

Ananda Christina Staats Pires

**O EXERCÍCIO FÍSICO ATENUA A NEUROINFLAMAÇÃO
CORTICAL INDUZIDA PELO LIPOPOLISSACARÍDEO EM
CAMUNDONGOS**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-graduação em Neurociências da Universidade Federal de Santa Catarina para a obtenção do Grau de Mestre em Neurociências.

Orientador: Prof Dr Aderbal Silva Aguiar Junior
Coorientadora: Prof^a Dr^a Alexandra Susana Latini

Florianópolis, 2017

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Pires, Ananda

O EXERCÍCIO FÍSICO ATENUA A NEUROINFLAMAÇÃO
CORTICAL INDUZIDA PELO LIPOPOLISSACARÍDEO EM
CAMUNDONGOS / Ananda Pires ; orientador, Aderbal
Silva Aguiar Jr; coorientadora, Alexandra Latini -
SC, 2017.

85 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de
Santa Catarina, Centro de Ciências Biológicas,
Programa de Pós-Graduação em Neurociências,
Florianópolis, 2017.

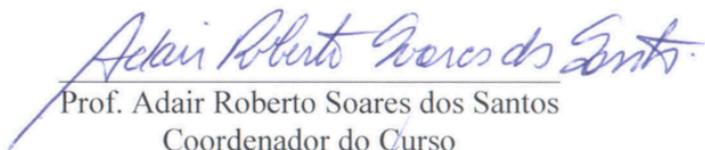
Inclui referências.

1. Neurociências. 2. Neurociências. 3. Exercício
Físico. 4. Neuroinflamação. 5. Lipopolissacarídeo. I.
Silva Aguiar Jr, Aderbal . II. Latini, Alexandra.
III. Universidade Federal de Santa Catarina.
Programa de Pós-Graduação em Neurociências. IV. Título.

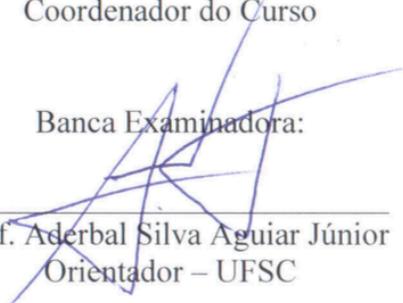
**“O EXERCÍCIO FÍSICO ATENUA A
NEUROINFLAMAÇÃO CORTICAL INDUZIDA PELO
LIPOPOLISSACARÍDEO EM CAMUNDONGOS”**

Esta dissertação foi julgada e aprovada para a obtenção do Grau de Mestre em Neurociências na área de Neuropsicobiologia no Programa de Pós-Graduação em Neurociências da Universidade Federal de Santa Catarina

Florianópolis, 16 de fevereiro de 2017.


Prof. Adair Roberto Soares dos Santos
Coordenador do Curso

Banca Examinadora:


Prof. Aderbal Silva Aguiar Júnior
Orientador – UFSC


Profa. Aline Pertile Remor
Membro da Banca externo


Prof. Rui Daniel S. Prediger
Membro - UFSC


Dra. Roberta de Paula Martins
Membro - UFSC


Prof. Eduardo L. G. Moreira
Membro - suplente

AGRADECIMENTOS

Agradeço especialmente ao meu orientador Prof. Dr. Aderbal Silva Aguiar Junior e minha coorientadora Profa. Dra. Alexandra Latini pela oportunidade de participar do seu grupo de pesquisa e pela orientação e apoio durante toda esta trajetória.

Na figura do Prof. Dr. Adair Roberto Soares dos Santos, coordenador do Programa de Pós-Graduação em Neurociências agradeço a todos os docentes do PPGN, que contribuíram para minha formação durante todo o curso de Mestrado.

Aos colegas de laboratório, Alexandre, Bruna, Débora, Jaqueline, Karine, Karina, Larissa, Lívia e Roberta pela amizade e apoio, em especial àqueles que ajudaram experimentalmente e na edição desse trabalho.

Às amigas Aline, Marina, Camila, Caroline, Jaqueline, Juliana e Priscila que mesmo distante se fizeram presente e me apoiaram durante todos os momentos desta caminhada.

Á Lourdes, Luís Neto e Heitor, minha família aqui em Florianópolis, que sempre me acolheram e incentivaram nesta trajetória.

Ao CNPq e CAPES pelo apoio financeiro.

E principalmente agradeço à minha família, que não poupou esforços para me apoiar incondicionalmente, compreendendo cada minuto que me foi tirado deles para a concretização desta dissertação.

RESUMO

INTRODUÇÃO. A neuroinflamação é um processo essencial à proteção do organismo, entretanto, pode tornar-se prejudicial quando persistente. Neste sentido, o exercício físico tem sido utilizado na modulação da resposta imune, e possivelmente na neuroinflamação. **OBJETIVOS.** Foi investigado os efeitos do exercício físico, através da roda de corrida, sobre a neuroinflamação e o comportamento tipo-doença induzidos pelo tratamento com o lipopolissacarídeo (LPS) bacteriano em camundongos Suíços. **MÉTODOS.** Camundongos (N=199, linhagem Suíços, machos, idade 12-15 semanas, massa corporal $47,1 \pm 0,7$ g) foram inicialmente divididos em dois grupos experimentais: grupo controle sedentário (SED); e grupo exercício (livre acesso á rodas corrida, RC). Após 6 semanas do programa de exercício, metade dos animais foram tratados com LPS (0,33mg/kg, intraperitoneal), a outra metade com veículo (solução salina 0,9%, SAL); o que permitiu a construção de 4 grupos experimentais: SED-SAL (N=23), SED-LPS (N=22), RC-SAL (N=16) e RC-LPS (N=15). Não observamos mortalidade de animais induzida pelo LPS. Estes animais foram avaliados quanto aos parâmetros fisiológicos: distância percorrida na roda de corrida, massa corporal, ingesta de ração e água. Além disso, os animais foram submetidos às tarefas comportamentais: campo aberto e *splash test* ou suspensão pela cauda, seguido da eutanásia (deslocamento cervical), para obtenção do soro e dissecação do córtex pré-frontal e do músculo quadríceps. **RESULTADOS.** A aderência ao exercício na RC foi de $22,6\% \pm 5,6$. Após 4 horas, o LPS aumentou a concentração das interleucinas (IL) IL-1 β no soro, bem como aumentou a concentração de IL-1 β e IL-6 no córtex pré-frontal. O exercício preveniu o aumento da IL-6. O LPS também diminuiu as concentrações de dopamina (DA) e do seu metabólito Ácido 3,4-diidroxifenilacético (DOPAC) no córtex pré-frontal, o que foi prevenido nos animais exercitados. O exercício diminuiu a taxa DOPAC/DA no córtex pré-frontal dos animais tratados com SAL e LPS. Os animais tratados com LPS apresentaram prejuízos de locomoção, perda de massa corporal, ingesta de ração e água. Além disso, o LPS prejudicou comportamento exploratório vertical e induziu um comportamento tipo-depressivo nos testes de campo aberto e suspensão pela cauda, respectivamente. O exercício atenuou parcialmente este comportamento tipo-doença. **CONCLUSÃO.** Estas evidências sugerem que seis semanas de exercício físico nas RC

previnem parcialmente a neuroinflamação e o comportamento tipo-doentio induzidos após 4 h do tratamento sistêmico com LPS (0,33 mg/kg).

Palavras-chave: Neuroinflamação. Lipopolissacarídeo. Comportamento tipo-doentio. Exercício Físico.

ABSTRACT

INTRODUCTION. Neuroinflammation is an essential process for host defense; however, it can become harmful when sustained. In this regard, physical exercise has been used in modulating the immune response, and possibly in neuroinflammation. **OBJECTIVES.** We investigated the effects of physical exercise at running wheel on neuroinflammation and sickness behavior induced by bacterial lipopolysaccharide (LPS) in Swiss mice. **MATERIAL AND METHODS.** Mice (N=199, Swiss, male, 12-15 weeks, $47,1 \pm 0,7$ g) were divided into two groups: sedentary control group (SED); and exercise group (voluntary running wheels, RW). After six weeks of exercise, the animals were treated with LPS (0,33mg/kg, intraperitoneally) or vehicle (0.9% saline solution, SAL), for construction of four experimental groups: SED-SAL (N=23), SED-LPS (N=22), RW-SAL (N=16) and RW-LPS (N=15). There weren't deaths induced by exercise or LPS. All animals were evaluated for the physiological parameters: distance traveled in the running wheel, body mass, food and water intake. In addition, the animals were submitted to behavioral tasks: open field and splash test or tail suspension test, followed by death (cervical dislocation) to get the serum and for dissection of quadriceps muscle and prefrontal cortex. **RESULTS AND DISCUSSION.** Adherence to RW exercise was $22,6\% \pm 5,6$. After 4 hours of treatment, LPS increased the concentration of IL-1 β in the serum, beyond increased IL-1 β and IL-6 in the prefrontal cortex of mice. Exercise partially attenuated the increased of IL-6. LPS also decreased the concentrations of dopamine (DA) and its metabolite 3,4-dihydroxyphenylacetic (DOPAC) in the prefrontal cortex, which was attenuated by exercise. Exercise decreased the DOPAC/DA ratio in the prefrontal cortex of SAL- and LPS-treated mice. LPS-treated mice showed impaired locomotion, food and water intake. In addition, LPS impairs vertical exploratory behavior and induces depressive-like behavior in open field and tail suspension tests, respectively. Exercise partially attenuated the sickness behavior. **CONCLUSIONS.** These data suggest that six weeks of physical exercise in RW partially prevent neuroinflammation and sickness behavior induced after 4 h of systemic LPS treatment (0.33 mg / kg).

Keywords: Neuroinflammation. Lipopolysaccharide. Sickness behavior. Physical exercise.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

6-OHDA: 6-Hidroxi-dopamina
BDNF: Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro
BHE: Barreira hematoencefálica
CEUA: Comitê de Ética no Uso de Animais
DA: Dopamina
DOPAC: Ácido 3,4-diidroxifenilacético
EDTA: Ácido etileno diamino tetra-acético
ELISA: Imuno Ensaio Enzimático
EPM: Erro Padrão da Média
ERO: Espécies reativas de oxigênio
HPA: Eixo Hipotalâmico-Pituitária-Adrenal
HPLC: Cromatografia líquida de alta eficiência
i.c.v.: Intacerebroventricular
i.p.: Intraperitoneal
i.v.: Intravascular
IFN- γ : Interferon gama
IL: Interleucina
LPS: Lipopolissacarídeo
MCP-1: proteína quimiotática de monócitos-1
MIP-1: proteína inflamatória de macrófago-1
MHC: Complexo principal de Histocompatibilidade
NF- κ B: Fator de transcrição nuclear kappa B
RC: Roda de corrida
SAL: salina
SED: Sedentário
SNC: Sistema Nervoso Central
SNpc: *Substantia nigra pars compacta*
TLR: Receptores do Tipo *Toll*
TNF- α : Fator de Necrose Tumoral Alfa

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Modelo experimental de exercício físico em roda de corrida utilizado no Laboratório de Bioenergética e Estresse Oxidativo – LABOX – CCB/UFSC..... 36
- Figura 2.** Desenho experimental 1..... 37
- Figura 3.** Desenho experimental 2..... 38
- Figura 4.** Distância percorrida nas rodas de corrida..... 43
- Figura 5.** Efeito do exercício físico sobre a atividade do Complexo I mitocondrial após a administração de LPS (0,33mg/kg, i.p.)..... 44
- Figura 6.** Efeito do exercício sobre a perda de massa corporal induzida pela administração de LPS (0,33mg/kg, i.p.)... 45
- Figura 7.** Efeito do exercício sobre a ingesta de ração e de água dos animais após administração de LPS (0,33mg/kg, i.p.)... 46
- Figura 8.** Efeito do exercício sobre o comportamento exploratório horizontal avaliado através do campo aberto após administração de LPS (0,33mg/kg, i.p.)..... 47
- Figura 9.** Efeito do exercício sobre o comportamento exploratório vertical avaliado através do campo aberto após administração de LPS (0,33mg/kg, i.p.)..... 48
- Figura 10.** Efeito do exercício sobre a motivação avaliada através do teste comportamental splash test após administração de LPS (0,33mg/kg, i.p.)..... 49
- Figura 11.** Efeito do exercício sobre o comportamento tipo-depressivo avaliado através do teste comportamental de suspensão pela cauda após administração de LPS (0,33mg/kg, i.p.)..... 50
- Figura 12.** Efeito do exercício físico sobre as concentrações de IL-1 β e IL-6 após a administração de LPS (0,33mg/kg, i.p.)... 51

Figura 13. Efeito do exercício físico sobre as concentrações de DA e seu metabólito DOPAC após a administração de LPS (0,33mg/kg, i.p.)..... 52

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	17
1.1 INFLAMAÇÃO	17
1.2 NEUROINFLAMAÇÃO	18
1.3 A NEUROINFLAMAÇÃO COMO UM MECANISMO PATOLÓGICO DAS DOENÇAS NEUROLÓGICAS E NEURODEGENERATIVAS	20
1.4 LIPOPOLISSACARÍDEO COMO UM MODELO DE NEUROINFLAMAÇÃO	21
1.4.1 Vias de administração do LPS	23
1.4.2. O papel da neuroinflamação induzida pelo LPS nos prejuízos neuroquímicos e comportamentais	25
1.5.1 Roda de correr: um modelo experimental de atividade ou exercício físico?	28
1.5.2 Exercício físico e neuroinflamação	29
1.5.3. Exercício físico e o modelo de neuroinflamação induzido por LPS	31
2. JUSTIFICATIVA	33
3. HIPÓTESE	33
4. OBJETIVOS	34
4.1 OBJETIVO GERAL	34
4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	34
5. METODOLOGIA	35
5.1 ANIMAIS	35
5.2 PROTOCOLOS EXPERIMENTAIS	35
5.2.2 Rodas de corrida (RC)	35
5.2.3 Modelo experimental de neuroinflamação: administração sistêmica de LPS	36
5.3 AVALIAÇÃO DO COMPORTAMENTO TIPO-DOENTIO.....	38
5.3.1 Avaliação dos parâmetros fisiológicos	38
5.3.2 Testes comportamentais	38
5.4 EUTANÁSIA E COLETA DAS ESTRUTURAS.....	40
5.5 DOSAGEM DE PROTEÍNAS	40
5.6 DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE DO COMPLEXO I MITOCONDRIAL.....	40
5.7 DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE CITOCINAS POR IMUNOENSAIO ENZIMÁTICO (ELISA)	41

DETERMINAÇÃO DO CONTEÚDO DA DOPAMINA E SEU METABÓLITO ÁCIDO 3,4-DIIDROXIFENILACÉTICO POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA (HPLC)....	41
5.9 ANÁLISE ESTATÍSTICA	42
6. RESULTADOS	43
6.1 O DESEMPENHO MOTOR DOS ANIMAIS NAS RODAS DE CORRIDA	43
6.2 OS EFEITOS DO EXERCÍCIO FÍSICO E DO LPS SOBRE OS PARÂMETROS FISIOLÓGICOS: MASSA CORPORAL, CONSUMO DE RAÇÃO E ÁGUA	44
6.3 OS EFEITOS DO EXERCÍCIO FÍSICO E DO LPS NO DESEMPENHO DOS ANIMAIS NOS TESTES COMPORTAMENTAIS DO CAMPO ABERTO, <i>SPLASH TEST</i> E SUSPENSÃO PELA CAUDA	46
6.4 OS EFEITOS DO EXERCÍCIO E DO LPS SOBRE AS CONCENTRAÇÕES DE IL-1 β E IL-6 NO SORO E CÓRTEX PRÉ-FRONTAL DOS CAMUNDONGOS	50
6.5 OS EFEITOS DO EXERCÍCIO E DO LPS SOBRE AS CONCENTRAÇÕES DE DA E DOPAC NO CÓRTEX PRÉ-FRONTAL DE CAMUNDONGOS	51
7. DISCUSSÃO	53
8. CONCLUSÃO	61
REFERÊNCIAS	62

1. INTRODUÇÃO

O envelhecimento populacional é um fenômeno universal crescente que está modificando a sociedade. Projeções para 2050 estimam que a população idosa atingirá 2 bilhões, correspondente à 22% da população (OMS, 2015). Ao mesmo tempo, as pessoas vêm se tornando fisicamente menos ativas, como resultado indireto da Revolução Industrial (BOOTH et al., 2002; LIEBERMAN, 2013). Esta é a primeira geração da história que os filhos apresentarão menor expectativa de vida do que seus pais, um fator fortemente associado ao sedentarismo e outros fatores de risco (OLSHANSKY et al., 2005).

Essas alterações no estilo de vida foram acompanhadas por um aumento na incidência de várias doenças crônicas não transmissíveis (OMS, 2012). O sedentarismo tem sido associado como fator de risco a diversas doenças crônicas, inclusive as doenças do Sistema Nervoso Central (SNC) (BOOTH et al., 2002; NORTON et al., 2014; SCARMEAS et al., 2011). Esse cenário é preocupante devido à falta de tratamento eficaz para essas doenças (LIPTON et al., 2007).

Muitas doenças neurológicas apresentam sua fisiopatologia relacionada à inflamação (revisado por PERRY; CUNNINGHAM; HOLMES, 2007), uma resposta inflamatória específica do SNC conhecida como neuroinflamação (revisado por ZIPP; AKTAS, 2006). Ao lado da dieta balanceada, o exercício físico representa a principal modificação de estilo de vida (ou ambiental). O exercício físico reduz a mortalidade de todas as causas, principalmente quanto às propriedades neuroprotetoras e anti-inflamatórias (BURKE et al., 2007; DRØYVOLD et al., 2004; FRIEDENREICH, 2001; GRACE et al., 2007; VAN PRAAG et al., 1999; YU et al., 2014).

1.1 INFLAMAÇÃO

A inflamação é um processo complexo e dinâmico que inclui reações locais e sistêmicas de variados tipos celulares, sinais químicos e vias de sinalização (MEDZHITOV, 2008). É uma resposta biológica adaptativa que visa restaurar a homeostase (LO et al., 1999) na presença de uma infecção, dano ou estresse celular (MEDZHITOV, 2008). Contudo, a resposta inflamatória também é um importante mecanismo patológico das doenças, quando ocorre desproporcionalmente à agressão ou um estímulo inapropriado, com potenciais efeitos deletérios para a

própria homeostase (MEDZHITOV, 2008; PACE; HU; MILLER, 2007).

Na presença de um estímulo nocivo ao tecido, as células imunes inatas (por exemplo: macrófagos, monócitos, neutrófilos e células dendríticas) são ativadas e respondem de forma inespecífica produzindo mediadores inflamatórios para uma resposta inflamatória local, atraindo mais fagócitos, como macrófagos, monócitos, neutrófilos e células dendríticas (MEDZHITOV, 2008). Esses mediadores inflamatórios incluem as citocinas pró-inflamatórias, como o fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), e as interleucinas (IL)-1 β e a IL-6. Essas citocinas sinalizam o prolongamento da resposta inflamatória e o início da resposta imune adquirida através da atração de leucócitos e linfócitos (MEDZHITOV, 2008). A resposta imune adaptativa cria uma memória imunológica, onde os linfócitos produzem uma resposta celular e humoral tóxica para os agentes potencialmente prejudiciais, além da produção de anticorpos específicos para determinados patógenos (MEDZHITOV, 2008).

1.2 NEUROINFLAMAÇÃO

A neuroinflamação (ou inflamação do SNC) é um processo fisiológico de defesa celular que ativa células imunes residentes, como astrócitos e a micróglia (BECHMANN; NITSCH, 1997; CHOI et al., 2014; HENRY et al., 2009; PÜNTENER et al., 2012). Também ocorre a infiltração de células imunes ativadas da periferia para o SNC (RANSOHOFF; KIVISÄKK; KIDD, 2003). O SNC é considerado um tecido privilegiado do ponto de vista imunológico devido a um controlado sistema imune adaptativo e inflamatório (GALEA; BECHMANN; PERRY, 2007). Essa característica é baseada em vários fatores:

- 1) Presença da barreira hematoencefálica (BHE);
- 2) Escassez de células apresentadoras de antígeno;
- 3) Baixa expressão de moléculas do complexo principal de histocompatibilidade (MHC); e,
- 4) Grande quantidade de moduladores anti-inflamatórios solúveis (HARRIS et al., 2014; MULDOON et al., 2013; PACHTER; DE VRIES; FABRY, 2003).

O privilégio imune varia com a idade e região do SNC, algumas vezes incompleto (CARSON et al., 2006; GALEA; BECHMANN; PERRY, 2007; KIVISÄKK et al., 2003; LOUVEAU et al., 2015). No

SNC, a resposta imune inata é rapidamente ativada por componentes bacterianos, dano tecidual, grande disponibilidade de citocinas, deposição de placas amiloides, entre outros fatores (BECHMANN, 2005; CARSON, 2002; KIVISÄKK et al., 2003; RANSOHOFF; KIVISÄKK; KIDD, 2003).

A resposta imune inata inclui a ativação da micróglia, considerada o “macrófago residente no SNC”. Fisiologicamente, a micróglia é essencial para maturação neurológica e vários processos do desenvolvimento do SNC, como a apoptose, crescimento e migração axonal, regulação do desenvolvimento de células embrionárias precursoras, diferenciação neuronal, proliferação de astrócitos e angiogênese (TAKAHASHI; ROCHFORD; NEUMANN, 2005; WAKSELMAN et al., 2008).

Estímulos nocivos (ou patológicos) sinalizam a mudança do fenótipo microglial para uma forma ativada, que sintetiza e libera citocinas pró-inflamatórias como TNF- α , IL-1 β e IL-6, além de óxido nítrico (NO), superóxido e peróxido de hidrogênio (DAVALOS et al., 2005; HENRY et al., 2009; PÜNTENER et al., 2012). A micróglia também modula a neuroinflamação através da produção de citocinas anti-inflamatórias e de fatores de reparo tecidual (KHOROOSHI; OWENS, 2010; NIMMERJAHN; KIRCHHOFF; HELMCHEN, 2005). Um estímulo agudo pode induzir estresse celular tipicamente de curta duração, que se resolvido, não prejudica a sobrevivência neuronal. A micróglia em estado ativado divide funções imunológicas com macrófagos infiltrados de outros tecidos, destruindo e fagocitando vírus, bactérias e outros invasores; possivelmente apresentando os antígenos para linfócitos infiltrados no tecido cerebral e removendo debris celulares como parte da restauração tecidual. A micróglia ativada participa da defesa do hospedeiro, mediando mecanismos de proteção e promovendo a resolução neurológica (DAVALOS et al., 2005; KHOROOSHI; OWENS, 2010; NIMMERJAHN; KIRCHHOFF; HELMCHEN, 2005).

A não restauração da homeostasia do tecido nervoso após a neuroinflamação aguda pode cronificar a própria neuroinflamação através da sinalização excessiva de citocinas pró-inflamatórias microgliais (BODEA et al., 2014; GODBOUT et al., 2005; HENRY et al., 2009; PÜNTENER et al., 2012). Neste cenário patológico, a neuroinflamação crônica pode estender os efeitos deletérios e/ou agravar a lesão neurológica (p.ex.: doenças neuroinflamatórias e neurodegenerativas) (revisado por HSIEH; YANG, 2013; LAZZARINI

et al., 2013; PERRY; HOLMES, 2014).

1.3 A NEUROINFLAMAÇÃO COMO UM MECANISMO PATOLÓGICO DAS DOENÇAS NEUROLÓGICAS E NEURODEGENERATIVAS

A presença excessiva e crônica de fatores pró-inflamatórios perturba o sistema neuroendócrino e a neurotransmissão, com consequente alteração comportamental, incluindo prejuízos cognitivos, distúrbios de humor e transtornos de ansiedade (revisado por ANISMAN; MERALI, 2002). A neuroinflamação tem sido caracterizada como um mecanismo patológico de várias doenças neurológicas e neurodegenerativas, incluindo depressão, doença de Alzheimer, doença de Parkinson, esclerose múltipla e acidente vascular cerebral (AL-HAKEIM et al., 2015; BANATI; DANIEL; BLUNT, 1998; HENEKA et al., 2015; HIRSCH; HUNOT, 2009; MACHADO et al., 2016; WU et al., 2015).

Além disso, a neuroinflamação tem sido associada como um dos mecanismos responsáveis pelo declínio neurológico encontrado durante o envelhecimento, principal fator de risco das doenças neurodegenerativas (VAN DEURSEN, 2014). De acordo com Sparkman e Johnson (2008) o processo de envelhecimento do SNC é caracterizado pelo desequilíbrio gradativo da homeostase inflamatória (mediadores anti-inflamatórios vs pró-inflamatórios) em favor de um estado pró-inflamatório crônico.

A ativação astrocitária e microglial foi demonstrada no hipocampo e córtex pré-frontal de pacientes com doença de Alzheimer (MANDYBUR, 1989; RAO; RAPOPORT; KIM, 2011; SERRANO-POZO et al., 2011), assim como o aumento das concentrações plasmáticas de IL-6 (WU et al., 2015) e de IL-6, IL-8 e da proteína quimiotática de monócitos-1 (MCP-1) no encéfalo de pacientes com doença de Alzheimer (SOKOLOVA et al., 2009). A análise *pos mortem* do encéfalo de pacientes com doença de Parkinson demonstrou aumento da ativação da micróglia e astrócitos, aumento da expressão do fator de transcrição NF- κ B (Fator de transcrição nuclear kappa B, do inglês *factor nuclear kappa B*), além do aumento da concentração das citocinas IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6 e TNF- α (BANATI; DANIEL; BLUNT, 1998; NAGATSU; SAWADA, 2005; REYNOLDS et al., 2008).

Essas evidências demonstram um perfil neuroinflamatório nas doenças neurológicas e neurodegenerativas. Estas doenças acometem

um grande número de pessoas de modo crônico, prejudicando as atividades de vida diária (AVD) e qualidade de vida das pessoas. Além disso, existem poucos tratamentos eficazes disponíveis que permitem atenuar ou reverter estes processos. Assim, o desenvolvimento de novas estratégias preventivas ou terapêuticas para estas patologias/prejuízos que afetam o SNC é uma necessidade urgente.

1.4 LIPOPOLISSACARÍDEO COMO UM MODELO DE NEUROINFLAMAÇÃO

A endotoxina lipopolissacarídeo (LPS) é um componente da parede celular de bactérias gram-negativas e representa um exemplo bem caracterizado do reconhecimento imunológico inato associado à resposta inflamatória (AKASHI et al., 2000; HINES et al., 2013; SU et al., 2000). O LPS é utilizado para estimular o sistema imune de modo semelhante à infecção bacteriana, sem a presença de replicação e aumento da patogenicidade. Estas características tornaram o LPS um modelo amplamente utilizado para o estudo experimental de inflamação (BEUTLER; RIETSCHEL, 2003; KIM; HA, 2009; MA, et al. 2000) e da neuroinflamação (BERG et al., 2004; GODBOUT et al., 2005; HENRY et al., 2008, 2009).

O LPS estimula receptores de membrana do tipo *Toll* ou TLR (do inglês *toll like receptors*) nos fagócitos, mais precisamente o TLR4 (POLTORAK, 1998), que ativa a sinalização intracelular via NF- κ B para a produção e liberação de mediadores pro-inflamatórios, como citocinas e quimiocinas (SHAKHOV et al., 1990). Os TLR4 são altamente expressos em macrófagos, monócitos e células dendríticas (MEDZHITOV R; PRESTON-HURLBURT P; JANEWAY CA JR, 1997; YANG et al., 1998). Os TLR4 também são expressos nos astrócitos, micróglia e neurônios (BOWMAN et al., 2003; DIOGENES et al., 2011).

O modelo experimental de neuroinflamação induzido pelo LPS atende aos critérios de validação para um modelo experimental. A neuroinflamação desencadeada pelo LPS é responsável por sintomas como febre, ativação do eixo hipotálamo-pituitária-adrenal (HPA), perda de apetite e massa corporal, diminuição da interação social, prejuízos cognitivos, anedonia, falta de motivação, comportamento tipo-depressivo e tipo-ansioso (BLUTHÉ; DANTZER; KELLEY, 1992; BOROWSKI et al., 1998; COHN; DE SÁ-ROCHA, 2006; GODBOUT et al., 2005, 2008; JOHNSON; PROPES; SHAVIT, 1996; LACOSTA;

MERALI; ANISMAN, 1999; MUNHOZ et al., 2006; O'REILLY; VANDER; KLUGER, 1988; PLATA-SALAMÁN et al., 1996; SWIERGIEL; DUNN, 2007). Esses sintomas mimetizam os sintomas de doença relacionados às infecções em humanos (BRYDON et al., 2008, 2009; VOLLMER-CONNA et al., 2004) e estão presentes em condições clínicas que envolvem neuroinflamação (ANISMAN et al., 1999; SCHLATTER; ORTUÑO; CERVERA-ENGUIX, 2001; SOKOLOVA et al., 2009; TUGLU et al., 2003). Isso garante a validade aparente ou de face do modelo experimental de neuroinflamação induzida pelo LPS, a qual diz respeito o quão bem um modelo animal pode mimetizar os sintomas de uma determinada condição clínica.

Além disso, os mecanismos patológicos presentes na neuroinflamação induzida por LPS, como ativação da micróglia, ativação do fator de transcrição NF- κ B e produção de citocinas pró-inflamatórias também tem sido descritas em condições de neuroinflamação em humanos (BANATI; DANIEL; BLUNT, 1998; MAES et al., 1995; NAGATSU; SAWADA, 2005; REYNOLDS et al., 2008; TUGLU et al., 2003; WU et al., 2015). Isso garante a validade de construto para um modelo experimental, a qual diz respeito o quão bem um modelo animal reproduz a fisiopatologia de uma determinada condição clínica em humanos.

Por fim, a validação de um modelo experimental prevê a validade preditiva, que diz respeito à propriedade pela qual o modelo animal apresenta respostas aos agentes terapêuticos disponíveis para determinada condição em humanos. A literatura tem demonstrado a eficácia terapêutica de antioxidantes (BERG et al., 2004), fatores tróficos (PARK et al., 2011), extrato de chá verde (SINGAL et al., 2006) e fármacos como a *Propentofylline*¹ (MORAES et al., 2017) e antidepressivos (CASTANON; BLUTHÉ; DANTZER, 2001; SHEN et al., 1999) no modelo de neuroinflamação induzida pela administração sistêmica de LPS. Além disso, alguns trabalhos descreveram o papel do exercício físico na neuroinflamação experimental, com resultados controversos, possivelmente devidos aos vieses dos estudos. Littlefield e colaboradores (2015) demonstraram que o exercício em roda de corrida preveniu a redução da neurogênese em camundongos idosos. Tal efeito benéfico do exercício foi relacionado à capacidade de induzir um fenótipo neuroprotetor na micróglia. Ainda, Barrientos e colaboradores

¹ Registrado no Brasil para uso veterinário como Revimax 50 mg pelo Laboratório Agener União.

(2011) demonstraram o efeito anti-neuroinflamatório do exercício físico na infecção induzida pela *Escherichia coli* (250 μ l, i.p) através da redução da concentração de IL-1 β .

1.4.1 Vias de administração do LPS

O LPS pode ser administrado através de diferentes vias. Muitos autores injetam o LPS diretamente nos ventrículos cerebrais dos animais, ou injeção intra-cerebroventricular (i.c.v.). A administração de LPS (10 mg, i.c.v.) aumenta a resposta do eixo HPA (HABU et al., 1998), além de elevar as concentrações encefálicas e plasmática de TNF- α (KALEHUA et al., 2000). A neuroinflamação decorrente da administração de LPS (3-1000 ng, i.c.v.) está associada a mudanças comportamentais (comportamento tipo-doentio) em camundongos (CASTANON; BLUTHÉ; DANTZER, 2001; PARK et al., 2011; JOHNSON et al., 1997).

A administração estereotáxica do LPS é um modelo amplamente utilizado para a indução da doença de Parkinson experimental (LIU; BING, 2011), pela potente ativação da micróglia que induz uma extensa morte neuronal na SNpc. A administração estereotáxica de LPS (1-3 μ g na SNpc) induz a morte de neurônios dopaminérgicos e a ativação da micróglia com consequente aumento de IL-1 β na SNpc. Mesmo quando a administração estereotáxica de LPS (5-10 μ g) é realizada em locais diferentes da SNpc, como no hipocampo e córtex, ocorre uma neurodegeneração na SNpc com extensa perda de neurônios dopaminérgicos (KIM et al., 2000).

Além dos efeitos parácrinos do LPS pela administração direta no SNC, a administração periférica também é utilizada para induzir o processo inflamatório no SNC através de duas diferentes vias: intraperitoneal (i.p.) e intravascular (i.v.). O LPS (25 μ g/100g, i.v.) aumenta as concentrações hipotalâmicas de IL-1 β (MA et al., 2000) e a atividade do eixo HPA (100 mg/kg, i.v.) (HABU et al., 1998). De forma similar, a administração de LPS i.p. (nas seguintes doses: 2 mg/kg e 0.33 mg/kg) induz a uma ativação da micróglia e aumenta a expressão e concentração das citocinas pró-inflamatórias (IL-6, IL-1 β e TNF- α) no encéfalo de roedores (FU et al., 2014; GODBOUT et al., 2005, 2008, HENRY et al., 2008, 2009).

Muitos mecanismos foram propostos para explicar como o SNC controla respostas imunes inatas periféricas, considerando várias vias que agem em processo paralelo (revisado por MCCUSKER; KELLEY,

2013). Uma das vias envolve nervos aferentes: citocinas produzidas localmente e outros sinais nocivos ativam nervos aferentes primários, como o nervo vago (X), durante infecções abdominais e viscerais. O nervo vago (ou pneumogástrico) expressa receptores para citocinas e TLR4. Dessa forma, neurônios aferentes do vago são estimulados e transmitem sinais do sistema imune periférico para o SNC (MOHANKUMAR; MOHANKUMAR; QUADRI, 1999, 2000; ZIELINSKI et al., 2013).

Além da via neural de comunicação rápida entre o SNC e o sistema imune periférico, existem vias humorais mais lentas para esta comunicação (BANKS; ROBINSON, 2010; revisado por DANTZER, 2009; LAFLAMME; RIVEST, 2001; SAPER; ROMANOVSKY; SCAMMELL, 2012). Uma dessas vias é representada pela produção de intermediários moleculares – prostaglandinas – em resposta a estimulação de macrófagos perivasculares e células endoteliais de vasos sanguíneos do SNC pela presença de citocinas circulantes (SAPER; ROMANOVSKY; SCAMMELL, 2012). Além disso, a micróglia é ativada em regiões onde a BHE é permeável (plexo coroide e órgãos circuventriculares) em resposta a citocinas circulantes ou outros estímulos nocivos (LAFLAMME; RIVEST, 2001). Outra via compreende o transporte de citocinas através da BHE: citocinas pró-inflamatórias em excesso na circulação sistêmica podem ter acesso ao SNC através dos sistemas especializados de transporte saturável da BHE (BANKS, 2009; BANKS; ROBINSON, 2010).

A administração sistêmica de LPS ativa macrófagos TLR4+ que reconhecem o LPS e estimulam a produção da citocina pró-inflamatória IL-1 β , capaz de reforçar a sua própria síntese e a de outras citocinas classicamente sinérgicas à inflamação (como o TNF- α e a IL-6) (HINES et al., 2013; AKASHI et al., 2000; SU et al., 2000). A inflamação sistêmica aguda ainda induz a expressão transitória de mediadores pró-inflamatória no SNC e ativação da micróglia, de modo moderado e sem morte neuronal (JEONG; JOU; JOE, 2010). O LPS também induz a produção das citocinas TNF- α , IL-6, IL-1 β , entre outros mediadores pró-inflamatórios pelos astrócitos e micróglia (BLOCK et al., 2013; CHOI et al., 2014; FU et al., 2014; KIM et al., 2004; PACE; HU; MILLER, 2007; SAVAGE et al., 2012). Após as primeiras horas da administração do LPS, uma robusta resposta inflamatória é organizada, atenuada parcialmente nos estágios avançados por respostas anti-inflamatórias, como a produção da interleucina anti-inflamatória IL-10 (ANDRÉ et al., 2008; FU et al., 2014; HENRY et al., 2009). Ao

contrário do tratamento único de LPS, desafios sistêmicos repetidos em camundongos sustentam o fenótipo inflamatório microglial, induzem a perda de neurônios (BODEA et al., 2014) e produzem alterações na vascularização cerebral (PÜNTENER et al., 2012).

1.4.2. O papel da neuroinflamação induzida pelo LPS nos prejuízos neuroquímicos e comportamentais

Uma das consequências da estimulação do sistema imune inato periférico é a produção de citocinas pró-inflamatórias no SNC (BLOCK et al., 2013; HENRY et al., 2008; KIM et al., 2004; MOHANKUMAR; MOHANKUMAR; QUADRI, 1999, 2000; PACE; HU; MILLER, 2007). Essas citocinas atuam direta ou indiretamente sobre os neurônios e a glia (microglia e astrócitos) e perturbam o sistema neuroendócrino e a neurotransmissão, com consequente alteração comportamental (BLUTHÉ; DANTZER; KELLEY, 1992; DIOGENES et al., 2011; DUNN, 1992; GOUBOUT et al., 2005, 2008; HENRY et al., 2008; LACOSTA; MERALI; ANISMAN, 1998).

1.4.2.1 Prejuízos na sinalização das monoaminas

As monoaminas são produtos da descarboxilação de aminoácidos. As principais monoaminas são as catecolaminas originadas da tirosina (dopamina – DA, noradrenalina – NA, e adrenalina), a serotonina (5-HT) derivada do triptofano e a histamina da histidina. A ativação do sistema imune periférico pode perturbar a neurotransmissão de neurotransmissores monoaminérgicos no SNC (ZUCKERMAN; SHELLHAAS; BUTLER, 1989).

O aumento da degradação das monoaminas em resposta a administração de LPS e citocinas pró-inflamatórias tem sido relatadas em diversas regiões do SNC, incluindo o hipotálamo, locus coeruleus, córtex pré-frontal, hipocampo e amígdala. São relatados aumento da degradação de serotonina no hipocampo e hipotálamo, enquanto há um aumento de ácido 3,4-diidroxifenilacético (DOPAC) no corte pré-frontal (ANDO; DUNN, 1999; HAYLEY et al., 2001; HAYLEY; WALL; ANISMAN, 2002; LAVICKY; DUNN, 1995; LINTHORST et al., 1995; MOLINA-HOLGADO; GUAZA, 1996) Van Heesch e colaboradores (2014) demonstraram aumento da degradação da DA no núcleo accumbens e no córtex pré-frontal medial de camundongos

tratados com LPS, reforçado pelo aumento nas concentrações dos metabolitos DOPAC e ácido homovanílico. Zager e colaboradores (2009) observaram uma diminuição da função dopaminérgica (diminuição do *turnover* da DA) no estriado de camundongos tratados com LPS. A administração de LPS também induz a morte neuronal de neurônios dopaminérgicos na Substância Negra associada a diminuição da DA nesta região (WU et al., 2011).

Além disso, as citocinas IL-6 e TNF- α aumentam a metabolização da serotonina, facilitando a conversão deste neurotransmissor em seu metabólito ácido 5-hidroxiindolacético (Wang and Dunn, 1998; Zhang et al., 2001). A citocina IL-1 β altera a utilização da DA (MASANA; HEYES; MEFFORD, 1990; SHINTANI et al., 1993) e aumenta a utilização hipotalâmica de noradrenalina e serotonina, além de aumentar a liberação de DA (SHINTANI et al., 1995).

1.4.2.2 Comportamento tipo-doentio

As citocinas pró-inflamatórias no SNC promovem mudanças comportamentais no sentido da preservação de energia, o que é importante para o suporte à resposta imune e recuperação do organismo. Esse novo estado comportamental é denominado comportamento do tipo-doentio (do inglês *sickness behavior*), caracterizado por perda de apetite e massa corporal, diminuição da interação social, hipolocomoção, fadiga, prejuízos cognitivos e hiperalgesia (BLUTHÉ; DANTZER; KELLEY, 1992; COHN; DE SÁ-ROCHA, 2006; JOHNSON; PROPES; SHAVIT, 1996; O'REILLY; VANDER; KLUGER, 1988; PLATA-SALAMÁN et al., 1996; SWIERGIEL; DUNN, 2007). Além disso, o comportamento tipo-doentio é caracterizado por prejuízos na motivação (HINES et al., 2013), comportamento tipo-depressivo (GODBOUT et al., 2005, 2008; HENRY et al., 2008), comportamento tipo-ansioso (LACOSTA; MERALI; ANISMAN, 1999) e anedonia (BOROWSKI et al., 1998).

O comportamento pode ser definido como atividades observáveis, tanto em humanos como em animais. Assim, parâmetros fisiológicos como febre, perda de massa corporal e diminuição de ingesta de comida e líquido, não são comportamentos *per se*, porém são sintomas do comportamento tipo-doentio (MCCUSKER; KELLEY, 2013).

Os sintomas comportamentais, juntamente com a resposta de febre, inerentes ao comportamento tipo-doentio, representam uma

estratégia altamente organizada do organismo para lidar com uma infecção ou estímulo nocivo (HART, 1988). Em termos fisiológicos a febre corresponde a um novo estado homeostático caracterizado pelo aumento da temperatura corporal. Essa temperatura corporal mais elevada estimula a proliferação de células imunes e é desfavorável para o crescimento de muitos patógenos bacterianos e virais.

No comportamento tipo-doentio ocorre uma reorganização da percepção e ação que tornam o organismo mais apto para lidar com o processo inflamatório (DANTZER, 2001a). Essas mudanças comportamentais frequentemente envolvem alterações da motivação (MCCUSKER; KELLEY, 2013), assim, o comportamento tipo-doentio em roedores é frequentemente acessado através da avaliação da motivação para a exploração social, pois a neuroinflamação é responsável por uma grande diferença no tempo de exploração entre animais saudáveis e doente, com um menor tempo de exploração apresentado pelo animais doentes. A motivação para o consumo de comida ou líquidos também fornece uma ferramenta de avaliação do comportamento tipo-doentio, com uma diminuição do consumo pelos animais doentes.

Apesar do comportamento tipo-doentio configurar uma clássica resposta do hospedeiro contra o patógeno, existem evidências que sugerem que este tipo de comportamento é desencadeado por estímulos não imunes, como no caso de estressores ambientais (DANTZER, 2001a).

1.5 EXERCÍCIO FÍSICO

O sedentarismo é um fator de risco conhecido para diversas doenças, principalmente doenças cardiovasculares (DCV) como a hipertensão arterial, obesidade, e diabetes do tipo 2 (BERLIN; COLDITZ, 1990; KNOWLER et al., 2002; MANSON et al., 1999; MENOTTI et al., 2016). Nos últimos anos, o sedentarismo também vem sendo sugerido como um fator de risco para o desenvolvimento de doenças neurológicas (TREJO et al., 2002; VILLAR-CHEDA et al., 2009). Isto reflete os principais alvos de investigação da indústria farmacêutica a partir dos anos 70 (DCV) e 90 (doenças neurológicas).

Durante as últimas décadas, muitas evidências clínicas, translacionais e experimentais divulgaram os benefícios da atividade e exercício físico para manutenção da saúde em geral, inclusive do SNC (revisado por ERICKSON; HILLMAN; KRAMER, 2015). O exercício

físico tem sido associado à neuroreabilitação, neuroproteção, neuroplasticidade, e também a algumas evidências sugerem efeitos anti-inflamatórios (revisado por SVENSSON, LEXELL, DEIERBORG, 2015).

A atividade física e o exercício físico são termos que descrevem diferentes conceitos. A atividade física é definida como qualquer movimento corporal produzido pelos músculos e que resulta em gasto energético superior ao repouso relativo. A atividade física na vida diária pode ser categorizada em ocupacional, esporte, atividades domésticas entre outros. O exercício físico é uma subcategoria de atividade física, planejada, estruturada e realizada de forma repetida, com objetivo de manutenção ou aumento da capacidade física (CASPERSEN; POWELL; CHRISTENSON, 1985).

1.5.1 Roda de correr: um modelo experimental de atividade ou exercício físico?

A atividade locomotora é uma característica da vida animal, e na maioria das espécies de mamíferos representa um fator indispensável para a sobrevivência (busca de alimento e abrigo, escape de predadores, entre outros). Quando se trata de roedores, a atividade locomotora indispensável para a sobrevivência e pode ser denominada de atividade física espontânea. Para roedores de laboratório a atividade física espontânea inclui atividades como a locomoção dentro de seu habitat em busca de água e ração, exploração do ambiente, atividades de autolimpeza, entre outros. Quando a atividade locomotora não é requerida para a sobrevivência, homeostase e não é motivada por fatores externos pode ser denominada de exercício físico (GARLAND et al., 2011). Roedores correm voluntariamente longas distâncias na roda de correr (mais de 6 km/dia) (ALLEN et al., 2001; STRANAHAN et al., 2009; STRANAHAN; KHALIL; GOULD, 2006) e este paradigma tem sido utilizado como um modelo de exercício físico em roedores (ALLEN et al., 2001; IKEDA et al., 2006).

Quando se avalia os critérios para a validade de um modelo experimental, a roda de corrida atende aos critérios de validade de construto, relacionada com a habilidade de um modelo reproduzir aspectos fisiopatológicos de determinado evento. Da mesma forma que o exercício físico em humanos é recomendado para o aumento do gasto energético e controle da massa corporal, alguns trabalhos na literatura demonstram que a atividade de roedores na RC é suficiente para

melhorar o perfil corporal (HYATT et al., 2015). A literatura demonstra que a atividade de roedores na RC modifica as fibras musculares esqueléticas e cardíacas de modo semelhante ao exercício físico aeróbico. Allen e colaboradores (2001) demonstraram que duas semanas de atividade na RC foi suficiente para aumentar significativamente a proporção de massa cardíaca sobre a massa corporal (ALLEN et al., 2001).

A RC também atende ao critério da validade preditiva de um modelo experimental, que diz respeito à propriedade pela qual um modelo animal pode demonstrar respostas terapêuticas de forma semelhante a determinada condição em humanos. O exercício físico na RC demonstra ser terapêutico no modelo de trauma crânio encefálico ao diminuir os prejuízos cognitivos e volume da lesão. Estes benefícios foram associados à atenuação das vias inflamatórias e ao aumento da neurogênese (PIAO et al., 2013). O exercício na RC também normaliza a concentração plasmática de leptina e restaura as alterações patológicas num modelo de taupatia (KOGA et al., 2014). Além disso, o exercício em RC previne a ativação microglial decorrente do envelhecimento, e ainda, induz um fenótipo neuroprotetor na micrógliã (KOHMAN et al., 2012).

1.5.2 Exercício físico e neuroinflamação

Os benefícios do exercício são pleiotrópicos e associados à vários mecanismos, como a melhora do metabolismo das monoaminas (AGUIAR et al., 2014; CUNHA et al., 2013; EYRE; BAUNE, 2012), da produção de fatores neurotróficos, densidade dos vasos sanguíneos, sinaptogênese, neurogênese (AGUIAR et al., 2008; KIUCHI; LEE; MIKAMI, 2012; PIAO et al., 2013; SIGWALT et al., 2011; SOTO et al., 2015; STRANAHAN; KHALIL; GOULD, 2006; VAN PRAAG et al., 1999; YU et al., 2014), além de melhora do estado redox e da atividade mitocondrial (AGUIAR et al., 2014; LIU et al., 2000; NAVARRO et al., 2004; RADAK et al., 2006).

O efeito anti-inflamatório do exercício é associado à sua capacidade de regular a função do eixo HPA, aumentar a disponibilidade de citocinas anti-inflamatórias, bem como, relaciona-se com a redução na ativação da micrógliã, na concentração e expressão de citocinas pró-inflamatórias, além de diminuir a expressão de genes relacionados ao sistema imune (HARE et al., 2014; KIUCHI; LEE; MIKAMI, 2012; MARTIN et al., 2013; PARACHIKOVA; NICHOL;

COTMAN, 2008; SWIERGIEL; DUNN, 2007; ZHAO et al., 2014).

Nesse sentido, estudos pré-clínicos tem investigado o efeito do exercício físico na resposta imune do SNC e demonstrado um potencial efeito anti-neuroinflamatório em diferentes modelos experimentais de encefalomielite, traumatismo crânio-encefálico (TCE), doença de Parkinson, doença de Alzheimer e envelhecimento (BERNARDES et al., 2013, 2015; GIBBONS et al., 2014; GOMES DA SILVA et al., 2013; KOHMAN et al., 2013; NICHOL et al., 2008; TUON et al., 2015; ZHAO et al., 2014; DALLAGNOL et al., 2016). Bernardes e colaboradores (2013) verificaram que 6 semanas de natação diminuíram as concentrações de TNF- α e IL-1 β no encéfalo e medula espinal de camundongos submetidos a um modelo experimental de encefalomielite. Nesse estudo também foi observado uma diminuição dos escores da doença, perda de peso e desmielinização, após o protocolo de exercício (BERNARDES et al. 2013). Kohman e colaboradores (2013) demonstraram que 10 semanas de exercício em RC reduziram a ativação da micróglia (diminuição de micróglia positiva para MHC II e CD86) no hipocampo de camundongos velhos. A exposição a RC durante 8 semanas diminuiu a expressão das citocinas IL-1 β e IL-10, associado a efeitos ansiolítico e antidepressivo e melhora do comportamento motor de animais C56BL/6J velhos (DALLAGNOL et al., 2015). Zhao e colaboradores (2014) demonstraram que 4 semanas de exercício em RC melhorou o desempenho sensorio-cognitivo-motor em um modelo experimental de TCE. Esses efeitos neuroprotetores do exercício foram associados com a diminuição da ativação da micróglia, bem como com a atenuação do volume da lesão e redução de perda neuronal (ZHAO et al., 2014). Tuon e colaboradores (2015) verificaram que 8 semanas de corrida na esteira ou fortalecimento muscular atenuaram o aumento do NF- κ B e de citocinas pró-inflamatórias (TNF- α , Interferon gama [IFN- γ] e IL-17) no hipocampo e estriado de camundongos em um modelo experimental de doença de Parkinson. Goes e colaboradores (2014) demonstraram que 4 semanas de natação protegeram o estriado de camundongos C57BL/6J contra o estresse oxidativo, neuroinflamação, além de prevenir a diminuição dos níveis de DA e DOPAC causados por exposição à 6-hidroxidopamina (6-OHDA). O exercício diminuiu a concentração de IL-1 β no hipocampo de camundongos Balb/cByJ velhos (após 28 dias de exposição á roda de corrida) e ratos Fischer 344 velhos (após 18 semanas de exposição á roda de corrida), tais achados foram associados a melhora da neurogênese no hipocampo dos animais (GIBBONS et al., 2014;

SPEISMAN et al., 2013), além disso, o exercício modifica os mesmos parâmetros em camundongos Tg2576 após 3 semanas de corrida na RC (NICHOL et al., 2008). Gomes da Silva e colaboradores (2013) verificaram que 10 dias de exercício aeróbico em esteira aumentou as concentrações de IL-10 no hipocampo de ratos Wistar idosos, contudo, os níveis das citocinas pró-inflamatórias IL-1 β , IL-6 e TNF- α não foram diferentes dos animais classificados como sedentários.

1.5.3. Exercício físico e o modelo de neuroinflamação induzido por LPS

Embora vários estudos tenham demonstrado que diferentes exposições à atividade ou exercício físico podem reduzir as respostas inflamatórias (BERNARDES et al., 2013; GOMES DA SILVA et al., 2013; NICHOL et al., 2008; ZHAO et al., 2014), os efeitos do exercício sobre a inflamação e o comportamento tipo-doentio induzidos pelo LPS são escassos e controversos. Uma sessão de exercício físico intenso em esteira diminuiu as concentrações plasmáticas de TNF- α em camundongos C3H/HeN após a administração periférica de LPS (1 mg/kg, i.v.) (TANAKA et al., 2010). Chen e colaboradores (2007) demonstraram que quatro semanas de exercício em esteira reduziram significativamente as concentrações das citocinas pró-inflamatórias (TNF- α e IL-1 β) em ratos Wistar-Kyoto. O exercício também atenuou a taquicardia, a hipotensão sistêmica, e as modificações patológicas no coração, fígado e pulmão induzidas pelo LPS (10 mg/kg i.v.). Em um modelo de diabetes tipo I, 3 semanas de exercício na esteira aumentaram o tempo de sobrevida e reduziram as concentrações séricas de TNF- α induzidas pelo LPS (15 mg/kg i.v.) em ratos Wistar (HUNG et al., 2008). Ainda, existem evidências anti-inflamatórias do exercício físico após a administração de LPS (0.06 ng/kg i.v.) em humanos (STARKIE et al., 2003).

Por outro lado, Rowsey e colaboradores (2006) demonstraram que 8 semanas de exercício físico nas RC aumentaram a resposta febril de ratos Sprague Dawley em resposta ao LPS (0,05 mg/kg i.p.), sem modificar a atividade locomotora. Criswell e colaboradores (2004) demonstraram que 12 semanas de exercício em esteira aumentou as concentrações sérica de TNF- α e a atividade da β -glucuronidase (um marcador de dano tecidual) em ratos Sprague Dawley tratados com LPS

(5 mg / kg ip). Em hamsters, 20 semanas de exercício físico nas RC não modificaram as concentrações séricas de IL-6 e a resposta febril após a administração de LPS (0,01 mg/kg i.p.) (CONN et al., 1995).

Em relação à neuroinflamação, Littlefield e colaboradores (2015) demonstraram que nove semanas de exercício nas RC preveniram a redução da neurogênese induzida por LPS (250 µg/kg i.p.) em camundongos C57BL6/J idosos. Este benefício do exercício foi relacionado à capacidade de induzir um fenótipo neuroprotetor na micróglia. Wu e colaboradores (2007) demonstraram que cinco semanas de exercício moderado em esteira atenuou as reduções do Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro (BDNF) e de seu receptor TrkB, além de atenuar os prejuízos cognitivos, induzidos pelo LPS (4 doses de 1mg/kg i.p.) em camundongos C57BL/6J. Entretanto, estes benefícios do exercício não foram associados a efeitos anti-inflamatórios no SNC. Wu e colaboradores (2011) também demonstraram que cinco semanas de exercício físico em esteira protegeu neurônios dopaminérgicos da SNpc contra a toxicidade do LPS (1 mg/kg i.p.) em camundongos C57BL/6J. Mas este efeito protetor do exercício não foi consequência de imunomodulação, pois as concentrações das citocinas pró-inflamatórias (TNF- α e IL-1 β) e quimiocinas (MCP-1 e MIP-1 [proteína inflamatória de macrófago-1]), bem como o grau de ativação da micróglia e o número de micróglia na SNpc foram semelhantes entre os animais sedentários e os exercitados (WU et al., 2011).

Martin e colaboradores (2013) demonstraram que mesmo 10 semanas de exercício físico em RC (considerado um longo período) não foram suficientes para reverter o aumento na expressão de TNF- α , IL-1 β , IL-10 no cérebro de camundongos C57BL6/J velhos injetados com LPS (0,33mg/kg). Além disso, esse protocolo de exercício não reverteu o comportamento tipo-doentio induzido pelo LPS (MARTIN et al., 2013). Martin e colaboradores (2014) também demonstraram que um curto período de exposição às RC para camundongos C57BL/6J jovens (30 dias) e velhos (70 dias) não foram suficientes para reverter o aumento da expressão das citocinas TNF- α , IL-1 β , IL-6 e o comportamento tipo-doentio induzido pelo LPS.

2. JUSTIFICATIVA

Tendo em vista as recentes investigações que indicam o envolvimento de citocinas em desordens neurológicas, parece que o aumento da expressão destas moléculas no cérebro pode causar lesão de neurônios. Para tanto, torna-se viável o desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas para desordens do SNC, que incluam a inibição de moléculas imunitárias e inflamatórias. Assim, o exercício físico e seus potenciais efeitos anti-inflamatórios podem vir a contribuir para a prevenção e/ou tratamento de problemas neurológicos. Contudo, as evidências em relação ao papel anti-neuroinflamatório do exercício no modelo de neuroinflamação induzida por LPS são conflitantes. Para tanto, os mecanismos subjacentes a isso necessitam ser investigados.

3. HIPÓTESE

Com base nas evidências anti-neuroinflamatórias do exercício em vários modelos experimentais de doenças neurológicas, formulamos a hipótese de que o exercício físico previne parâmetros de neuroinflamação cortical e comportamento tipo-doentio induzido pelo LPS (0,33 mg/kg, i.p.). Para testar essa hipótese, propomos um programa de exercício usando camundongos Suíços adultos jovens em rodas de corrida durante 6 semanas.

4. OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GERAL

Investigar os efeitos do exercício físico nas RC sobre parâmetros de neuroinflamação cortical e comportamento tipo-doentio induzido pelo LPS (0,33 mg/kg, i.p.) em camundongos adultos.

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Investigar o desempenho motor dos camundongos nas RC, através da avaliação da distância diária percorrida pelos animais na RC.
2. Investigar os efeitos do exercício físico sobre o metabolismo muscular, através da avaliação da atividade com Complexo I mitocondrial.
3. Investigar os efeitos do exercício físico sobre o comportamento tipo-doentio em camundongos tratados com LPS, avaliando o comportamento animal através da avaliação dos parâmetros fisiológicos: distância percorrida na RC, massa corporal, consumo de ração e água.
4. Investigar os efeitos do exercício físico sobre o comportamento tipo-doentio em camundongos tratados com LPS, através dos testes comportamentais: campo aberto, *splash test* e suspensão pela cauda.
5. Investigar os efeitos do exercício físico sobre parâmetros de neuroinflamação, através do tratamento de camundongos com LPS e avaliação das concentrações das citocinas IL-1 β e IL-6 no soro sanguíneo e córtex pré-frontal dos animais.
6. Investigar os efeitos do exercício físico sobre o metabolismo da DA, através do tratamento de camundongos com LPS e avaliação das concentrações de DA e de seu metabólito DOPAC no córtex pré-frontal dos animais.

5. METODOLOGIA

5.1 ANIMAIS

Este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal de Santa Catarina com número de protocolo CEUA N° 1958010616 (ANEXO I).

Foram utilizados 199 camundongos machos, da linhagem Suíça, adultos jovens com 3-5 meses de idade, massa corporal $47,1 \pm 0,7$ g, provenientes do Biotério Central da Universidade Federal de Santa Catarina e mantidos no Biotério Setorial do Departamento de Bioquímica do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Santa Catarina (CCB/BlocoC/UFSC). Os animais foram mantidos em gaiolas coletivas (38 X 31 X 17 cm) com temperatura ($22 \pm 1^\circ\text{C}$), ciclo de luz de 12 horas claro/escuro (início do ciclo claro às 07:00). Foi disponibilizada alimentação e água *ad libitum*.

5.2 PROTOCOLOS EXPERIMENTAIS

5.2.2 Rodas de corrida (RC)

Após uma semana de ambientação no Biotério Setorial, os camundongos foram isolados randomicamente em gaiolas individuais (28 x 17 x 13 cm), configurando inicialmente dois grupos experimentais:

- 1) Sedentário (SED) (n=67);
- 2) Roda de corrida (RC) (n=132).

Os animais do grupo RC tiveram livre acesso à roda de corrida (12.7 cm de diâmetro) fixadas dentro de suas gaiolas (Figura 1A). A distância percorrida pelos animais foi mensurada diariamente através de contadores digitais (AGUIAR et al., 2013, 2014; KOHMAN et al., 2013; LITTLEFIELD et al. 2015 - Figura 1B). A exposição às rodas de corrida teve duração de seis semanas, conforme descrito por nosso grupo de pesquisa e de outros estudos da literatura (AGUIAR et al., 2014; NADERI et al., 2015; ROCKL et al., 2007; SPEAKER et al., 2014; THOMPSON et al., 2015). Durante o mesmo período, os animais do grupo SED foram expostos às rodas bloqueadas (Figura 1C), para evitar o viés de enriquecimento ambiental (ECLARINAL et al., 2016;

MARTIN et al., 2013; LITTLEFIELD et al. 2015). Os animais que não percorreram 2 km diário nas 2 primeiras semanas foram excluídos do grupo RC ($77,3 \pm 5,6\%$), e foram alocados para o grupo SED. Devido à maior proporção de animais no grupo SED em relação ao RC, 123 animais foram excluídos do grupo SED. Nenhum animal morreu durante nenhum experimento independente desta fase do protocolo experimental.

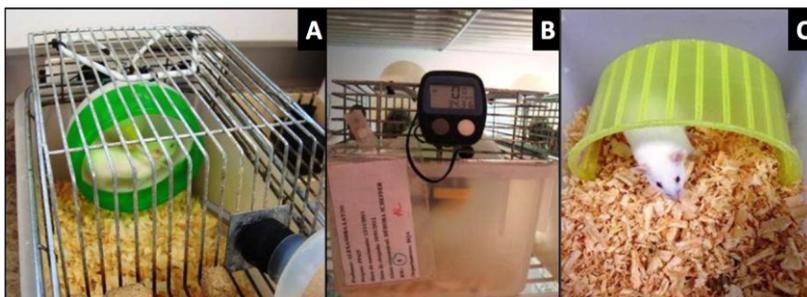


Figura 1. Modelo experimental de exercício físico em roda de corrida utilizado no Laboratório de Bioenergética e Estresse Oxidativo – LABOX – CCB/UFSC. (A) Gaiola com roda de corrida livre. (B) Contador da distância. (Fonte: Arquivos do autor). (C) Gaiola com roda de corrida bloqueada.

5.2.3 Modelo experimental de neuroinflamação: administração sistêmica de LPS

Após 6 semanas de exercício (42^o dia), os animais foram tratados com LPS (lote 3129, serotipo 0127: B8, Sigma-Aldrich[®]) na dose 0,33 mg/kg (i.p.). Essa dose foi selecionada com base em estudos demonstrando que 0,33 mg/kg de LPS induz a uma neuroinflamação e um comportamento tipo-doentio transientes em camundongos adultos jovens, aproximadamente após 4 horas do tratamento sistêmico com LPS (ANDRÉ et al., 2008; BERG et al., 2004; GODBOUT et al., 2005, 2008, HENRY et al., 2008, 2009). O grupo controle foi tratado com veículo NaCl 0,9%. As injeções foram realizadas no volume 10 ml/kg de massa corporal. Um animal (N=1) morreu durante o tratamento. Assim, foram formados quatro grupos experimentais no 42^o dia:

- 1) Sedentário + salina 0,9% (SED + SAL) (n= 23);
- 2) Sedentário + LPS 0,33 mg/kg (SED + LPS) (n= 22);
- 3) Roda de correr + salina 0,9% (RC + SAL) (n= 16);
- 4) Roda de correr + LPS 0,33 mg/kg (RC + LPS) (n= 15).

A partir do tratamento com LPS (42° dia), os animais pertencentes aos 4 grupos experimentais foram divididos em 2 protocolos experimentais:

- Protocolo Experimental 1 - Tratamento LPS no 42° dia, retorno às gaiolas de origem, e avaliação de parâmetros fisiológicos durante 6 dias (43-48° dia): distância na RC, massa corporal, e consumo de ração e água (Figura 2).
- Protocolo Experimental 2 - Após 4 h do tratamento LPS ou veículo no 42° dia, os animais foram submetidos, sem intervalo, aos testes comportamentais de campo aberto e *splash test* ou suspensão pela cauda, descritos posteriormente, seguido da eutanásia por deslocamento cervical, e coleta de amostras de tecido cerebral, muscular e sanguíneo, processados e armazenados para análises futuras (Figura 3).

Nenhum animal morreu durante nenhum experimento independente desta fase do protocolo experimental.

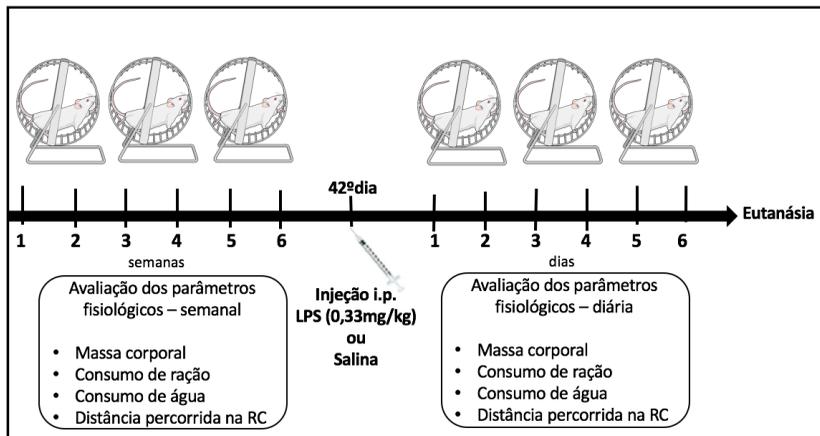


Figura 2. Desenho experimental 1. Os animais tiveram livre acesso à roda de corrida, durante seis semanas. No último dia de exposição às rodas os animais foram tratados com uma injeção i.p. de LPS (0,33mg/kg – para indução do modelo de neuroinflamação) ou de solução salina 0,9%. Após esse tratamento, os animais foram quanto aos parâmetros fisiológicos por um período de seis dias e, então, eutanasiados. Abreviações: i.p. (Intraperitoneal); LPS (Lipopolissacarídeo); RC (Roda de corrida).

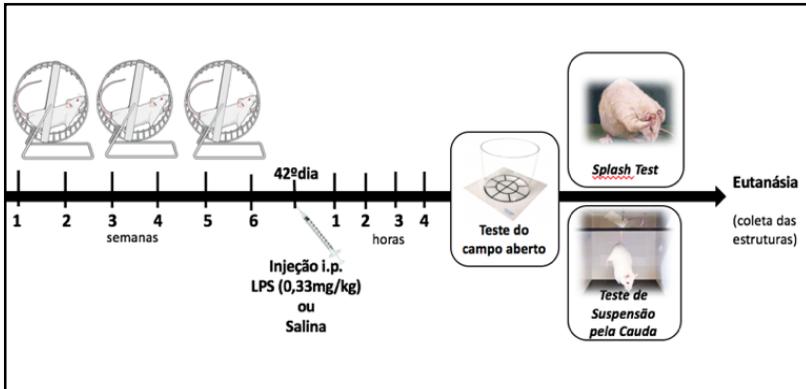


Figura 3. Desenho experimental 2. Os animais tiveram livre acesso à roda de corrida, durante seis semanas. No último dia de exposição às rodas (42º dia) os animais foram tratados com uma injeção i.p. de LPS (0,33mg/kg – para indução do modelo de neuroinflamação) ou de solução salina 0,9%. Após um período de quatro horas do tratamento, os animais foram submetidos, sem intervalo, aos testes comportamentais de Campo aberto e Splash Test ou Suspensão pela Cauda. Finalizando os testes, os animais foram eutanasiados para a coleta de amostras cerebrais, musculares e de sangue para posteriores análises. Abreviações: i.p. (Intraperitoneal); LPS (Lipopolissacarídeo).

5.3 AVALIAÇÃO DO COMPORTAMENTO TIPO-DOENTIO

5.3.1 Avaliação dos parâmetros fisiológicos

O comportamento tipo-doentio foi avaliado através dos parâmetros fisiológicos: atividade locomotora na RC, massa corporal, ingesta de ração e de água, como descrito na literatura (CAREAU et al., 2012; DANTZER, 2001b; KORCZYN, 2011; MARTIN et al., 2013). Esses parâmetros fisiológicos foram avaliados semanalmente durante o período pré-tratamento (até 6ª semana; 42º dia) e diariamente durante 6 dias no período após tratamento com LPS (43-48º dia - Figura 2).

5.3.2 Testes comportamentais

A análise do comportamento tipo-doentio foi realizada 4 horas após o tratamento (BERG et al., 2004; GODBOUT et al., 2005). Os animais foram habituados durante 1 hora em uma sala com som e luzes

atenuados antes dos testes comportamentais, os quais foram realizados durante a fase clara do ciclo (9h -17h).

5.3.2.1 Teste do Campo Aberto

O campo aberto avalia a locomoção ambulatorial e o comportamento exploratório (BASSO; BEATTIE; BRESNAHAN, 1995; VAN RIEZEN; LEONARD, 1990). O teste foi realizado individualmente com cada animal, isolado visual e acusticamente, em um ambiente com iluminação controlada (10 lux) durante 5 minutos de livre exploração em uma arena circular (diâmetro 60 cm). O teste foi vídeo-gravado e posteriormente avaliado quanto a distância percorrida (m), o número de levantamentos (comportamento exploratório vertical), o tempo dispendido em levantamento (s) e as velocidades máxima e média (m/min) dos animais, através da plataforma ANY-maze™.

5.3.2.2 *Splash Test*

O *splash test* foi adaptado de Yalcin et al. (2008). Esse teste avalia comportamento de autolimpeza, caracterizado como a limpeza da pele ao lambem ou coçar, após a pulverização com uma solução de sacarose 10% no dorso do animal. A viscosidade da solução induz um comportamento de higiene nos animais. Com a presença de sintomas depressivos, como a diminuição da motivação e do autocuidado, ocorre um aumento da latência (tempo entre a pulverização e o início da higienização) e diminuição do número e tempo gasto com a higiene (D'AUDIFFRET et al., 2010). O teste foi realizado individualmente com cada animal, na sequência do teste do campo aberto. Os animais permaneceram isolados visual e acusticamente, na mesma arena onde estavam ambientados. Após a pulverização com a solução de sacarose 10% no dorso do animal, o teste foi vídeo-gravado durante 5 minutos e posteriormente avaliado quanto o número de autolimpezas, tempo gasto com a autolimpeza (s) e a latência para o primeiro episódio de autolimpeza (s).

5.3.2.3 Teste de Suspensão pela Cauda

O teste de suspensão pela cauda é comumente utilizado para avaliar o comportamento tipo-depressivo, sendo realizado com base no método descrito por Steru (1985). O teste se baseia em submeter o

animal a um estresse de curto prazo através da suspensão pela cauda, sendo analisadas a agitação (tentativa de escape) ou a imobilidade (comportamento tipo-depressivo). O teste foi realizado individualmente com cada animal, na sequência do teste do campo aberto. Os camundongos foram visualmente e acusticamente isolados, suspensos por uma fita adesiva à 50 cm do chão, pela ponta da cauda (1cm). O teste foi vídeo-gravado por 6 minutos e posteriormente avaliado quanto o número de episódios imóveis, tempo de imobilidade (s).

5.4 EUTANÁSIA E COLETA DAS ESTRUTURAS

Os animais foram eutanasiados por deslocamento cervical após 4 horas do tratamento com LPS ou salina. A partir disso, foram coletadas amostras de sangue coagulado à temperatura ambiente durante 30 min e centrifugados a 1000 RPM durante 10 min. O soro foi removido e armazenado a -80°C . Foram dissecados o córtex pré-frontal e o músculo quadríceps, as quais foram imediatamente congeladas com nitrogênio líquido e armazenadas a -80°C .

5.5 DOSAGEM DE PROTEÍNAS

As proteínas totais das amostras do córtex pré-frontal foram avaliadas pelo método de Lowry modificado (PETERSON, 1977), que usa albumina sérica bovina (BSA) como padrão.

5.6 DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE DO COMPLEXO I MITOCONDRIAL

Para a mensuração da atividade enzimática do complexo I da cadeia respiratória as amostras de quadríceps foram homogeneizadas em dez volumes de tampão fosfato de potássio 5 mM, pH 7,4, contendo sacarose 300 mM, MOPS 5 mM, EGTA 1 mM e albumina sérica bovina 0,1%. Posteriormente, o homogeneizado foi centrifugado a $3.000 \times g$ durante 10 minutos a 4°C e o sobrenadante foi utilizado para a realização das análises. A atividade do Complexo I foi mensurada através da redução do ferrocianeto dependente de NADH em um comprimento de 420 nm, como descrito previamente por Cassina e Radi (1996). A atividade do complexo I da cadeia respiratória foi calculada como nmol/min/mg de proteína e mensurada utilizando-se de um espectrofotômetro.

5.7 DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE CITOCINAS POR IMUNOENSAIO ENZIMÁTICO (ELISA)

Este método foi utilizado com o objetivo de determinar o efeito das intervenções (LPS e exercício físico) sobre parâmetros inflamatórios. As amostras de córtex pré-frontal dos animais foram homogêneas em cinco volumes de tampão Tris 10 mM contendo 1mM ácido etileno diamino tetra-acético (EDTA), Triton 1%, inibidores de protease aprotinina 1 μ /mL, quimostatina 1 μ /mL e leupeptina 1 μ /mL e 1 μ /mL de fenil metil sulfonil fluoride. Após a homogeneização, a amostra foi centrifugada a 14.000xg por 10 minutos a 4°C, e o sobrenadante separado para a quantificação das citocinas. Foram realizadas a quantificação das citocinas IL-1 β e IL-6, no soro e sobrenadante, por imunoensaio enzimático usando kit comercial (R&D System[®]).

5.8 DETERMINAÇÃO DO CONTEÚDO DA DOPAMINA E SEU METABÓLITO ÁCIDO 3,4-DIIDROXIFENILACÉTICO POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA (HPLC)

A concentração de DA e seu metabólito DOPAC foram determinados em homonegato do córtex pré-frontal dos camundongos, com o objetivo de determinar uma possível relação entre alterações comportamentais induzidas pelas intervenções (LPS e exercício físico) e alterações na neurotransmissão monoaminérgica. O protocolo experimental foi realizado de acordo com Castro e colaboradores (2012). As amostras de córtex pré-frontal de cinco a seis animais de cada grupo foram dissecadas, pesadas e sonicadas por 5 segundos em dez volumes de 0.1 N ácido perclórico/0.05% EDTA dissódico/0.05% metassulfito sódico.

As concentrações da DA e DOPAC foram determinadas através da análise de 20 μ L do sobrenadante em um sistema composto por uma fase móvel contendo fosfato de sódio (90 mM), ácido cítrico (50 mM), heptanosulfonato de sódio (1,7 mM), EDTA (48 μ M), 10 % de acetonitrila pH 3,0 com um fluxo de 0,3 mL/minuto em uma coluna C18 de 120 x 2,0 mm (Synergi Hydro). Nessas condições o tempo de retenção das monoaminas e de seus metabólitos foi de aproximadamente 2,7 minutos para DA e 4,2 minutos para o DOPAC. As concentrações de DA e DOPAC foram determinadas por um detector eletroquímico

(Waters 2465) no HPLC (Alliance e2695, Waters, Milford, USA) e calculadas como ng/g de proteína (CASTRO et al., 2012).

5.9 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados foram descritos como média \pm erro padrão da média (EPM). A inferência foi realizada através de análise da variância (ANOVA) de duas vias, com fator repetição e teste *post hoc* de Bonferroni quando aplicável. As diferenças foram consideradas significativas quando $P \leq 0,05$. A plataforma estatística utilizada foi o programa STATISTICA (StatSoft Inc., v.13).

6. RESULTADOS

6.1 O DESEMPENHO MOTOR DOS ANIMAIS NAS RODAS DE CORRIDA

A figura 4 mostra a distância diária percorrida pelos animais nas RC durante 6 semanas (42 dias) antes do tratamento LPS (0,33 mg/kg, i.p.). A aderência dos animais às RC foi $22,6\% \pm 5,6$. Houve um aumento significativo da distância percorrida pelos animais nas rodas de corrida a partir do dia 10 [F(41,8)=3,8; *post hoc* de Bonferroni; $P < 0,05$; Figura 4]. Neste período, os animais correram $2,4 \pm 0,9$ km/dia. O tratamento com LPS (42º dia) diminuiu significativamente a distância diária percorrida pelos animais nos 6 dias posteriores ao tratamento [F(5,1)=4,4; $P < 0,05$; Figura 4].

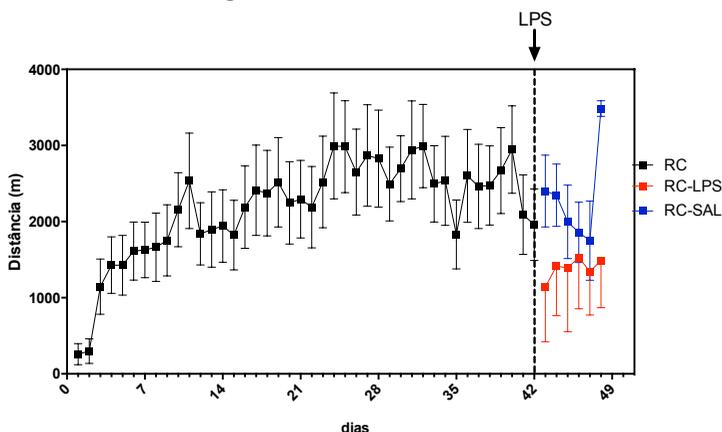


Figura 4. Distância percorrida nas rodas de corrida. A distância diária percorrida aumentou significativamente durante as 6 primeiras semanas ($n=22$). O LPS (42º dia) diminuiu esta distância. Os dados representam a média \pm EPM. (ANOVA de repetição seguido pelo *post hoc* de Bonferroni). Abreviações: LPS (Lipopolissacarídeo); SAL (Salina); RC (Roda de correr); SED (Sedentário).

A atividade do complexo I da cadeia respiratória foi avaliada no músculo quadríceps femoral após 4 h do tratamento (salina ou LPS). O exercício físico causou modificações, entretanto, o LPS reduziu significativamente a atividade do complexo I mitocondrial no quadríceps dos animais [F(1,25) = 5,5; $P < 0,05$; Figura 5], como reforça a literatura (FRISARD et al., 2015; HANSEN et al., 2015; MCGIVNEY; BRADLEY, 1980).

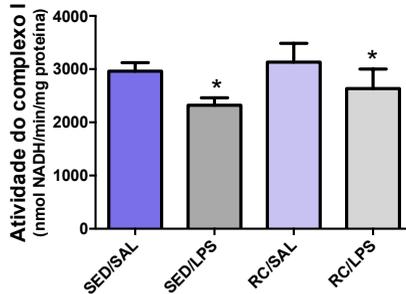


Figura 5. Efeito do exercício físico sobre a atividade do Complexo I mitocondrial após a administração de LPS (0,33mg/kg, i.p.). A atividade do Complexo I foi avaliada em amostras do músculo quadríceps de camundongos Suíços machos adultos nos grupos SED/SAL (n=10), SED/LPS (n=9), RC/SAL (n=5), e RC/LPS (n=6). O exercício não alterou a atividade do complexo I. O LPS diminuiu a atividade deste complexo mitocondrial. Os dados representam a média \pm EPM. * $P < 0.05$ vs SAL (ANOVA de 2 vias). Abreviações: LPS (Lipopolissacarídeo); SAL (Salina); RC (Roda de correr); SED (Sedentário); i.p (Intraperitoneal).

6.2 OS EFEITOS DO EXERCÍCIO FÍSICO E DO LPS SOBRE OS PARÂMETROS FISIOLÓGICOS: MASSA CORPORAL, CONSUMO DE RAÇÃO E ÁGUA

A figura 6 ilustra a massa corporal dos animais no período pré-tratamento (por 42 dias) e após 6 dias da administração de LPS. Como esperado, houve um aumento significativo da massa corporal dos animais no decorrer das seis semanas pré-tratamento [$F(5,245)=118,7$; $P < 0,05$ – Figura 6], sem diferenças quanto ao condicionamento físico dos animais exercitados e sedentários. O tratamento com LPS (42º dia) diminuiu significativamente a massa corporal dos animais sedentários e exercitados em relação aos seus controles tratados com salina [$F(1,47)=11,7$; $P < 0,05$; Figura 6].

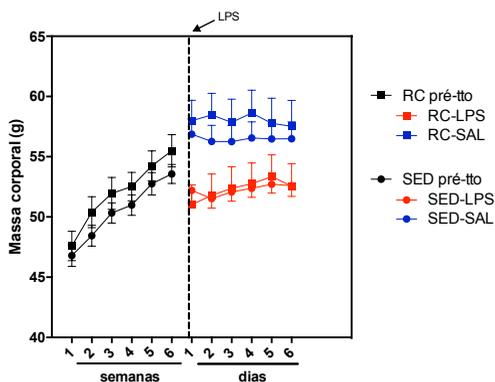


Figura 6. Efeito do exercício sobre a perda de massa corporal induzida pela administração de LPS (0,33mg/kg, i.p.). A massa corporal dos camundongos Suíços machos adultos foi avaliada durante seis semanas pré-tratamento e seis dias após o tratamento com LPS ou salina. A análise foi feita nos grupos SED/SAL (n=15), SED/LPS (n=14), RC/ SAL (n=12), e RC/LPS (n=10). A massa corporal dos animais aumentou significativamente no período pré-tratamento e não foi diferente entre os animais sedentários e exercitados. O tratamento com LPS (42º dia) diminuiu a massa corporal dos animais e o exercício não teve efeito sobre esse parâmetro no período pós-tratamento. Os dados representam a média \pm EPM. (ANOVA de repetição). Abreviações: LPS (Lipopolissacarídeo); SAL (Salina); RC (Roda de correr); SED (Sedentário); i.p. (Intraperitoneal); pré-tto (Pré-tratamento); pós-tto (Pós-tratamento).

As figuras 7A e 7B representam a ingestão de ração e consumo de água pelos animais no período pré-tratamento (por 42 dias) e após 6 dias da administração de LPS. Houve um aumento significativo do consumo de ração durante as seis primeiras semanas do protocolo experimental, ou fase pré-tratamento [$F(5,220)=5,6$; $P < 0,05$; Figura 7A], compatível com o aumento da massa corporal. A partir da quarta semana do período pré-tratamento, os animais do grupo corrida (RC) aumentaram significativamente a ingestão de alimento em relação aos seus controles sedentários [$F(5,220)=2,3$; $P < 0,05$ - *post hoc* de Bonferroni - Figura 7A], mas que não se refletiu num aumento de massa corporal (Figura 6).

O tratamento com LPS (42º dia) diminuiu significativamente o consumo de ração dos animais [$F(1,43)=7,3$; $P < 0,05$; Figura 7A], retornando aos níveis basais no terceiro dia pós-tratamento LPS, mas sem influência do exercício físico (*post hoc* de Bonferroni - Figura 7A).

Quanto ao consumo de água, houve um aumento significativo no decorrer das seis semanas do período pré-tratamento, sem diferenças quanto aos grupos sedentário ou exercício [$F(5,150)=8,6$; $P < 0,05$ (Figura 7B)]. Este comportamento não foi modificado pelo tratamento LPS (Figura 7B).

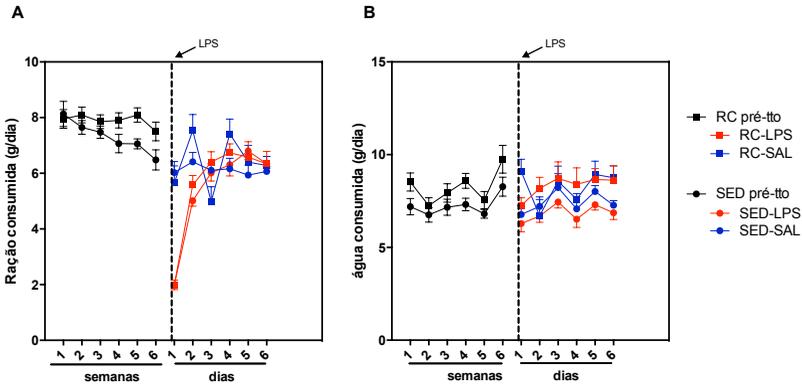


Figura 7. Efeito do exercício sobre a ingestão de ração e de água dos animais após administração de LPS (0,33mg/kg, i.p.). A ingestão de alimento e de líquido dos camundongos Suíços machos adultos foi avaliada durante seis semanas pré-tratamento (pré-tto) e seis dias após o tratamento (pós-tto) com LPS ou salina. A análise foi feita nos grupos SED/SAL (n=15), SED/LPS (n=14), RC/ SAL (n=12), e RC/LPS (n=10). A ingestão de alimento (A) e de líquido (B) dos animais aumentou significativamente no período pré-tratamento. A ingestão de alimento foi significativamente maior no grupo RC a partir da quarta semana (A). O LPS diminuiu a ingestão de alimento (A), mas não teve efeito sobre a ingestão de líquido (B) dos animais. A diferença na ingestão de alimento entre os animais dos grupos SAL e LPS foi revertida no terceiro dia, porém o exercício não contribuiu para esta reversão (A). Os dados representam a média \pm EPM. (ANOVA de repetição seguido pelo post hoc de Bonferroni). Abreviações: LPS (Lipopolissacarídeo); SAL (Salina); RC (Roda de correr); SED (Sedentário); i.p. (Intraperitoneal); pré-tto (Pré-tratamento); pós-tto (Pós-tratamento).

6.3 OS EFEITOS DO EXERCÍCIO FÍSICO E DO LPS NO DESEMPENHO DOS ANIMAIS NOS TESTES COMPORTAMENTAIS DO CAMPO ABERTO, *SPLASH TEST* E SUSPENSÃO PELA CAUDA

A endotoxina LPS aumenta a expressão e concentração de citocinas pró-inflamatórias no SNC de roedores. Essa neuroinflamação é responsável por alterações comportamentais conjuntamente denominado de comportamento tipo-doentio (FU et al., 2014; GODBOUT et al., 2005; HENRY et al., 2008, 2009). Nas figuras 8, 9, 10 e 11 serão apresentados os resultados dos testes comportamentais para a avaliação do comportamento tipo-doentio.

A figura 8 mostra os resultados do teste do campo aberto. A administração de LPS não modificou a locomoção, nem a velocidade média e máxima dos animais (Figuras 8A, B, e C respectivamente). Como desfecho secundário, o exercício diminuiu significativamente a velocidade máxima dos animais [$F(1,21)=3,9$; $P<0,05$; Figura 8C].

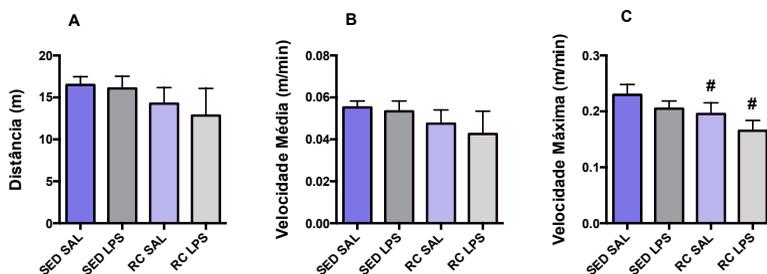


Figura 8. Efeito do exercício sobre o comportamento exploratório horizontal avaliado através do campo aberto após administração de LPS (0,33mg/kg, i.p.). As análises foram realizadas nos grupos SED/SAL (n=8), SED/LPS (n=8), RC/SAL (n=4), e RC/LPS (n=5). O LPS não alterou os parâmetros: distância percorrida (A), velocidade média (B) e velocidade máxima (C) avaliados no teste. O exercício diminuiu a velocidade máxima (C) percorrida pelos animais no teste. Os dados representam a média \pm EPM. # $P<0,05$ vs SED (ANOVA de 2 vias). Abreviações: LPS (Lipopolissacarídeo); SAL (Salina); RC (Roda de correr); SED (Sedentário); i.p. (Intraperitoneal).

As figuras 9A e 9B representam o perfil de levantamentos (sobre as patas traseiras) dos animais no campo aberto após 4 horas da administração de LPS. O LPS diminuiu o número [$F(1,21)=8,9$; $P<0,05$; Figura 9A] e o tempo dos levantamentos [$F(1,2)=5,99$; $P<0,05$; Figura 9B]. O exercício reverteu parcialmente ambos os prejuízos, tanto o número [$F(1,2)=3,5$; $P<0,05$; Figura 9A] quanto o tempo dispendido nos levantamentos [$F(1,2)=4,5$; $P<0,05$; Figura 9B].

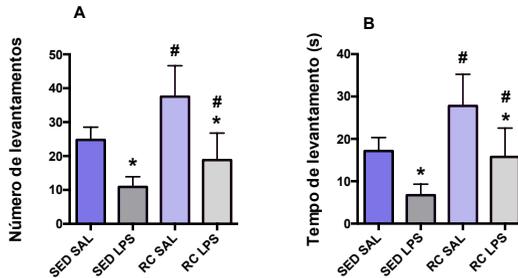


Figura 9. Efeito do exercício sobre o comportamento exploratório vertical avaliado através do campo aberto após administração de LPS (0,33mg/kg, i.p.). As análises foram realizadas nos grupos SED/SAL (n=8), SED/LPS (n=8), RC/SAL (n=4), e RC/LPS (n=5). O LPS diminuiu o número de levantamentos (A) e o tempo dispendido em levantamento (B). O exercício reverteu parcialmente os prejuízos no número (A) e tempo (B) de levantamento. Os dados representam a média \pm EPM. * $P < 0.05$ vs SAL e # $P < 0.05$ vs SED (ANOVA de 2 vias). Abreviações: LPS (Lipopolissacarídeo); SAL (Salina); RC (Roda de correr); SED (Sedentário); i.p. (Intraperitoneal).

A figura 10 mostra os resultados do *splash test* após 4 horas da administração de LPS. O LPS não alterou o número e tempo dispendido nas autolimpezas (*grooming*) realizada pelos animais, bem como a latência para o primeiro episódio de autolimpeza (Figura 10A-C).

Como desfecho secundário, o exercício aumentou significativamente o número [$F(1,21)=4,7$; $P < 0,05$; Figura 10A] e o tempo de autolimpeza [$F(1,20)=5,34$; $P < 0,05$; Figura 10B] dos animais. Além disso, o exercício diminuiu a latência para o primeiro episódio de autolimpeza [$F(1,20)=5,6$; $P < 0,05$; Figura 12C].

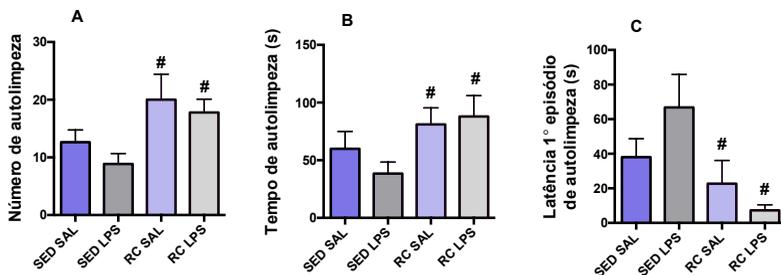


Figura 10. Efeito do exercício sobre a motivação avaliada através do teste comportamental splash test após administração de LPS (0,33mg/kg, i.p.). A análise foi feita nos grupos SED/SAL (n=9), SED/LPS (n=9), RC/ SAL (n=8), e RC/LPS (n=6). O LPS não teve efeito sobre o número de autolimpezas (A), o tempo de autolimpeza (B) e a latência para a o primeiro episódio de autolimpeza (C). O exercício aumentou o número de autolimpezas (A) e o tempo de autolimpeza (C), além de diminuir a latência para o primeiro episódio de autolimpeza (C). Os dados representam a média \pm EPM. # $P < 0.05$ vs SED (ANOVA de 2 vias). Abreviações: LPS (Lipopolissacarídeo); SAL (Salina); RC (Roda de correr); SED (Sedentário); i.p. (Intraperitoneal).

A figura 11 mostra os resultados do teste de suspensão pela cauda após 4 horas da administração de LPS. O exercício diminuiu significativamente o tempo de imobilidade dos controles (salina), mas não nos animais tratados com LPS [$F(1,28) = 5,4$; $P < 0,05$; Figura 11A]. A figura 11B reforça o efeito tipo-antidepressivo do exercício, pois o número de episódios imóveis diminuiu em ambos os grupos RC/SAL e RC/LPS em relação aos seus controles sedentários [$F(1,28) = 3,2$; $P < 0,05$].

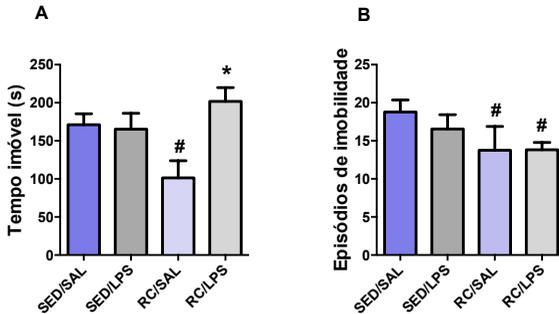


Figura 11. Efeito do exercício sobre o comportamento tipo-depressivo avaliado através do teste comportamental de suspensão pela cauda após administração de LPS (0,33mg/kg, i.p.). A análise foi feita nos grupos SED/SAL (n=9), SED/LPS (n=9), RC/ SAL (n=8), e RC/LPS (n=6). O exercício foi antidepressivo, pois diminuiu o tempo de imobilidade (A) e o número de episódios imóveis (B). Os dados representam a média \pm EPM. * $P < 0.05$ vs SAL e # $P < 0.05$ vs SED (ANOVA de 2 vias seguida do post hoc de Bonferroni). Abreviações: LPS (Lipopolissacarídeo); SAL (Salina); RC (Roda de correr); SED (Sedentário); i.p. (Intraperitoneal).

6.4 OS EFEITOS DO EXERCÍCIO E DO LPS SOBRE AS CONCENTRAÇÕES DE IL-1 β E IL-6 NO SORO E CÓRTEX PRÉ-FRONTAL DOS CAMUNDONGOS

A Figura 12 mostra as concentrações das interleucinas IL-1 β e IL-6 no soro e no córtex pré-frontal dos animais após 4 h do tratamento com LPS. O LPS aumentou significativamente as concentrações de IL-1 β no soro dos animais dos grupos avaliados [$F(1,17)=81,9$; $P < 0,05$; Figura 12A], sem efeito do exercício. O LPS também aumentou significativamente as concentrações de IL-1 β [$F(1,20)=5,9$; $P < 0,05$; Figura 12B] e IL-6 [$F(1,20)=7,1$; $P < 0,05$; Figura 12C] no córtex pré-frontal dos camundongos. Neste caso, o exercício preveniu parcialmente o aumento de IL-6 [$F(1,20)=7,2$; $P < 0,05$; Figura 12C], mas não de IL-1 β no córtex pré-frontal dos animais.

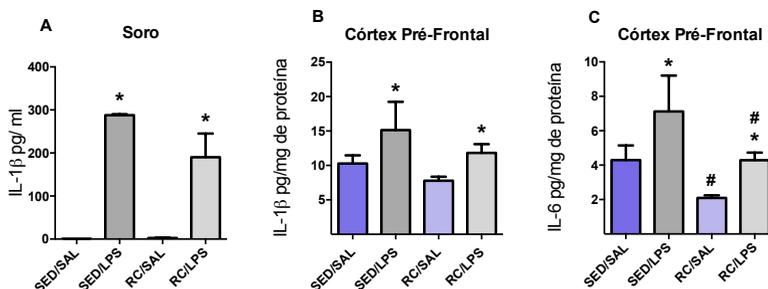


Figura 12. Efeito do exercício físico sobre as concentrações de IL-1 β e IL-6 após a administração de LPS (0,33mg/kg, i.p.). A produção das referidas interleucinas foi avaliada no soro (A) e córtex pré-frontal (B e C) de camundongos Suíços machos adultos dos grupos SED/SAL (n=5), SED/LPS (n=5), RC/SAL (n=5), e RC/LPS (n=5). O LPS aumentou significativamente a concentração de IL-1 β (A) no soro dos animais dos grupos avaliados e o exercício não preveniu esse aumento. O LPS aumentou significativamente as concentrações de IL-1 β (B) e IL-6 (C) no córtex pré-frontal dos animais e o exercício preveniu parcialmente o aumento de IL-6 (C). Os dados representam a média \pm EPM. *P<0.05 vs SAL e #P<0.05 vs SED (ANOVA de 2 vias). Abreviações: LPS (Lipopolissacarídeo); SAL (Salina); RC (Roda de correr); SED (Sedentário); IL (Interleucina); i.p. (Intraperitoneal).

6.5 OS EFEITOS DO EXERCÍCIO E DO LPS SOBRE AS CONCENTRAÇÕES DE DA E DOPAC NO CÓRTEX PRÉ-FRONTAL DE CAMUNDONGOS

O LPS reduziu significativamente as concentrações de DA [F(1,24) = 5,4; P< 0,05; Figura 13A] e DOPAC [F(1,27) = 11,2; P < 0,05; Figura 13B] no córtex pré-frontal dos animais sedentários, com efeito preventivo do exercício (*post hoc* de Bonferroni). O exercício também reduziu significativamente a taxa DOPAC/DA no córtex pré-frontal dos animais de ambos os grupos exercitados [F (1, 25) = 5,9; P< 0,05; Figura 13C].

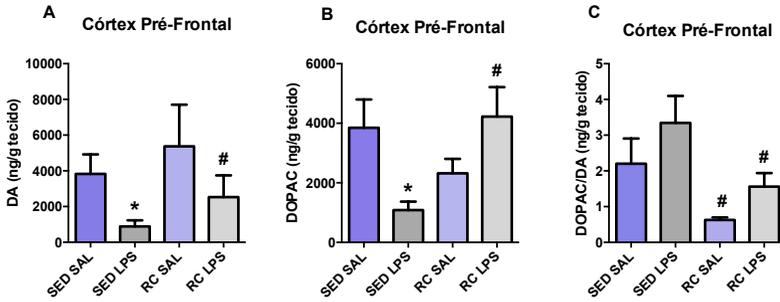


Figura 13. Efeito do exercício físico sobre as concentrações de DA e seu metabólito DOPAC após a administração de LPS (0,33mg/kg, i.p.). A produção dos referidos neurotransmissores foi avaliada no córtex pré-frontal de camundongos Suíços machos adultos dos grupos SED/SAL (n=9), SED/LPS (n=9), RC/SAL (n=5), e RC/LPS (n=6). O LPS reduziu significativamente as concentrações de DA (A) e de DOPAC (B) no córtex pré-frontal dos animais do grupo SED/LPS e o exercício reverteu essa depleção. O exercício reduziu significativamente a taxa DOPAC/DA no córtex pré-frontal de ambos os grupos exercitados. Os dados representam a média \pm EPM. * $P < 0.05$ vs SAL e # $P < 0.05$ vs SED (ANOVA de 2 vias seguida do post hoc de Bonferroni). Abreviações: LPS (Lipopolissacarídeo); SAL (Salina); RC (Roda de correr); SED (Sedentário); i.p. (Intraperitoneal); DA (dopamina); DOPAC (ácido 3,4-dihidroxifenilacético).

7. DISCUSSÃO

O fenômeno do envelhecimento populacional projeta um aumento na prevalência das doenças neurodegenerativas (entre outras doenças degenerativas, ex.: osteoartrite), cuja idade representa o principal fator de risco. Outro potencial fator de risco é o sedentarismo, este modificável. Isto justifica a intensa rede de pesquisa sobre abordagens para combater/amenizar os prejuízos associados ao envelhecimento e aos mecanismos patológicos envolvidos nas doenças relacionadas, assim como melhorar as condições para um envelhecimento saudável. Hoje, a investigação tem se concentrado em duas frentes: (i) mudanças de estilo de vida (ou ambientais), representados pela dieta e atividade física, e (ii) recursos farmacológicos. O sistema imune, em particular, é conhecido pelos prejuízos causados pelo envelhecimento, um processo conhecido como imunosenescência. Na última década, muitos trabalhos demonstraram que o exercício físico regular está associado à manutenção funcional do sistema imune e um fenótipo imune “rejuvenescido” (SIMPSON et al., 2012; TURNER, 2016). Por exemplo, o exercício regular aumenta a resposta de idosos à imunização por vacinas, como contra o vírus *influenza* (SIMPSON et al., 2016). As modificações ambientais são utilizadas para prevenir ou atenuar a inflamação prolongada e o comportamento tipo-doentio, auxiliando na recuperação de episódios infecciosos (CARNEIRO et al., 2015; HALLGREN et al., 2015; JORNA; BALL; SALMON, 2006). O exercício físico é uma clássica estratégia de modificação ambiental, principalmente quanto às propriedades neuroprotetoras e anti-inflamatórias relacionadas ao envelhecimento, à obesidade ou a doenças neurodegenerativas (BURKE et al., 2007; DRØYVOLD et al., 2004; FRIEDENREICH, 2001; GRACE et al., 2007; VAN PRAAG et al., 1999; YU et al., 2014).

No laboratório, a RC é um modelo de exercício físico muito utilizado (LITTLEFIELD et al., 2015; MARTIN et al., 2013; SHERWIN, 1998; STRANAHAN et al., 2009; STRANAHAN; KHALIL; GOULD, 2006) e o seu uso nas ciências básicas tem aumentado devido aos benefícios induzidos pelo exercício em condições fisiológicas e patológicas (BEDNARCZYK et al., 2009; BENSON et al., 2015; ENGESSER-CESAR et al., 2005; FEDIUC; CAMPBELL; RIDDELL, 2006; GARRETT et al., 2012). A roda de corrida é uma atividade recompensadora para os animais do ponto de vista neurobiológico (GREENWOOD et al., 2011). A curva da distância de

corrida é típica desse tipo de comportamento, caracterizado pelo aumento da busca pela atividade, alimento e drogas. Explicações existentes são de que a roda de corrida é um comportamento que satisfaz uma motivação, como por exemplo, a fuga (SHERWIN, 1998) ou que está ligada ao sistema metabólico (como uma resposta motora à fome, por exemplo) (GARLAND et al., 2011).

Apesar da literatura relacionar a roda de corrida como uma atividade de recompensa e motivação em roedores de laboratório (GREENWOOD et al., 2011), os camundongos Suíços no presente estudo apresentaram uma baixa aderência ($22,6 \pm 5,6\%$). Entretanto, não há dados na literatura sobre aderência de roedores às RC para comparação. Lerman e colaboradores (2002) avaliaram diferentes linhagens de animais quanto ao desempenho físico nas RC (tempo de corrida, distância percorrida e velocidade média de corrida). A linhagem C57BL/6J ($\approx 7,5$ km/noite) seguida dos Suíços ($\approx 6,5$ km/noite) apresentaram maior desempenho físico nas RC comparadas às outras linhagens, BALB/cByJ, C3H/HeJ, DBA/1J, DBA/2J, e FVB/NJ (LERMAN et al., 2002). Os camundongos Suíços no presente estudo apresentaram um desempenho de $2,4 \pm 0,9$ km/dia nas RC, de forma semelhante ao desempenho das linhagens BALB/cByJ, C3H/HeJ, DBA/1J, DBA/2J, e FVB/NJ avaliadas por Lerman e colaboradores (2002). Entretanto, as diferenças regionais e ambientais dificultam comparações diretas. Alguns laboratórios desenvolveram linhagens de roedores com alto desempenho nas RC através do "cruzamento seletivo", as chamadas linhagens seletivas (do inglês *selectively bred*) para alto desempenho na roda de corrida (SWALLOW; CARTER; GARLAND, 1998). O objetivo foi fornecer um modelo experimental para o estudo de características morfofisiológicas do exercício no modelo das RC, que revelaram pouca variabilidade genética relacionada às habilidades físicas (DUMKE et al., 2001; GARLAND et al., 2002; HOULE-LEROY et al., 2000). Os autores sugerem que o comportamento ótimo nas RC esteja relacionado com modificações neurológicas centrais (RHODES et al., 2001; RHODES; GARLAND, 2003; RHODES; GARLAND; GAMMIE, 2003; WATERS et al., 2013). Por exemplo, estas linhagens seletivas apresentaram aumento na concentração de monoaminas e de seus metabólitos no sistema mesocorticolímbico associado à motivação (WATERS et al., 2013). Nesta mesma linha, os resultados do presente estudo demonstraram que o exercício na RC foi caracterizado pelo aumento progressivo da distância diária percorrida nas RC, em conformidade aos outros

trabalhos (ALLEN et al., 2001; IKEDA et al., 2006). Também foi observado um aumento das concentrações de DA e DOPAC, bem como uma diminuição do metabolismo dopaminérgico no córtex pré-frontal dos animais corredores. O comportamento dos camundongos selecionados para as RC no presente estudo seguiu um padrão consistente, aumentando nas primeiras 2 semanas até atingir um platô. Esse padrão comportamental de aumento da distância na RC está relacionado ao aumento no consumo alimentar, presumivelmente pelo aumento da demanda energética (COUTINHO et al., 2006; DIXON; ACKERT; ECKEL, 2003; HICKEY et al., 2008; MURRAY et al., 2010; PHAM; BRENÉ; BAUMANS, 2005). Os animais do grupo RC mostraram um consumo de comida superior aos animais do grupo SED, porém não houve um aumento de massa corporal dos mesmos, corroborando com os achados de Swallow (2001) e Novak (2012).

Este trabalho avaliou o efeito de seis semanas de exercício físico nas RC em um modelo animal de neuroinflamação induzida pelo tratamento sistêmico com LPS (0,33mg/kg, i.p.). O LPS desencadeia uma resposta neuroinflamatória através da sinalização TLR4 das células imunitárias do hospedeiro, como os macrófagos e micróglia. O LPS então sinaliza a expressão de genes pró-inflamatórios, resultando no comportamento tipo-doentio, um mecanismo primitivo comum de sobrevivência aos seres vivos (BOWMAN et al., 2003; DIOGENES et al., 2011). Como esperado, os animais apresentaram um comportamento tipo-doentio induzido pelo LPS, que prejudicou o comportamento alimentar dos animais – exercitados e sedentários – por dois dias, resultando numa redução da massa corporal não recuperada após seis dias do tratamento. Além da perda da massa corporal, o LPS também reduziu a função motora dos animais, através da redução da distância percorrida nas RC e dos levantamentos no campo aberto. Resultados semelhantes foram descritos por Martin e colaboradores (2013) em camundongos C57BL/6J, o LPS (0,33mg/kg, i.p.) prejudicou a locomoção, e reduziu o consumo de ração por 3 dias, a massa corporal não foi recuperada após 6 dias. De modo similar, Martin e colaboradores (2013) demonstraram que 10 semanas de RC não modificou os mesmos parâmetros do comportamento tipo-doentio em camundongos C57BL/6J velhos.

Além dos parâmetros fisiológicos acima, foi avaliado o desempenho dos animais nas tarefas comportamentais do campo aberto, *splash test* e suspensão pela cauda. A avaliação comportamental baseia-se na premissa de que o comportamento tipo-depressivo e a falta de

motivação está associada com resignação, impotência e falta de interesse dos animais (D'AUDIFFRET et al., 2010; PORSOLT, 2000; STERU et al., 1985). O comportamento tipo-depressivo continua após 24 horas da administração de LPS (0.83 mg/kg, i.p.) (MARTIN et al., 2014). A suspensão pela cauda é um teste comportamental que fornece um forte fator motivacional para a tentativa de fuga, pois o animal permanece pendurado “de cabeça para baixo”, uma posição muito desconfortável. No presente estudo o LPS induziu um comportamento tipo-doentio, pois reverteu o efeito tipo-antidepressivo das RC no teste de suspensão pela cauda. O exercício físico teve um efeito tipo-antidepressivo, pois diminuiu o tempo de imobilidade nos animais controles no teste de suspensão pela cauda. Este efeito tipo-antidepressivo do exercício físico também foi observado através da redução do número de episódios imóveis dos animais exercitados – controles-salina e LPS. De forma semelhante a literatura tem demonstrado o efeito tipo-antidepressivo do exercício em modelos de estresse crônico, os quais envolvem o processo inflamatório. Zheng e colaboradores (2009) demonstraram que 4 semanas de exercício na RC reverteu os prejuízos no teste de preferência pela sacarose em ratos Sprague-Dawley após estresse crônico. Seis semanas de exercício na RC reverteu os prejuízos no teste do nado forçado em camundongos C57BL/6J após estresse crônico (SOLBERG et al., 1999).

Prejuízos na locomoção e motivação também são características do comportamento tipo-doentio (DANTZER, 2001b). No campo aberto, a locomoção e os levantamentos possuem características exploratórias e motoras nos sentidos horizontal e vertical (IRAVANI et al., 2002). O LPS induziu o comportamento tipo-doentio, pois diminuiu o número e tempo de levantamentos no teste do campo aberto, de modo similar ao descrito por Silva e Giusti-Paiva (2015) após 2 horas do tratamento com LPS (200µg/kg; i.p.). Os resultados do presente estudo demonstram que o exercício parcialmente atenuou os prejuízos na exploração vertical dos animais no teste do campo aberto. Ainda, o LPS não teve efeito sobre o autocuidado dos roedores avaliado no *splash test*. Contudo, o exercício *per se* aumentou o número e tempo de autolimpeza dos animais. A literatura também reforça estes efeitos benéficos do exercício físico na motivação para o autocuidado, Sadeghi e colaboradores (2016) demonstraram que 32 dias de exercício na RC, de forma semelhante ao tratamento com o antidepressivo fluoxetina, aumentou o tempo de autolimpeza de ratos Wistar submetidos ao estresse de separação maternal. Assim, os resultados do presente estudo revelaram que o

exercício físico proporciona uma proteção parcial contra comportamento tipo-doentio no modelo de neuroinflamação induzido pelo LPS.

A compreensão da base evolutiva de uma resposta adequada à doença auxilia na compreensão dos resultados deste trabalho, quanto à ausência da total reversão do comportamento tipo-doentio pelo exercício físico, como esperado inicialmente e sugerido na literatura. O comportamento de doença é um mecanismo de sobrevivência crítico primitivo para todos os organismos e pode ser demasiadamente essencial para ser afetado pelo exercício físico. O comportamento tipo-doentio tem sido descrito como uma estratégia altamente organizada visando à sobrevivência do organismo (DANTZER et al., 2001; DANTZER e KELLEY, 2007; DANTZER et al., 2008). Vários estudos mostraram que a inibição de certos aspectos do comportamento tipo-doentio resulta na diminuição da sobrevivência dos animais infectados. Como exemplo, os animais alojados em ambientes frios ou tratados com fármacos antipiréticos apresentam elevada taxa de mortalidade após infecção, sugerindo que uma resposta febril adequada é crítica para a defesa e sobrevivência do organismo hospedeiro (KLUGER, 1979). Ratos infectados com *Listeria monocytogenes* que apresentam uma diminuição do consumo alimentar foram alimentados via gavagem (na mesma proporção que animais não infectados) e também apresentaram aumento da mortalidade, indicando o papel do comportamento tipo-doentio na resposta à doença (MURRAY; MURRAY, 1979). Assim, no curto-prazo avaliado (6 dias) parece que o comportamento tipo-doentio pode ser crítico para a sobrevivência do organismo e pode compensar os benefícios do exercício físico. Entretanto, apresenta-se como uma limitação deste estudo a falta de avaliação do comportamento tipo-doentio em um período crônico.

Sobre os mecanismos envolvidos no desenvolvimento do comportamento tipo-doentio através da neuroinflamação, foram avaliadas as concentrações das citocinas pró-inflamatórias IL-1 β e IL-6 no córtex pré-frontal dos animais. Como a ativação do sistema imune periférico induz uma neuroinflamação (BERG et al., 2004; GODBOUT et al., 2005), foi avaliado se o exercício físico tem efeito sobre as concentrações da citocina IL-1 β no soro dos animais. O LPS aumentou significativamente as concentrações de IL-1 β no soro dos animais dos grupos avaliados, sem efeito do exercício sobre a concentração dessa citocina no soro. Esses resultados concordam com nossos resultados sobre a concentração de citocinas no córtex pré-frontal e comportamento tipo-doentio. Como esperado, o LPS aumentou significativamente as

concentrações de IL-1 β e IL-6 no córtex pré-frontal dos camundongos, assim como descrito na literatura. A expressão das citocinas IL-1 e IL-6 do encéfalo de camundongos BALB/c aumentou após o tratamento com LPS (0,33mg/kg, i.p.). Os aumentos na expressão das citocinas foram paralelos aos aumentos na concentração das mesmas. Tanto IL-1 β como IL-6 aumentaram após 4 horas do tratamento com LPS quando comparado com os animais tratados com salina (GODBOUT et al., 2005). O perfil de expressão das citocinas IL-1 β , IL-6 e TNF- α ao longo do tempo foi avaliada no hipocampo e hipotálamo de camundongos CD1 tratados com LPS (0,83mg/kg, i.p.). O pico da expressão ocorreu 2 horas pós-tratamento para todas as citocinas, sendo que as citocinas IL-1 β e TNF- α permaneceram elevadas mesmo 24 horas após o LPS, embora em uma extensão menor do que 2 horas. Em contraste, a expressão da citocina IL-6 aumentou somente em 2 horas, já retornando aos valores basais em 6 horas (ANDRÉ et al., 2008). Martins e colaboradores (2013) relataram um aumento das concentrações das citocinas TNF- α e IL-10 no encéfalo de camundongos C57BL6/J velhos (LPS 0,33mg/kg), sem distinção quanto às diferentes regiões cerebrais. Os mesmos autores também demonstraram um aumento da expressão de TNF- α , IL-1 β , IL-6, e IFN- γ no encéfalo de camundongos C57BL6/J adultos após 4 horas da administração de LPS (LPS 0,83mg/kg) (MARTIN et al., 2014).

O exercício não modificou as concentrações de IL-1 β no córtex pré-frontal dos animais, que suportam os nossos achados da falta de efeito da RC em vários parâmetros do comportamento tipo-doentio induzido por LPS. A literatura corrobora nossos resultados. Martins e colaboradores (2014, 2013) demonstraram que o exercício em roda de corrida não atenuou a expressão de citocinas pró-inflamatórias (TNF- α , IL-1 β , IL-6, e IFN- γ) no encéfalo total de camundongos C57BL6/J adultos e velhos após a administração sistêmica de LPS nas doses 0,83mg/kg e 0,33mg/kg, respectivamente. Entretanto, verificamos que o exercício preveniu parcialmente o aumento das concentrações de IL-6 no córtex pré-frontal dos animais. Barrientos e colaboradores (2011) incubaram com LPS (100 ng, 2 h) a micróglia isolada do hipocampo de ratos F344xBN F1 velhos exercitados durante 6 semanas nas RC, e verificaram uma redução da expressão da citocina IL-6 nos animais exercitados.

Até o momento, o único estudo que apresenta o exercício físico como um modulador do sistema imune após a neuroinflamação induzida por LPS (LITTLEFIELD et al., 2015) demonstra que o exercício físico

modifica o fenótipo da micróglia para um fenótipo neuroprotetor, o qual aumenta a expressão de fatores neurotróficos na micróglia. Porém, esta modificação não foi capaz de modificar as concentrações de citocinas pró-inflamatórias.

A capacidade neuroprotetora e antidepressiva do exercício físico (ESLER et al., 1990) também pode ser observada através de modificações nos sistemas de neurotransmissão (SUTOO; AKIYAMA, 1996). A DA atua como mediador de diferentes funções neurológicas nos mamíferos, como a regulação da atividade motora e de processos cognitivos, e principalmente a modulação das funções motivacionais relacionadas à recompensa (STUCHLIK et al., 2007). A motivação e a recompensa têm sido relacionadas à ativação dopaminérgica no sistema mesocorticolímbico (BERRIDGE, 2007; KATZUNG; MASTERS; TREVOR, 2009; LAMMEL et al., 2008; OADES; HALLIDAY, 1987; SCHULTZ; DAYAN; MONTAGUE, 1997; SESACK; GRACE, 2010). Foi avaliado neste estudo a neurotransmissão dopaminérgica no córtex pré-frontal dos camundongos. Aqui, o exercício físico reverteu a depleção de DA e DOPAC no córtex pré-frontal dos animais tratados com LPS, como bem demonstra a literatura, quando cinco semanas de exercício nas RC restauraram as concentrações de DA na *SNpc* de camundongos C57BL/6J (LPS, 1mg/kg, i.p.) (WU et al., 2011). O sistema dopaminérgico mesocorticolímbico é influenciado pelo exercício voluntário nas RC (MEEUSEN; DE MEIRLEIR, 1995), reforçado pelos nossos resultados demonstrando aumento das concentrações de DA e DOPAC e diminuição da taxa DOPAC/DA no córtex pré-frontal após 6 semanas de exercício. A taxa DOPAC/DA é utilizada como um índice de turnover da DA e reflete a atividade dos terminais sinápticos de DA (AGUIAR et al., 2015). A diminuição da taxa DOPAC/DA pelo exercício físico sugere a diminuição da degradação de DA extracelular nas sinapses dopaminérgicas, implicando em um maior tempo de ação desse neurotransmissor no SNC. Isso aumenta a probabilidade de ligação da DA extracelular aos seus receptores dopaminérgicos, sem a necessidade de aumentar a síntese do neurotransmissor. A melhora do metabolismo das monoaminas induzida pelo exercício foi demonstrada anteriormente (AGUIAR et al., 2014; CUNHA et al., 2013; EYRE; BAUNE, 2012).

Embora vários estudos tenham demonstrado que diferentes protocolos de exercício físico prolongado podem reduzir as respostas inflamatórias induzidas pelo LPS, os efeitos do exercício sobre o comportamento tipo-doentio e a neuroinflamação são escassos,

controversos e limitados às diferenças experimentais em várias variáveis como a espécie do animal, o tratamento (dose x via de administração), além dos diferentes desenhos experimentais de exercício físico, uma limitação conhecida nesta área de estudos. Nossos resultados somam informações à literatura, reforçando os efeitos benéficos parciais do exercício na neuroinflamação e no comportamento tipo-doentio induzidos pelo LPS.

8. CONCLUSÃO

Os dados deste estudo demonstram que seis semanas de exercício físico nas RC previnem parcialmente a neuroinflamação e o comportamento tipo-doentio induzidos pelo tratamento sistêmico com LPS (0,33 mg/kg). Este estudo foi pioneiro em demonstrar que o exercício físico atenua parâmetros da neuroinflamação (aumento de IL-6) induzida pelo LPS. Além disso, o exercício físico apresentou efeitos protetores independentes da neuroinflamação induzida pelo LPS.

Assim, reforça-se o uso do exercício físico como estratégia preventiva e/ou terapêutica em processos de neuroinflamação fisiológica (envelhecimento) e patológica (doenças).

REFERÊNCIAS

- AGUIAR, A. et al. Exercise Improves Cognitive Impairment and Dopamine Metabolism in MPTP-Treated Mice. **Neurotoxicity Research**, v. [Epub ahead of print], 2015.
- AGUIAR, A. S. et al. Downhill training upregulates mice hippocampal and striatal brain-derived neurotrophic factor levels. **Journal of Neural Transmission**, v. 115, n. 9, p. 1251–1255, 2008.
- AGUIAR, A. S. et al. Exercise attenuates levodopa-induced dyskinesia in 6-hydroxydopamine-lesioned mice. **Neuroscience**, v. 243, p. 46–53, 2013.
- AGUIAR, A. S. et al. Effects of exercise on mitochondrial function, neuroplasticity and anxio-depressive behavior of mice. **Neuroscience**, v. 271, p. 56–63, 2014.
- AKASHI, S. et al. Cutting Edge: Cell Surface Expression and Lipopolysaccharide Signaling Via the Toll-Like Receptor 4-MD-2 Complex on Mouse Peritoneal Macrophages. **The Journal of Immunology**, v. 164, n. 7, p. 3471–3475, 2000.
- AL-HAKEIM, H. K. et al. IL-6, IL-18, sIL-2R, and TNF α proinflammatory markers in depression and schizophrenia patients who are free of overt inflammation. **Journal of Affective Disorders**, v. 182, p. 106–114, 2015.
- ALLEN, D. L. et al. Cardiac and skeletal muscle adaptations to voluntary wheel running in the mouse. **Journal of applied physiology (Bethesda, Md. : 1985)**, v. 90, n. 5, p. 1900–1908, 2001.
- ANDO, T.; DUNN, A. J. Mouse tumor necrosis factor- α increases brain tryptophan concentrations and norepinephrine metabolism while activating the HPA axis in mice. **NeuroImmunoModulation**, v. 6, n. 5, p. 319–329, 1999.
- ANDR??, C. et al. Spatio-temporal differences in the profile of murine brain expression of proinflammatory cytokines and indoleamine 2,3-dioxygenase in response to peripheral lipopolysaccharide administration. **Journal of Neuroimmunology**, v. 200, n. 1–2, p. 90–99, 2008.

ANISMAN, H. et al. Endocrine and cytokine correlates of major depression and dysthymia with typical or atypical features. **Molecular psychiatry**, v. 4, n. 2, p. 182–8, 1999.

ANISMAN, H.; MERALI, Z. **Cytokines, stress, and depressive illness**. *Brain, Behavior, and Immunity*. **Anais...**2002

BANATI, R. B.; DANIEL, S. E.; BLUNT, S. B. Glial pathology but absence of apoptotic nigral neurons in long-standing Parkinson's disease. **Movement Disorders**, v. 13, n. 2, p. 221–227, 1998.

BANKS, W. A. **The Blood-Brain Barrier in Psychoneuroimmunology Immunology and Allergy Clinics of North America**, 2009.

BANKS, W. A.; ROBINSON, S. M. Minimal penetration of lipopolysaccharide across the murine blood-brain barrier. **Brain, Behavior, and Immunity**, v. 24, n. 1, p. 102–109, 2010.

BARRIENTOS, R. M. et al. Little exercise, big effects: reversing aging and infection-induced memory deficits, and underlying processes. **The Journal of Neuroscience**, v. 31, n. 32, p. 11578–11586, 2011.

BASSO, D. M.; BEATTIE, M. S.; BRESNAHAN, J. C. A sensitive and reliable locomotor rating scale for open field testing in rats. **Journal of neurotrauma**, v. 12, n. 1, p. 1–21, 1995.

BECHMANN, I. Failed central nervous system regeneration: a downside of immune privilege? **Neuromolecular.Med.**, v. 7, n. 3, p. 217–228, 2005.

BECHMANN, I.; NITSCH, R. Astrocytes and microglial cells incorporate degenerating fibers following entorhinal lesion: A light, confocal, and electron microscopical study using a phagocytosis-dependent labeling technique. **GLIA**, v. 20, n. 2, p. 145–154, 1997.

BEDNARCZYK, M. R. et al. Prolonged voluntary wheel-running stimulates neural precursors in the hippocampus and forebrain of adult CD1 mice. **Hippocampus**, v. 19, n. 10, p. 913–927, 2009.

BENSON, C. et al. Voluntary wheel running delays disease onset and reduces pain hypersensitivity in early experimental autoimmune

encephalomyelitis (EAE). **Experimental Neurology**, v. 271, p. 279–290, 2015.

BERG, B. M. et al. α -Tocopherol attenuates lipopolysaccharide-induced sickness behavior in mice. **Brain, Behavior, and Immunity**, v. 18, n. 2, p. 149–157, 2004.

BERLIN, J. A.; COLDITZ, G. A. A meta-analysis of physical activity in the prevention of coronary heart disease. **American journal of epidemiology**, v. 132, n. 4, p. 612–28, 1990.

BERNARDES, D. et al. Differential brain and spinal cord cytokine and BDNF levels in experimental autoimmune encephalomyelitis are modulated by prior and regular exercise. **Journal of Neuroimmunology**, v. 264, n. 1–2, p. 24–34, 2013.

BERNARDES, D. et al. Prior regular exercise improves clinical outcome and reduces demyelination and axonal injury in experimental autoimmune encephalomyelitis. **Journal of Neurochemistry**, v. 136, p. 63–73, 2015.

BERRIDGE, K. C. **The debate over dopamine's role in reward: The case for incentive salience** *Psychopharmacology*, 2007.

BEUTLER, B.; RIETSCHEL, E. T. Innate immune sensing and its roots: the story of endotoxin. **Nature reviews. Immunology**, v. 3, n. 2, p. 169–76, 2003.

BLOCK, L. et al. Ultralow concentrations of bupivacaine exert anti-inflammatory effects on inflammation-reactive astrocytes. **European Journal of Neuroscience**, v. 38, n. 11, p. 3669–3678, 2013.

BLUTHÉ, R. M.; DANTZER, R.; KELLEY, K. W. Effects of interleukin-1 receptor antagonist on the behavioral-effects of lipopolysaccharide in rat. **Brain Research**, v. 573, n. 2, p. 318–320, 1992.

BOOTH, F. W. et al. Waging war on physical inactivity: using modern molecular ammunition against an ancient enemy. **Journal of applied physiology (Bethesda, Md. : 1985)**, v. 93, n. 1, p. 3–30, 2002.

BOROWSKI, T. et al. Lipopolysaccharide, central in vivo biogenic

amine variations, and anhedonia. **Neuroreport**, v. 9, n. 17, p. 3797–3802, 1998.

BOWMAN, C. C. et al. Cultured astrocytes express toll-like receptors for bacterial products. **GLIA**, v. 43, n. 3, p. 281–291, 2003.

BRYDON, L. et al. Peripheral Inflammation is Associated with Altered Substantia Nigra Activity and Psychomotor Slowing in Humans. **Biological Psychiatry**, v. 63, n. 11, p. 1022–1029, 2008.

BRYDON, L. et al. Synergistic effects of psychological and immune stressors on inflammatory cytokine and sickness responses in humans. **Brain, Behavior, and Immunity**, v. 23, n. 2, p. 217–224, 2009.

BURKE, V. et al. A lifestyle program for treated hypertensives improved health-related behaviors and cardiovascular risk factors, a randomized controlled trial. **Journal of Clinical Epidemiology**, v. 60, n. 2, p. 133–141, 2007.

CAREAU, V. et al. Are voluntary wheel running and open-field behavior correlated in mice? different answers from comparative and artificial selection approaches. **Behavior Genetics**, v. 42, n. 5, p. 830–844, 2012.

CARNEIRO, L. S. F. et al. Effects of structured exercise and pharmacotherapy vs. pharmacotherapy for adults with depressive symptoms: A randomized clinical trial. **Journal of Psychiatric Research**, v. 71, p. 48–55, 2015.

CARSON, M. J. Microglia as liaisons between the immune and central nervous systems: Functional implications for multiple sclerosis. **Glia**, v. 40, n. 2, p. 218–31., 2002.

CARSON, M. J. et al. **CNS immune privilege: Hiding in plain sight** *Immunological Reviews*, 2006.

CASPERSEN, C. J.; POWELL, K. E.; CHRISTENSON, G. M. Physical activity, exercise, and physical fitness: definitions and distinctions for health-related research. **Public health reports (Washington, D.C. : 1974)**, v. 100, n. 2, p. 126–31, 1985.

CASSINA, A; RADI, R. Differential inhibitory action of nitric oxide

and peroxynitrite on mitochondrial electron transport. **Archives of biochemistry and biophysics**, v. 328, n. 2, p. 309–316, 1996.

CASTANON, N.; BLUTHÉ, R. M.; DANTZER, R. Chronic treatment with the atypical antidepressant tianeptine attenuates sickness behavior induced by peripheral but not central lipopolysaccharide and interleukin-1?? in the rat. **Psychopharmacology**, v. 154, n. 1, p. 50–60, 2001.

CASTRO, A. A. et al. Lithium and valproate prevent olfactory discrimination and short-term memory impairments in the intranasal 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP) rat model of Parkinson's disease. **Behavioural Brain Research**, v. 229, n. 1, p. 208–215, 2012.

CHEN, H. I. et al. Exercise training attenuates septic responses in conscious rats. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 39, n. 3, p. 435–442, 2007.

CHOI, S. S. et al. Human astrocytes: Secretome profiles of cytokines and chemokines. **PLoS ONE**, v. 9, n. 4, 2014.

CHOU, S. T. et al. Achillea millefolium L. essential oil inhibits LPS-induced oxidative stress and nitric oxide production in RAW 264.7 macrophages. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 14, n. 7, p. 12978–12993, 2013.

COHN, D. W. H.; DE SÁ-ROCHA, L. C. Differential effects of lipopolysaccharide in the social behavior of dominant and submissive mice. **Physiology and Behavior**, v. 87, n. 5, p. 932–937, 2006.

CONN, C. A. et al. Effect of voluntary exercise and food restriction in response to lipopolysaccharide in hamsters. **Journal of applied physiology**, v. 78, n. 2, p. 466–477, 1995.

COUTINHO, A. E. et al. Metabolic effects of voluntary wheel running in young and old Syrian golden hamsters. **Physiology & Behavior**, v. 87, n. 2, p. 360–367, 2006.

CUNHA, M. P. et al. The antidepressant-like effect of physical activity on a voluntary running wheel. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 45, n. 5, p. 851–859, 2013.

CUNNINGHAM, C.; MACLULLICH, A. M. J. **At the extreme end of the psychoneuroimmunological spectrum: Delirium as a maladaptive sickness behaviour response** *Brain, Behavior, and Immunity*, 2013.

D'AUDIFFRET, A. C. et al. Depressive behavior and vascular dysfunction: a link between clinical depression and vascular disease? **Journal of applied physiology (Bethesda, Md. : 1985)**, v. 108, n. 5, p. 1041–1051, 2010.

DANTZER, R. Cytokine-induced sickness behavior: mechanisms and implications. **Ann N Y Acad Sci**, v. 933, p. 222–234, 2001a.

DANTZER, R. Cytokine-Induced Sickness Behavior: Where Do We Stand? **Brain, Behavior, and Immunity**, v. 15, n. 1, p. 7–24, 2001b.

DANTZER, R. **Cytokine, Sickness Behavior, and Depression** *Immunology and Allergy Clinics of North America*, 2009.

DAVALOS, D. et al. ATP mediates rapid microglial response to local brain injury in vivo. **Nature neuroscience**, v. 8, n. 6, p. 752–8, 2005.

DIOGENES, A et al. LPS sensitizes TRPV1 via activation of TLR4 in trigeminal sensory neurons. **Journal of dental research**, v. 90, n. 6, p. 759–64, 2011.

DIXON, D. P.; ACKERT, A. M.; ECKEL, L. A. Development of, and recovery from, activity-based anorexia in female rats. **Physiology and Behavior**, v. 80, n. 2–3, p. 273–279, 2003.

DRØYVOLD, W. B. et al. BMI change and leisure time physical activity (LTPA): an 11-y follow-up study in apparently healthy men aged 20–69 y with normal weight at baseline. **International journal of obesity and related metabolic disorders : journal of the International Association for the Study of Obesity**, v. 28, n. 3, p. 410–417, 2004.

DUMKE, C. L. et al. Genetic selection of mice for high voluntary wheel running: effect on skeletal muscle glucose uptake. **Journal of applied physiology (Bethesda, Md. : 1985)**, v. 91, n. 3, p. 1289–97, 2001.

DUNN, A. J. Endotoxin-induced activation of cerebral catecholamine and serotonin metabolism: comparison with interleukin-1. **Journal of Pharmacology And Experimental Therapeutics**, v. 261, n. 3, p. 964–969, 1992.

ECLARINAL, J. D. et al. Maternal exercise during pregnancy promotes physical activity in adult offspring. **FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology**, v. 30, n. 7, p. fj.201500018R-, 2016.

ENGESSER-CESAR, C. et al. Voluntary wheel running improves recovery from a moderate spinal cord injury. **Journal of neurotrauma**, v. 22, n. 1, p. 157–71, 2005.

ERICKSON, K. I.; HILLMAN, C. H.; KRAMER, A. F. Physical activity, brain, and cognition **Current Opinion in Behavioral Sciences**, 2015.

ESLER, M. et al. Overflow of catecholamine neurotransmitters to the circulation: source, fate, and functions. **Physiological Reviews**, v. 70, n. 4, p. 963–85, 1990.

EYRE, H.; BAUNE, B. T. Neuroimmunological effects of physical exercise in depression **Brain, Behavior, and Immunity**, 2012.

FEDIUC, S.; CAMPBELL, J. E.; RIDDELL, M. C. Effect of voluntary wheel running on circadian corticosterone release and on HPA axis responsiveness to restraint stress in Sprague-Dawley rats. **J Appl Physiol**, v. 100, p. 1867–1875, 2006.

FRIEDENREICH, C. M. Physical activity and cancer prevention: from observational to intervention research. **Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.**, v. 10, n. 4, p. 287–301, 2001.

FRISARD, M. I. et al. Low levels of lipopolysaccharide modulate mitochondrial oxygen consumption in skeletal muscle. **Metabolism: Clinical and Experimental**, v. 64, n. 3, p. 416–427, 2015.

FU, H. Q. et al. Prolonged neuroinflammation after lipopolysaccharide exposure in aged rats. **PLoS ONE**, v. 9, n. 8, 2014.

GALEA, I.; BECHMANN, I.; PERRY, V. H. What is immune privilege

(not)? **Trends Immunol.**, v. 28, n. 1, p. 12–18, 2007.

GARLAND, T. et al. Evolution of a small-muscle polymorphism in lines of house mice selected for high activity levels. **Evolution; international journal of organic evolution**, v. 56, n. 6, p. 1267–1275, 2002.

GARLAND, T. et al. The biological control of voluntary exercise, spontaneous physical activity and daily energy expenditure in relation to obesity: human and rodent perspectives. **The Journal of experimental biology**, v. 214, n. Pt 2, p. 206–229, 2011.

GARRETT, L. et al. Voluntary wheel running in mice increases the rate of neurogenesis without affecting anxiety-related behaviour in single tests. **BMC Neuroscience**, v. 13, n. 1, p. 61, 2012.

GIBBONS, T. E. et al. Voluntary wheel running, but not a diet containing (-)-epigallocatechin-3-gallate and β -alanine, improves learning, memory and hippocampal neurogenesis in aged mice. **Behavioural Brain Research**, v. 272, p. 131–140, 2014.

GODBOUT, J. P. et al. Exaggerated neuroinflammation and sickness behavior in aged mice after activation of the peripheral innate immune system. **Faseb Journal**, v. 19, n. 7, p. 1329–+, 2005.

GODBOUT, J. P. et al. Aging exacerbates depressive-like behavior in mice in response to activation of the peripheral innate immune system. **Neuropsychopharmacology**, v. 33, n. 10, p. 2341–2351, 2008.

GOES, A. T. R. et al. Neuroprotective effects of swimming training in a mouse model of Parkinson's disease induced by 6-hydroxydopamine. **Neuroscience**, v. 256, p. 61–71, 2014.

GOMES DA SILVA, S. et al. Exercise-induced hippocampal anti-inflammatory response in aged rats. **Journal of Neuroinflammation**, v. 10, n. 1, p. 827, 2013.

GRACE, S. L. et al. Physical activity behavior, motivational readiness and self-efficacy among ontarians with cardiovascular disease and diabetes. **Journal of Behavioral Medicine**, v. 30, n. 1, p. 21–29, 2007.

GREENWOOD, B. N. et al. Long-term voluntary wheel running is

rewarding and produces plasticity in the mesolimbic reward pathway. **Behavioural Brain Research**, v. 217, n. 2, p. 354–362, 2011.

HABU, S. et al. Different roles of brain interleukin 1 in the adrenocorticotropin response to central versus peripheral administration of lipopolysaccharide in the rat. **Cytokine**, v. 10, n. 5, p. 390–394, 1998.

HALLGREN, M. et al. Physical exercise and internet-based cognitive behavioural therapy in the treatment of depression: randomised controlled trial. **The British Journal of Psychiatry**, v. 207, n. 3, p. 227–234, 2015.

HANSEN, M. E. et al. Lipopolysaccharide Disrupts Mitochondrial Physiology in Skeletal Muscle via Disparate Effects on Sphingolipid Metabolism. **Shock (Augusta, Ga.)**, v. 44, n. 6, p. 585–92, 2015.

HARE, B. D. et al. Exercise-associated changes in the corticosterone response to acute restraint stress: evidence for increased adrenal sensitivity and reduced corticosterone response duration. **Neuropsychopharmacology : official publication of the American College of Neuropsychopharmacology**, v. 39, n. 5, p. 1262–9, 2014.

HARRIS, M. G. et al. Immune privilege of the CNS is not the consequence of limited antigen sampling. **Scientific reports**, v. 4, p. 4422, 2014.

HART, B. L. Biological basis of the behavior of sick animals. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, v. 12, n. 2, p. 123–137, 1988.

HAYLEY, S. et al. Central monoamine and plasma corticosterone changes induced by a bacterial endotoxin: Sensitization and cross-sensitization effects. **European Journal of Neuroscience**, v. 13, n. 6, p. 1155–1165, 2001.

HAYLEY, S.; WALL, P.; ANISMAN, H. Sensitization to the neuroendocrine, central monoamine and behavioural effects of murine tumor necrosis factor- α : peripheral and central mechanisms. **Eur J Neurosci**, v. 15, n. 6, p. 1061–1076, 2002.

HENEKA, M. T. et al. **Neuroinflammation in Alzheimer's disease** **The Lancet Neurology**, 2015.

HENRY, C. J. et al. Minocycline attenuates lipopolysaccharide (LPS)-induced neuroinflammation, sickness behavior, and anhedonia. **J Neuroinflammation**, v. 5, p. 15, 2008.

HENRY, C. J. et al. Peripheral lipopolysaccharide (LPS) challenge promotes microglial hyperactivity in aged mice that is associated with exaggerated induction of both pro-inflammatory IL-1 β and anti-inflammatory IL-10 cytokines. **Brain, Behavior, and Immunity**, v. 23, n. 3, p. 309–317, 2009.

HICKEY, M. A. et al. Extensive early motor and non-motor behavioral deficits are followed by striatal neuronal loss in knock-in Huntington's disease mice. **Neuroscience**, v. 157, n. 1, p. 280–295, 2008.

HINES, D. J. et al. Prevention of LPS-Induced Microglia Activation, Cytokine Production and Sickness Behavior with TLR4 Receptor Interfering Peptides. **PLoS ONE**, v. 8, n. 3, 2013.

HIRSCH, E. C.; HUNOT, S. **Neuroinflammation in Parkinson's disease: a target for neuroprotection?** **The Lancet Neurology**, 2009.

HOULE-LEROY, P. et al. Effects of voluntary activity and genetic selection on muscle metabolic capacities in house mice *Mus domesticus*. **Journal of applied physiology (Bethesda, Md. : 1985)**, v. 89, p. 1608–1616, 2000.

HSIEH, H. L.; YANG, C. M. **Role of redox signaling in neuroinflammation and neurodegenerative diseases** **BioMed Research International**, 2013.

HUNG, C.-H. et al. Exercise pretraining attenuates endotoxin-induced hemodynamic alteration in type I diabetic rats. **Applied physiology, nutrition, and metabolism = Physiologie appliquee, nutrition et metabolisme**, v. 33, n. 5, p. 976–983, 2008.

HYATT, H. W. et al. Comparative adaptations in oxidative and glycolytic muscle fibers in a low voluntary wheel running rat model performing three levels of physical activity. **Physiological Reports**, v. 3, n. 11, p. e12619, 2015.

IKEDA, S. et al. Muscle type-specific response of PGC-1 α and oxidative enzymes during voluntary wheel running in mouse skeletal

muscle. **Acta Physiologica**, v. 188, n. 3–4, p. 217–223, 2006.

IRAVANI, M. M. et al. Involvement of inducible nitric oxide synthase in inflammation-induced dopaminergic neurodegeneration. **Neuroscience**, v. 110, n. 1, p. 49–58, 2002.

JEONG, H.-K.; JOU, I.; JOE, E. Systemic LPS administration induces brain inflammation but not dopaminergic neuronal death in the substantia nigra. **Experimental and Molecular Medicine**, v. 42, n. 12, p. 823, 2010.

JOHNSON, R. W.; PROPES, M. J.; SHAVIT, Y. Corticosterone modulates behavioral and metabolic effects of lipopolysaccharide. **American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 270, p. R192–R198, 1996.

JORNA, M.; BALL, K.; SALMON, J. Effects of a holistic health program on women's physical activity and mental and spiritual health. **Journal of Science and Medicine in Sport**, v. 9, n. 5, p. 395–401, 2006.

KALEHUA, A. N. et al. Aged mice exhibit greater mortality concomitant to increased brain and plasma TNF-alpha levels following intracerebroventricular injection of lipopolysaccharide. **Gerontology**, v. 46, n. 3, p. 115–128, 2000.

KATZUNG, B. G.; MASTERS, S. B.; TREVOR, A. J. **Basic and Clinical Pharmacology**. [s.l.: s.n.].

KHOROOSHI, R.; OWENS, T. Injury-Induced Type I IFN Signaling Regulates Inflammatory Responses in the Central Nervous System. **J Immunol**, 2010.

KIM, I. D.; HA, B. J. Paeoniflorin protects RAW 264.7 macrophages from LPS-induced cytotoxicity and genotoxicity. **Toxicology in Vitro**, v. 23, n. 6, p. 1014–1019, 2009.

KIM, S. J. et al. Prevotella intermedia lipopolysaccharide stimulates release of nitric oxide by inducing expression of inducible nitric oxide synthase. **Journal of Periodontal Research**, v. 39, n. 6, p. 424–431, 2004.

KIM, W. G. et al. Regional difference in susceptibility to lipopolysaccharide-induced neurotoxicity in the rat brain: role of microglia. **J Neurosci**, v. 20, n. 16, p. 6309–6316, 2000.

KIUCHI, T.; LEE, H.; MIKAMI, T. Regular exercise cures depression-like behavior via VEGF-Flk-1 signaling in chronically stressed mice. **Neuroscience**, v. 207, p. 208–217, 2012.

KIVISÄKK, P. et al. Human cerebrospinal fluid central memory CD4+ T cells: evidence for trafficking through choroid plexus and meninges via P-selectin. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 100, n. 14, p. 8389–94, 2003.

KNOWLER, W. C. et al. Reduction in the incidence of type 2 diabetes with lifestyle intervention or metformin. **The New England journal of medicine**, v. 346, n. 6, p. 393–403, 2002.

KOGA, S. et al. Effects of diet-induced obesity and voluntary exercise in a tauopathy mouse model: Implications of persistent hyperleptinemia and enhanced astrocytic leptin receptor expression. **Neurobiology of Disease**, v. 71, p. 180–192, 2014.

KOHMAN, R. A. et al. Wheel running attenuates microglia proliferation and increases expression of a proneurogenic phenotype in the hippocampus of aged mice. **Brain, Behavior, and Immunity**, v. 26, n. 5, p. 803–810, 2012.

KOHMAN, R. A. et al. Exercise reduces activation of microglia isolated from hippocampus and brain of aged mice. **Journal of neuroinflammation**, v. 10, n. 1, p. 114, 2013.

KORCZYN, A. D. Is there a need to redefine Parkinson's disease? **Journal of the Neurological Sciences**, v. 310, n. 1–2, p. 2–3, 2011.

LACOSTA, S.; MERALI, Z.; ANISMAN, H. Influence of interleukin-1?? on exploratory behaviors, plasma ACTH, corticosterone, and central biogenic amines in mice. **Psychopharmacology**, v. 137, n. 4, p. 351–361, 1998.

LACOSTA, S.; MERALI, Z.; ANISMAN, H. Behavioral and neurochemical consequences of lipopolysaccharide in mice: Anxiogenic-like effects. **Brain Research**, v. 818, n. 2, p. 291–303,

1999.

LAFLAMME, N.; RIVEST, S. Toll-like receptor 4: the missing link of the cerebral innate immune response triggered by circulating gram-negative bacterial cell wall components. **Faseb J**, v. 15, n. 1, p. 155–163., 2001.

LAMMEL, S. et al. Unique Properties of Mesoprefrontal Neurons within a Dual Mesocorticolimbic Dopamine System. **Neuron**, v. 57, n. 5, p. 760–773, 2008.

LAVICKY, J.; DUNN, A. J. Endotoxin administration stimulates cerebral catecholamine release in freely moving rats as assessed by microdialysis. **Journal of Neuroscience Research**, v. 40, n. 3, p. 407–413, 1995.

LAZZARINI, M. et al. Doxycycline restrains glia and confers neuroprotection in a 6-OHDA Parkinson model. **GLIA**, v. 61, n. 7, p. 1084–1100, 2013.

LERMAN, I. et al. Genetic variability in forced and voluntary endurance exercise performance in seven inbred mouse strains. **Journal of applied physiology (Bethesda, Md. : 1985)**, v. 92, n. 6, p. 2245–55, 2002.

LINTHORST, A. C. E. et al. Effect of bacterial endotoxin and interleukin-1 beta on hippocampal serotonergic neurotransmission, behavioral activity, and free corticosterone levels: an in vivo microdialysis study. **The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience**, v. 15, n. 4, p. 2920–34, 1995.

LIPTON, R. B. et al. **Migraine prevalence, disease burden, and the need for preventive therapy** *Neurology*, 2007.

LIU, J. et al. Chronically and acutely exercised rats: biomarkers of oxidative stress and endogenous antioxidants. **Journal of applied physiology (Bethesda, Md. : 1985)**, v. 89, n. 1, p. 21–28, 2000.

LIU, M.; BING, G. Lipopolysaccharide Animal Models for Parkinson's Disease. **Parkinson's disease**, v. 2011, p. 1–7, 2011.

LO, D. et al. Integrating innate and adaptive immunity in the whole

animal. **Immunological Reviews**, v. 169, p. 225–239, 1999.

LOUVEAU, A. et al. Structural and functional features of central nervous system lymphatic vessels. **Nature**, v. 523, n. 7560, p. 337–41, 2015.

MA, X. C. et al. Cytokine and adrenal axis responses to endotoxin. **Brain Research**, v. 861, n. 1, p. 135–142, 2000.

MACHADO, V. et al. **Microglia-mediated neuroinflammation and neurotrophic factor-induced protection in the MPTP mouse model of parkinson's disease-lessons from transgenic mice** *International Journal of Molecular Sciences*, 2016.

MAES, M. et al. Increased plasma concentrations of interleukin-6, soluble interleukin-6, soluble interleukin-2 and transferrin receptor in major depression. **Journal of Affective Disorders**, v. 34, n. 4, p. 301–309, 1995.

MANDYBUR, T. I. Cerebral amyloid angiopathy and astrocytic gliosis in Alzheimer's disease. **Acta neuropathologica**, v. 78, n. 3, p. 329–31, 1989.

MANSON, J. E. et al. A prospective study of walking as compared with vigorous exercise in the prevention of coronary heart disease in women. **The New England journal of medicine**, v. 341, p. 650–658, 1999.

MARTIN, S. A et al. Voluntary wheel running does not affect lipopolysaccharide-induced depressive-like behavior in young adult and aged mice. **Neuroimmunomodulation**, v. 21, n. 1, p. 52–63, 2014.

MARTIN, S. A. et al. Effects of voluntary wheel running on LPS-induced sickness behavior in aged mice. **Brain, Behavior, and Immunity**, v. 29, p. 113–123, 2013.

MASANA, M. I.; HEYES, M. P.; MEFFORD, I. N. Indomethacin prevents increased catecholamine turnover in rat brain following systemic endotoxin challenge. **Progress in Neuropsychopharmacology and Biological Psychiatry**, v. 14, n. 4, p. 609–621, 1990.

MCCUSKER, R. H.; KELLEY, K. W. Immune-neural connections: how the immune system's response to infectious agents influences

behavior. **J Exp Biol**, v. 216, n. Pt 1, p. 84–98, 2013.

MCGIVNEY, A.; BRADLEY, S. G. Action of bacterial lipopolysaccharide on the respiration of mouse liver mitochondria. **Infection and Immunity**, v. 27, n. 1, p. 102–106, 1980.

MEDZHITOV, R. Origin and physiological roles of inflammation. **Nature**, v. 454, n. July, p. 428–435, 2008.

MEDZHITOV R; PRESTON-HURLBURT P; JANEWAY CA JR. A human homologue of the *Drosophila* Toll protein signals activation of adaptive immunity. **Nature**, v. 388, n. 6640, p. 394–397, 1997.

MEEUSEN, R.; DE MEIRLEIR, K. **Exercise and Brain Neurotransmission Sports Medicine**, 1995.

MENOTTI, A. et al. Cardiovascular and other causes of death as a function of lifestyle habits in a quasi extinct middle-aged male population. A 50-year follow-up study. **International Journal of Cardiology**, v. 210, p. 173–178, 2016.

MERALI, Z.; LACOSTA, S.; ANISMAN, H. Effects of interleukin-1beta and mild stress on alterations of norepinephrine, dopamine and serotonin neurotransmission: a regional microdialysis study. **Brain research**, v. 761, n. 2, p. 225–235, 1997.

MOHANKUMAR, S. M. J.; MOHANKUMAR, P. S.; QUADRI, S. K. Lipopolysaccharide-induced changes in monoamines in specific areas of the brain: Blockade by interleukin-1 receptor antagonist. **Brain Research**, v. 824, n. 2, p. 232–237, 1999.

MOHANKUMAR, S. M. J.; MOHANKUMAR, P. S.; QUADRI, S. K. Effects of bacterial lipopolysaccharide on central monoamines and fever in the rat: Involvement of the vagus. **Neuroscience Letters**, v. 284, n. 3, p. 159–162, 2000.

MOLINA-HOLGADO, F.; GUAZA, C. Endotoxin administration induced differential neurochemical activation of the rat brain stem nuclei. **Brain Research Bulletin**, v. 40, n. 3, p. 151–156, 1996.

MULDOON, L. L. et al. Immunologic privilege in the central nervous system and the blood-brain barrier. **Journal of cerebral blood flow and**

metabolism : official journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism, v. 33, n. 1, p. 13–21, 2013.

MUNHOZ, C. D. et al. Chronic unpredictable stress exacerbates lipopolysaccharide-induced activation of nuclear factor-kappaB in the frontal cortex and hippocampus via glucocorticoid secretion. **The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience**, v. 26, n. 14, p. 3813–20, 2006.

MURRAY, M. J.; MURRAY, A. B. Anorexia of infection as a mechanism of host defense. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 32, n. 3, p. 593–596, 1979.

MURRAY, P. S. et al. Locus coeruleus galanin expression is enhanced after exercise in rats selectively bred for high capacity for aerobic activity. **Peptides**, v. 31, n. 12, p. 2264–2268, 2010.

NADERI, R. et al. Voluntary Exercise Protects Heart from Oxidative Stress in Diabetic Rats. **Advanced pharmaceutical bulletin**, v. 5, n. 2, p. 231–6, 2015.

NAGATSU, T.; SAWADA, M. Inflammatory process in Parkinson's disease: role for cytokines. **Current pharmaceutical design**, v. 11, n. 8, p. 999–1016, 2005.

NAVARRO, A. et al. Beneficial effects of moderate exercise on mice aging: survival, behavior, oxidative stress, and mitochondrial electron transfer. **American journal of physiology. Regulatory, integrative and comparative physiology**, v. 286, n. 3, p. R505-11, 2004.

NICHOL, K. E. et al. Exercise alters the immune profile in Tg2576 Alzheimer mice toward a response coincident with improved cognitive performance and decreased amyloid. **Journal of neuroinflammation**, v. 5, p. 13, 2008.

NIMMERJAHN, A.; KIRCHHOFF, F.; HELMCHEN, F. Resting microglial cells are highly dynamic surveillants of brain parenchyma in vivo. **Neuroforum**, v. 11, n. 3, p. 95–96, 2005.

NORTON, S. et al. Potential for primary prevention of Alzheimer's disease: An analysis of population-based data. **The Lancet Neurology**, v. 13, n. 8, p. 788–794, 2014.

NOVAK, C. M.; BURGHARDT, P. R.; LEVINE, J. A. **The use of a running wheel to measure activity in rodents: Relationship to energy balance, general activity, and reward** *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 2012.

O'REILLY, B.; VANDER, A. J.; KLUGER, M. J. Effects of chronic infusion of lipopolysaccharide on food intake and body temperature of the rat. **Physiology and Behavior**, v. 42, n. 3, p. 287–291, 1988.

OADES, R. D.; HALLIDAY, G. M. **Ventral tegmental (A10) system: neurobiology. 1. Anatomy and connectivity** *Brain Research Reviews*, 1987.

OLSHANSKY, S. J. et al. A Potential Decline in Life Expectancy in the United States in the 21st Century. **The New England Journal of Medicine**, v. 352, p. 1138–1145, 2005.

PACE, T. W. W.; HU, F.; MILLER, A. H. **Cytokine-effects on glucocorticoid receptor function: Relevance to glucocorticoid resistance and the pathophysiology and treatment of major depression** *Brain, Behavior, and Immunity*, 2007.

PACHTER, J. S.; DE VRIES, H. E.; FABRY, Z. The blood-brain barrier and its role in immune privilege in the central nervous system. **Journal of neuropathology and experimental neurology**, v. 62, n. 6, p. 593–604, 2003.

PARACHIKOVA, A.; NICHOL, K. E.; COTMAN, C. W. Short-term exercise in aged Tg2576 mice alters neuroinflammation and improves cognition. **Neurobiology of Disease**, v. 30, n. 1, p. 121–129, 2008.

PARK, S.-E. et al. Central administration of insulin-like growth factor-I decreases depressive-like behavior and brain cytokine expression in mice. **Journal of neuroinflammation**, v. 8, n. 1, p. 12, 2011.

PEARSON, A. et al. Cerebrospinal fluid cortisol levels are higher in patients with delirium versus controls. **BMC Research Notes**, v. 3, n. 1, p. 33, 2010.

PERRY, V. H.; CUNNINGHAM, C.; HOLMES, C. Systemic infections and inflammation affect chronic neurodegeneration. **Nature reviews. Immunology**, v. 7, n. 2, p. 161–167, 2007.

PERRY, V. H.; HOLMES, C. Microglial priming in neurodegenerative disease. **Nature reviews. Neurology**, v. 10, n. 4, p. 217–24, 2014.

PETERSON, G. L. A Simplification of the Protein Assay Method of Lowry et al. Which is More Generally Applicable. **ANALYTICAL BIOCHEMISTRY**, v. 83, p. 346–356, 1977.

PHAM, T. M.; BRENÉ, S.; BAUMANS, V. Behavioral assessment of intermittent wheel running and individual housing in mice in the laboratory. **Journal of applied animal welfare science : JAAWS**, v. 8, n. 3, p. 157–173, 2005.

PIAO, C. S. et al. Late exercise reduces neuroinflammation and cognitive dysfunction after traumatic brain injury. **Neurobiology of Disease**, v. 54, p. 252–263, 2013.

PLATA-SALAMÁN, C. R. et al. Anorexia induced by chronic central administration of cytokines at estimated pathophysiological concentrations. **Physiology and Behavior**, v. 60, n. 3, p. 867–875, 1996.

POLTORAK, A. Defective LPS Signaling in C3H/HeJ and C57BL/10ScCr Mice: Mutations in Tlr4 Gene. **Science**, v. 282, n. 5396, p. 2085–2088, 1998.

PORSOLT, R. D. Animal models of depression: utility for transgenic research. **Reviews in the neurosciences**, v. 11, n. 1, p. 53–8, 2000.

PÜNTENER, U. et al. Long-term impact of systemic bacterial infection on the cerebral vasculature and microglia. **Journal of neuroinflammation**, v. 9, p. 146, 2012.

QURESHI, A. A. et al. Inhibition of nitric oxide and inflammatory cytokines in LPS-stimulated murine macrophages by resveratrol, a potent proteasome inhibitor. **Lipids in health and disease**, v. 11, p. 76, 2012.

RADAK, Z. et al. The effects of training and detraining on memory, neurotrophins and oxidative stress markers in rat brain. **Neurochemistry International**, v. 49, n. 4, p. 387–392, 2006.

RANSOHOFF, R. M.; KIVISÄKK, P.; KIDD, G. Three or more routes

for leukocyte migration into the central nervous system. **Nature reviews. Immunology**, v. 3, n. 7, p. 569–581, 2003.

RAO, J. S.; RAPOPORT, S. I.; KIM, H.-W. Altered neuroinflammatory, arachidonic acid cascade and synaptic markers in postmortem Alzheimer's disease brain. **Translational psychiatry**, v. 1, n. 8, p. e31, 2011.

REYNOLDS, A. D. et al. Nitrated alpha-synuclein-activated microglial profiling for Parkinson's disease. **Journal of Neurochemistry**, v. 104, n. 6, p. 1504–1525, 2008.

RHODES, J. S. et al. Differential sensitivity to acute administration of cocaine, GBR 12909, and fluoxetine in mice selectively bred for hyperactive wheel-running behavior. **Psychopharmacology**, v. 158, n. 2, p. 120–131, 2001.

RHODES, J. S.; GARLAND, T. Differential sensitivity to acute administration of Ritalin, apomorphine, SCH 23390, but not raclopride in mice selectively bred for hyperactive wheel-running behavior. **Psychopharmacology**, v. 167, n. 3, p. 242–50, 2003.

RHODES, J. S.; GARLAND, T.; GAMMIE, S. C. Patterns of brain activity associated with variation in voluntary wheel-running behavior. **Behavioral neuroscience**, v. 117, n. 6, p. 1243–1256, 2003.

ROCKL, K. et al. Skeletal muscle adaptation to exercise training: AMP-Activated protein kinase mediates muscle fiber type shift. **Diabetes**, v. 56, n. August, p. 2062–2069, 2007.

ROWSEY, P. J. et al. Effects of chronic exercise conditioning on thermal responses to lipopolysaccharide and turpentine abscess in female rats. **Archives of Toxicology**, v. 80, n. 2, p. 81–87, 2006.

SADEGHI, M.; PEERI, M.; HOSSEINI, M. J. Adolescent voluntary exercise attenuated hippocampal innate immunity responses and depressive-like behaviors following maternal separation stress in male rats. **Physiology and Behavior**, v. 163, p. 177–183, 2016.

SAPER, C. B.; ROMANOVSKY, A. A.; SCAMMELL, T. E. Neural circuitry engaged by prostaglandins during the sickness syndrome. **Nature Neuroscience**, v. 15, n. 8, p. 1088–1095, 2012.

- SAVAGE, C. D. et al. NLRP3-inflammasome activating DAMPs stimulate an inflammatory response in glia in the absence of priming which contributes to brain inflammation after injury. **Frontiers in Immunology**, v. 3, n. SEP, 2012.
- SCARMEAS, N. et al. Physical activity and Alzheimer disease course. **The American journal of geriatric psychiatry : official journal of the American Association for Geriatric Psychiatry**, v. 19, n. 5, p. 471–81, 2011.
- SCHLATTER, J.; ORTUÑO, F.; CERVERA-ENGUIG, S. Differences in interleukins' patterns between dysthymia and major depression. **European Psychiatry**, v. 16, n. 5, p. 317–319, 2001.
- SCHULTZ, W.; DAYAN, P.; MONTAGUE, P. R. A neural substrate of prediction and reward. **Science**, v. 275, n. June 1994, p. 1593–1599, 1997.
- SERRANO-POZO, A. et al. Reactive glia not only associates with plaques but also parallels tangles in Alzheimer's disease. **American Journal of Pathology**, v. 179, n. 3, p. 1373–1384, 2011.
- SESACK, S. R.; GRACE, A. A. Cortico-Basal Ganglia reward network: microcircuitry. **Neuropsychopharmacology : official publication of the American College of Neuropsychopharmacology**, v. 35, n. 1, p. 27–47, 2010.
- SHAKHOV, A. N. et al. Kappa B-type enhancers are involved in lipopolysaccharide-mediated transcriptional activation of the tumor necrosis factor alpha gene in primary macrophages. **The Journal of experimental medicine**, v. 171, n. 1, p. 35–47, 1990.
- SHEN, Y. et al. Differential effect of chronic antidepressant treatments on lipopolysaccharide-induced depressive-like behavioural symptoms in the rat. **Life Sciences**, v. 65, n. 17, p. 1773–1786, 1999.
- SHERWIN, C. Voluntary wheel running: a review and novel interpretation. **Animal behaviour**, v. 56, n. 1, p. 11–27, 1998.
- SHINTANI, F. et al. Interleukin-1 beta augments release of norepinephrine, dopamine, and serotonin in the rat anterior hypothalamus. **The Journal of neuroscience : the official journal of**

the Society for Neuroscience, v. 13, n. 8, p. 3574–81, 1993.

SHINTANI, F. et al. Involvement of interleukin-1 in immobilization stress-induced increase in plasma adrenocorticotrophic hormone and in release of hypothalamic monoamines in the rat. **The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience**, v. 15, n. 3 Pt 1, p. 1961–1970, 1995.

SIGWALT, A. R. et al. Molecular aspects involved in swimming exercise training reducing anhedonia in a rat model of depression. **Neuroscience**, v. 192, p. 661–674, 2011.

SILVA, V. C.; GIUSTI-PAIVA, A. Sickness behavior is delayed in hypothyroid mice. **Brain, Behavior, and Immunity**, v. 45, p. 109–117, 2015.

SIMPSON, R. J. et al. **Exercise and the aging immune system** *Ageing Research Reviews*, 2012.

SINGAL, A. et al. Green tea (*Camellia sinensis*) extract ameliorates endotoxin induced sickness behavior and liver damage in rats. **Phytotherapy Research**, v. 20, n. 2, p. 125–129, 2006.

SOKOLOVA, A. et al. Monocyte chemoattractant protein-1 plays a dominant role in the chronic inflammation observed in Alzheimer's disease. **Brain pathology (Zurich, Switzerland)**, v. 19, n. 3, p. 392–8, 2009.

SOTO, I. et al. APOE Stabilization by Exercise Prevents Aging Neurovascular Dysfunction and Complement Induction. **PLoS Biology**, v. 13, n. 10, p. 1–33, 2015.

SPARKMAN, N. L.; JOHNSON, R. W. **Neuroinflammation associated with aging sensitizes the brain to the effects of infection or stress** *NeuroImmunoModulation*, 2008.

SPEAKER, K. J. et al. Six weeks of voluntary wheel running modulates inflammatory protein (MCP-1, IL-6, and IL-10) and DAMP (Hsp72) responses to acute stress in white adipose tissue of lean rats. **Brain, Behavior, and Immunity**, v. 39, p. 87–98, 2014.

SPEISMAN, R. B. et al. **Daily exercise improves memory, stimulates**

hippocampal neurogenesis and modulates immune and neuroimmune cytokines in aging rats*Brain, Behavior, and Immunity*, 2013.

STARKIE, R. et al. Exercise and IL-6 infusion inhibit endotoxin-induced TNF-alpha production in humans. **The FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology**, v. 17, n. 8, p. 884–886, 2003.

STERU, L. et al. The tail suspension test: A new method for screening antidepressants in mice. **Psychopharmacology**, v. 85, n. 3, p. 367–370, 1985.

STRANAHAN, A. et al. Voluntary exercise and caloric restriction enhance hippocampal dendritic spine density and BDNF levels in diabetic mice. **Hippocampus**, v. 19, n. 10, p. 951–961, 2009.

STRANAHAN, A. M.; KHALIL, D.; GOULD, E. Social isolation delays the positive effects of running on adult neurogenesis. **Nature neuroscience**, v. 9, n. 4, p. 526–33, 2006.

STUICHLIK, A. et al. Manipulation of D2 receptors with quinpirole and sulpiride affects locomotor activity before spatial behavior of rats in an active place avoidance task. **Neuroscience Research**, v. 58, n. 2, p. 133–139, 2007.

SU, G. L. et al. Kupffer cell activation by lipopolysaccharide in rats: role for lipopolysaccharide binding protein and toll-like receptor 4. **Hepatology**, v. 31, n. 4, p. 932–936, 2000.

SUTOO, D.; AKIYAMA, K. The mechanism by which exercise modifies brain function. **Physiology and Behavior**, v. 60, n. 1, p. 177–181, 1996.

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

SWALLOW, J. et al. Food consumption and body composition in mice

selected for high wheel-running activity. **Journal of Comparative Physiology - B Biochemical, Systemic, and Environmental Physiology**, v. 171, n. 8, p. 651–659, 2001.

SWALLOW, J. G.; CARTER, P. A.; GARLAND, T. Artificial selection for increased wheel-running behavior in house mice. **Behavior Genetics**, v. 28, n. 3, p. 227–237, 1998.

SWIERGIEL, A. H.; DUNN, A. J. Effects of interleukin-1beta and lipopolysaccharide on behavior of mice in the elevated plus-maze and open field tests. **Pharmacology, biochemistry, and behavior**, v. 86, n. 4, p. 651–9, 2007.

TAKAHASHI, K.; ROCHFORD, C. D. P.; NEUMANN, H. Clearance of apoptotic neurons without inflammation by microglial triggering receptor expressed on myeloid cells-2. **The Journal of Experimental Medicine**, v. 201, n. 4, p. 647–657, 2005.

TANAKA, Y. et al. Exhaustive exercise reduces tumor necrosis factor-alpha production in response to lipopolysaccharide in mice. **Neuroimmunomodulation**, v. 17, n. 4, p. 279–86, 2010.

THOMPSON, A. B. et al. Methamphetamine blocks exercise effects on Bdnf and Drd2 gene expression in frontal cortex and striatum. **Neuropharmacology**, v. 99, p. 658–664, 2015.

TREJO, J. L. et al. Sedentary life impairs self-reparative processes in the brain: the role of serum insulin-like growth factor-I. **Reviews in the neurosciences**, v. 13, p. 365–374, 2002.

TUGLU, C. et al. Increased serum tumor necrosis factor-alpha levels and treatment response in major depressive disorder. **Psychopharmacology (Berl)**, v. 170, n. 4, p. 429–433, 2003.

TUON, T. et al. Physical training regulates mitochondrial parameters and neuroinflammatory mechanisms in an experimental model of Parkinson's disease. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2015, 2015.

TURNER, J. E. **Is immunosenescence influenced by our lifetime “dose” of exercise?** **Biogerontology**, 2016.

VAN DEURSEN, J. M. The role of senescent cells in ageing. **Nature**, v. 509, n. 7501, p. 439–46, 2014.

VAN HEESCH, F. et al. Lipopolysaccharide increases degradation of central monoamines: An in vivo microdialysis study in the nucleus accumbens and medial prefrontal cortex of mice. **European Journal of Pharmacology**, v. 725, n. 1, p. 55–63, 2014.

VAN PRAAG, H. et al. Running enhances neurogenesis, learning, and long-term potentiation in mice. **Proc Natl Acad Sci USA**, v. 96, n. 23, p. 13427–13431, 1999.

VAN RIEZEN, H.; LEONARD, B. E. **Effects of psychotropic drugs on the behavior and neurochemistry of olfactory bulbectomized rats** *Pharmacology and Therapeutics*, 1990.

VILLAR-CHEDA, B. et al. Aging and sedentarism decrease vascularization and VEGF levels in the rat substantia nigra. Implications for Parkinson's disease. **Journal of cerebral blood flow and metabolism : official journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism**, v. 29, n. 2, p. 230–234, 2009.

VOLLMER-CONNA, U. et al. Production of pro-inflammatory cytokines correlates with the symptoms of acute sickness behaviour in humans. **Psychological medicine**, v. 34, n. 7, p. 1289–1297, 2004.

WAKSELMAN, S. et al. Developmental neuronal death in hippocampus requires the microglial CD11b integrin and DAP12 immunoreceptor. **J Neurosci**, v. 28, n. 32, p. 8138–8143, 2008.

WATERS, R. P. et al. Selection for increased voluntary wheel-running affects behavior and brain monoamines in mice. **Brain Research**, v. 1508, p. 9–22, 2013.

WU, C. W. et al. Treadmill exercise counteracts the suppressive effects of peripheral lipopolysaccharide on hippocampal neurogenesis and learning and memory. **Journal of Neurochemistry**, v. 103, n. 6, p. 2471–2481, 2007.

WU, S. Y. et al. Running exercise protects the substantia nigra dopaminergic neurons against inflammation-induced degeneration via the activation of BDNF signaling pathway. **Brain, Behavior, and**

Immunity, v. 25, n. 1, p. 135–146, 2011.

WU, Y.-Y. et al. Alterations of the Neuroinflammatory Markers IL-6 and TRAIL in Alzheimer's Disease. **Dementia and Geriatric Cognitive Disorders Extra**, v. 5, p. 424–434, 2015.

YALCIN, I. et al. Effects of 5,7-dihydroxytryptamine lesion of the dorsal raphe nucleus on the antidepressant-like action of tramadol in the unpredictable chronic mild stress in mice. **Psychopharmacology**, v. 200, n. 4, p. 497–507, 2008.

YANG, R. B. et al. Toll-like receptor-2 mediates lipopolysaccharide-induced cellular signalling. **Nature**, v. 395, n. 6699, p. 284–288, 1998.

YU, J.-L. et al. [Voluntary wheel running enhances cell proliferation and expression levels of BDNF, IGF1 and WNT4 in dentate gyrus of adult mice]. **Sheng li xue bao : [Acta physiologica Sinica]**, v. 66, n. 5, p. 559–68, 2014.

ZAGER, A. et al. Modulation of sickness behavior by sleep: The role of neurochemical and neuroinflammatory pathways in mice. **European Neuropsychopharmacology**, v. 19, n. 8, p. 589–602, 2009.

ZHAO, Z. et al. Voluntary exercise preconditioning activates multiple anti-apoptotic mechanisms and improves neurological recovery after experimental traumatic brain injury. **Journal of Neurotrauma**, p. 1–48, 2014.

ZIELINSKI, M. R. et al. Vagotomy Attenuates Brain Cytokines and Sleep Induced by Peripherally Administered Tumor Necrosis Factor-alpha and Lipopolysaccharide in Mice. **Sleep**, v. 36, n. 8, p. 1227–1238, 2013.

ZIPP, F.; AKTAS, O. **The brain as a target of inflammation: common pathways link inflammatory and neurodegenerative diseases** *Trends in Neurosciences*, 2006.

ZUCKERMAN, S. H.; SHELLHAAS, J.; BUTLER, L. D. Differential regulation of lipopolysaccharide-induced interleukin 1 and tumor necrosis factor synthesis: Effects of endogenous and exogenous glucocorticoids and the role of the pituitary-adrenal axis. **European Journal of Immunology**, v. 19, n. 2, p. 301–305, 1989.