aumenta os níveis de BDNF.

Dados consistentes na literatura indicam que a privação de proteínas promove alterações deletérias na função mitocondrial e no equilíbrio NAD⁺/NADH em diferentes tecidos (RUSHMORE; MCGAUGHY; MOKLER; ROSENE, 2020; SILVA, S. C. A.; BRAZ, G. R. F.; DO NASCIMENTO, L. C. P.; SANTANA, D. F. *et al.*, 2019). A interrupção do equilíbrio NAD⁺/NADH está ligada à gênese de doenças crônico-degenerativas, incluindo cardiovasculares, neurodegenerativas e vários tipos de câncer (BIANCHI; HERRERA; LAURA, 2021; HÉBUTERNE; LEMARIÉ; MICHALLET; DE MONTREUIL *et al.*, 2014;

NORMAN; PICHARD; LOCHS; PIRLICH, 2008; PEEV; NAYER; CONTRERAS, 2014). Associados a essas patologias, também foram encontrados impactos deletérios da desnutrição materna em parâmetros comportamentais, psiquiátricos e cognitivos, incluindo memória e aprendizado (DE SOUZA; FERNANDES; DO CARMO, 2011; KIMURA; SUGIMOTO; KITAMORI; SAJI *et al.*, 2019). Dados recentes publicados com o mesmo modelo de TFA em tecido cardíaco de ratos indicam que a TFA foi capaz de restaurar os níveis de bioenergética mitocondrial mesmo sob condições de privação de proteínas (SILVA PEDROZA; BERNARDO; PEREIRA; ANDRADE SILVA *et al.*, 2021). Associado aos níveis de NAD⁺/NADH, medimos a atividade da citrato sintase no músculo sóleo e no hipocampo, enzima chave do ciclo de Krebs e do metabolismo oxidativo (REMYINGTON, 1992). Estudo anterior mostrou que o exercício físico aeróbico aumenta a atividade da citrato sintase, resultando em maior produção de ATP e melhor metabolismo oxidativo (RODRIGUES; GOBATTO; FORTE; SOUSA *et al.*, 2021). Esses dados corroboram com nossos dados, sugerindo que além do insulto nutricional, o TFA em ratos juvenis pode melhorar a função mitocondrial.

Após essas primeiras observações no metabolismo, avaliamos os biomarcadores EO, medindo os níveis de oxidação lipídica e proteica. Nossos dados não observaram diferença significativa após 4 semanas de TFA em ratos juvenis. Em contraste com nossos resultados, evidências demonstram a capacidade do exercício físico de diminuir os níveis de indicadores relacionados ao EO (DE SOUSA; SALES; ROSA; LEWIS *et al.*, 2017; POWERS; RADAK; JI, 2016). As discrepâncias entre nossos dados e dados anteriores da literatura podem estar associadas à estrutura do protocolo de treinamento físico (volume-intensidade, duração da sessão, idade que foi aplicada etc.), bem como à individualidade dos organismos no treinamento respostas. Além disso, é importante destacar que nosso estudo é o primeiro foco no hipocampo, onde o protocolo de treinamento foi realizado em ratos na faixa de 30-60 dias de vida e em ratos expostos a DPM durante o período de desenvolvimento. Apesar de não haver diminuição dos marcadores de EO, nosso TFA também não aumentou, ou seja, nosso protocolo de TFA não induziu estresse capaz de provocar um EO significativo.

Além das não diferenças observadas nos biomarcadores de EO, analisamos ainda as possíveis respostas do TFA sob condições de MPM no sistema antioxidante enzimático e não enzimático. No grupo DT houve aumento significativo nos níveis de SOD, CAT e GST. Corroborando com nossos resultados, diferentes tipos de estudos apoiam a eficácia do exercício aeróbico de intensidade moderada na melhora da atividade antioxidante (BANERJEE; MANDAL; CHANDA; CHAKRABORTI, 2003; RISTOW; ZARSE;

OBERBACH; KLÖTING *et al.*, 2009; SILVA PEDROZA; BERNARDO; PEREIRA; ANDRADE SILVA *et al.*, 2021). Avaliando as defesas antioxidantes não enzimáticas, que atuam integradas com os componentes antioxidantes enzimáticos, observamos que nos grupos DPM houve diminuição nos níveis de GSH. Esses dados concordam com Pedroza *et al.* (SILVA PEDROZA; BERNARDO; PEREIRA; ANDRADE SILVA *et al.*, 2021) em tecido cardíaco, onde os autores observaram o mesmo efeito da DPM. No entanto, quando realizamos a intervenção de TFA moderado, os níveis de GSH aumentaram significativamente no grupo DT. Lech e colaboradores. (2021), observaram em ratos durante o período de desenvolvimento pré-natal inicial que a redução dos níveis de GSH no hipocampo estava relacionada ao surgimento de comportamento esquizofrênico, demonstrando que a manutenção desse composto é essencial para a prevenção de doenças psiquiátricas e neurodegenerativas, distúrbios e condições (LECH; LEŚKIEWICZ; KAMIŃSKA; ROGÓŻ *et al.*, 2021). Além do GSH, observamos uma diminuição significativa nos níveis totais de tióis no grupo DS em relação ao grupo DS.

Este composto é caracterizado por um átomo de enxofre ligado a um hidrogênio, sendo fundamental na supressão de xenobióticos associados ao EO e danos celulares. A privação de proteínas tem efeitos deletérios nos níveis de compostos que afetam diretamente a homeostase celular, podendo gerar alterações graves em diferentes tecidos cerebrais e periféricos (DE SOUSA; BRAZ; FREITAS; DE SANTANA *et al.*, 2018; PEDROZA; FERREIRA; SANTANA; DA SILVA *et al.*, 2019; SILVA, S. C. A.; BRAZ, G. R. F.; DO NASCIMENTO, L. C. P.; SANTANA, D. F. *et al.*, 2019). Nossos dados combinados com dados da literatura sugerem que DPM aumenta o risco para a gênese de doenças neurodegenerativas pelo aumento de EO principalmente pela diminuição do sistema de defesa antioxidante.

Nossos dados combinados com dados da literatura sugerem que MPM aumenta o risco para a gênese de doenças neurodegenerativas pelo aumento de EO principalmente pela diminuição do sistema de defesa antioxidante (IBRAHIM; ABDELMALEK; ELFIKY, 2019). Sob condições desfavoráveis, como DPM, o aumento de GRP78 pode promover estresse celular. Evidências mostram que a superexpressão de GRP78 está associada à sinalização de diferentes doenças crônicas, incluindo câncer (IBRAHIM; ABDELMALEK; ELFIKY, 2019). Indo na mesma direção, observamos que PERK no grupo DT, aumentou sua regulado, sabe-se que este gene tem ações importantes no ambiente celular, como sinalizar a resposta de proteínas mal dobradas e estresse celular (VERFAILLIE; RUBIO; GARG; BULTYNCK *et al.*, 2012). Estudos mostram que PERK pode controlar a homeostase do tecido ósseo, através da regulação e diferenciação de osteoclastos (GUO; REN; SUN; YAO *et al.*, 2020). Por outro

lado, a falha na sinalização PERK está relacionada ao início e desenvolvimento da neurodegeneração (SMEDLEY; WALKER; YUAN, 2021). Em uma direção oposta observada em GRP78 e PERK, nossos dados mostraram que a expressão de ATF6 foi significativamente reduzida no grupo DT. Sabe-se que a regulação positiva desses genes está envolvida na sinalização de estresse do RE, que no hipocampo pode estar relacionada a disfunções nas funções cognitivas, incluindo memória e aprendizado e estabelecimento de comportamento depressivo (HUANG; HU; YIN; WANG *et al.*, 2015; MAO; HU; RUAN; JI *et al.*, 2019). Em colaboração com nossos dados, podemos especular que 4 semanas de treinamento físico moderado reduzem em parte os efeitos deletérios da DPM. Porém, mais estudos são necessários para verificar se mais semanas de treinamento físico moderado são capazes de reverter totalmente o efeito deletério da DPM no hipocampo ou se os efeitos induzidos pela DPM promovem ativação da cascata de estresse do RE que não pode ser revertida com exercício físico moderado.

Por fim, mas não menos importante, avaliamos a expressão do BDNF, fator neurotrófico chave no desenvolvimento da plasticidade cerebral, cognição e associado à prevenção da neurodegeneração. Nossos dados demonstram um aumento significativo na expressão de BDNF em NT, o que corrobora com dados anteriores da literatura onde foi demonstrado que o exercício físico melhora os níveis de BDNF. No entanto, para nossa surpresa, em ratos juvenis submetidos a DPM e DPM mais exercício físico, os resultados do BDNF foram opostos ao que esperávamos. Podemos especular que o aumento observado nos níveis de mRNA no DS está associado aos baixos níveis da proteína, uma vez que foi publicado anteriormente por Mesquita *et al.* (2002) e Burgos *et al.* (2019) que em ratos desnutridos pré-natais, a concentração de proteína BDNF é diminuída, levando a uma estimulação constante no hipocampo para aumentar o mRNA para BDNF para atender aos requisitos de proteína BDNF (BURGOS; HERNÁNDEZ; CONSTANDIL; RÍOS *et al.*, 2019; MESQUITA; PEREIRA; ANDRADE, 2002).

9 CONCLUSÃO

O treinamento físico aeróbio em intensidade moderada durante o período de quatro semanas foi capaz de promover melhoria em indicadores de funcionalidade mitocondrial, biomarcadores de estresse oxidativo, defesas antioxidante enzimática e não enzimática, e em marcadores de estresse de retículo endoplasmático no córtex pré-frontal e hipocampo de ratos machos Wistar submetidos a desnutrição proteica materna.

REFERÊNCIAS

- AEBI, H. Catalase in vitro. **Methods Enzymol**, 105, p. 121-126, 1984.
- AKSENOV, M. Y.; MARKESBERY, W. R. Changes in thiol content and expression of glutathione redox system genes in the hippocampus and cerebellum in Alzheimer's disease. **Neuroscience letters**, 302, n. 2-3, p. 141-145, 2001.
- ALABDULADHEM, T. O.; BORDONI, B. Physiology, Krebs Cycle. *In*: **StatPearls**. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing Copyright © 2021, StatPearls Publishing LLC., 2021.
- ALKADI, H. A Review on Free Radicals and Antioxidants. **Infect Disord Drug Targets**, 20, n. 1, p. 16-26, 2020.
- ALMANZA, A.; CARLESSO, A.; CHINTHA, C.; CREEDICAN, S. *et al.* Endoplasmic reticulum stress signalling - from basic mechanisms to clinical applications. **Febs j**, 286, n. 2, p. 241-278, Jan 2019.
- ALP, P. R.; NEWSHOLME, E. A.; ZAMMIT, V. A. Activities of citrate synthase and NAD⁺-linked and NADP⁺-linked isocitrate dehydrogenase in muscle from vertebrates and invertebrates. **Biochemical Journal**, 154, n. 3, p. 689-700, 1976.
- AMPONG, I.; WATKINS, A.; GUTIERREZ-MERINO, J.; IKWUOBE, J. *et al.* Dietary protein insufficiency: an important consideration in fatty liver disease? **British Journal of Nutrition**, 123, n. 6, p. 601-609, 2020.
- AMPONG, I.; WATKINS, A.; GUTIERREZ-MERINO, J.; IKWUOBE, J. *et al.* Dietary protein insufficiency: an important consideration in fatty liver disease? 123, n. 6, p. 601-609, Mar 28 2020.
- ANACKER, C.; HEN, R. Adult hippocampal neurogenesis and cognitive flexibility - linking memory and mood. **Nat Rev Neurosci**, 18, n. 6, p. 335-346, Jun 2017.
- ANOKHIN, A. P. The genetics of brain function and psychophysiology: An introduction to the special issue. **Int J Psychophysiol**, 115, p. 1-3, May 2017.
- ARAGHI-NIKNAM, M.; FATEMI, S. H. Levels of Bcl-2 and P53 are altered in superior frontal and cerebellar cortices of autistic subjects. **Cellular and molecular neurobiology**, 23, n. 6, p. 945-952, 2003.
- ASHRAF, N. U.; SHEIKH, T. A. Endoplasmic reticulum stress and Oxidative stress in the pathogenesis of Non-alcoholic fatty liver disease. **Free Radic Res**, 49, n. 12, p. 1405-1418, 2015.
- BACK, S. H.; KAUFMAN, R. J. Endoplasmic reticulum stress and type 2 diabetes. **Annu Rev Biochem**, 81, p. 767-793, 2012.
- BAHMANI, Z.; CLARK, K.; MERRIKHI, Y.; MUELLER, A. *et al.* Prefrontal Contributions to Attention and Working Memory. **Curr Top Behav Neurosci**, 41, p. 129-153, 2019.
- BALLARD, C.; GAUTHIER, S.; CORBETT, A.; BRAYNE, C. *et al.* Alzheimer's disease. **Lancet**, 377, n. 9770, p. 1019-1031, Mar 19 2011.
- BANERJEE, A. K.; MANDAL, A.; CHANDA, D.; CHAKRABORTI, S. Oxidant, antioxidant and physical exercise. **Mol Cell Biochem**, 253, n. 1-2, p. 307-312, Nov 2003.

- BANNERMAN, D. M.; RAWLINS, J. N.; MCHUGH, S. B.; DEACON, R. M. *et al.* Regional dissociations within the hippocampus--memory and anxiety. **Neurosci Biobehav Rev**, 28, n. 3, p. 273-283, May 2004.
- BAÑULS, C.; DE MARAÑÓN, A. M.; CASTRO-VEGA, I.; LÓPEZ-DOMÉNECH, S. *et al.* Role of Endoplasmic Reticulum and Oxidative Stress Parameters in the Pathophysiology of Disease-Related Malnutrition in Leukocytes of an Outpatient Population. **Nutrients**, 11, n. 8, Aug 8 2019.
- BARBOSA, K. B. F.; COSTA, N. M. B.; ALFENAS, R. D. C. G.; DE PAULA, S. O. *et al.* Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. **Revista de nutrição**, 23, p. 629-643, 2010.
- BARTSCH, T.; WULFF, P. The hippocampus in aging and disease: From plasticity to vulnerability. **Neuroscience**, 309, p. 1-16, Nov 19 2015.
- BAST, A.; VAN DER PLAS, R. M.; VAN DEN BERG, H.; HAENEN, G. R. Beta-carotene as antioxidant. **Eur J Clin Nutr**, 50 Suppl 3, p. S54-56, Jul 1996.
- BATISTA, T. H.; VERONESI, V. B.; RIBEIRO, A.; GIUSTI-PAIVA, A. *et al.* Protein malnutrition during pregnancy alters maternal behavior and anxiety-like behavior in offspring. **Nutr Neurosci**, 20, n. 8, p. 437-442, Oct 2017.
- BEITZ, J. M. Parkinson's disease: a review. **Front Biosci (Schol Ed)**, 6, n. 1, p. 65-74, Jan 1 2014.
- BEKINSCHTEIN, P.; CAMMAROTA, M.; MEDINA, J. H. BDNF and memory processing. **Neuropharmacology**, 76 Pt C, p. 677-683, Jan 2014.
- BELCHIOR, A. C. S.; FREIRE-JÚNIOR, D. D.; DA COSTA, C. P.; VASSALLO, D. V. Post-weaning protein malnutrition induces myocardial dysfunction associated with oxidative stress and altered calcium handling proteins in adult rats. Feb 8 2021.
- BELLETTIERE, J.; HEALY, G. N.; LAMONTE, M. J.; KERR, J. *et al.* Sedentary Behavior and Prevalent Diabetes in 6,166 Older Women: The Objective Physical Activity and Cardiovascular Health Study. **J Gerontol A Biol Sci Med Sci**, 74, n. 3, p. 387-395, Feb 15 2019.
- BEN-ZEEV, T.; SHOENFELD, Y.; HOFFMAN, J. R. The Effect of Exercise on Neurogenesis in the Brain. **Isr Med Assoc J**, 24, n. 8, p. 533-538, Aug 2022.
- BHATTI, J. S.; BHATTI, G. K.; REDDY, P. H. Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in metabolic disorders - A step towards mitochondria based therapeutic strategies. **Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis**, 1863, n. 5, p. 1066-1077, May 2017.
- BHUTTA, Z. A.; BERKLEY, J. A.; BANDSMA, R. H. J.; KERAC, M. *et al.* Severe childhood malnutrition. **Nat Rev Dis Primers**, 3, p. 17067, Sep 21 2017.
- BIANCHI, V. E.; HERRERA, P. F.; LAURA, R. Effect of nutrition on neurodegenerative diseases. A systematic review. **Nutr Neurosci**, 24, n. 10, p. 810-834, Oct 2021.
- BIDDLE, S. J. H.; GARCÍA BENGOCHEA, E.; PEDISIC, Z.; BENNIE, J. *et al.* Screen Time, Other Sedentary Behaviours, and Obesity Risk in Adults: A Review of Reviews. **Curr Obes Rep**, 6, n. 2, p. 134-147, Jun 2017.

BONATTO, F.; POLYDORO, M.; ANDRADES, M. E.; CONTE DA FROTA, M. L., JR. *et al.* Effects of maternal protein malnutrition on oxidative markers in the young rat cortex and cerebellum. **Neurosci Lett**, 406, n. 3, p. 281-284, Oct 9 2006.

BOUVIERE, J.; FORTUNATO, R. S.; DUPUY, C.; WERNECK-DE-CASTRO, J. P. *et al.* Exercise-Stimulated ROS Sensitive Signaling Pathways in Skeletal Muscle. 10, n. 4, Mar 30 2021.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical biochemistry**, 72, n. 1-2, p. 248-254, 1976.

BRANCO, R. C. S.; CAMARGO, R. L.; BATISTA, T. M.; VETTORAZZI, J. F. *et al.* Protein malnutrition blunts the increment of taurine transporter expression by a high-fat diet and impairs taurine reestablishment of insulin secretion. **Faseb j**, 31, n. 9, p. 4078-4087, Sep 2017.

BRAZ, G. R.; FERREIRA, D. S.; PEDROZA, A. A.; DA SILVA, A. I. *et al.* Effect of moderate exercise on peritoneal neutrophils from juvenile rats. **Appl Physiol Nutr Metab**, 40, n. 9, p. 959-962, Sep 2015.

BRAZ, G. R.; PEDROZA, A. A.; NOGUEIRA, V. O.; DE VASCONCELOS BARROS, M. A. *et al.* Serotonin modulation in neonatal age does not impair cardiovascular physiology in adult female rats: Hemodynamics and oxidative stress analysis. **Life Sci**, 145, p. 42-50, Jan 15 2016.

BUEGE, J. A.; AUST, S. D. [30] Microsomal lipid peroxidation. *In: Methods in enzymology*: Elsevier, 1978. v. 52, p. 302-310.

BURGOS, H.; HERNÁNDEZ, A.; CONSTANDIL, L.; RÍOS, M. *et al.* Early postnatal environmental enrichment restores neurochemical and functional plasticities of the cerebral cortex and improves learning performance in hidden-prenatally-malnourished young-adult rats. **Behav Brain Res**, 363, p. 182-190, May 2 2019.

CALABRESI, P.; CASTRIOTO, A.; DI FILIPPO, M.; PICCONI, B. New experimental and clinical links between the hippocampus and the dopaminergic system in Parkinson's disease. **Lancet Neurol**, 12, n. 8, p. 811-821, Aug 2013.

CALIXTO, A. Life without Food and the Implications for Neurodegeneration. **Adv Genet**, 92, p. 53-74, 2015.

CAPUTO, F.; OLIVEIRA, M. F. M. D.; GRECO, C. C.; DENADAI, B. S. Exercício aeróbio: Aspectos bioenergéticos, ajustes fisiológicos, fadiga e índices de desempenho. **Rev Bras Cineantropom Desempenho Hum**, 11, n. 1, p. 94-102, 2009.

CARPER, R. A.; COURCHESNE, E. Localized enlargement of the frontal cortex in early autism. **Biol Psychiatry**, 57, n. 2, p. 126-133, Jan 15 2005.

CHAKRABORTHY, A.; RAMANI, P.; SHERLIN, H. J.; PREMKUMAR, P. *et al.* Antioxidant and pro-oxidant activity of Vitamin C in oral environment. **Indian J Dent Res**, 25, n. 4, p. 499-504, Jul-Aug 2014.

CHEN, Z.; ZHONG, C. Oxidative stress in Alzheimer's disease. **Neurosci Bull**, 30, n. 2, p. 271-281, Apr 2014.

CHENG, F.; DUN, Y.; CHENG, J.; RIPLEY-GONZALEZ, J. W. *et al.* Exercise activates autophagy and regulates endoplasmic reticulum stress in muscle of high-fat diet mice to alleviate insulin resistance. **Biochem Biophys Res Commun**, 601, p. 45-51, Apr 23 2022.

CHOI, J.; CHANDRASEKARAN, K.; DEMAREST, T. G.; KRISTIAN, T. *et al.* Brain diabetic neurodegeneration segregates with low intrinsic aerobic capacity. **Ann Clin Transl Neurol**, 1, n. 8, p. 589-604, Aug 2014.

CHOPRA, J. S. Neurological consequences of protein and protein-calorie undernutrition. **Crit Rev Neurobiol**, 6, n. 2, p. 99-117, 1991.

CHRISTIANS, J. K.; SHERGILL, H. K.; ALBERT, A. Y. K. Sex-dependent effects of prenatal food and protein restriction on offspring physiology in rats and mice: systematic review and meta-analyses. **Biol Sex Differ**, 12, n. 1, p. 21, Feb 9 2021.

CURI, R.; LAGRANHA, C. J.; G JR, J. R.; PITHON-CURI, T. C. *et al.* Ciclo de Krebs como fator limitante na utilização de ácidos graxos durante o exercício aeróbico. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, 47, n. 2, p. 135-143, 2003.

DA SILVA PEDROZA, A. A.; LOPES, A.; MENDES DA SILVA, R. F.; BRAZ, G. R. *et al.* Can fish oil supplementation and physical training improve oxidative metabolism in aged rat hearts? **Life Sci**, 137, p. 133-141, Sep 15 2015.

DALLE-DONNE, I.; ROSSI, R.; GIUSTARINI, D.; MILZANI, A. *et al.* Protein carbonyl groups as biomarkers of oxidative stress. **Clinica chimica acta**, 329, n. 1-2, p. 23-38, 2003.

DANDEKAR, A.; MENDEZ, R.; ZHANG, K. Cross talk between ER stress, oxidative stress, and inflammation in health and disease. **Methods Mol Biol**, 1292, p. 205-214, 2015.

DAS, T.; HWANG, J. J.; POSTON, K. L. Episodic recognition memory and the hippocampus in Parkinson's disease: A review. **Cortex**, 113, p. 191-209, Apr 2019.

DE BANDT, J. P. [Understanding the pathophysiology of malnutrition for better treatment]. **Ann Pharm Fr**, 73, n. 5, p. 332-335, Sep 2015.

DE FLORES, R.; LA JOIE, R.; CHÉTELAT, G. Structural imaging of hippocampal subfields in healthy aging and Alzheimer's disease. **Neuroscience**, 309, p. 29-50, Nov 19 2015.

DE LUCA, A.; HANKARD, R.; BORYS, J. M.; SINNETT, D. *et al.* Nutriepigenomics and malnutrition. **Epigenomics**, 9, n. 6, p. 893-917, Jun 2017.

DE SOUSA, C. V.; SALES, M. M.; ROSA, T. S.; LEWIS, J. E. *et al.* The Antioxidant Effect of Exercise: A Systematic Review and Meta-Analysis. **Sports Med**, 47, n. 2, p. 277-293, Feb 2017.

DE SOUSA FERNANDES, M. S.; ORDÔNIO, T. F.; SANTOS, G. C. J.; SANTOS, L. E. R. *et al.* Effects of Physical Exercise on Neuroplasticity and Brain Function: A Systematic Review in Human and Animal Studies. **Neural Plast**, 2020, p. 8856621, 2020.

DE SOUSA, S. M.; BRAZ, G. R. F.; FREITAS, C. M.; DE SANTANA, D. F. *et al.* Oxidative injuries induced by maternal low-protein diet in female brainstem. **Nutr Neurosci**, 21, n. 8, p. 580-588, Oct 2018.

DE SOUZA, A. S.; FERNANDES, F. S.; DO CARMO, M. Effects of maternal malnutrition and postnatal nutritional rehabilitation on brain fatty acids, learning, and memory. **Nutr Rev**, 69, n. 3, p. 132-144, Mar 2011.

- DE SOUZA, R. F.; DE MORAES, S. R. A.; AUGUSTO, R. L.; DE FREITAS ZANONA, A. *et al.* Endurance training on rodent brain antioxidant capacity: A meta-analysis. **Neurosci Res**, 145, p. 1-9, Aug 2019.
- DE VICENTE, L. G.; PINTO, A. P.; MUÑOZ, V. R.; ROVINA, R. L. *et al.* Tlr4 participates in the responses of markers of apoptosis, inflammation, and ER stress to different acute exercise intensities in mice hearts. **Life Sci**, 240, p. 117107, Jan 1 2020.
- DESPRÉS, J. P. Physical Activity, Sedentary Behaviours, and Cardiovascular Health: When Will Cardiorespiratory Fitness Become a Vital Sign? **Can J Cardiol**, 32, n. 4, p. 505-513, Apr 2016.
- DEUTZ, N. E.; BAUER, J. M.; BARAZZONI, R.; BIOLO, G. *et al.* Protein intake and exercise for optimal muscle function with aging: recommendations from the ESPEN Expert Group. **Clin Nutr**, 33, n. 6, p. 929-936, Dec 2014.
- DIONÍSIO, P. A.; AMARAL, J. D.; RODRIGUES, C. Oxidative stress and regulated cell death in Parkinson's disease. **Ageing Res Rev**, p. 101263, Feb 1 2021.
- DONG, J.; ZHAO, J.; LIN, Y.; LIANG, H. *et al.* Exercise improves recognition memory and synaptic plasticity in the prefrontal cortex for rats modelling vascular dementia. **Neurol Res**, 40, n. 1, p. 68-77, Jan 2018.
- DOS REIS ARAUJO, T.; LUBACZEUSKI, C.; CARNEIRO, E. M. Effects of double burden malnutrition on energetic metabolism and glycemic homeostasis: A narrative review. **Life Sci**, 307, p. 120883, Oct 15 2022.
- ELLIS, E. M. Reactive carbonyls and oxidative stress: potential for therapeutic intervention. **Pharmacol Ther**, 115, n. 1, p. 13-24, Jul 2007.
- ELLMAN, G. L. Tissue sulfhydryl groups. **Archives of biochemistry and biophysics**, 82, n. 1, p. 70-77, 1959.
- ESTÉBANEZ, B.; DE PAZ, J. A.; CUEVAS, M. J.; GONZÁLEZ-GALLEGO, J. Endoplasmic Reticulum Unfolded Protein Response, Aging and Exercise: An Update. **Front Physiol**, 9, p. 1744, 2018.
- FÁVARO-MOREIRA, N. C.; KRAUSCH-HOFMANN, S.; MATTHYS, C.; VEREECKEN, C. *et al.* Risk Factors for Malnutrition in Older Adults: A Systematic Review of the Literature Based on Longitudinal Data. **Adv Nutr**, 7, n. 3, p. 507-522, May 2016.
- FERNANDES, M. S.; PEDROZA, A. A.; DE ANDRADE SILVA, S. C.; DE LEMOS, M. D. T. *et al.* Undernutrition during development modulates endoplasmic reticulum stress genes in the hippocampus of juvenile rats: Involvement of oxidative stress. **Brain Res**, 1797, p. 148098, Sep 23 2022.
- FERREIRA, D.; PEDROZA, A.; BRAZ, G.; FERNANDES, M. *et al.* Mitochondrial dysfunction: maternal protein restriction as a trigger of reactive species overproduction and brainstem energy failure in male offspring brainstem. **Nutritional neuroscience**, 22, n. 11, p. 778-788, 2019.
- FERREIRA, D. J. S.; DA SILVA PEDROZA, A. A.; BRAZ, G. R. F.; DA SILVA-FILHO, R. C. *et al.* Mitochondrial bioenergetics and oxidative status disruption in brainstem of weaned rats: Immediate response to maternal protein restriction. **Brain Res**, 1642, p. 553-561, Jul 1 2016.

- FERREIRA, D. J. S.; PEDROZA, A. A.; BRAZ, G. R. F.; FERNANDES, M. P. *et al.* Mitochondrial dysfunction: maternal protein restriction as a trigger of reactive species overproduction and brainstem energy failure in male offspring brainstem. **Nutr Neurosci**, 22, n. 11, p. 778-788, Nov 2019.
- FERREIRA, D. S.; LIU, Y.; FERNANDES, M. P.; LAGRANHA, C. J. Perinatal low-protein diet alters brainstem antioxidant metabolism in adult offspring. **Nutr Neurosci**, 19, n. 8, p. 369-375, Oct 2016.
- FORMAN, H. J.; ZHANG, H.; RINNA, A. Glutathione: overview of its protective roles, measurement, and biosynthesis. **Mol Aspects Med**, 30, n. 1-2, p. 1-12, Feb-Apr 2009.
- GENOVESIO, A.; TSUJIMOTO, S.; NAVARRA, G.; FALCONE, R. *et al.* Autonomous encoding of irrelevant goals and outcomes by prefrontal cortex neurons. **J Neurosci**, 34, n. 5, p. 1970-1978, Jan 29 2014.
- GHALANDARI-SHAMAMI, M.; NOURIZADE, S.; YOUSEFI, B.; VAFAEI, A. A. *et al.* Beneficial Effects of Physical Activity and Crocin Against Adolescent Stress Induced Anxiety or Depressive-Like Symptoms and Dendritic Morphology Remodeling in Prefrontal Cortex in Adult Male Rats. **Neurochem Res**, 44, n. 4, p. 917-929, Apr 2019.
- GILCHRIST, S. C.; HOWARD, V. J.; AKINYEMIJU, T.; JUDD, S. E. *et al.* Association of Sedentary Behavior With Cancer Mortality in Middle-aged and Older US Adults. **JAMA Oncol**, 6, n. 8, p. 1210-1217, Aug 1 2020.
- GONÇALVES, J. T.; SCHAFER, S. T.; GAGE, F. H. Adult Neurogenesis in the Hippocampus: From Stem Cells to Behavior. **Cell**, 167, n. 4, p. 897-914, Nov 3 2016.
- GREY, K.; GONZALES, G. B.; ABERA, M.; LELIJVELD, N. *et al.* Severe malnutrition or famine exposure in childhood and cardiometabolic non-communicable disease later in life: a systematic review. **BMJ Glob Health**, 6, n. 3, Mar 2021.
- GROVER, Z.; EE, L. C. Protein energy malnutrition. **Pediatr Clin North Am**, 56, n. 5, p. 1055-1068, Oct 2009.
- GUIMARÃES, J. L.; DE ANDRADE ADELL, E.; DE FELÍCIO, P. E. Estrutura e composição do músculo e tecidos associados. 2010.
- GUO, J.; REN, R.; SUN, K.; YAO, X. *et al.* PERK controls bone homeostasis through the regulation of osteoclast differentiation and function. **Cell Death Dis**, 11, n. 10, p. 847, Oct 13 2020.
- HABIG, W.; PUBST, M. Jokoby. GST, the first enzyme step in mercaptane acid formation. **J Bio Chem**, 249, p. 7130-7139, 1974.
- HALLIWELL, B.; RAFTER, J.; JENNER, A. Health promotion by flavonoids, tocopherols, tocotrienols, and other phenols: direct or indirect effects? Antioxidant or not? **Am J Clin Nutr**, 81, n. 1 Suppl, p. 268s-276s, Jan 2005.
- HARMAN, D. Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry. **J Gerontol**, 11, n. 3, p. 298-300, Jul 1956.
- HE, F. Bradford protein assay. **Bio-protocol**, p. e45-e45, 2011.
- HÉBUTERNE, X.; LEMARIÉ, E.; MICHALLET, M.; DE MONTREUIL, C. B. *et al.* Prevalence of malnutrition and current use of nutrition support in patients with cancer. **JPEN J Parenter Enteral Nutr**, 38, n. 2, p. 196-204, Feb 2014.

- HENZE, K.; MARTIN, W. Essence of mitochondria. **Nature**, 426, n. 6963, p. 127-128, 2003.
- HISSIN, P. J.; HILF, R. A fluorometric method for determination of oxidized and reduced glutathione in tissues. **Analytical biochemistry**, 74, n. 1, p. 214-226, 1976.
- HODSON, R. Alzheimer's disease. **Nature**, 559, n. 7715, p. S1, Jul 2018.
- HUANG, R. R.; HU, W.; YIN, Y. Y.; WANG, Y. C. *et al.* Chronic restraint stress promotes learning and memory impairment due to enhanced neuronal endoplasmic reticulum stress in the frontal cortex and hippocampus in male mice. **Int J Mol Med**, 35, n. 2, p. 553-559, Feb 2015.
- IBRAHIM, I. M.; ABDELMALEK, D. H.; ELFIKY, A. A. GRP78: A cell's response to stress. **Life Sci**, 226, p. 156-163, Jun 1 2019.
- INGENBLEEK, Y. Implications of protein malnutrition and inflammatory disorders in the pathophysiology of Alzheimer's disease. **Asia Pac J Clin Nutr**, 29, n. 3, p. 450-461, 2020.
- KALIN, N. H. Prefrontal Cortical and Limbic Circuit Alterations in Psychopathology. **Am J Psychiatry**, 176, n. 12, p. 971-973, Dec 1 2019.
- KARTHICK, C.; NITHIYANANDAN, S.; ESSA, M. M.; GUILLEMIN, G. J. *et al.* Time-dependent effect of oligomeric amyloid- β (1-42)-induced hippocampal neurodegeneration in rat model of Alzheimer's disease. **Neurol Res**, 41, n. 2, p. 139-150, Feb 2019.
- KIMURA, A.; SUGIMOTO, T.; KITAMORI, K.; SAJI, N. *et al.* Malnutrition is Associated with Behavioral and Psychiatric Symptoms of Dementia in Older Women with Mild Cognitive Impairment and Early-Stage Alzheimer's Disease. **Nutrients**, 11, n. 8, Aug 20 2019.
- KNIERIM, J. J. The hippocampus. **Curr Biol**, 25, n. 23, p. R1116-1121, Dec 7 2015.
- KONG, F. J.; MA, L. L.; GUO, J. J.; XU, L. H. *et al.* Endoplasmic reticulum stress/autophagy pathway is involved in diabetes-induced neuronal apoptosis and cognitive decline in mice. **Clin Sci (Lond)**, 132, n. 1, p. 111-125, Jan 16 2018.
- KU, Y.; BODNER, M.; ZHOU, Y. D. Prefrontal cortex and sensory cortices during working memory: quantity and quality. **Neurosci Bull**, 31, n. 2, p. 175-182, Apr 2015.
- KUDRYAVTSEVA, A. V.; KRASNOV, G. S.; DMITRIEV, A. A.; ALEKSEEV, B. Y. *et al.* Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in aging and cancer. **Oncotarget**, 7, n. 29, p. 44879-44905, Jul 19 2016.
- LE PAGE, C.; NOIREZ, P.; COURTY, J.; RIOU, B. *et al.* Exercise training improves functional post-ischemic recovery in senescent heart. **Experimental gerontology**, 44, n. 3, p. 177-182, 2009.
- LEANDRO, C. G.; DA SILVA RIBEIRO, W.; DOS SANTOS, J. A.; BENTO-SANTOS, A. *et al.* Moderate physical training attenuates muscle-specific effects on fibre type composition in adult rats submitted to a perinatal maternal low-protein diet. **Eur J Nutr**, 51, n. 7, p. 807-815, Oct 2012.
- LECH, M. A.; LEŚKIEWICZ, M.; KAMIŃSKA, K.; ROGÓŻ, Z. *et al.* Glutathione Deficiency during Early Postnatal Development Causes Schizophrenia-Like Symptoms and a Reduction in BDNF Levels in the Cortex and Hippocampus of Adult Sprague-Dawley Rats. **Int J Mol Sci**, 22, n. 12, Jun 8 2021.

- LEHNINGER, A. L.; VERCESI, A.; BABABUNMI, E. A. Regulation of Ca^{2+} release from mitochondria by the oxidation-reduction state of pyridine nucleotides. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, 75, n. 4, p. 1690-1694, 1978.
- LI, F.; LIU, B. B.; CAI, M.; LI, J. J. *et al.* Excessive endoplasmic reticulum stress and decreased neuroplasticity-associated proteins in prefrontal cortex of obese rats and the regulatory effects of aerobic exercise. **Brain Res Bull**, 140, p. 52-59, Jun 2018.
- LI, T.; JIANG, S.; LU, C.; HU, W. *et al.* Snapshots: Endoplasmic Reticulum Stress in Lipid Metabolism and Cardiovascular Disease. **Curr Issues Mol Biol**, 28, p. 14-28, 2018.
- LIN, M. T.; BEAL, M. F. Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in neurodegenerative diseases. **Nature**, 443, n. 7113, p. 787-795, Oct 19 2006.
- MAO, J.; HU, Y.; RUAN, L.; JI, Y. *et al.* Role of endoplasmic reticulum stress in depression (Review). **Mol Med Rep**, 20, n. 6, p. 4774-4780, Dec 2019.
- MARTIN, S. J.; GRIMWOOD, P. D.; MORRIS, R. G. Synaptic plasticity and memory: an evaluation of the hypothesis. **Annu Rev Neurosci**, 23, p. 649-711, 2000.
- MESQUITA, R. M.; PEREIRA, P. A.; ANDRADE, J. P. Low levels of brain-derived neurotrophic factor and tyrosine kinase receptor B are related to loss of dentate granule cells after prolonged low-protein feeding in the rat. **Neurosci Lett**, 330, n. 2, p. 155-158, Sep 20 2002.
- MINAMOTO, V. B. Classificação e adaptações das fibras musculares: uma revisão. **Fisioterapia e pesquisa**, 12, n. 3, p. 50-55, 2005.
- MISRA, H. P.; FRIDOVICH, I. The role of superoxide anion in the autoxidation of epinephrine and a simple assay for superoxide dismutase. **Journal of Biological chemistry**, 247, n. 10, p. 3170-3175, 1972.
- MOKLER, D. J.; MCGAUGHY, J. A.; BASS, D.; MORGANE, P. J. *et al.* Prenatal Protein Malnutrition Leads to Hemispheric Differences in the Extracellular Concentrations of Norepinephrine, Dopamine and Serotonin in the Medial Prefrontal Cortex of Adult Rats. **Front Neurosci**, 13, p. 136, 2019.
- MOODLEY, K. K.; CHAN, D. The hippocampus in neurodegenerative disease. **Front Neurol Neurosci**, 34, p. 95-108, 2014.
- MORADI-KOR, N.; DADKHAH, M.; GHANBARI, A.; RASHIDIPOUR, H. *et al.* Protective Effects of Spirulina platensis, Voluntary Exercise and Environmental Interventions Against Adolescent Stress-Induced Anxiety and Depressive-Like Symptoms, Oxidative Stress and Alterations of BDNF and 5HT-3 Receptors of the Prefrontal Cortex in Female Rats. **Neuropsychiatr Dis Treat**, 16, p. 1777-1794, 2020.
- MORGANE, P. J.; MOKLER, D. J.; GALLER, J. R. Effects of prenatal protein malnutrition on the hippocampal formation. **Neurosci Biobehav Rev**, 26, n. 4, p. 471-483, Jun 2002.
- MORLAND, C.; ANDERSSON, K. A.; HAUGEN Ø, P.; HADZIC, A. *et al.* Exercise induces cerebral VEGF and angiogenesis via the lactate receptor HCAR1. **Nat Commun**, 8, p. 15557, May 23 2017.
- MU, L.; CAI, J.; GU, B.; YU, L. *et al.* Treadmill Exercise Prevents Decline in Spatial Learning and Memory in 3×Tg-AD Mice through Enhancement of Structural Synaptic Plasticity of the Hippocampus and Prefrontal Cortex. **Cells**, 11, n. 2, Jan 12 2022.

- MÜLLER, O.; KRAWINKEL, M. Malnutrition and health in developing countries. **Cmaj**, 173, n. 3, p. 279-286, Aug 2 2005.
- NAKAJIMA, M.; SCHMITT, L. I. Understanding the circuit basis of cognitive functions using mouse models. **Neurosci Res**, 152, p. 44-58, Mar 2020.
- NAKKA, V. P.; PRAKASH-BABU, P.; VEMUGANTI, R. Crosstalk Between Endoplasmic Reticulum Stress, Oxidative Stress, and Autophagy: Potential Therapeutic Targets for Acute CNS Injuries. **Mol Neurobiol**, 53, n. 1, p. 532-544, Jan 2016.
- NASCIMENTO, L.; FREITAS, C. M.; SILVA-FILHO, R.; LEITE, A. C. *et al.* The effect of maternal low-protein diet on the heart of adult offspring: role of mitochondria and oxidative stress. **Appl Physiol Nutr Metab**, 39, n. 8, p. 880-887, Aug 2014.
- NASCIMENTO, L.; FREITAS, C. M.; SILVA-FILHO, R.; LEITE, A. C. R. *et al.* The effect of maternal low-protein diet on the heart of adult offspring: role of mitochondria and oxidative stress. **Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism**, 39, n. 8, p. 880-887, 2014.
- NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de Bioquímica de Lehninger-7**. Artmed Editora, 2018. 858271534X.
- NEVES, B. H.; MENEZES, J.; SOUZA, M. A.; MELLO-CARPES, P. B. Physical exercise prevents short and long-term deficits on aversive and recognition memory and attenuates brain oxidative damage induced by maternal deprivation. **Physiol Behav**, 152, n. Pt A, p. 99-105, Dec 1 2015.
- NEVES, G.; COOKE, S. F.; BLISS, T. V. Synaptic plasticity, memory and the hippocampus: a neural network approach to causality. **Nat Rev Neurosci**, 9, n. 1, p. 65-75, Jan 2008.
- NORMAN, K.; PICHARD, C.; LOCHS, H.; PIRLICH, M. Prognostic impact of disease-related malnutrition. **Clin Nutr**, 27, n. 1, p. 5-15, Feb 2008.
- OAKES, S. A. Endoplasmic reticulum proteostasis: a key checkpoint in cancer. **Am J Physiol Cell Physiol**, 312, n. 2, p. C93-c102, Feb 1 2017.
- OAKES, S. A. Endoplasmic Reticulum Stress Signaling in Cancer Cells. **Am J Pathol**, 190, n. 5, p. 934-946, May 2020.
- OAKES, S. A.; PAPA, F. R. The role of endoplasmic reticulum stress in human pathology. **Annu Rev Pathol**, 10, p. 173-194, 2015.
- OBOUDİYAT, C.; GLAZER, H.; SEIFAN, A.; GREER, C. *et al.* Alzheimer's disease. **Semin Neurol**, 33, n. 4, p. 313-329, Sep 2013.
- PARK, J.; MOGHADDAM, B. Impact of anxiety on prefrontal cortex encoding of cognitive flexibility. **Neuroscience**, 345, p. 193-202, Mar 14 2017.
- PARK, K. S.; NICKERSON, B. S. Aerobic exercise is an independent determinant of levels of inflammation and oxidative stress in middle-aged obese females. **J Exerc Rehabil**, 18, n. 1, p. 43-49, Feb 2022.
- PEDROZA, A.; FERREIRA, D. S.; SANTANA, D. F.; DA SILVA, P. T. *et al.* A maternal low-protein diet and neonatal overnutrition result in similar changes to glomerular morphology and renal cortical oxidative stress measures in male Wistar rats. **Appl Physiol Nutr Metab**, 44, n. 2, p. 164-171, Feb 2019.

- PEEV, V.; NAYER, A.; CONTRERAS, G. Dyslipidemia, malnutrition, inflammation, cardiovascular disease and mortality in chronic kidney disease. **Curr Opin Lipidol**, 25, n. 1, p. 54-60, Feb 2014.
- PEREIRA, L. C.; SOUZA, A. D.; PAZIN, M.; DORTA, D. J. Mitocôndria como alvo para avaliação de toxicidade de xenobiótico. **Revista Brasileira de Toxicologia**, 25, n. 1-2, p. 1-14, 2012.
- PESCATELLO, L. S.; RIEBE, D.; THOMPSON, P. D. **ACSM's guidelines for exercise testing and prescription**. Lippincott Williams & Wilkins, 2014. 1609136055.
- PFAFFL, M. W. Relative quantification. **Real-time PCR**, 63, p. 63-82, 2006.
- POWERS, S. K.; RADAK, Z.; JI, L. L. Exercise-induced oxidative stress: past, present and future. **J Physiol**, 594, n. 18, p. 5081-5092, Sep 15 2016.
- QI, Z.; CHEN, L. Endoplasmic Reticulum Stress and Autophagy. **Adv Exp Med Biol**, 1206, p. 167-177, 2019.
- RAICHLE, M. E. Two views of brain function. **Trends Cogn Sci**, 14, n. 4, p. 180-190, Apr 2010.
- RAISTENSKIS, J.; SIDLAUSKIENE, A.; STRUKCINSKIENE, B.; UĞUR BAYSAL, S. *et al.* Physical activity and physical fitness in obese, overweight, and normal-weight children. **Turk J Med Sci**, 46, n. 2, p. 443-450, Feb 17 2016.
- REEVES, P. G.; NIELSEN, F. H.; FAHEY, G. C., JR. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. **J Nutr**, 123, n. 11, p. 1939-1951, Nov 1993.
- REMINGTON, S. J. Structure and mechanism of citrate synthase. **Curr Top Cell Regul**, 33, p. 209-229, 1992.
- REZNICK, A. Z.; PACKER, L. [38] Oxidative damage to proteins: spectrophotometric method for carbonyl assay. **Methods in enzymology**, 233, p. 357-363, 1994.
- RISTOW, M.; ZARSE, K.; OBERBACH, A.; KLÖTING, N. *et al.* Antioxidants prevent health-promoting effects of physical exercise in humans. **Proc Natl Acad Sci U S A**, 106, n. 21, p. 8665-8670, May 26 2009.
- RODRIGUES, N. A.; GOBATO, C. A.; FORTE, L. D. M.; SOUSA, F. A. B. *et al.* Load-matched acute and chronic exercise induce changes in mitochondrial biogenesis and metabolic markers. **Appl Physiol Nutr Metab**, 46, n. 10, p. 1196-1206, Oct 2021.
- ROSEN, M. L.; AMSO, D.; MCCLAUGHLIN, K. A. The role of the visual association cortex in scaffolding prefrontal cortex development: A novel mechanism linking socioeconomic status and executive function. **Dev Cogn Neurosci**, 39, p. 100699, Oct 2019.
- RUSHMORE, R. J.; MCGAUGHY, J. A.; MOKLER, D. J.; ROSENE, D. L. The enduring effect of prenatal protein malnutrition on brain anatomy, physiology and behavior. **Nutr Neurosci**, p. 1-8, Dec 14 2020.
- SANTANA, D. F.; FERREIRA, D. S.; BRAZ, G. R. F.; SOUSA, S. M. S. *et al.* Maternal Protein Restriction in Two Successive Generations Impairs Mitochondrial Electron Coupling in the Progeny's Brainstem of Wistar Rats From Both Sexes. **Front Neurosci**, 13, p. 203, 2019.

- SCHELTENS, P.; BLENNOW, K.; BRETELER, M. M.; DE STROOPER, B. *et al.* Alzheimer's disease. **Lancet**, 388, n. 10043, p. 505-517, Jul 30 2016.
- SCHULZ, H. Beta oxidation of fatty acids. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Lipids and Lipid Metabolism**, 1081, n. 2, p. 109-120, 1991.
- SCHWARZ, D. S.; BLOWER, M. D. The endoplasmic reticulum: structure, function and response to cellular signaling. **Cell Mol Life Sci**, 73, n. 1, p. 79-94, Jan 2016.
- SEMBA, R. D. The Rise and Fall of Protein Malnutrition in Global Health. **Ann Nutr Metab**, 69, n. 2, p. 79-88, 2016.
- SENFT, D.; RONAI, Z. A. UPR, autophagy, and mitochondria crosstalk underlies the ER stress response. **Trends Biochem Sci**, 40, n. 3, p. 141-148, Mar 2015.
- SIES, H. Glutathione and its role in cellular functions. **Free Radic Biol Med**, 27, n. 9-10, p. 916-921, Nov 1999.
- SILVA PEDROZA, A. A.; BERNARDO, E. M.; PEREIRA, A. R.; ANDRADE SILVA, S. C. *et al.* Moderate offspring exercise offsets the harmful effects of maternal protein deprivation on mitochondrial function and oxidative balance by modulating sirtuins. **Nutr Metab Cardiovasc Dis**, 31, n. 5, p. 1622-1634, May 6 2021.
- SILVA, S. C. A.; BRAZ, G. R. F.; DO NASCIMENTO, L. C. P.; SANTANA, D. F. *et al.* Influence of maternal protein malnutrition on oxidative stress and regulators of mitochondrial biogenesis in female rat hearts over succeeding generations. **Life sciences**, 232, p. 116579, 2019.
- SILVA, S. C. A.; BRAZ, G. R. F.; DO NASCIMENTO, L. C. P.; SANTANA, D. F. *et al.* Influence of maternal protein malnutrition on oxidative stress and regulators of mitochondrial biogenesis in female rat hearts over succeeding generations. **Life Sci**, 232, p. 116579, Sep 1 2019.
- SILVEIRA, R.; PRADO, R. C. R.; BRIETZKE, C.; COELHO-JÚNIOR, H. J. *et al.* Prefrontal cortex asymmetry and psychological responses to exercise: A systematic review. **Physiol Behav**, 208, p. 112580, Sep 1 2019.
- SMEDLEY, G. D.; WALKER, K. E.; YUAN, S. H. The Role of PERK in Understanding Development of Neurodegenerative Diseases. **Int J Mol Sci**, 22, n. 15, Jul 29 2021.
- SMITH, M. D.; RABBITT, M. P.; COLEMAN-JENSEN, A. Who are the world's food insecure? New evidence from the Food and Agriculture Organization's food insecurity experience scale. **World Development**, 93, p. 402-412, 2017.
- SORIA LOPEZ, J. A.; GONZÁLEZ, H. M.; LÉGER, G. C. Alzheimer's disease. **Handb Clin Neurol**, 167, p. 231-255, 2019.
- SPRENKLE, N. T.; SIMS, S. G.; SÁNCHEZ, C. L.; MEARES, G. P. Endoplasmic reticulum stress and inflammation in the central nervous system. **Mol Neurodegener**, 12, n. 1, p. 42, May 25 2017.
- STROTZER, M. One century of brain mapping using Brodmann areas. **Clinical Neuroradiology**, 19, n. 3, p. 179-186, 2009.
- SUTTON, G. M.; CENTANNI, A. V.; BUTLER, A. A. Protein malnutrition during pregnancy in C57BL/6J mice results in offspring with altered circadian physiology before obesity. **Endocrinology**, 151, n. 4, p. 1570-1580, Apr 2010.

- THIRUPATHI, A.; PINHO, R. A.; UGBOLUE, U. C.; HE, Y. *et al.* Effect of Running Exercise on Oxidative Stress Biomarkers: A Systematic Review. **Front Physiol**, 11, p. 610112, 2020.
- THOMAS, J. A.; POLAND, B.; HONZATKO, R. Protein sulfhydryls and their role in the antioxidant function of protein S-thiolation. **Arch Biochem Biophys**, 319, n. 1, p. 1-9, May 10 1995.
- UYLINGS, H. B.; GROENEWEGER, H. J.; KOLB, B. Do rats have a prefrontal cortex? **Behav Brain Res**, 146, n. 1-2, p. 3-17, Nov 30 2003.
- VAN DE GEER, J. P.; JASPARS, J. M. Cognitive functions. **Annu Rev Psychol**, 17, p. 145-176, 1966.
- VAN DEN BROECK, J. Malnutrition and mortality. **J R Soc Med**, 88, n. 9, p. 487-490, Sep 1995.
- VAN LENTE, F. Free radicals. **Anal Chem**, 65, n. 12, p. 374r-377r, Jun 15 1993.
- VAN ZUTPHEN, T.; CIAPAITE, J.; BLOKS, V. W.; ACKERELEY, C. *et al.* Malnutrition-associated liver steatosis and ATP depletion is caused by peroxisomal and mitochondrial dysfunction. **J Hepatol**, 65, n. 6, p. 1198-1208, Dec 2016.
- VERFAILLIE, T.; RUBIO, N.; GARG, A. D.; BULTYNCK, G. *et al.* PERK is required at the ER-mitochondrial contact sites to convey apoptosis after ROS-based ER stress. **Cell Death Differ**, 19, n. 11, p. 1880-1891, Nov 2012.
- VIAL-DAHMER, D. S.; DA ROSA-SANTOS, C. A.; SILVA, L. R.; ARANTES, V. C. *et al.* Protein malnutrition early in life increased apoptosis but did not alter the β -cell mass during gestation. **Br J Nutr**, 125, n. 10, p. 1111-1124, May 28 2021.
- VICTOR, P.; SARADA, D.; RAMKUMAR, K. M. Crosstalk between endoplasmic reticulum stress and oxidative stress: Focus on protein disulfide isomerase and endoplasmic reticulum oxidase 1. **Eur J Pharmacol**, 892, p. 173749, Feb 5 2021.
- VON BOHLEN UND HALBACH, O.; VON BOHLEN UND HALBACH, V. BDNF effects on dendritic spine morphology and hippocampal function. **Cell Tissue Res**, 373, n. 3, p. 729-741, Sep 2018.
- WALMSLEY, T.; ABERNETHY, M.; FITZGERALD, H. Effect of daylight on the reaction of thiols with Ellman's reagent, 5, 5'-dithiobis (2-nitrobenzoic acid). **Clinical chemistry**, 33, n. 10, p. 1928-1931, 1987.
- WANG, L.; XU, R. J. The effects of perinatal protein malnutrition on spatial learning and memory behaviour and brain-derived neurotrophic factor concentration in the brain tissue in young rats. **Asia Pac J Clin Nutr**, 16 Suppl 1, p. 467-472, 2007.
- WELLS, J. C.; SAWAYA, A. L.; WIBAEK, R.; MWANGOME, M. *et al.* The double burden of malnutrition: aetiological pathways and consequences for health. **Lancet**, 395, n. 10217, p. 75-88, Jan 4 2020.
- WICIŃSKI, M.; ADAMKIEWICZ, D.; ADAMKIEWICZ, M.; ŚNIEGOCKI, M. *et al.* Impact of Vitamin D on Physical Efficiency and Exercise Performance-A Review. **Nutrients**, 11, n. 11, Nov 19 2019.
- WIEGAND, G.; REMINGTON, S. J. Citrate synthase: structure, control, and mechanism. **Annu Rev Biophys Biophys Chem**, 15, p. 97-117, 1986.

WILMORE, J. H.; KNUTTGEN, H. G. Aerobic exercise and endurance: improving fitness for health benefits. **The Physician and sportsmedicine**, 31, n. 5, p. 45-51, 2003.

WU, J.; ZHAO, Z.; KUMAR, A.; LIPINSKI, M. M. *et al.* Endoplasmic Reticulum Stress and Disrupted Neurogenesis in the Brain Are Associated with Cognitive Impairment and Depressive-Like Behavior after Spinal Cord Injury. **J Neurotrauma**, 33, n. 21, p. 1919-1935, Nov 1 2016.

XIANG, C.; WANG, Y.; ZHANG, H.; HAN, F. The role of endoplasmic reticulum stress in neurodegenerative disease. **Apoptosis**, 22, n. 1, p. 1-26, Jan 2017.

YANAGISAWA, H.; DAN, I.; TSUZUKI, D.; KATO, M. *et al.* Acute moderate exercise elicits increased dorsolateral prefrontal activation and improves cognitive performance with Stroop test. **Neuroimage**, 50, n. 4, p. 1702-1710, May 1 2010.

YANG, Y.; SHIELDS, G. S.; GUO, C.; LIU, Y. Executive function performance in obesity and overweight individuals: A meta-analysis and review. **Neurosci Biobehav Rev**, 84, p. 225-244, Jan 2018.

YILMAZ, E. Endoplasmic Reticulum Stress and Obesity. **Adv Exp Med Biol**, 960, p. 261-276, 2017.

YOO, J. I.; HA, Y. C.; CHOI, H.; KIM, K. H. *et al.* Malnutrition and chronic inflammation as risk factors for sarcopenia in elderly patients with hip fracture. **Asia Pac J Clin Nutr**, 27, n. 3, p. 527-532, 2018.

ZHAO, R. Z.; JIANG, S.; ZHANG, L.; YU, Z. B. Mitochondrial electron transport chain, ROS generation and uncoupling. **International journal of molecular medicine**, 44, n. 1, p. 3-15, 2019.

ZHOU, Y.; FAN, L.; QIU, C.; JIANG, T. Prefrontal cortex and the dysconnectivity hypothesis of schizophrenia. **Neurosci Bull**, 31, n. 2, p. 207-219, Apr 2015.

ZILLES, K.; AMUNTS, K. Centenary of Brodmann's map—conception and fate. **Nature Reviews Neuroscience**, 11, n. 2, p. 139-145, 2010.

ZOKAEI, N.; HUSAIN, M. Working Memory in Alzheimer's Disease and Parkinson's Disease. **Curr Top Behav Neurosci**, 41, p. 325-344, 2019.

ANEXO A – COMITÊ DE ÉTICA



Universidade Federal de Pernambuco
 Centro de Biotecnologias
 Av. Prof. Nelson Sampaio, 100
 50670-420 / Recife - PE - Brasil
 Fone: 2125-8842
 cca@ufpe.br

Recife, 28 de maio de 2019

Ofício nº 26/19

Da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFPE

Para: Prof. Cláudia Jacques Lagranha
 Centro de Vitória de Santo Antão (CAV)
 Universidade Federal de Pernambuco
 Processo nº 0060/2018

Certificamos que a proposta intitulada "Efeito do treinamento físico moderado sobre os padrões epigenéticos induzido pela desnutrição proteica perinatal: avaliação das respostas nas mitocôndrias cardíacas." registrado com o nº 0060/2018 sob a responsabilidade de Prof. Cláudia Jacques Lagranha o que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo CONSELHO NACIONAL DE CONTROLE DE EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL (CONCEA), e foi aprovada pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO (UFPE), em reunião de 28/05/2019.

Finalidade	() Ensino (X) Pesquisa Científica
Vigência da autorização	01/06/2019 a 10/06/2019
Espécie/linhagem/raça	Rato heterogenico
Nº de animais	168
Peso/idade	Progenitores: macho: 120dias/200-250g, Fêmea: 80 dias/ 150-200g
Sexo	16 (fêmeas) e 152(machos) considerando progenitores e estimativa de prole
Origem: Biotério de Criação	Biotério do Departamento de Fisiologia
Destino: Biotério de Experimentação	Biotério do Departamento de Fisiologia

Atenciosamente,

Prof. Sebastião R. F. Silva
 Presidente CEUA/UFPE
 SIAPE 2345891

ANEXO B – ARTIGO DE REVISÃO SISTEMÁTICA PUBLICADO

INTITULADO: EFFECT OF PHYSICAL EXERCISE ON NEUROPLASTICITY AND BRAIN FUNCTION: A SYSTEMATIC REVIEW IN HUMAN AND ANIMAL STUDIES

Hindawi
Neural Plasticity
Volume 2020, Article ID 8856621, 21 pages
<https://doi.org/10.1155/2020/8856621>



Review Article

Effects of Physical Exercise on Neuroplasticity and Brain Function: A Systematic Review in Human and Animal Studies

Matheus Santos de Sousa Fernandes ,¹ Tayrine Figueira Ordônio,²
Gabriela Carvalho Jurema Santos ,³ Lucas Eduardo R. Santos ,¹
Camila Tenório Calazans,⁴ Dayane Aparecida Gomes ,^{1,5} and Tony Meireles Santos ¹

¹Neuropsychiatry and Behavior Science Postgraduate Program, Federal University of Pernambuco, Recife, PE, Brazil

²Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami-LIKA, University of Pernambuco, Recife, PE, Brazil

³Academic Center of Vitória de Santo Antão, Federal University of Pernambuco, PE, Brazil

⁴School of Physical Education, University of Pernambuco, Recife, PE, Brazil

⁵Department of Physiology and Pharmacology, Center of Biosciences, Federal University of Pernambuco, Recife, PE, Brazil

Correspondence should be addressed to Tony Meireles Santos; tonymsantos@gmail.com

Received 29 August 2020; Revised 2 November 2020; Accepted 30 November 2020; Published 14 December 2020

Academic Editor: Grzegorz Hess

Copyright © 2020 Matheus Santos de Sousa Fernandes et al. This is an open access article distributed under the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Background. Physical exercise (PE) has been associated with increase neuroplasticity, neurotrophic factors, and improvements in brain function. **Objective.** To evaluate the effects of different PE protocols on neuroplasticity components and brain function in a human and animal model. **Methods.** We conducted a systematic review process from November 2019 to January 2020 of the following databases: PubMed, ScienceDirect, Scielo, LILACS, and Scopus. A keyword combination referring to PE and neuroplasticity was included as part of a more thorough search process. From an initial number of 20,782 original articles, after reading the titles and abstracts, twenty-one original articles were included. Two investigators evaluated the abstract, the data of the study, the design, the sample size, the participant characteristics, and the PE protocol. **Results.** PE increases neuroplasticity via neurotrophic factors (BDNF, GDNF, and NGF) and receptor (TrkB and P75NTR) production providing improvements in neuroplasticity, and cognitive function (learning and memory) in human and animal models. **Conclusion.** PE was effective for increasing the production of neurotrophic factors, cell growth, and proliferation, as well as for improving brain functionality.

1. Introduction

Environmental stimuli throughout life can result in structural and functional changes in organs and tissues (Westneat et al. [1]). These changes are more propitious in structure that has plastic characteristics, as for example the brain, susceptible to changes from development to aging (Martínez-Morga et al. [2]). This process is called neuroplasticity and is defined as the capacity of the central nervous system to promote the neurogenesis and connections due to psychophysiological and environmental factors (Gulyaeva [3]). In this sense, neuroplasticity occurs with an increase in the production of neurotrophins that generate changes in the

growth and differentiation of cell signaling (Kempermann et al. [4]).

Neurotrophins are a family of proteins closely related to the survival, development, and functionality of the central and peripheral nervous systems (Kozorovitskiy and Gould [5]; Yamaguchi et al. [6]). The main neurotrophins involved in the neuroplasticity process are neurotrophic factor derived from the glial cell line (GDNF), nerve growth factor (NGF), neurotrophin 3 (NT3), neurotrophin 4 (NT4), and brain-derived neurotrophic factor (BDNF). Studies show that reduced levels of these neurotrophins, especially BDNF, are responsible for decreased brain functions, such as memory, concentration, and learning (Bekinschtein et al. [7]; Parrini et al. [8]).

The activation process of the BDNF signaling pathway is mainly regulated by tropomyosin-related receptor kinase B (TrkB). A previous study showed that increased expression of TrkB was able to reduce the appearance of brain changes, such as depression (Zborowski et al. [9]). It has also been observed that the activation of TrkB affects neuronal dendritic arborization, synaptogenesis, dendritic growth, and spinal morphogenesis (Guo et al. [10]). Faced with such mechanisms responsible for neuroplasticity, we seek to understand which environmental factors can act to modulate this process.

In this context, PE has been described as an efficient modulator of the health status through increased mitochondrial bioenergetics, adenosine triphosphate (ATP) synthesis, and reduced lipogenesis, reactive oxygen species (ROS) production, endoplasmic reticulum stress, and proinflammatory cytokine production such as tumor necrosis factor alpha (TNF- α) (Broxterman et al. [11]; Nakandakari et al. [12]; Presby et al. [13]; Daou [14]; Tofas et al. [15]). In addition, recent works have shown that PE is able to promote neuroprotection (Byun and Kang [16]; Martland et al. [17]). A study conducted with elderly women found that 12 weeks of aerobic and resistance exercise improved cognitive function and BDNF expression (Byun and Kang [16]). This is due to the unique capability of the skeletal muscle to increase activation to the cellular signaling pathways connected to crosstalk between muscle and brain (Muchlinski et al. [18]; Kato et al. [19]).

The brain is characterized by having a high plastic capacity; it is necessary to elucidate how environmental factors, such as PE, can influence the production of neurotrophic factors providing improvements in brain functionality, through signaling, growth, and cell differentiation. The main aim of this systematic review is to evaluate the effects of different PE protocols on neuroplasticity components in a human and animal study. The second aim is to evaluate the effects of PE on the production of neurotrophic factors, signaling, cell growth and differentiation, and functional outcomes.

2. Material and Methods

The present study was performed following the guideline of the PRISMA statement (Moher et al. [20]).

2.1. Strategy Search. The researchers searched the scientific literature from November 2019 to January 2020, using the following databases: PubMed (244), ScienceDirect (11,860), ScIELO (2), LILACS (96), and Scopus (104). The following

search terms were selected using Medical Subject Headings (MESH): ("Physical Exercise" OR "Exercise, Physical" OR "Exercises, Physical" OR "Physical Exercises" AND "Plasticity, Neuronal" OR "Neuronal Plasticities" OR "Plasticities, Neuronal" OR "Neuroplasticity" OR "Neuroplasticities" OR "Neural Plasticity" OR "Neural Plasticities" OR "Plasticities, Neural" OR "Plasticity, Neural"). Reference lists of all included studies were also reviewed for potentially eligible articles.

2.2. Study Selection. Two independent reviewers (MSSF and GCJS) selected the articles according to the following inclu-

sion criteria: (1) written in English, (2) between the years 2010 and 2019, involving studies, (3) utilizing "physical exercise" or its variations as intervention, (4) different brain tissues, and (5) neuroplasticity, performed in animal and human studies. Articles were included if they fulfilled the following PICOS criteria (Participants: animals and humans, Interventions: physical exercise, Comparisons: PE vs. No PE groups, Outcomes: neuroplasticity components, Study: animal models and human studies) (Yensen [21]). In the next stage, a comparison was made between searches and evaluation of titles and abstracts according to the eligibility criteria. The selected abstracts were submitted to the second stage of analysis, in which two other independent researchers reviewed the articles completely and, by consensus, excluded articles that did not meet the criteria. The data regarding the characteristics of the samples, methodology, and main outcomes found were extracted from the selected articles.

2.3. Data Extract. The reviewers (MSSF) and (GCJS) extracted the data studies on a preestablished database. The data extracted from each study included: (1) study design, (2) sample characteristics, (3) physical exercise intervention, and (4) effects on the neuroplasticity of different brain tissues. All extracted data was entered into a spreadsheet in Excel by the primary researcher and verified by another researcher. Discrepancies were resolved by consensus.

2.4. Risk of Bias Assessment. Two independent authors performed an analysis of the risk of bias in the selected studies. The methodological judgment provided by the Revman 5.3.0 program of the Cochrane Handbook program was used (Higgins et al. [22]). The following are among the criteria of the structure of the bias assessment: (1) generation of random sequence, (2) concealment of allocation, (3) masking of participants and personnel, (4) masking of the result evaluation, (5) result data incomplete, (6) selective reporting, and (7) other bias. The studies were classified as low, medium, or high risk of bias.

3. Results

3.1. Study Selection. The flowchart in (Figure 1) shows the successive steps taken to select studies in this systematic review. A total of 12,306 titles and abstracts were selected initially; 11,414 were excluded because they did not comply with the eligibility criteria or were duplicated. Tables 1 and 2 provide the information of the included articles.

3.2. Risk of Bias. After this critical evaluation, the twenty-one included studies were classified with low risk of bias (Figures 2 and 3).

3.3. Description of Included Studies. We identified 12,306 studies in the databases. Next, 11,414 were removed because they had no data on PE (5201), neuroplasticity analysis (4025), and because they were revision studies (2167). In the end, 21 studies were included (Figure 1). Among the selected, 15 articles were conducted on animals and six in humans.

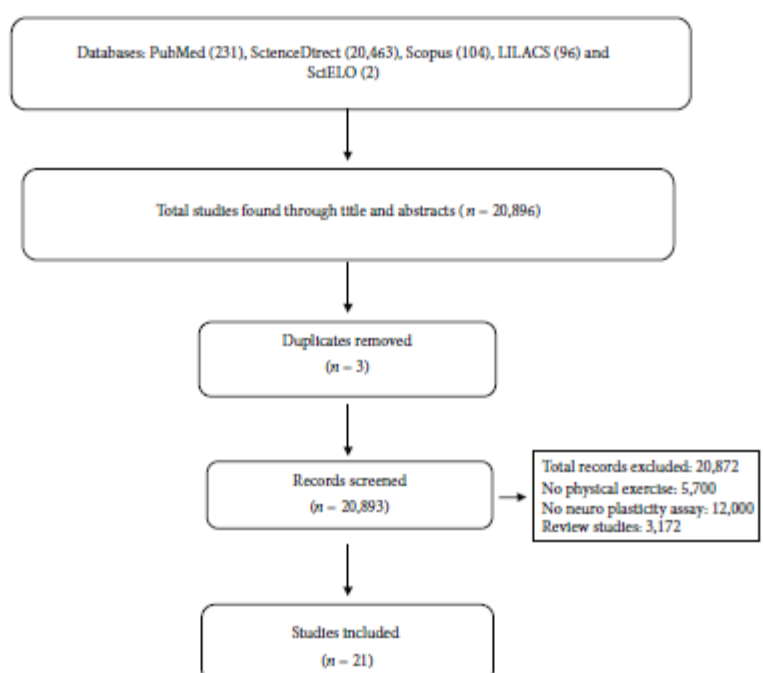


FIGURE 1: Flow diagram of the studies selected for systematic review.

In animal studies, only one used female exclusively; 13 studies used male animals and one study used both female and male animals. Among eleven studies used, three strains of *Rattus norvegicus* including Wistar (six studies), Sprague-Dawley (four studies), and spontaneous hypertensive rats (SHR) (one study) were used. Four studies were performed with C57BL/6 (three studies) and BALB/CJ (one study) mice. The animals were also exposed to models of high-fat diet, diabetes, chemo brain, corticosterone administration, transient middle cerebral artery occlusion, posttraumatic stress disorder, and transgenerational effects of PE. Among the brain area evaluated, 12 studies evaluated the hippocampus, and the others evaluated the prefrontal, orbitofrontal, and entorhinal cortex. Fourteen studies used aerobic PE protocol, of which 11 were on a treadmill and three were voluntary exercise on a running wheel. Only one study used the nonaerobic and strength exercise protocol.

In human studies, only one study used a sample composed exclusively of women. The others used both sexes. The participants' ages ranged from 18 to 80 years old. Among the brain areas evaluated, three studies used magnetic resonance imaging (MRI) to analyze the hippocampus; one evaluated the dorsolateral prefrontal cortex, posterior cingulate, precuneus cortex, hand motor area, occipital lobe, and cerebellum. One of the studies did not report the assessed brain area (Eftekhari and Etemadifar [39]). Of the six selected studies, two studies used strength training, two studies performed

dance activities, one study utilizes cycling, one used combined exercise (aerobic, balance, weightlifting, and yoga), and one study used balance and relaxation exercises.

3.4. Effects of Physical Exercise on Neurotrophic Factors. In some animal studies (Table 3) using aerobic exercise (treadmill and running wheel training, respectively), increased expression of BDNF protein, receptor levels, and mRNA in the hippocampus was observed (Aguilar et al. [24]; Gomes da Silva et al. [23]; Aguiar et al. [25]; Kim et al. [29]; Park and Kim [32]; Vilela et al. [30]; Park et al. [34]). Likewise, a study using resistance training showed an increase in BDNF levels after training sessions (Vilela et al. [30]). In studies with humans, the subjects were submitted to different PE protocols, including pilates, dance, and sports that demonstrated elevated serum and plasma BDNF levels that were evaluated by the ELISA method (Müller et al. [40]; Eftekhari and Etemadifar [39]; Rehfeld et al. [42]) (Table 4). However, when different cycling intensity patterns were used, no differences were observed on BDNF serum levels (Woost et al. [43]).

Six works evaluated TrkB receptor expression in animal studies (Table 3). Five studies observed increased TrkB expression in the hippocampus after aerobic training (Gomes da Silva [23]; Kim et al. [29]; Park and Kim [32]; Park et al. [33]; Park et al. [34]). Only one study identified a reduction in TrkB mRNA level when compared to control after exercise

TABLE 1: Description of included animal studies.

Author (year)	Aim	Animal species/experimental groups	Brain tissues	Analysis	Protocol of physical exercise
Gomes da Silva et al. [23]	To investigate the morphological and functional hippocampal changes in adult rats submitted to daily treadmill exercise during the adolescent period.	Male Wistar rats at 21 days of age were divided into two groups: exercise ($n = 27$) and control ($n = 27$).	Hippocampus	Immunofluorescence; ELISA; immunoblotting	An aerobic physical exercise protocol (running on a treadmill) was performed. Only animals that were classified as medium, above average, and good runner were included in the procedure. The physical exercise protocol was performed between days 21 and 60 of life. Each session started with a 5-minute warm-up at 8–10 m/minute. The running time and speed were gradually increased, reaching a maximum of 18 m/min for 60 min. Animals in the control group were treated in the same way as animals in the exercise group.
Aguilar et al. [24]	Investigate whether long-term light physical exercise on a running wheel or treadmill improves spatial learning, memory, and plasticity of the hippocampus in elderly rats.	Female Wistar rats aged 24 months were divided into two groups: exercised ($n = 17$ animals) and sedentary controls ($n = 18$ animals).	Hippocampus	Western blotting; RT-PCR	Animals underwent an adaptation period for 1 week on a treadmill, with a daily session of 3 minutes at a speed of 2 m/min. Then, the aerobic exercise protocol was started, which was performed for 4 consecutive weeks, with 4 sessions per week. Each exercise session consisted of a warm-up session (3 min, 2 m/min), followed by two sessions of running sessions (4–6 min) at a constant belt speed 10 m/min. Each session was spaced by a 1-minute rest interval.
Aguilar et al. [25]	To analyze the effects of physical exercise on mitochondrial physiology, anxiodepressive-like behaviors and neuroplasticity in mice.	Male C57BL/6 mice aged 8–10 weeks old were divided into two groups: voluntary exercise ($n = 16$) and control group ($n = 16$).	Hippocampus	RT-PCR; HPLC; Western blotting; spectrophotometrical assays for assessing	A voluntary physical exercise protocol was carried out in individual cages equipped with a steering wheel to stimulate voluntary exercise for 6 weeks (Aguilar et al. [26]).
Bhattacharya et al. [27]	To determine the effects of EGCG (~250 mg/kg/day), B-ALA (~550 mg/kg/day), and their combination with voluntary wheel running exercise.	91 male BALB/c mice at 10 weeks of age were divided into eight groups: control ($n = 11$ sedentary and 11 runners), B-ALA ($n = 11$ sedentary and 12 runners), EGCG ($n = 12$ sedentary and 11 runners), or EGCG and B-ALA combined ($n = 12$ sedentary and $n = 11$ runners).	Hippocampus	Immunohistochemistry	A voluntary physical exercise protocol was carried out for 39 days. Wheel rotations were monitored continuously in one-hour increments throughout the experiment via magnetic switches interfaced to the computer.

TABLE 1: Continued.

Author (year)	Aim	Animal species/experimental groups	Brain tissues	Analysis	Protocol of physical exercise
Brockett et al. [28]	To investigate whether running alters performance on cognitive tasks that require the prefrontal cortex and whether any such changes are associated with astrocytic, as well as neuronal plasticity.	Adult male Sprague-Dawley male rats are divided into two groups: sedentary controls ($n = 18$) and runners ($n = 18$) groups.	Hippocampus; medial prefrontal cortex; orbitofrontal cortex	Immunolabeling for astrocyte and synaptic markers; Dil impregnation	A protocol of voluntary physical exercise in a running wheel was performed for 12 days. The running distance was recorded daily digital counters mounted on the racing wheels.
Kim et al. [29]	To investigate the effect of treadmill exercise on impairment of cognitive function in relation with hippocampal neuroplasticity using high-fat diet-induced obese mice.	C57BL/6 male mice at four weeks of age were divided into four groups: control group ($n = 10$), control and exercise group ($n = 10$), high-fat diet group ($n = 10$), and high-fat group and exercise ($n = 10$).	Hippocampus	Western blotting; immunohistochemistry	An aerobic exercise protocol was performed in treadmill for 20 weeks.
Vilela et al. [30]	To investigate the effect of aerobic and strength training on spatial memory and hippocampal plasticity in aging rats.	Male Wistar rats of 24 months old were divided into three groups: ($n = 6$ /group) untrained, aerobic training, and strength training groups.	Hippocampus	Western blotting	Two physical exercise protocols were performed. The aerobic exercise protocol was performed on a running treadmill. Each session lasted 50 minutes and there was an interval of 48 hours between sessions. The anaerobic exercise protocol was performed through strength training. Climbing with 1 m inclined at 85° was carried out with weight attached to the tail. The weight attached to the tail was gradually increased from 50 to 100% during the 8 weeks of training. Three to five sets of 8 to 12 repetitions, with a 1-minute rest between repetitions and a 2-minute rest between sets, were performed for 3 or 4 days/week. Each session lasted 40 to 50 minutes, with an interval of 48 hours between sessions.
de Senna et al. [31]	To investigate the effects of physical exercise to prevent or reverse spatial memory deficits produced by diabetes and some biochemical and immunohistochemical changes in hippocampal astrocytes of type 1 diabetes mellitus model.	Three-month-old male Wistar rats were divided into four groups: nontrained control ($n = 15$), trained control ($n = 15$), nontrained diabetic ($n = 13$), and trained diabetic ($n = 13$).	Hippocampus	Immunohistochemistry; morphological analysis of astrocytes.	The aerobic physical exercise protocol was performed on a running treadmill at moderate intensity. The protocol took place once a day for 5x a week for 5 weeks.
Park and Kim [32]	To assess the effects of paternal physical exercise on spatial learning ability in relation with hippocampal	Male and female Sprague-Dawley rats of 4 weeks old were divided into four groups: nonexercising male and normal female group ($n = 5$), exercising male and	Hippocampus	Immunohistochemistry; Western blotting	An aerobic exercise protocol was performed on a running treadmill. The exercise was performed once a day and 6 days a week for 12 consecutive weeks

Neural Plasticity

Neural Plasticity

59

TABLE 1: Continued.

Author (year)	Aim	Animal species/experimental groups	Brain tissues	Analysis	Protocol of physical exercise
	neuroplasticity in the rat pups born from the obese maternal rats.	normal female group (n = 5), nonexercise male and obese female group (n = 5), and exercise male and obese female group (n = 5).			[first 3 weeks (30 minutes—speed: 10 min/min); 4–6 weeks (40 minutes—10 m/min); 7–9 weeks (30 minutes—15 m/min); 10 to 12 weeks (40 min—15 m/min)].
Park et al. [33]	To determine whether symptoms of chemo brain and disruptions in the neuroplasticity and functioning of hippocampal mitochondria can be prevented or relieved by exercise.	Male Wistar rats of 6 weeks old were divided into four groups: control (n = 15), control and exercise (n = 15), DOX-induced chemo brain (n = 15), and DOX-induced chemo brain and exercise (n = 15).	Hippocampus	Immunofluorescence; immunohistochemistry; Western blotting	An aerobic exercise protocol was performed on a running treadmill. The exercise was performed once a day (30 min at 10 m/min) and six days per week for 4 consecutive weeks.
Park et al. [34]	To investigate whether the decline in cognitive function caused by a high-fat diet could be improved through exercise by examining insulin signaling pathways and neuroplasticity in the hippocampus.	Male C57BL/6 mice of 4 weeks old were divided into five groups: control (n = 20), control and exercise (n = 20), exercise (n = 20), high-fat diet (n = 20), and high-fat diet and exercise (n = 20).	Hippocampus	Immunofluorescence; immunohistochemistry; Western blotting	An aerobic exercise protocol was performed on a running treadmill. The treadmill exercise started 20 weeks after taking the HFD. The exercise was performed once a day and six days per week for 12 consecutive weeks [1–2 weeks (30 min—10 m/min); 3–4 weeks (40 min—10 m/min); 5–6 weeks (30 min—13 m/min); 7–8 weeks (40 min—16 m/min); 9–10 weeks (40 min—16 m/min); 10–12 weeks (50 min—16 m/min)].
Yau et al. [35]	Examine the effects of training on the administration of corticosterone on the hippocampus neurogenesis, cell proliferation and differentiation, synaptic protein expression, expression of neurotrophic factors, and behavioral analysis.	Adult male Sprague-Dawley rats were divided into four groups (n = 4–6): (1) control rats (CON); (2) CORT-treated rats that could run only during the 2-week CORT administration period (CR); (3) CORT-treated rats with the 2 weeks prior running only (PR); and (4) CORT-treated rats that could run both prior and concurrently with the CORT administration period (PR + CR).	Hippocampus	Immunohistochemistry; Western blotting	A protocol of voluntary physical exercise in a running wheel was performed for 34 days. The wheels were then unlocked for the rats with running for 14 days prior to the 50 mg/kg corticosterone treatment.
Pan et al. [36]	To explore the specific role of physical exercise in novel object recognition memory after stroke and the exact cortical regions in which memory is restored by physical exercise.	Spontaneously hypertensive rats of 10–12 weeks old were divided into four groups (n = 20 rats/group): control groups; tMCAO (2 d) group, in which rats underwent tMCAO surgery and NOR tests were performed 2 days later; the tMCAO (28 d) group, in which NOR tests were performed at 28 days post-	Entorhinal cortex	Histochemistry; Western blotting	The physical exercise protocol was performed on a motorized racing wheel for 26 days from day 3 after treatment with tMCAO. During the first 12 days, the speed of 3 m/min was maintained for 20 minutes, twice a day. In the following 14 days, the speed was maintained at 6 m/min.

Neural Plasticity

TABLE 1: Continued.

Author (year)	Aim	Animal species/experimental groups	Brain tissues	Analysis	Protocol of physical exercise
		tMCAO; and a tMCAO (28 d)+PE group, in which tMCAO was established and rats exercised in a running wheel for 26 consecutive days starting at the third day post-tMCAO.			
Rabelo et al. [37]	To evaluate whether the intrinsic capacity for physical exercise influences dopamine neuroplasticity induced by physical training.	Male Wistar rats of 2 months old were divided into three groups: low performance LP (n = 8), standard performance (SP) (n = 8), and high performance (HP) rats (n = 8) which were randomized into the SED and TR groups.	Not informed	PCR	The aerobic exercise protocol was performed on a treadmill for 6 weeks, 5 times a week. The training time was obtained through an exercise test (40% of the maximum time obtained during the test of 60% V_{max}) and the speed was kept constant. The duration of the training sessions was increased by 10% per week (except for the transition from the 3rd to the 4th week).
Seo et al. [38]	To evaluate whether exercise can improve psychiatric status and cognitive functioning, increasing the mitochondrial function of the hippocampus and neuroplasticity in a model of rats with posttraumatic stress disorder.	Male Sprague-Dawley of 4 weeks old were divided into four groups: control (CON) group, a control and exercise (CON+EX) group, a PTSD group, and a PTSD and exercise (PTSD+EX) group (n = 15 in each group).	Hippocampus	Immunofluorescence; Western blotting; mitochondrial analysis	The aerobic exercise protocol was performed on a treadmill once a day, 6 days a week, for 4 consecutive weeks. In the first two weeks, the exercise lasted 30 min with a speed of 10 m/min. In the third week, the rats performed 40 minutes of exercise at a rate of 12 m/min. In the fourth week, the exercise lasted 50 minutes at 13 m/min.

B-ALA: β -alanine; CORT: corticosterone; DOX: doxorubicin; ELISA: enzyme-linked immunosorbent assay; ECGC: epigallocatechin 3-gallate; EX: exercise; GFAP: glial fibrillary acidic protein; HPLC: high-performance liquid chromatography; NOR: novel object recognition; PE: physical exercise; PTSD: posttraumatic stress disorder; RT-PCR: real-time polymerase chain reaction; SED: sedentary; tMCAO: transient middle cerebral artery occlusion; TR: trained.

TABLE 2: Description of the included studies with human.

Author (year)	Aim	Sample description	Brain tissue	Other analysis	Study design/protocol of physical exercise
Eftekhari and Etemadifar [39]	To determine the chronic effect of Mat Pilates on serum levels of interleukin-10 and brain-derived neurotrophic factor in women with multiple sclerosis.	25 women are suffering from relapsing-remitting multiple sclerosis with expanded disability status scale 2-6, based on McDonalds criteria. They were divided into two groups: control group (n = 12; age (years) = 34.46 ± 7.29) and Pilates training group (PT) (n = 13; age (years) = 31.41 ± 8.89).	—	ELISA	This is a randomized controlled study, which was carried out from April 2015 to June 2015. The anaerobic exercise protocol was performed through Mat Pilates training and lasted eight weeks, three times a week, lasting 30-40 min/day. The exercises were performed at low to moderate intensity according to the patient's performance. The intensity of the exercise gradually increased with the inclusion of more repetitions (3-10), decreasing the rest time and increasing the number of sets (1-2). Blood collection was carried out between 8 and 9 am to determine the serum levels of pre- and posttest. The posttest blood sample was collected 48 hours after the last Pilates session.
Müller et al. [40]	To assess whether a dance training program that emphasizes constant learning of new movement patterns is superior in terms of neuroplasticity to conventional conditioning with repetitive exercise and whether the extension of the training duration has additional benefits.	62 healthy (63 to 80 years old) were recruited through advertisements in local newspapers. The following exclusion criteria were adopted: claustrophobia, tinnitus, metal implants, tattoos, diabetes mellitus, depression, cognitive deficits, neurological diagnosis, and regular physical exercise (1 h/week). 10 participants were excluded from the criteria. Only 22 participants completed the entire intervention. These were divided into two groups: dancing group (n = 12) and sport group (n = 10).	Gyrus and right parahippocampal	ELISA; MRI	This is a controlled intervention study with a total duration of 18 months. The intervention was carried out in two periods: first period (twice a week in sessions of 90 minutes for 6 months) and second period (training once a week in sessions of 90 minutes for 12 months). Two protocols were used: dance group (participants were asked to learn new sequences of movement, which required coordination; each rhythm was changed after the fourth session). Sport group (participants performed strength-resistance training, with low demand for coordination; each session lasted 20 minutes). The two training programs were comparable in terms of intensity, duration, and frequency. Baseline assessments were made after 6 and 18 months of training.
Ji et al. [41]	To assess whether motor skill causes changes in plasticity after exercise in different modalities.	24 healthy individuals (70 ± 7.78 years old; 12 women) were recruited through advertisements. These were divided into two groups: control (n = 12; 7 women; 73 ± 8 years old) and trained group (n = 12; 5 women; 67 ± 6.4 years old).	Dorsolateral prefrontal cortex, posterior cingulate, precuneus cortex, hand motor area, occipital lobe, and cerebellum	MRI	The study was a quasiperiment. A physical exercise protocol was carried out that had four domains (aerobic, balance, weight lifting, and yoga). Participants were instructed to practice at home for 30 min every day for 6 weeks.

Neural Plasticity

Neural Plasticity

TABLE 2: Continued.

Author (year)	Aim	Sample description	Brain tissue	Other analysis	Study design/protocol of physical exercise
Rehfeld et al. [42]	To evaluate the effects of a dance program in the elderly on brain plasticity.	62 volunteers were selected through a local advertisement. After the exclusion criteria, 52 elderly people (25 men; 27 women) aged 63 ± 80 years were randomly assigned to the experimental dance group (DG) and the control group to the sports group (SG). In the end, 38 participants completed the intervention. Dance group (n = 20) and sport group (n = 18).	Frontal, temporal, cortical, and cerebellar regions	ELISA; MRI	This is an intervention study that used two protocols: dance intervention (subjects were trained to accurately memorize and access different rhythms and step sequences in space, all under accuracy and time pressure) and sport intervention (each session included three different units: endurance training, strength-endurance training, and flexibility training). The protocols happened twice a week for 90 minutes and six months long.
Woo et al. [43]	To investigate whether a sequential combination of physical and spatial training in young, healthy adults elicits an additive effect on training and transfer gains.	99 volunteers aged between 18 and 35 participated in the study.	Hippocampus	ELISA; MRI	The study presents an experimental design. Participants performed eight sessions: (1) three weeks of 20 minutes of cycling per day classified based on high-intensity training between T0 and T1 (ERGO); (2) five weeks with 16 sessions of 30 minutes of space training between T1 and T2 (MAZE); and (3) a sequential combination of both (COMBO) or rested as passive controls.
Rogge et al. [44]	To test if balance training, challenging the sensory-motor system and vestibular self-motion perception, induces structural plasticity.	Participants were recruited through public announcements. Healthy adults between 19 and 65 years of age who did not report regular exercise were eligible for the study. 59 participants were randomized between groups; however, only 38 completed the study (24 women/14 men). Participants were divided into two groups: balance group (n = 19) and relaxation group (n = 18).	Hippocampus; basal ganglia	MRI	It is an intervention study, where the participants carry out 12 training sessions, with two sessions per week, each lasting 50 min. Two protocols were performed: balance training (eight different stations per session) and relaxation training (progressive muscle relaxation and autogenic training).

ELISA: enzyme-linked immunosorbent assay; MRI: magnetic resonance.



FIGURE 2 | Risk of bias graph: review authors' judgments about each risk of bias item presented as qualitative analysis across all included studies.

protocol intervention (Vilela et al. [30]). Regarding GDNF level, two studies showed that aerobic exercise was able to increase protein and mRNA levels (Rabelo et al. [37]; Vilela et al. [30]). The p75 neurotrophin receptor (p75NTR) was

evaluated by Vilela et al. (Vilela et al. [30]) which showed an increase in p75NTR expression in both aerobic and resistance training protocols compared to untrained animals. Aerobic exercise was also able to increase the levels of postsynaptic density protein 95 (PSD-95), phosphorylated N-methyl-D-aspartate receptor (pNMDA), and synapsin (SYN) when compared to the control (Yau et al. [35]; Brockett et al. [28]; Vilela et al. [30]) and hypertensive groups (Pan et al. [36]).

3.5. Effects of Physical Exercise on Cellular Signaling Factors That Stimulate Neuroplasticity: The expression of cellular signaling factors was investigated only in animal studies (Table 3). The different aerobic protocols (treadmill and running wheel) increased expression and phosphorylation of alpha serine/threonine kinase (AKT), cyclic adenosine monophosphate-responsive element-binding protein (CREB), and cyclic adenosine monophosphate (cAMP) phosphorylation (Aguilar et al. [24]; Aguilar et al. [25]; Vilela et al. [30]) in the hippocampus. CREB levels were also increased after strength training (Vilela et al. [30]). Sprague-Dawley rats that were treated with corticosterone, a glucocorticoid released by the adrenal cortex, obtained increased levels of insulin-like growth factor-1 (IGF-1) in the hippocampus after performing aerobic and strength training (Yau et al. [35]).

3.6. Effects of Physical Exercise in Neuronal Growth and Differentiation: Only protocols with aerobic exercises evaluated cell growth and differentiation of brain areas. Neurogenesis was evaluated in animal studies. In this sense, PE promoted an increase in the number of cells in the dentate gyrus, hippocampus, prefrontal cortex, and orbital cortex (Bhattacharya et al. [27]; Brockett et al. [28]; Kim et al. [29]; de Sena et al. [31]; Pan et al. [36]; Park et al. [34]). However, in the prefrontal cortex, these responses after PE were not observed (Brockett et al. [28]). In addition, PE increased cell differentiation, proliferation, and survival in the hippocampus of Sprague-Dawley rats (Yau et al. [35]; Park and Kim [32]). PE also increases the density of neuronal fibers and dendritic column in animal studies (Gomes da Silva et al. [23]; Brockett et al. [28]). In humans, MRI was used to assess neural structures (Table 4). An increase in the mass of white and gray matter was observed in different regions (hippocampus, cortex, cerebellum, and basal ganglia) (Ji et al. [41]; Müller et al. [40]; Rehfeld et al. [42]; Rogge et al. [44]).

3.7. Effects of Physical Exercise on Cognitive Abilities: In Wistar rats, a reduction in latency (Aguilar et al. [24]; Gomes da Silva et al. [23]; Vilela et al. [30]) and length of the swimming track (Aguilar et al. [25]) were observed through the water maze test and Barnes' maze, in trained Wistar rats with aerobic exercise and of strength compared to control (Table 3). Better spatial memory capacity (Kim et al. [29]) and both short-term (Park et al. [33]) and long-term (Park et al. [34]) were also observed in the Y-maze and water maze tests after the aerobic exercise protocol in Wistar rats and C57BL/6 mice. Wistar rats and C57BL/6 mice trained in aerobic exercise showed faster learning (Aguilar et al. [25]) and



FIGURE 3: Risk of bias graph: review authors' judgments about each risk of bias item presented as percentages across all included studies.

increased spatial learning (Aguilar et al. [25]) after the water maze and Morris water tests. When aerobic PE was performed by the parents, an increase in the puppies' spatial learning capacity (Sprague-Dawley rats) was also demonstrated (Park and Kim [32]).

In humans, the tests to assess memory were verbal learning test, attentional performance test, immediate, delayed, and recognition recall from Hopkins Verbal Learning Test-Revised, immediate and delayed story recall from the Rivermead behavioral memory test, WAIS-III digit symbol substitution modality test, WAIS-III digit span, trail making test, Stroop Color and Word Test, digit span forward and backward of the Wechsler Memory Scale, Rey-Osterrieth complex figure test, VVM, subtests "figures," "dices," and "matrices" from the Intelligence Structure Test 2000R, and "California Verbal Learning Test" (Table 4). In humans, memory improvements have been demonstrated in combined exercise (Ji et al. [41]) and dance and strength training protocols (Behlidd et al. [42]). After strength training, dancing and cycling improvements in cognition were also observed (Müller et al. [40]; Woost et al. [43]). Both strength training and dance cause better responses about a short-term recall, long-term recall, verbal long-term recognition, and attention reaction (Müller et al. [40]). Woost et al. did not observe differences on cognition and memory after cycling training.

Two studies evaluated the effect of aerobic exercise on anxiety through the elevated plus maze test and open field test in the animal (Table 3). It was observed that the trained animals had increased time of exploration with open arms, locomotion, and time of exploration (Aguilar et al. [25]; Seo et al. [38]). In the open field test, there was an increase in exploration in the central regions, in addition to an increase in locomotion (Aguilar et al. [25]). Depression was evaluated in three studies using the tail suspension test (Seo et al. [38]) and forced swim test (Rogge et al. [44]; Seo et al. [38]) protocols. In all studies, it was observed that trained animals had reduced immobility after exercise compared to the control groups (Yau et al. [35]; Rogge et al. [44]; Seo et al. [38]). In models with corticosterone administration, aerobic exercise was also able to reduce immobility time (Yau et al. [35]). In humans, no study has evaluated anxiety and depression parameters.

4. Discussion

The present review confirmed the hypothesis that different modalities of PE (aerobic and resistance training) are capable of potentiating neuroplasticity in different species (animals and humans), through the high production of neurotrophic factors, cell signaling, growth, and development, resulting in improved cognition. In addition, it was also found that PE improved functional abilities such as state of anxiety and depression in animals. PE, especially aerobic exercise, was responsible for the high expression of brain trophic factors. Sleiman et al. [45] observed the increase in BDNF levels in the hippocampus after thirty days of access to the running wheel in mice. The increase in this neurotrophic factor, according to the authors, may occur due to endogenous production and affinity of β -hydroxybutyrate, by BDNF promoter regions (Sleiman et al. [45]).

Park et al. [33] observed that paternal exercise was able to increase BDNF levels in the hippocampus, demonstrating a transgenerational effect like that observed in the study by Yin et al. [46]. In this study, it was demonstrated that paternal exercise provided increased levels of BDNF in the offspring (Yin et al. [46]). The changes promoted by exercise can be transmitted by epigenetic mechanisms, as well as the decrease in DNA methylation in the offspring's hippocampus (Dyer et al. [47]).

In humans, results like those in animal studies have been observed. An increase in serum/plasma BDNF was observed after aerobic (dance and sports) and anaerobic (Pilates) exercise. Hakansson et al. [48] realized a study with healthy volunteers who performed moderate-intensity aerobic exercise. They observed an increase in BDNF levels in the elderly's bloodstream after thirty-five sessions of aerobic exercise analyzed by ELISA (Hakansson et al. [48]). BDNF produced peripherally can act as a metabolite in response to the contraction of skeletal muscle (Jiménez-Maldonado et al. [49]). This compound is carried by the blood stream crossing the blood-brain barrier, promoting its activation in the central nervous system (Jiménez-Maldonado et al. [49]). When performing a cycling protocol in high-intensity training (HIT), Woost et al. (2018) showed no increase in BDNF levels.

TABLE 3: Description of the main results of animal studies.

Author (year)	Neurotrophins and receptors	Neuroplasticity outcomes Cell signaling	Cell growth and differentiation	Functional outcomes
Gomes da Silva et al. [23]	An increase in BDNF expression was observed in the hippocampus ($p = 0.00$) and TrkB ($p = 0.03$) in the exercise group when compared to the control group. There were no differences for P75NRT receptor ($p = 0.69$).	—	No significant differences in neuronal density were found between the exercise group and control groups [CA1 ($p = 0.49$); CA3 ($p = 0.66$); DG ($p = 0.69$)]. However, the density of mossy fibers was higher in the hippocampal formation of the exercise group ($p = 0.01$) when compared to the control group.	Learning and memory of animals from exercise and control groups were analyzed in the water maze for five days. Latency ($p = 0.00$) and length of the swimming path ($p = 0.00$) in the exercise group were significantly shorter than in the control group. However, there were no differences in speed ($p = 0.65$), showing that the results were not influenced by physical conditioning. On day 66, the platform was removed from the water maze to assess the time spent in each of the four imaginary quadrants. The results showed that both groups showed preferences for the previous quadrant ($p < 0.05$). On day 96, the platform was replaced in the water maze to analyze long-term memory. It was observed that the latency in finding the platform was lower in the exercise group ($p = 0.00$) compared to the control group.
Aguilar et al. [24]	BDNF mRNA expression ($p = 0.05$) and BDNF protein levels ($p = 0.05$) were higher in the hippocampus of elderly rats after short light intensity exercises.	Phosphorylation of Akt ($p = 0.05$) and CREB ($p = 0.05$) was greater in the hippocampus of trained elderly rats when compared to the control.	—	Learning and memory were analyzed in the water maze. A reduction in the escape latency of the exercised group was observed when compared to the control group ($p = 0.05$). In addition, more time was spent in the correct quadrant ($p = 0.05$) in the exercise vs. control group. There were no differences in swimming speed ($p = 0.48$) and distance covered ($p = 0.64$).
Aguilar et al. [25]	Physical exercise increased the expression of BDNF ($p < 0.05$) and GDNF ($p < 0.05$) in the hippocampus.	Physical exercise increased the phosphorylation of the element responsive to cAMP and CREB protein in the hippocampus ($p < 0.05$).	—	The effects of physical exercise on depression-like and anxiety-like behaviors were evaluated. In the elevated plus maze (EPM) test, it was observed that PE promoted an anxiolytic effect indicated by increased open arms by exercised rats compared to the control group [EPM open arms: % total arms entries ($p < 0.05$); time of investigation ($p < 0.05$)]. In the open field, there was an increase in the exploration of the central regions of the open field in exercised animals. The increase in

TABLE 3: Continued.

Author (year)	Neurotrophins and receptors	Neuroplasticity outcomes Cell signaling	Cell growth and differentiation	Functional outcomes
Bhattacharya et al. [27]	—	—	Exercise increased the total number of BrdU + cells in the granular layer of the dentate gyrus compared to the sedentary group ($p < 0.0001$).	locomotion ($p < 0.05$) and exploration time in the center of the open field ($p < 0.05$) was greater in the trained vs. sedentary group. In the tail suspension test, the exercised group showed reduced immobility ($p < 0.05$). However, no differences were found between groups regarding latency time ($p = 0.53$).
Brockett et al. [28]	Runner animals showed an increase in PSD-95 in the hippocampus ($p = 0.01$), medial prefrontal cortex ($p = 0.00$), orbitofrontal cortex ($p = 0.00$), and perirhinal cortex ($p = 0.02$).	—	An increase in body area of astrocyte cells was observed in the hippocampus ($p = 0.02$), medial prefrontal cortex ($p = 0.03$), and orbitofrontal cortex ($p = 0.00$) in the runner group when compared to the sedentary group. No differences were observed in the perirhinal cortex. Concerning the density of the dendritic column, runner animals had an increase in the apical ($p = 0.0001$) and basal dendrites of the 2/3-layer pyramidal neurons ($p = 0.0001$) in the medial prefrontal cortex. There was also a significant increase in apical ($p = 0.001$) and basal ($p = 0.0004$) trees in runner animals.	To assess the conditioning of contextual fear, physical exercise increased the duration of freezing in the original context ($p < 0.00$). In the assessment of fear conditioning, physical exercise promoted a longer duration of freezing behavior ($p = 0.00$).
Kim et al. [29]	Physical exercise increased the expression of BDNF and TrkB compared to the control and high-fat group ($p < 0.05$).	—	Treadmill exercise increased the number of DCX-positive and BrdU-positive cells in control and high-fat diet-induced obese mice ($p < 0.05$).	Object memory testing was used to evaluate memory. Runners showed the highest discrimination ratio on the object in place task ($p = 0.00$). On the other hand, there was no difference in discrimination rates between groups on the novel object preference after 12 days of running ($p = 0.4$). To assess cognition, an attentional set-shifting task was performed. Runners showed an improvement in simple ($p = 0.01$), reversal ($p = 0.00$), and extradimensional ($p = 0.01$) discrimination, changing the attention-changing task in terms of the number of attempts to reach the criterion. However, sedentary mice also performed the task as expected.
				Memory was assessed by the Y-maze test. Treadmill exercise alleviated deterioration of spatial and short-term memory in control mice (spontaneous alternation ($p < 0.05$), correct number ($p < 0.05$), and error number ($p < 0.05$)) and obese patients induced by a high-fat diet.

TABLE 3: Continued

Author (year)	Neurotrophins and receptors	Neuroplasticity outcomes Cell signaling	Cell growth and differentiation	Functional outcomes
Vilela et al. [30]	Aerobic exercise showed an increase in PSD-95 levels when compared to the other groups ($p < 0.05$). However, the two physical exercise protocols showed improvements over the levels of pNMDA ($p < 0.05$), BDNF ($p < 0.05$), and p75NTR ($p < 0.05$) when compared to the control. TrkB levels were decreased after aerobic exercise ($p < 0.05$).	CREB increased after training for both exercise protocols ($p < 0.05$).		The Barnes maze test was used to assess memory and cognition. The latency to find the escape orifice was reduced and spatial memory (increase in the time spent in the destination quadrant) was improved after the strength and aerobic exercise ($p < 0.05$) compared to the sedentary group.
de Senna et al. [31]	—	—	A significant increase in the number of astrocytic ramification in all directions was observed in trained diabetic rats when compared to the diabetic group ($p < 0.05$).	Memory was assessed using the place recognition test. After physical training, the analysis of the exploration time of trained diabetic rats was greater than in the diabetic group ($p < 0.05$).
Park and Kim [32]	Paternal exercise enhanced BDNF ($p < 0.05$) and TrkB ($p < 0.05$) expressions in the male rat pups from the obese maternal rats.	—	Paternal exercise increased cell differentiation (DCX-positive cells; $p < 0.05$) and cell proliferation (BrdU-positive cells; $p < 0.05$) in the hippocampus of male rat pups from the obese maternal rats.	Spatial learning ability was evaluated using the Morris water maze task. Paternal exercise reduced the escape latency ($p < 0.05$) and time in probe quadrant ($p < 0.05$), improving the spatial learning capacity in male offspring of obese rats.
Park et al. [33]	Physical exercise reduced the effects of CHEMO, increasing the levels of BDNF ($p < 0.05$) and TrkB ($p < 0.05$).	—	Exercise increased levels of cell proliferation in animals that received CHEMO [BrdU/NeuN-positive cells in dentate gyrus ($p < 0.05$)].	Short-term memory was assessed using the step-down avoidance task, and Morris water maze task was performed to assess spatial learning and working memory. A reduction in the step-down latency time ($p < 0.05$), escape latency ($p < 0.05$), and longer time in the quadrant probe ($p < 0.05$) was observed in CHEMO+EX compared to the CHEMO group.
Park et al. [34]	Exercise reduced the effects of the high-fat diet, increasing the hippocampal levels of BDNF ($p < 0.05$) and TrkB ($p < 0.05$).	—	Exercise reduced the effects of the high-fat diet, increasing cell proliferation [number of BrdU/NeuN-positive cells in the dentate gyrus ($p < 0.05$)] and cell differentiation [number of DCX-positive cells in the dentate gyrus ($p < 0.05$)].	The Morris water maze test was used to assess spatial memory. Exercise reduced the effects of the high-fat diet, reduced escape latency ($p < 0.05$), stepped down latency time ($p < 0.05$), and increased time in probe quadrant ($p < 0.05$).
Yau et al. [35]	Treadmill exercise improved levels of PSD-95 ($p < 0.05$) and SYN ($p < 0.05$) reduced by treatment with corticosterone.	Treadmill exercise improved IGF-1 levels ($p < 0.05$) reduced by treatment with corticosterone.	Treadmill exercise improved levels of CldU-positive cells ($p < 0.05$), number of proliferating cells in dentate gyrus ($p < 0.05$), CldU-positive cells in the dentate gyrus ($p < 0.05$), IdU-labeled cells in dentate gyrus	Depression-like behavior was measured according to the method of the forced swim test. Continuous running decreased immobility time ($p < 0.05$) and decreased

Neural Plasticity

TABLE 3: Continued

Author (year)	Neurotrophins and receptors	Neuroplasticity outcomes Cell signaling	Cell growth and differentiation	Functional outcomes
			($p < 0.05$), BrdU-positive cells ($p < 0.05$) and increased neuronal differentiation (DCX cells, $p < 0.05$) reduced by treatment with corticosterone.	depression-like phenotypes compared to the CORT group.
Pan et al. [36]	Physical exercise increased the reduced levels of SYN ($p < 0.001$) and PSD-95 ($p < 0.001$) in the entorhinal cortex in tMCAO rats.	—	Physical exercise improved cell proliferation (neutN-positive cells ($p < 0.01$), Ki-67-positive cells ($p < 0.001$), and TUNEL-positive cells ($p < 0.001$)) in transient rats with middle cerebral artery occlusion (tMCAO).	Memory was assessed by the novel object recognition test. Physical exercise improved memory (discrimination ratio, $p < 0.01$) of the recognition of new objects in transient mice with occlusion of the middle cerebral artery (tMCAO).
Rabdo et al. [37]	Physical training elicited an increase in Gdnf mRNA levels in the CPu of low performance rats ($p < 0.01$), whereas it decreased Bdnf expression only in high-performance rats ($p < 0.05$).	—	—	—
Seo et al. [38]	There was an increase in hippocampal expression of BDNF ($p < 0.05$) in animals trained with posttraumatic disorder. However, there was no difference in TrkB levels.	—	There was no difference on positive cells for BrdU/NeuN and DCX in the dentate gyrus between the groups, with no differences on neurogenesis and cell differentiation.	The open field, elevated plus maze, forced swimming test, and Morris water test were performed to assess depressive-like behavior, anxiety, depressive state, and spatial learning and working memory, respectively. The exercise group showed an increase in open arms ($p < 0.05$) and time in open arms ($p < 0.05$) when compared to the PTSD group. There was a reduction in immobility time ($p < 0$) and average distance in the centers ($p < 0$) in the PSTS +EX group. Thus, a reduction in anxiety, depression-like behavior, and a depressed state was observed in the trained animals. There was no effect of exercise on escape latency and time in the probe quadrant, and average distance from the center demonstrating no improvement in memory and learning.

AKT: protein kinase B; APE1: apurinic/apyrimidinic endonuclease 1; BDNF: brain derived neurotrophic factor; CAMP: cyclic adenosine 3',5'-monophosphate; CREB: cyclic amp-response element binding protein; CR: CORT-treated rats that were allowed to run only during 2 weeks; CORT: corticosterone; CPu: caudate putamen; DAT: dopamine transporter; DOPAC: 3,4-dihydroxyphenylacetic acid; DA: dopamine; DCX: doublecortin; GDNF: glial cell-derived neurotrophic factor; HP: high performance; LP: low performance; mRNA: messenger RNA; PSD-95: postsynaptic density protein 95; p75NTR: p75 neurotrophin receptor; PR: CORT-treated rats of 2 weeks prior to running only; PE: physical exercise; TrkB: tropomyosin receptor kinase B; TR: trained; tMCAO: transient middle cerebral artery occlusion; 5-HT: serotonin.

15

TABLE 4: Description of the main results of human studies.

Author (year)	Neurotrophic factors	Neuroplasticity outcomes	Structural changes	Cognitive outcomes
Eftekhari and Elmadifar [39]	An increase in BDNF levels was observed after an 8-week Pilates training ($p = 0.03$).	—	—	—
Müller et al. [40]	Dancing group presented an increase in BDNF level ($p < 0.05$); after 6 months, there were no differences in the sport groups.	Through MRI, an increase in gray matter was observed on the left side of the precentral gyrus in the dance group after 6 months ($p < 0.05$). At 18 months, there was an increase in gray matter in the right parahippocampal gyrus in the dance group ($p < 0.05$).	—	Neuropsychological tests were performed to assess short- and long-term memory (verbal learning test and attentional performance test). Both groups demonstrated improvements in short-term memory (early VLMT recovery, $p = 0.00$) and long-term (long-term free verbal recall, $p = 0.04$; long-term verbal recognition, $p = 0.00$) after 6 and 18 months of training in both tests. However, there was no difference between groups.
Ji et al. [41]	—	The trained group showed an increase in gray matter in the dorsolateral prefrontal cortex, posterior cingulate/precuneus cortex, hand motor area, occipital lobe, and cerebellum. There was no difference in the striatum.	—	The following tests were used to assess neuropsychological function: immediate, delayed, and recognition recall from Hopkins Verbal Learning Test-Revised (HVLT-Imm, HVLT-Delay, and HVLT-Recog); immediate and delayed story recall from the rivermead behavioral memory test (RM-Imm and RM-Delay); WAIS-III digit symbol substitution modality test (DSST); WAIS-III digit span, trail making test (trials A and trials B), and Stroop color and word test. The physical training group performed the cognitive tests before and after the 6-week training. All neuropsychological test scores increased after exercise, except HVLT-Recognition. An improvement was observed on memory ($p = 0.01$) and executive function ($p = 0.01$). The physical training group showed significantly greater improvement in the discrimination rate than the control group ($p = 0.03$) after 6 weeks.
Rehfeld et al. [42]	The dance group showed an increase in plasma BDNF levels ($p < 0.018$) when compared to the sport group.	After the intervention, the dance group showed greater volume in gray matter in frontal and temporal cortical areas, including the anterior cingulate and medial cortex, the left supplementary motor area, the left precentral gyrus, the left medial frontal gyrus, the left insula, the upper left temporal gyrus, and the left post-central gyrus compared to the sport group. However, there was greater volume in the occipital and cerebellar regions in the sport group. In white mass, there was greater volume in the dance group in the truncus and splenium of the corpus callosum, in the right and left frontal and right parietal. In the sport group, there was a greater volume of white matter in the right temporal and right occipital.	—	Tests were used to assess cognition (alertness, go/no go, divided attention, and flexibility), processing speed (trail test), verbal fluency of words, short-term memory and working memory (digit span forward and backward of the Wechsler Memory Scale), verbal episodic memory (verbal learning and memory task), and visuospatial memory (Rey-Osterrieth complex figure test). The visuospatial memory improved after the two training sessions ($p < 0.00$) as well as for late recovery ($p < 0.001$). The other analyses did not obtain differences between the beginning and the end of the protocol. There were no differences between groups.

Neural Plasticity

Neural Plasticity

TABLE 4: Continued.

Author (year)	Neurotrophic factors	Neuroplasticity outcomes	Structural changes	Cognitive outcomes
Woo et al. [43]	BDNF levels did not differ over time ($p = 0.09$).	—	—	Cognitive performance was assessed using the following tests: spatial cognition assessment (FRS), "Dresden Spatial Navigation Task," human analogue of the "Morris water maze" (huWMZ), "location memory" subtest of the "Berlin Intelligence Structure Test" (BIS) 51 and memory evaluation: VVM, subtests through "figures," "data," and "matrices" of "Intelligence Structure Test 2000R" (IST), and "California Verbal Learning Test" (CVLT). The groups did not differ on the longitudinal change in cognitive performance ($p > 0.05$).
Rogge et al. [44]	—	There were no differences between subcortical gray matter volume in the hippocampus of either group in the right hemisphere ($p = 0.236$) or in the left ($p = 0.743$). The balance group showed a reduction in putamen gray matter volume bilaterally compared to the relaxation group (left hemisphere, $p = 0.019$; right, $p = 0.025$). In addition, better balance performance caused greater precentral cortical thickness (left hemisphere, $p = 0.002$; right, $p = 0.426$). Participants who showed the greatest increase in balance performance showed a greater decrease in gray matter volume in the left putamen ($p = 0.002$).	—	—

BDNF: brain-derived neurotrophic factor; HTLV: recognition recall from Hopkins Verbal Learning Test-Revised; IGF-1: insulin-like growth factor-1; VEGF: vascular endothelial growth factor.

17

Reitas et al. (2018) used a different HIT treadmill protocol for six weeks in Wistar rats, showing increase in the expression of BDNF in the hippocampus. The increase in BDNF levels occurs due to cell signaling of TrkB, KGF-1, and vascular endothelial growth factor (VEGF) (Hartado et al. [50]). In addition, the difference between the HIT protocols (frequency, duration, and on the training surface) can generate divergent results (Jiménez-Maldonado et al. [51]). The present review also demonstrated that aerobic exercise was able to increase the expression of PSD-95, pNMDA, and SYN, in healthy and hypertensive models. Ploughman et al. [52] performed a resistance exercise protocol at moderate intensity for sixty minutes/five times a week in an animal model of cerebral ischemia. This demonstrates that PE can promote neuroplasticity even in pathological and adverse conditions of the brain (Ploughman et al. [52]).

PE is responsible for activating transcriptional factors linked to cell metabolism (Egan and Zierath [53]). In this perspective, CREB, AKT, and cAMP had their signaling increased in the hippocampus after PE protocols at different frequencies (12 days, 4 and 6 weeks). Studies demonstrating the expression of these cellular components play a crucial role in central nervous system development and maturation (Pulimood et al. [54]). In this sense, Jung and Kim [55] evaluated the effect of forced training on a treadmill without inclination, for thirty minutes in five weeks in animals with sensorimotor restriction. The results in the brain demonstrate that there was a high stimulation of AKT and phosphatidylinositol 3 kinase (PI3K), being associated with improvement in memory and motor control (Jung and Kim [55]). Therefore, it is suggested that the increase in these factors may be implicated in enhancing neuronal survival, synaptic plasticity, cognitive function, and neurogenesis (Rodríguez-Torres et al. [56]).

Aerobic and anaerobic exercise was able to increase insulin activity and its transcription factor (IGF-1) expression in animals treated with corticosterone. It has been observed that EF plays a functional role on the activation of IGF-1 (Llorenç-Martín et al. [57]). Furthermore, a short intervention with exercise was needed to reduce the stressful response of cortisol administration and associate with IGF-1 (Yau et al. [35]). Nevertheless, the protective effects of PE against physical and mental stress are already consolidated in the scientific literature (Salmon [58]).

Recent studies have observed the association of IGF-1 and CREB with high stimulation of AKT and cellular neuroplasticity and brain functions (Tabai et al. [59]; Casacielo et al. [60]). Additionally, neuronal growth and differentiation may happen in response to environmental stimuli including PE (Ma et al. [61]). On the other hand, changes in cell number and neuronal density were observed in animal models, as well as an increase in gray and white matter in human models. Nevertheless, Tabai et al. [59] observed the isolated effect of PE (40 sessions for 1 year) on white and gray matter through magnetic resonance imaging in the elderly. The authors found no difference in brain volume after an isolated PE protocol (Tabai et al. [59]). Inherent in this, the aging process promotes a natural reduction in brain mass; this may be the explanation of why exercise did not

provide significant changes in these components (Zhang et al. [62]).

Both types of PE improved memory and learning in animal and human models. Zhang et al. (2019) demonstrated that a four-month treadmill protocol was able to prevent the decline in spatial memory capacity. When parents performed exercise, there was an improvement in offspring cognition (Park and Kim [32]), demonstrating the characteristics related to the active phenotype (Pirolo and Leandro [63]). In humans, exercise has been shown to improve learning and memory through structural and neurochemical changes in the hippocampus (Hötting and Röder [64]). Moreover, a growing literature suggests that exercise, specifically aerobic exercise, may attenuate cognitive impairment and reduce dementia risk (Gobinath et al. [65]).

Aerobic exercise also resulted in decreased anxiety and depression in animal models, even in a stressful situation (administration of corticosterone). PE has an action similar to fluoxetine (selective serotonin reuptake inhibitor) on the treatment of depression and anxiety (Vahid-Ansari and Albert [66]). Thus, like the action of fluoxetine on neurogenesis, the practice of PE increases the plasticity of the hippocampus, promoting changes on serotonin metabolism and synaptic plasticity (Micheletti et al. [67]). As well, both PE and fluoxetine are effective in combating depression and anxiety caused by stress or neurodegenerative diseases (Harvey et al. [68]).

These results demonstrated that PE is associated with improved physical health, satisfaction with life, cognitive functioning, and psychological well-being (Aguilar et al. [26]; Gobinath et al. [65]; Kadariya and Gautam [69]). However, it is not yet known how the variables linked to physical training (intensity, volume, and frequency) can modulate neuroplasticity and its mechanisms.

5. Conclusion

PE was able to promote neuroplasticity through increasing cell signaling and high neuronal growth and differentiation in animal models. In humans, neuroplasticity was observed by increasing the white and gray matter in various brain areas after different PE protocols. Additionally, PE also promoted improvements in cognitive function, such as learning and memory.

Conflicts of Interest

The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgments

The authors thank the Universidade Federal de Pernambuco for their support. This study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Brazil (Finance Code 001) and thanks to Fapepe-Foundation of support to Science and Technology of Pernambuco.

References

- [1] D. F. Watson, L. J. Potts, K. L. Sauer, and J. D. Shaffer, "Causes and consequences of phenotypic plasticity in complex environments," *Trends in Ecology & Evolution*, vol. 34, no. 6, pp. 555–568, 2019.
- [2] M. Martínez-Morales, M. P. Quesada, C. R. Basso, and S. Martínez, "Bases neurobiológicas del autismo y modelos celulares para su estudio experimental," *Medicina*, vol. 79, pp. 27–32, 2019.
- [3] N. V. Galante, "Molecular mechanisms of neuroplasticity: an expanding universe," *Biochemistry (Moscow)*, vol. 82, no. 3, pp. 237–242, 2017.
- [4] G. Kempermann, F. H. Gage, L. Aigner et al., "Human adult neurogenesis: evidence and remaining questions," *Cell Stem Cell*, vol. 23, no. 1, pp. 25–30, 2018.
- [5] Y. Kozorovitskiy and E. Gould, "Adult neurogenesis: a mechanism for brain repair?," *Journal of Clinical and Experimental Neuropsychology*, vol. 25, no. 5, pp. 721–732, 2003.
- [6] M. Yamaguchi, T. Saki, I. Iwayama et al., "Neural stem cells and neurogenesis in the central nervous system: understanding the structural and functional plasticity of the developing, mature, and diseased brain," *The Journal of Physiological Sciences*, vol. 66, no. 3, pp. 197–206, 2016.
- [7] P. Bokilchurin, M. Camarero, and J. H. Medina, "BDNF and memory processing," *Neuropharmacology*, vol. 76, pp. 677–683, 2014.
- [8] M. Perten, D. Ghazi, G. Deidde et al., "Aerobic exercise and a BDNF-mimetic therapy rescue learning and memory in a mouse model of Down syndrome," *Scientific Reports*, vol. 7, no. 1, article 16025, 2017.
- [9] V. A. Zhornitskiy, S. O. Heck, M. H. Saei, N. K. Buxton, J. S. Neta, and C. W. Nageswari, "(p-CDPSe), modulates hippocampal BDNF/TrkB signaling and reverses memory impairment induced by diabetes in mice," *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, vol. 94, article 109660, 2019.
- [10] W. Guo, G. Nagappan, and B. Lu, "Differential effects of transient and sustained activation of BDNF-TrkB signaling," *Developmental Neurobiology*, vol. 78, no. 7, pp. 647–659, 2018.
- [11] R. M. Benito-Gonzalez, G. Laye, T. J. Hansen et al., "Biosynthesis and ATP synthesis during exercise role of group II/IV muscle afferents," *Medicine and Science in Sports and Exercise*, vol. 49, no. 12, pp. 2404–2413, 2017.
- [12] S. C. B. R. Nakandari, V. R. Mattos, G. K. Kups et al., "Short-term high-fat diet modulates several inflammatory, ER stress, and apoptosis markers in the hippocampus of young mice," *Brain, Behavior, and Immunity*, vol. 79, pp. 284–293, 2019.
- [13] D. M. Proby, I. A. Chacko, M. R. Jackson et al., "Regular exercise potentiates energetically expensive hepatic de novo lipogenesis during early weight regain," *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, vol. 317, no. 5, pp. R894–R895, 2019.
- [14] H. N. Datta, "Exercise as an anti-inflammatory therapy for cancer cachexia: a focus on interleukin-6 regulation," *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, vol. 318, no. 2, pp. R296–R310, 2020.
- [15] T. Tofa, D. Deganidia, C. K. Dela, K. Georgakouli, I. G. Petrou, and A. Z. Jannas, "Exercise-induced regulation of raton status in cardiovascular disease: the role of exercise training and dieting," *Antioxidants*, vol. 9, no. 1, p. 13, 2020.
- [16] J.-E. Hyun and E.-B. Kang, "The effects of senior brain health exercise program on basic physical fitness, cognitive function and BDNF of elderly women - a feasibility study," *Journal of Exercise Nutrition & Biochemistry*, vol. 20, no. 2, pp. 8–18, 2016.
- [17] R. Martindale, V. Mondelli, F. Gaughman, and B. Stubbs, "Can high-intensity interval training improve physical and mental health outcomes? A meta-review of 33 systematic reviews across the lifespan," *Journal of Sports Science*, vol. 38, no. 4, pp. 480–489, 2020.
- [18] M. N. Muchnik, H. W. Hemingway, J. Foster, K. M. Omstead, and A. M. Barrow, "How the brain may have shaped muscle anatomy and physiology: a preliminary study," *The Anatomical Record*, vol. 301, no. 3, pp. 528–537, 2018.
- [19] K. Kato, T. Vogt, and K. Kanosue, "Brain activity underlying muscle relaxation," *Frontiers in Physiology*, vol. 10, 2019.
- [20] D. Moher, A. Liberati, J. Tetzlaff, D. G. Altman, and The PRISMA Group, "Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses: the PRISMA statement," *PLoS Medicine*, vol. 6, no. 7, article e1000072, 2009.
- [21] J. Yemou, "PICO search strategy," *Online Journal of Nursing Informatics*, vol. 17, no. 3, 2013.
- [22] J. P. Higgins, S. G. Thompson, J. J. Deeks, and D. G. Altman, "Measuring inconsistency in meta-analysis," *BMJ*, vol. 327, no. 7414, pp. 557–560, 2003.
- [23] S. Gomes da Silva, N. Unwin, D. H. Mascó et al., "Early exercise promotes positive hippocampal plasticity and improves spatial memory in the adult life of rats," *Hippocampus*, vol. 22, no. 2, pp. 347–358, 2012.
- [24] A. S. Aguiar Jr., A. A. Castro, E. L. Moreira et al., "Short bouts of mild-intensity physical exercise improve spatial learning and memory in aging mice: involvement of hippocampal plasticity via AKT, CREB and BDNF signaling," *Mechanisms of Ageing and Development*, vol. 132, no. 11–12, pp. 560–567, 2011.
- [25] A. Aguiar Jr., E. Stragier, D. de Luz Scheffer et al., "Effects of exercise on mitochondrial function, neuroplasticity and anti-depressive behavior of mice," *Neuroscience*, vol. 271, pp. 56–63, 2014.
- [26] A. S. Aguiar Jr., E. L. Moreira, A. A. H. de Oliveira et al., "Endocrinological levodopa-induced dyskinesia in 6-hydroxydopamine-lesioned mice," *Neuroscience*, vol. 243, pp. 46–53, 2013.
- [27] T. K. Bhattacharya, B. D. Pence, J. M. Ouyang et al., "Exercise but not (-)-epigallocatechin-3-gallate or β -alanine enhances physical fitness, brain plasticity, and behavioral performance in mice," *Physiology & Behavior*, vol. 145, pp. 29–37, 2015.
- [28] A. T. Brinkett, E. A. LaMarche, and E. Gould, "Physical exercise enhances cognitive flexibility as well as autophagic and synaptic markers in the medial prefrontal cortex," *PLoS One*, vol. 10, no. 5, article e0124859, 2015.
- [29] T.-W. Kim, H.-H. Choi, and Y.-R. Chung, "Treadmill exercise alleviates impairment of cognitive function by enhancing hippocampal neuroplasticity in the high-fat diet-induced obese mice," *Journal of Exercise Rehabilitation*, vol. 12, no. 3, pp. 156–162, 2016.
- [30] T. C. Vilela, A. P. Müller, A. P. Damiani et al., "Strength and aerobic exercise improve spatial memory in aging mice through stimulating distinct neuroplasticity mechanisms," *Molecular Neurobiology*, vol. 54, no. 10, pp. 7928–7937, 2017.
- [31] P. N. de Senne, P. B. Baptista, F. Galkand et al., "Physical exercise reverses spatial memory deficit and induces hippocampal

- astrocyte plasticity in diabetic rats," *Brain Research*, vol. 1655, pp. 242–251, 2017.
- [32] H.-S. Park and T.-W. Kim, "Paternal physical exercise improves spatial learning ability by enhancing hippocampal neuroplasticity in male pups born from obese maternal rats," *Journal of Exercise Rehabilitation*, vol. 13, no. 3, pp. 266–272, 2017.
- [33] H.-S. Park, C.-J. Kim, H.-B. Kwak, M.-H. Na, J.-W. Han, and T.-W. Kim, "Physical exercise prevents cognitive impairment by enhancing hippocampal neuroplasticity and mitochondrial function in dexamethasone-induced demodulation," *Neuropharmacology*, vol. 133, pp. 451–461, 2018.
- [34] H.-S. Park, S.-S. Park, C.-J. Kim, M.-S. Shin, and T.-W. Kim, "Exercise alleviates cognitive functions by enhancing hippocampal insulin signaling and neuroplasticity in high-fat diet-induced obesity," *Nutrients*, vol. 11, no. 7, p. 1603, 2019.
- [35] S.-Y. Yoo, A. Li, R.-D. Zhang et al., "Sustained running in rats administered corticosterone prevents the development of depressive behavior and enhances hippocampal neurogenesis and synaptic plasticity without increasing neurotrophic factor levels," *Cell Transplantation*, vol. 23, no. 4–5, pp. 481–492, 2014.
- [36] X. Pan, T. Jiang, L. Zhang, H. Zhang, J. Luo, and X. Hu, "Physical exercise promotes novel object recognition memory in spontaneously hypertensive rats after ischemic stroke by promoting neural plasticity in the entorhinal cortex," *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, vol. 11, p. 185, 2017.
- [37] P. C. Rabito, N. A. Horta, L. M. González et al., "Intrinsic exercise capacity in rats influences depressive neuroplasticity induced by physical training," *Journal of Applied Physiology*, vol. 123, no. 6, pp. 1721–1729, 2017.
- [38] J.-H. Seo, H.-S. Park, S.-S. Park, C.-J. Kim, D.-H. Kim, and T.-W. Kim, "Physical exercise ameliorates psychiatric disorders and cognitive dysfunctions by hippocampal mitochondrial function and neuroplasticity in post-traumatic stress disorder," *Experimental Neurology*, vol. 322, article 113043, 2019.
- [39] E. Efthymiou and M. Elmadfa, "Interleukin-10 and brain-derived neurotrophic factor responses to the Mat Pilates training in women with multiple sclerosis," *Scientia Malis*, vol. 28, no. 4, article 31660, 2018.
- [40] P. Müller, K. Rehfeld, M. Schmicker et al., "Evolution of neuroplasticity in response to physical activity in old age: the case for dancing," *Frontiers in Aging Neuroscience*, vol. 9, 2017.
- [41] L. Ji, H. Zhang, G. G. Potter et al., "Multiple neuroimaging measures for examining exercise-induced neuroplasticity in older adults: a quasi-experimental study," *Frontiers in Aging Neuroscience*, vol. 9, p. 102, 2017.
- [42] K. Rehfeld, A. Linder, A. Hölzlmann et al., "Dance training is superior to repetitive physical exercise in inducing brain plasticity in the elderly," *PLoS One*, vol. 13, no. 7, article e0196636, 2018.
- [43] L. Wood, P.-L. Bazin, M. Toubert et al., "Physical exercise and spatial training: a longitudinal study of effects on cognition, growth factors, and hippocampal plasticity," *Scientific Reports*, vol. 8, no. 1, article 4239, 2018.
- [44] A.-K. Rogge, B. Röder, A. Zech, and K. Hötting, "Exercise-induced neuroplasticity: balance training increases cortical thickness in visual and vestibular cortical regions," *NeuroImage*, vol. 179, pp. 471–479, 2018.
- [45] S. F. Sieman, J. Henry, R. Al-Hakdud et al., "Exercise promotes the expression of brain derived neurotrophic factor (BDNF) through the action of the ketone body β -hydroxybutyrate," *Life*, vol. 5, 2016.
- [46] M. M. Yeh, W. Wang, J. Sun et al., "Paternal treadmill exercise enhances spatial learning and memory related to hippocampus among male offspring," *Behavioral Brain Research*, vol. 253, pp. 297–304, 2013.
- [47] A. H. Dyer, C. Vahdatpour, A. Sanfelia, and D. Tropen, "The role of insulin-like growth factor 1 (IGF-1) in brain development, maturation and neuroplasticity," *Neuroscience*, vol. 325, pp. 89–99, 2016.
- [48] K. Halonen, A. Lehtinen, K. Daffner et al., "BDNF response in healthy older persons to 35 minutes of physical exercise, cognitive training, and mindfulness: associations with working memory function," *Journal of Alzheimer's Disease*, vol. 55, no. 2, pp. 645–657, 2017.
- [49] A. Jiménez-Maldonado, E. R. de Alvarado-Boyle, S. Montero et al., "Chronic exercise increases plasma brain-derived neurotrophic factor levels, pancreatic islet size, and insulin tolerance in a TskB-dependent manner," *PLoS One*, vol. 9, no. 12, article e115177, 2014.
- [50] E. Hurtado, V. Gilman, L. Nadeh et al., "Muscle contraction regulates BDNF/TrkB signaling to modulate synaptic function through presynaptic cPKCa and cACGRL," *Frontiers in Molecular Neuroscience*, vol. 10, p. 147, 2017.
- [51] A. Jiménez-Maldonado, I. Rentería, P. C. García-Solís, J. Mancada-Jiménez, and L. F. Freire-Royes, "The impact of high-intensity interval training on brain derived neurotrophic factor in brain: a mini-review," *Frontiers in Neuroscience*, vol. 12, p. 839, 2018.
- [52] M. Pirogova, S. Granger-Büttner, G. Chemenko, B. A. Tucker, K. M. Macos, and D. Corbett, "Endurance exercise regimens induce differential effects on brain-derived neurotrophic factor, synapsin-I and insulin-like growth factor 1 after focal ischemia," *Neuroscience*, vol. 136, no. 4, pp. 991–1001, 2005.
- [53] B. Egan and J. R. Zierath, "Exercise metabolism and the molecular regulation of skeletal muscle adaptation," *Cell Metabolism*, vol. 17, no. 2, pp. 162–184, 2013.
- [54] N. S. Bulmored, W. D. S. J. Rodriguez, D. A. Atkinson, S. M. Mooney, and A. E. Mallon, "The role of CREB, SRF, and MEK2 in activity-dependent neuronal plasticity in the visual cortex," *The Journal of Neuroscience*, vol. 37, no. 28, pp. 6628–6637, 2017.
- [55] S. Y. Jung and D. Y. Kim, "Treadmill exercise improves motor and memory functions in central palsy rats through activation of PI3K-Akt pathway," *Journal of Exercise Rehabilitation*, vol. 13, no. 2, pp. 136–142, 2017.
- [56] F. M. Rodríguez-Torres, I. San Aniceto, B. Cabellero, and M. Nieto, "Enrichment of conserved synaptic activity-responsive element in neuronal genes predicts a coordinated response of MBP2, CREB and SRF," *PLoS One*, vol. 8, no. 1, article e3848, 2013.
- [57] M. Llorens-Martín, I. Torres-Alemán, and J. L. Tena, "Exercise modulates insulin-like growth factor 1-dependent and -independent effects on adult hippocampal neurogenesis and behaviour," *Molecular and Cellular Neuroscience*, vol. 44, no. 2, pp. 109–117, 2010.
- [58] P. Salinas, "Effects of physical exercise on anxiety, depression, and sensitivity to stress: a unifying theory," *Clinical Psychology Review*, vol. 21, no. 1, pp. 33–61, 2001.
- [59] K. I. Takai, M. Satoh, J. I. Ogawa et al., "Physical exercise with music reduces gray and white matter loss in the frontal cortex

- of elderly people: the Mihama-Kiho scan project," *Frontiers in Aging Neuroscience*, vol. 9, p. 174, 2017.
- [60] I. Caracciolo, M. Menni, J. Mazzei et al., "CREB controls cortical circuit plasticity and functional recovery after stroke," *Nature Communications*, vol. 9, no. 1, article 2250, 2018.
- [61] C. L. Ma, X. T. Ma, J. J. Wang, H. Liu, Y. F. Chen, and Y. Yang, "Physical exercise induces hippocampal neurogenesis and prevents cognitive decline," *Behavioral Brain Research*, vol. 317, pp. 332–339, 2017.
- [62] L. Zhang, W. Tang, F. L. Chao et al., "Four-month treadmill exercise prevents the decline in spatial learning and memory abilities and the loss of synaptophysin-immunoreactive puncta in the hippocampus of APP/PS1 transgenic mice," *Neurobiology of Disease*, vol. 136, article 104723, 2020.
- [63] J. Fraga, G. Cervellu, J. J. Santos, H. Thomas de Silva et al., "Maternal physical activity-induced adaptive transcriptional response in brain and placenta of mothers and rat offspring," *Journal of Developmental Origins of Health and Disease*, vol. 11, no. 2, pp. 108–117, 2020.
- [64] K. Hitting and B. Riddle, "Beneficial effects of physical exercise on neuroplasticity and cognition," *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, vol. 37, no. 9, pp. 2243–2257, 2013.
- [65] A. R. Gobinath, R. J. Richardson, C. Chew et al., "Voluntary running influences the efficacy of fluoxetine in a model of postpartum depression," *Neuropharmacology*, vol. 128, pp. 106–118, 2018.
- [66] F. Vahid-Ansari and P. R. Albert, "Chronic fluoxetine induces activity changes in recovery from poststroke anxiety, depression, and cognitive impairment," *Neurotherapeutics*, vol. 15, no. 1, pp. 200–215, 2018.
- [67] I. Micheli, M. Conzardi, G. D'Andrea, and F. Tromb, "Depression and adult neurogenesis: positive effects of the antidepressant fluoxetine and of physical exercise," *Brain Research Bulletin*, vol. 143, pp. 181–193, 2018.
- [68] S. B. Harvey, S. Øverland, S. L. Hatch, S. Wessely, A. Mykletun, and M. Hotopf, "Exercise and the prevention of depression: results of the HUNT cohort study," *The American Journal of Psychiatry*, vol. 175, no. 1, pp. 28–36, 2018.
- [69] S. Kuriyama, R. Ganten, and A. R. Am, "Physical activity, mental health, and wellbeing among older adults in South and Southeast Asia: a scoping review," *BioMed Research International*, vol. 2019, Article ID 6752182, 11 pages, 2019.

ANEXO C – ARTIGO DE ORIGINAL DA TESE NA *BRAIN RESEARCH* INTITULADO: UNDERNUTRITION DURING DEVELOPMENT MODULATES ENDOPLASMIC RETICULUM STRESS GENES IN THE HIPPOCAMPUS OF JUVENILE RATS: INVOLVEMENT OF OXIDATIVE STRESS

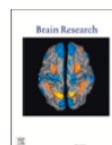
Brain Research 1797 (2022) 148098



Contents lists available at ScienceDirect

Brain Research

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



Undernutrition during development modulates endoplasmic reticulum stress genes in the hippocampus of juvenile rats: Involvement of oxidative stress

Matheus Santos Fernandes^{a,c,d}, Anderson Apolônio Pedroza^{b,c}, Severina Cássia de Andrade Silva^{a,c}, Maria Daniele Teixeira de Lemos^{b,c}, Elenilson M. Bernardo^{b,c}, Allifer R Pereira^c, Tony Meireles dos Santos^{a,d}, Claudia Lagranha^{a,b,c,*}

^a Graduate Program in Neuropsychiatry and Behavioral Sciences, Federal University of Pernambuco, Recife, PE, Brazil

^b Graduate Program in Biochemistry and Physiology, Federal University of Pernambuco, Recife, PE, Brazil

^c Laboratory of Biochemistry and Exercise Biochemistry / CAV, Federal University of Pernambuco, Vitoria de Santo Antão, PE, Brazil

^d Physical Education and Sport Department, Federal University of Pernambuco, Recife, PE, Brazil

ARTICLE INFO

Keywords:

Maternal Low Protein Diet
Physical Exercise
Mitochondria
ER Stress
Oxidative Stress
Brain

ABSTRACT

To evaluate whether exercise training mitigates the deleterious effects of undernutrition during the developmental period in juvenile Wistar rats. Pregnant Wistar rats were fed with a diet containing 17 % or 8 % casein during pregnancy and lactation. At 30 days of life, male offspring were divided into 4 groups: Low-Protein non-trained (LS), Low-Protein Trained (LT), Normoprotein non-trained (NS), and Normoprotein Trained (NT). Trained rats performed aerobic exercise training (AET) for 4 weeks, 5 days a week, 1 h a day. 24 h from the last day of training, the animals were sacrificed. The tissues were removed to analyze indicators of mitochondrial metabolism, oxidative stress, and gene expression of GRP78, PERK, ATF6 ER stress markers, and BDNF. The results showed that undernutrition during development promotes deleterious effects on mitochondrial oxidative metabolism and induces reticulum stress in the hippocampus of juvenile rats. On the other hand, AET improves mitochondrial function and increases enzymatic and non-enzymatic antioxidant capacity, as well as declines ER stress. AET at moderate intensity for 4 weeks in male juvenile Wistar rats acts as a lifestyle intervention opposing the negative effects induced by a protein-restricted maternal diet.

1. Introduction

Maternal protein malnutrition (MPM) remains a public health problem around the world, especially in the neonatal and child population (Bhutta et al., 2017). Additionally, the drastic reduction of protein in critical periods for development, is associated with deleterious effects on numerous organs (Morgane et al., 1993, Black 2018) among which the brain is an important one. In general, the brain is responsible for controlling various physiological processes such as blood pressure, food intake, movement, and cognitive functions (Tonkiss et al., 1993, Barra et al., 2019). One important area of the brain affected by protein

restriction is the hippocampus, anatomically located in the temporal lobes of the brain, both on the right and on the left sides, below the cortical surface and responsible for motivation, emotion, learning and, mainly, memory (de Souza et al., 2011, Belluscio et al., 2016, Kimura et al., 2019). Table 1..

Morgane et al. (2002), demonstrated that MPM reduces neuroplasticity, and is responsible for the poor formation of GABAergic neurons, disrupting the balance between excitatory and inhibitory stimuli in the hippocampus (Morgane et al., 2002). Additionally, changes in brain metabolism in response to malnutrition contributes to excessive production of reactive oxygen species (ROS), leading to oxidative stress that

Abbreviations: ATP, Adenosine Triphosphate; AET, Aerobic Exercise Training; ATF6, Activating Transcription Factor 6; BDNF, Brain Derived Neurotrophic Factor; ER, Endoplasmic Reticulum; GRP78, Glucose Regulated Protein 78 LS, Low-Protein Control; LT, Low-Protein Trained; MPM, Maternal Protein Malnutrition; NS, Normoprotein Control; NT, Normoprotein Trained; OS, Oxidative Stress; PERK, Endoplasmic Reticulum Kinase; ROS, Reactive Oxygen Species.

* Corresponding author at: Laboratory of Exercise Biochemistry and Molecular Biology / CAV, Federal University of Pernambuco, Alto do Reservatório S/N, 55608-680 Vitoria de Santo Antão, Pernambuco, Brazil.

E-mail address: claudia.lagranha@ufpe.br (C. Lagranha).

<https://doi.org/10.1016/j.brainres.2022.148098>

Received 16 May 2022; Received in revised form 24 August 2022; Accepted 20 September 2022

Available online 23 September 2022

0006-8993/© 2022 Published by Elsevier B.V.

ANEXO D – SEGUNDO ARTIGO ORIGINAL DA TESE EM SUBMISSÃO

Neurochemistry International

Physical training improves mitochondrial and cellular metabolism in the prefrontal cortex of young adult Wistar rats submitted to maternal undernutrition: Participation of endoplasmic reticulum stress.

--Manuscript Draft--

Manuscript Number:	
Article Type:	Research Paper
Keywords:	Physical Exercise; Maternal Low Protein Diet; Cellular Stress; Oxidative Stress; Brain.
Corresponding Author:	Claudia Lagranha Universidade Federal de Pernambuco Recife, PE BRAZIL
First Author:	Matheus Santos de Sousa Fernandes
Order of Authors:	Matheus Santos de Sousa Fernandes Anderson Apolônio da Silva Pedroza Severina Cássia de Andrade Silva Osmar Henrique Santos-Junior Elenilson M. Bernardo Allífer R Pereira Tony Meireles dos Santos Claudia Lagranha
Abstract:	Currently, even with the growth of social policies to fight hunger, malnutrition is still present around the world. Maternal Protein Malnutrition (MPM), is considered to be the cause of several chronic diseases, such as neurodegeneration. On the other hand, physical exercise can improve REDOX balance and promote health. In this study, we evaluated the effects of aerobic physical training on markers of mitochondrial and cellular metabolism, oxidative balance, endoplasmic reticulum stress, and the neurotrophic factor in the prefrontal cortex of malnourished young adult Wistar rats. Pregnant Wistar rats were fed with a diet containing 17% or 8% casein during pregnancy and lactation. At 30 days of life, male offspring were divided into 4 groups: Low-Protein Control (LS), Low-Protein Trained (LT), Normoprotein Control (NS) and Normoprotein Trained (NT). The trained groups took part in aerobic exercise training (AET) for four weeks, five days a week, one hour a day per session. At 60 days of life, the animals were sacrificed and the skeletal muscle, and prefrontal cortex were removed to analyze oxidative balance, and gene expression of GRP78, PERK, ATF6 for ER stress markers, and BDNF. Our results showed that MPM impairs oxidative metabolism associated with higher oxidative and reticulum stress. However, aerobic exercise training restores partially the levels of mitochondrial and cellular metabolism markers, promoting resilience to cellular stress. Our data show that aerobic exercise training at moderate intensity for four weeks in young adult Wistar rats can act as a

ANEXO E - PUBLICAÇÕES DURANTE O PERÍODO DE DOUTORADO



The Relevance of a Physical Active Lifestyle and Physical Fitness on Immune Defense: Mitigating Disease Burden, With Focus on COVID-19 Consequences

Tayrine Ordronio Figueira¹, Angela Castoldi¹, Lucas Eduardo R. Santos^{2,3},
Geraldo José de Amorim^{1,4}, Matheus Santos de Sousa Fernandes^{2,3},
Weydson de Lima do Nascimento Anastácio², Eduardo Zapatera Campos²,
Tony Meireles Santos^{2,5} and Fabrício Oliveira Souto^{1,5,6}

¹ Rêto Azum Immunopathology Laboratory, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Brazil; ² Pós Graduação em Educação Física, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Brazil; ³ Pós Graduação em Neuropsiquiatria e Ciências do Comportamento, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Brazil; ⁴ Serviço de Nefrologia do Hospital das Clínicas, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Brazil; ⁵ Núcleo de Ciências da Vida, Centro Acadêmico do Agreste, Universidade Federal de Pernambuco, Caruaru, Brazil

OPEN ACCESS

Edited by:

Pietro Ghetti,
Brighton and Sussex Medical School,
United Kingdom

Reviewed by:

Juerg Hammer,
Linderhofpital, Switzerland
Alejandra Peral,
University of Córdoba, Spain

*Correspondence:

Tony Meireles Santos
tony.meireles@ufpe.br
Fabrício Oliveira Souto
fabricao@ufpe.br

[†]These authors have contributed
equally to this work

Specialty section:

This article was submitted to
Inflammation,
a section of the journal
Frontiers in Immunology

Received: 24 July 2020

Accepted: 13 January 2021

Published: 05 February 2021

Citation:

Figueira TO, Castoldi A,
Santos LER, de Amorim GJ,
de Sousa Fernandes MS,
Anastácio WLN, Campos EC,
Santos TM and Souto FO (2021)
The Relevance of a Physical Active
Lifestyle and Physical Fitness
on Immune Defense: Mitigating
Disease Burden, With Focus
on COVID-19 Consequences.
Front. Immunol. 12:587146.
doi: 10.3389/fimmu.2021.587146

The Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) is a fast spreading virus leading to the development of Coronavirus Disease-2019 (COVID-19). Severe and critical cases are characterized by damage to the respiratory system, endothelial inflammation, and multiple organ failure triggered by an excessive production of proinflammatory cytokines, culminating in the high number of deaths all over the world. Sedentary induces worse, continuous, and progressive consequences to health. On the other hand, physical activity provides benefits to health and improves low-grade systemic inflammation. The aim of this review is to elucidate the effects of physical activity in physical fitness, immune defense, and its contribution to mitigate the severe inflammatory response mediated by SARS-CoV-2. Physical exercise is an effective therapeutic strategy to mitigate the consequences of SARS-CoV-2 infection. In this sense, studies have shown that acute physical exercise induces the production of myokines that are secreted in tissues and into the bloodstream, supporting its systemic modulatory effect. Therefore, maintaining physical activity influence balance the immune system and increases immune vigilance, and also might promote potent effects against the consequences of infectious diseases and chronic diseases associated with the development of severe forms of COVID-19. Protocols to maintain exercise practice are suggested and have been strongly established, such as home-based exercise (HBE) and outdoor-based exercise (OBE). In this regard, HBE might help to reduce levels of physical inactivity, bed rest, and sitting time, impacting on adherence to physical activity, promoting all the benefits related to exercise, and attracting patients in different stages of treatment for COVID-19. In parallel, OBE must improve health, but also prevent and mitigate COVID-19 severe outcomes in all populations. In conclusion, HBE or OBE



Comment: Kay et al.'s (2020) Isokinetic eccentric exercise substantially improves mobility, muscle strength, and size, but not postural sway metrics in older adults with limited regression observed following a detraining period. Eur J Appl Physiol

Moisés Costa do Couto¹ · Matheus Santos de Sousa Fernandes¹ · Tony Mello dos Santos¹

Received: 25 November 2020 / Accepted: 4 March 2021
 © The Author(s), under exclusive license to Springer-Verlag GmbH Germany, part of Springer Nature 2021

Kay et al.'s (2020) studies on the effects of resisted eccentric training in old age bring important elucidations about subsequent gains in mobility, strength, thickness, as well as increase in length of the fascicle of the vastus lateralis muscle. The resisted eccentric training also reveals the persistence of the mentioned benefits following a period of 8 weeks of detraining. The study also contributes to corroborate the advantages of this kind of exercise in promoting further adaptations in force using a shorter electromyographic activity consuming less energy, causing less fatigue and less effort perception, and able to anticipate neuromuscular adaptations when compared to strength training conventional. The study, however, presents a few issues which need to be complemented.

The authors claim that postural oscillation would be reduced due to the strengthening of the flexor plantar muscles. This thinking is plausible, because these muscles influence ankle articulation to keep the gravitational centre within the support base during the postural oscillation. This oscillation happens mostly in the forward and backward positions (Winter et al. 1996), although Kay et al. (2020) did not specify which oscillation direction they were referring to.

Considering the physiologic mechanisms involved in the static balance in the orthostatic position, the hypothesis lacks evidence. Activity from the flexor plantar muscles, related to postural adjustment, is not only a biomechanical phenomenon, since these muscles do not respond exclusively to the weight imposed on them when in oscillation situation.

In fact, this group of muscles acts in advance of these loads via the *feedforward* mechanism as proposed by Gatev et al. (1999). According to the authors, the *feedforward* mechanism uses sensorial information to predict the motor action of the plantar flexors muscles, thus reducing the corporal oscillation.

That said, the expected strengthening of the plantar flexor muscles in the oscillation posture, mentioned by the researchers and corroborated by the force platform evaluation, did not occur. Although this hypothesis is considered by the authors as the novelty of the study, its unconfirmed physiological justification could be questioned.

It is also worth discussing the kind of equilibrium analysed, making a clear distinction between the static postural control and the dynamic postural control. While the static postural control depends invariably on sensorial information, the dynamic one is more susceptible to neuromuscular alterations (Gatev et al. 1999). Most elderly falls take place in dynamic situations, in response to perturbations. That is why, the decrease of the muscular force and, mostly, the slow force generation due to the combination of ageing and detraining, represents an important risk factor for falls. Therefore, re-establishing muscle force and rapid force generation is crucial to recover balance after a postural instability (Emma et al. 2016).

Kay et al. (2020) have also analysed dynamic balance using the test *Timed Up and Go*, an instrument largely used to gauge the elderly functional capacity. This, however, has some limitations in the analysis of dynamic balance as a predictor of falls (Noelin et al. 2009). Although the authors state that the mechanisms justifying the non-influence of eccentric training on static balance are not clear, even though there have been gains in dynamic balance, it is necessary to consider that their regulation through sensory factors is of primary importance in the control of static posture (Gatev

Communicated by W. S. Knapik/W. S. Knapik.

✉ Moisés Costa do Couto
moises.couto@ufpe.br

¹ Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Brazil

Published online: 22 March 2021

Springer



Comment on the article: Berardi et al. (2021) impact of isometric and concentric resistance exercise on pain and fatigue in fibromyalgia. Eur J Appl Physiol

Ana Patrícia Silva da Souza¹ · Matheus Santos Sousa de Fernandes¹ · Waleska Maria Almeida Barros¹

Received: 27 March 2021 / Accepted: 17 April 2021

© The Author(s), under exclusive licence to Springer-Verlag GmbH Germany, part of Springer Nature 2021

The excellent work of Berardi et al. (2021) aroused our interest, which aimed to determine the local and systemic effects of isometric and concentric muscle contractions in conditions of experimental pain and performance fatigue in subjects with and without fibromyalgia (FM). In this sense, it is known that the individual diagnosed with FM may present changes in psychological and cognitive functions, memory and sleep disorders, in addition to depression and anxiety interfering with his quality of life. (Dell'osso et al. 2011). Among the functions mentioned, cognition and emotion can interfere with the perception of pain and play a role in maintaining chronic pain and functional disability. (Sitges et al. 2007).

Thus, we think it is interesting in future research, with objectives similar to those of Berardi et al. (2021), the inclusion in their methods of specific instruments for the assessment of cognitive and emotional variables. In addition, if possible, we suggest the inclusion of an evaluation process carried out by mental health specialists. Since the perception and maintenance of pain can be affected by the individual's emotional state, allowing interference in the research outcomes. Thus, the inclusion of these variables could contribute positively by increasing the impact of the results. Especially in patients with FM syndrome, chronic patients, who suffer from persistent generalized pain, being associated with psychological distress, catastrophizing of pain, in addition to the reduction in physical function (Chinn et al. 2016).

The researchers in the present study showed that none of the groups reported an increase in systemic pain after exercise. FM patients usually have trouble adhering to and maintaining their exercise routine. Modalities for promoting physical activity, including virtual reality associated with aerobic exercises, for example, can increase satisfaction by improving adherence with reduced pain perception in these individuals (Polat et al. 2021). The fact of joining the research suggests benefits in the emotional state. A specific investigation of the catastrophizing of pain, depression, anxiety and stress, between the two groups, as well as in volunteers with FM would be relevant. Because the identification of the existence of different intensities of these symptoms, they could ratify the findings promoted by the research and improve the understanding about the tolerance to physical exercises, and their effects in these groups, in the face of possible changes in the emotional state.

The researchers also found that the FM group experienced a greater condition of performance fatigue in response to the exercised muscle, compared to the control group, in which there was no relationship with central mechanisms of fatigue or pain. Thus, suggesting that changes in performance fatigue in FM may be due to differences that occur in muscle conditioning. In this perspective, we miss the assessment of the volunteers' physical fitness. The authors used accelerometers in the present study to monitor physical activity (ActiGraph wGT3X-BT, Pensacola, FL), in addition to investigating the percentage of time spent in sedentary, light and moderate to vigorous activities. It is a relevant variable in this type of research.

However, we believe that physical conditioning could have been verified, especially in the fibromyalgia group, being able to effectively visualize the possible impact of physical conditioning on this clinical condition. In addition to the possibility of comparing physical activity levels with physical performance between groups. Since similar levels of physical activity were observed between FM and

Communicated by Westertorp/Westerblad.

✉ Ana Patrícia Silva da Souza
patricia-asb@hotmail.com

¹ Programa de Pós-Graduação em Neuropsiquiatria e Ciências do Comportamento, Centro de Ciências Médicas, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brasil

Published online: 29 April 2021

Springer



Comment: Bardin et al.'s (2021) sex-related differences in accumulated O₂-deficit incur by high-intensity rowing exercise during childhood and adolescence. Eur J Appl Physiol

Ana B. J. Silva¹ · Karollainy G. Silva² · Matheus S. S. Fernandes¹ · Waleska M. A. Barros¹

Received: 11 April 2021 / Accepted: 12 May 2021

© The Author(s), under exclusive licence to Springer-Verlag GmbH Germany, part of Springer Nature 2021

Comment

The study by Bardin et al. (2021) on the effect of sex on changes in non-oxidative metabolism through the accumulated oxygen deficit (AOD) and the importance of AOD in the performance in relation to age and sex during childhood and adolescence, brings important contributions regarding the existing differences between the height, body mass, lean mass and VO₂max between females and males separated by four age groups (10–17 years) and the AOD relationships for these variables, in addition to being the first study to use allometric modeling to analyze AOD in young people.

With regard to methods, Bardin et al. (2021) mention that the 74 volunteer rowers were tested in 2 sessions, the first dedicated to the collection of anthropometric data and VO₂max, then in the second session the total test of 60 s was performed. However, when describing the volunteers as rowers, it was not clear whether (i) they would be high-performance children and youth rowing athletes, whether (ii) they were practitioners of the rowing modality or whether (iii) they were practitioners of any modality that encompasses rowing as an activity. It is necessary to clarify this information, since the AOD can vary according to the individuals' physical fitness levels (Bosquet et al., 2008), it can be a confusing factor. In addition, it is important for the scientific community to know from which population this result was obtained.

Still referring to the methods, it was also mentioned that all volunteers underwent physical training two to three times

a week with similar training volumes between boys and girls. Despite the information, there was no detail about the protocol used, nor the length of time that this intervention two to three times a week lasted. Chronic metabolites promoted by strength training, such as increased levels of enzymes in the glycolytic system and phosphatases (ATP/CP), can influence the maximum accumulated oxygen deficit (Bertuzzi et al. 2008). That said, the history of physical activity and the details of the aforementioned physical training are important intervening factors for the desired outcome and need to be better discussed.

When it comes to non-oxidative metabolism, pharmacological supplementation or consumption of food products can be important modulators, as is the case with caffeine. This is able to modulate the functioning of the central nervous system and cause the inhibition of parasympathetic activity, increased alertness, reduced subjective perception of effort (PSE), increased heart rate at rest and effort and glycolytic activity (López-González et al. 2018), among other functions and still has an easy availability in food products such as coffee, cocoa, drinks or gels and energy bars (López-González et al. 2018). Therefore, another aspect to be considered is the diet eaten by the individuals participating in this research. A low-cost and high-efficiency instrument for such observation is the 24-h food record or food record that can be used even for athletes (Capling et al. 2017).

It was observed that the accumulated O₂ deficit is strictly associated with better performance during high-intensity activities during childhood and adolescence, being more evident in males because they have greater gain in lean body mass, especially from the age of 14 years. Therefore, it is important to encourage future studies within this perspective to elucidate the different facets of high performance.

Communicated by Westerterp/Westerblad.

✉ Ana B. J. Silva
beatriz.januario@ufpe.br

¹ Universidade Federal de Pernambuco, Recife, PE, Brazil

² Centro Universitário Facol/Centro Integrado de Tecnologias em Neurociência, Vitória, PE, Brazil

Author contributions ABJS idealized the letter, writing of the manuscript. KGS, MSSF and WMAB writing and revision of the manuscript. All authors read and approved the final version the manuscript.