

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE DESPORTOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM EDUCAÇÃO FÍSICA**

ANDRÉ ROBERTO SIGWALT

**INFLUÊNCIA DO EXERCÍCIO FÍSICO SOBRE PARÂMETROS
COMPORTAMENTAIS, BIOQUÍMICOS E HISTOLÓGICOS EM
MODELO DE DEPRESSÃO EM ROEDORES**

Dissertação de Mestrado

**FLORIANÓPOLIS, SC
2011**

ANDRÉ ROBERTO SIGWALT

**INFLUÊNCIA DO EXERCÍCIO FÍSICO SOBRE PARÂMETROS
COMPORTAMENTAIS, BIOQUÍMICOS E HISTOLÓGICOS EM
MODELO DE DEPRESSÃO EM ROEDORES**

Dissertação de Mestrado apresentado ao Programa de Pós Graduação em Educação Física da Universidade Federal de Santa Catarina, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Educação Física.

Orientadora: Prof. Dr^a. Alexandra Susana Latini
Co-orientador: Prof. Dr. Luiz Guilherme Antonacci Guglielmo

FLORIANÓPOLIS, FEVEREIRO, 2011.

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE DESPORTOS**

A dissertação: INFLUÊNCIA DO EXERCÍCIO FÍSICO SOBRE PARÂMETROS COMPORTAMENTAIS, BIOQUÍMICOS E HISTOLÓGICOS EM MODELO DE DEPRESSÃO EM ROEDORES.

Elaborada por: André Roberto Sigwalt

foi aprovada por todos os membros da banca examinadora e aceita junto ao programa de pós-graduação em educação física da universidade federal de santa catarina, como requisito final para a obtenção do título de **Mestre em Educação Física**.

Florianópolis, 23 de fevereiro de 2011.

Prof. Dr. Luiz Guilherme Antonacci Guglielmo Coordenador do
Programa de Pós-Graduação em Educação FÍSICA

Banca examinadora:

Profª. Dra. Alexandra Susana Latini - UFSC (orientadora)

Prof. Dr. Rui Daniel Schröder Prediger - UFSC

Prof. Dr. Guilhian Leipnitz – UFRGS

*“Muitos são os obstinados que se empenham
no caminho que escolheram, poucos os que
se empenham no objetivo”.*

Friedrich Nietzsche

*Aos meus pais, Maximiliano e Dione, e
minha esposa Fabia, pelo amor e dedicação
de sempre. Sem vocês, não há sentido.
À minha vovó Valentina, minha colega de
profissão e minha grande inspiração de vida.*

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus pela minha vida, saúde e família.

Agradeço em especial minha família! Meus pais, Maximiliano e Dione, pelo amor, carinho, compreensão, encorajamento, pelas oportunidades de aprendizado, mas principalmente pela educação ímpar e pelos sorrisos orgulhosos. Aos meus irmãos Cláudia e Carlos, pela paciência e compreensão.

Agradecimento especial também à minha nova família, minha esposa Fabia. Com certeza a pessoa mais importante nesses anos que se passaram...e nos anos que virão!

À minha orientadora Alexandra Latini pela oportunidade de muitos aprendizados, científicos e de vida, pelo conhecimento, dedicação, esforço e principalmente paciência e ‘memória’ nesse processo de orientação.

Ao meu co-orientador Luiz Guilherme, pelas oportunidades, pelos conselhos, pelo exemplo profissional e de vida, e também pela amizade mantida em curtas mas importantes conversas.

À minha “sogra adotada” Rosane, serei sempre grato pelo exemplo de vida e profissional, além das ‘tiradas’ curtas e sinceras, mas sempre oportunas e educadoras.

A todos os professores, servidores e técnicos da UFSC que fizeram parte desse processo.

Aos colegas de mestrado, colegas do LAEF, da fisiologia, bioquímica e farmacologia, seja pelo futebol ou pelos auxílios nos experimentos.

Aos colegas do LABOX pela importante participação no meu mestrado, desde o fundamental auxílio nos experimentos às boas risadas, fazendo do lab um ótimo local de trabalho.

Ao Programa de Pós-Graduação em Educação Física pelas oportunidades e apoio sempre que requerido.

À CAPES pelo importante apoio financeiro.

RESUMO

Indivíduos que sofrem de depressão frequentemente apresentam uma hiperatividade no eixo hipotálamo-pituitária-adrenal resultando em concentrações elevadas de cortisol sanguíneo. Um dos principais sintomas dessa condição é a anedonia. Há evidências que o treinamento físico pode ser utilizado como tratamento para distúrbios depressivos. Nesse contexto, o objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito de um protocolo de treinamento aeróbio no comportamento depressivo, anedonia, induzida pela administração repetida de dexametasona. O estudo foi realizado com ratos adultos Wistar machos divididos em quatro grupos: controle (C), exercício (E), dexametasona (D) e dexametasona + exercício (DE). O treinamento físico consistiu de nado (1 h/dia, 5 dias/semana) por três semanas, com sobrecarga correspondente a 5% da massa corporal (esta intensidade é correspondente a 70% da máxima fase estável de lactato, portanto, exercício físico aeróbio). Os animais receberam injeções diárias e subcutâneas de dexametasona (D/DE; 1,5mg / Kg) ou salina (C/E). Foi realizado em paralelo, como controle, um experimento com antidepressivo clássico, fluoxetina, no qual os animais foram divididos em 2 grupos, fluoxetina (F) (10mg / Kg via gavagem) e dexametasona + fluoxetina (DF) (10mg / Kg de fluoxetina via gavagem e 1,5mg / Kg de dexametasona via administração subcutânea). Os animais tratados com dexametasona caracterizaram-se pela redução na massa corporal, nas concentrações de corticosterona no sangue, na síntese de colesterol e na massa das glândulas adrenais, bem como, demonstraram anedonia, medida comportamental avaliada através do teste de preferência pela sacarose. Adicionalmente, foi observado no hipocampo destes animais oxidação do DNA, aumento no conteúdo e na expressão de BDNF, acompanhado este por um aumento no mRNA da citocina IL-10. O protocolo de treinamento previniu estas alterações de forma similar ao antidepressivo fluoxetina, provavelmente por um mecanismo que envolve o aumento nas concentrações de testosterona. Estes dados apontam que o treinamento físico pode ser uma importante ferramenta para a prevenção e tratamento de distúrbios depressivos.

Palavras-chave: Treinamento físico; teste de preferência a sacarose; dexametasona; BDNF; testosterona; IL-10 elevada.

ABSTRACT

Patients suffering from depression frequently display hyperactivity of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis resulting in elevated cortisol levels. One main symptom of this condition is anhedonia. There is evidence that exercise training can be used as a rehabilitative intervention in the treatment of depressive disorders. In this scenario, the aim of the present study was to assess the effect of an aerobic exercise training protocol on the depressive-like behaviour, anhedonia, induced by repeated dexamethasone administration. The study was carried out on adult male Wistar rats randomly divided into four groups: The "control group" (C), "exercise group" (E), "dexamethasone group" (D) and the "dexamethasone plus exercise group" (DE). The exercise training consisted of swimming (1 h/day, 5 days/week) for three weeks, with an overload of 5 % of the rat body weight (this intensity correspond to 70% of the maximal lactate steady state, therefore, aerobic physical exercise). Every day rats were injected with either dexamethasone (D/DE) or saline solution (C/E). Proper positive controls, using the classic antidepressive drug, fluoxetine, were run in parallel, in which male Wistar rats were divided into two groups: fluoxetine (F) (10mg / Kg by gavage) and dexamethasone + fluoxetine (DF) (10mg / Kg fluoxetine by gavage and 1.5mg / Kg subcutaneous dexamethasone). Decreased blood corticosterone levels, reduced adrenal cholesterol synthesis and adrenal weight, reduced preference for sucrose consumption, marked hippocampal DNA oxidation, increased IL-10 and total brain-derived neurotrophic factor (BDNF; pro- plus mature forms) and a severe loss of body mass characterized the dexamethasone treated-animals. Besides increasing testosterone blood concentrations, the swim training protected depressive rats from the anhedonic state, following the same profile as fluoxetine, and also from the dexamethasone-induced impaired neurochemistry. The data indicate that physical exercise could be a useful tool in preventing and treating depressive disorders.

Keywords: Exercise training; sucrose preference test; dexamethasone; total BDNF; testosterone; increased IL-10.

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ACTH - hormônio adrenocorticotrófico

BDNF - fator neurotrófico derivado do encéfalo

CREB - elemento de ligação a proteínas de resposta à molécula adenosina monofosfato cíclico.

CRF - fator de liberação corticotrófica OMS - Organização Mundial da Saúde

DALY - anos de vida ajustados pela incapacidade (*disability-adjusted life year*)

FC - frequência cardíaca

HPA - eixo hipotálamo-pituitária-adrenal

IGF-1 - fator de crescimento similar à insulina

MLSS - máxima fase estável de lactato (*maximal lactate steady state*)

SPT - teste de preferência à sacarose (*sucrose preference test*)

VEGF - fator de crescimento do endotélio vascular

VO₂máx - consumo máximo de oxigênio

8OHdG - 8-hidroxi-2'-deoxiguanosina

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	1
1.1	FORMULAÇÃO DO PROBLEMA DE PESQUISA.....	1
1.1	SITUAÇÃO PROBLEMA	5
1.2	OBJETIVO GERAL.....	5
1.3	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	5
1.4	HIPÓTESE	6
1.5	JUSTIFICATIVA E RESULTADOS ESPERADOS	6
1.6	CLASSIFICAÇÃO DAS VARIÁVEIS	7
2	REFERENCIAL TEÓRICO	7
2.1	DADOS EPIDEMIOLÓGICOS DA DEPRESSÃO.....	7
2.2	SINTOMAS E DIAGNÓSTICO CLÍNICO DA DEPRESSÃO	9
2.3	DEPRESSÃO – POSSÍVEIS CAUSAS E ALTERAÇÕES NO SISTEMA NERVOOSO CENTRAL	11
2.4	ATIVIDADE FÍSICA E DEPRESSÃO	12
2.5	A HIPÓTESE DAS MONOAMINAS NA DEPRESSÃO	13
2.6	TEORIA NEUTRÓFICA DA DEPRESSÃO	16
2.7	O EXERCÍCIO E FATORES NEUROTRÓFICOS	18
2.8	O PAPEL DO EIXO HIPOTÁLAMO-PITUITÁRIA-ADRENAL NA DEPRESSÃO.....	19
2.9	MODULAÇÃO DO EIXO HPA PELO EXERCÍCIO.....	21
2.10	A RELAÇÃO ENTRE DESORDENS DEPRESSIVAS, CITOCINAS E EXERCÍCIO.....	22
2.11	TESTOSTERONA E NEUROPROTEÇÃO.....	23
2.12	TREINAMENTO FÍSICO – PRESCRIÇÃO E MODELOS DE EXERCÍCIO	
	25	
3	MÉTODOS	26
3.1	CARACTERIZAÇÃO DA PESQUISA.....	26
3.2	ANIMAIS.....	27
3.3	ADMINISTRAÇÃO DOS FÁRMACOS	29
3.4	PROTOCOLO DE TREINAMENTO.....	29
3.4.1	<i>Adaptação ao meio líquido</i>	<i>29</i>
3.4.2	<i>Identificação da máxima fase estável de lactato (MLSS)</i>	<i>30</i>
3.4.3	<i>Protocolo de exercício crônico – Treinamento de nado</i>	<i>30</i>
3.4.4	<i>Protocolo de exercício agudo</i>	<i>31</i>
3.5	AMOSTRAS E COLETAS DE DADOS.....	31

3.5.1	<i>Amostras</i>	31
3.5.2	<i>Parâmetro comportamental</i>	32
3.5.3	<i>Medida do conteúdo de mRNA de BDNF e IL-10</i>	32
3.5.4	<i>Parâmetros histológicos</i>	33
3.6	TRATAMENTO ESTATÍSTICO	34
4	RESULTADOS	35
4.1	EFEITOS DA ADMINISTRAÇÃO REPETIDA DE DEXAMETASONA NA MASSA CORPORAL E NAS CONCENTRAÇÕES SANGUÍNEAS DE CORTICOSTERONA	35
4.2	EFEITOS DO PROTOCOLO DE TREINAMENTO DE NADO NAS CONCENTRAÇÕES SANGUÍNEAS DE TESTOSTERONA NOS ANIMAIS TRATADOS COM DEXAMETASONA	37
4.3	EFEITO DA ADMINISTRAÇÃO AGUDA DE DEXAMETASONA NA MASSA CORPORAL E NAS RESPOSTAS DO LACTATO E GLUCOSE APÓS PROTOCOLOS AGUDOS DE EXERCÍCIO FÍSICO	38
4.4	EFEITOS DAS ADMINISTRAÇÕES CRÔNICA E AGUDA DE DEXAMETASONA NO COMPORTAMENTO DEPRESSIVO, ANEDONIA	41
4.5	EFEITOS DA ADMINISTRAÇÃO DE DEXAMETASONA NAS CONCENTRAÇÕES HIPOCAMPAIS DE BDNF (FORMAS PRÓ- E MADURA) E IL-10	43
4.6	EFEITO DA ADMINISTRAÇÃO REPETIDA DE DEXAMETASONA NA OXIDAÇÃO AO DNA.....	45
5	DISCUSSÃO	47
6	CONCLUSÕES	51
7	PERSPECTIVAS	52
8	REFERÊNCIAS	53

1 INTRODUÇÃO

1.1 FORMULAÇÃO DO PROBLEMA DE PESQUISA

Ao longo dos últimos séculos, a população mundial tem se tornado menos ativa fisicamente como resultado das mudanças na natureza do trabalho e da maior substituição da força humana pelas máquinas. Essas mudanças têm levado a um marcante aumento na incidência de diversas doenças crônicas desenvolvidas pela insuficiente atividade física dentre outros fatores.

Está bem estabelecido que quantidades inadequadas de atividade física favorecem o desenvolvimento de obesidade, doenças cardiovasculares, diabetes do tipo II, entre outras condições crônicas (Paffenbarger, Hyde *et al.*, 1993). Em adição, a falta de exercício físico também tem sido relacionada com disfunções no sistema autoimune, doenças pulmonares e desordens musculoesqueléticas, assim como alguns tipos de câncer e alterações neurológicas, como ansiedade e depressão (Blumenthal, Williams *et al.*, 1982). Um estilo de vida sedentário é, portanto, um dos principais riscos para o desenvolvimento de patologias crônicas (Handschin e Spiegelman, 2008). Neste cenário, grande importância vem sendo dada à prática de atividade física em nossa sociedade, principalmente para o desenvolvimento dos componentes da aptidão física voltados à saúde, incluindo aptidão cardiorrespiratória, força, *endurance* muscular, flexibilidade e composição corporal. Outras vantagens propiciadas pelo exercício físico regular, são a melhora na estabilidade articular, aumento da massa óssea, aumento das concentrações plasmáticas de colesterol HDL, diminuição da frequência cardíaca de repouso, diminuição do risco de arteriosclerose, acidente vascular cerebral, diminuição do estresse psicológico, entre outros (Pate, Pratt *et al.*, 1995). Em adição, há ainda referências sobre o aumento da habilidade de neurotransmissão, sobre o aumento da resistência psicofísica, provocando melhoras na *performance* em atividades físicas e trabalhos mentais, melhoria da sensação de bem-estar, redução da fadiga e da ansiedade, e aumento da auto-estima (Glenister, 1996).

Numerosos reportes da literatura procuram compreender os efeitos do exercício aeróbio sobre a área emocional. Annezi e colaboradores sugerem que o mesmo pode ser um meio alternativo para descarregar ou liberar tensões, emoções e frustrações, acumuladas pelas pressões e exigências da vida moderna (Annesi, 2000). Uma pesquisa

realizada por Lobstein e colaboradores (Lobstein, Mosbacher *et al.*, 1983) demonstra que a depressão foi a variável psicológica mais importante para distinguir grupos de pessoas de meia idade sedentárias de grupos de pessoas que praticavam atividade física. Francis e Carter (1982), também demonstraram maiores níveis de ansiedade, hostilidade e depressão em homens sedentários quando comparados com homens que se exercitavam com regularidade.

A depressão é uma doença crônica, recorrente, mas potencialmente tratável (Berton e Nestler, 2006). A doença é caracterizada por diversos sintomas como humor depressivo, anedonia (perda de interesse ou prazer), fadiga e irritabilidade aumentadas, dificuldades de concentração, desequilíbrio no apetite e sono, e intenções de suicídio (Nestler, Barrot *et al.*, 2002). Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), cerca de 20% da população mundial é afetada pela depressão, o que corresponde a 350 milhões de pessoas (WHO, 2008). Nesse contexto, problemas de saúde como a depressão causam um impacto (“burden”, do inglês, carga), na vida das pessoas e da sociedade que pode ser medido através de custos financeiros, mortalidade, morbidade e outros indicadores. De acordo com o *Global Burden of Disease Study* (WHO, 2008), a depressão se encontra na lista de fatores (terceira posição) responsáveis por morbidade e mortalidade precoce. Além disso, estima-se que em 2020 a depressão fique em segundo lugar na lista das principais doenças crônicas responsáveis por morbidade e mortalidade, ficando atrás apenas das doenças cardiovasculares (Greden, 2001; Greenberg, Kessler *et al.*, 2003; WHO, 2008). O peso econômico dessa doença também é alto, sendo que somente nos Estados Unidos da América são gastos cerca de US\$83 bilhões por ano (Greenberg, Kessler *et al.*, 2003).

Embora tenha sido demonstrada uma relação positiva entre exercício e depressão, os mecanismos responsáveis pelos efeitos benéficos deste ainda permanecem incertos. Além disso, a etio/fisiopatologia da depressão também ainda não se encontra totalmente compreendida.

A depressão pode resultar da disfunção de vários sistemas de neurotransmissão e/ou metabólicos. A hipótese monoaminérgica postula que a depressão resulta de uma deficiência nas concentrações dos neurotransmissores serotonina ou noradrenalina, ou ainda de receptores deficientes para estes neurotransmissores (sinalização inadequada) (Schildkraut, 1965; Mann, Mcbride *et al.*, 1995). No entanto, esta hipótese falha ao não explicar a falta de correlação temporal entre os eventos bioquímicos rápidos que aumentam as monoaminas na fenda

sináptica e o início tardio dos efeitos clínicos do tratamento com antidepressivos. Além disso, nem toda droga que aumenta as monoaminas na fenda sináptica atua como antidepressivo (como por exemplo, a anfetamina) (Baldessarini e Tarazi, 1996; Stahl, 2000).

Desta forma, acredita-se que vários outros sistemas estejam envolvidos na fisiopatologia da depressão. Neste sentido, o estresse parece ser um dos principais fatores ambientais que predisõem um indivíduo à depressão. Em cerca de 60% dos casos, os episódios depressivos são precedidos pela ocorrência de fatores estressantes, principalmente de origem psicossocial (Post, 1992). Isto foi mais claramente demonstrado após verificar que o aumento da atividade do eixo hipotálamo-pituitária-adrenal (HPA), sensível ao estresse, faz com que se manifestem sintomas depressivos. Além disso, em pacientes deprimidos, o controle inibitório da atividade do eixo HPA parece estar comprometido, provocando hipercortisolemia em condições basais, a qual não responde ao teste de supressão com o corticosteróide sintético dexametasona (Baumgartner, Graf *et al.*, 1985). O envolvimento do eixo HPA na neurobiologia da depressão é apoiado pela observação que indivíduos com síndrome de Cushing ou hipercortisolismo apresentam déficits cognitivos e alterações na estrutura e função hipocampais, semelhantes àsquelas encontradas em pacientes depressivos (Starkman, Gebarski *et al.*, 1992).

No entanto, existem outras hipóteses que tentam explicar a depressão além das acima citadas, como a hipótese neurotrófica. Diversos estudos têm demonstrado que o fator neurotrófico derivado do encéfalo (BDNF) se encontrava em concentrações reduzidas no hipocampo de animais submetidos a estresse. Tais observações guiaram para a sugestão de que mudanças (diminuição) no conteúdo de BDNF poderiam, pelo menos em parte, estar relacionadas com o estado depressivo dos animais (Berton e Nestler, 2006). Neste sentido, foi demonstrado que a infusão local de BDNF em regiões cerebrais específicas tem induzido efeitos antidepressivos em diversos modelos animais de depressão. No teste do nado forçado (teste amplamente empregado para avaliar potenciais drogas antidepressivas em roedores), a infusão de BDNF mostrou efeito de redução do tempo de imobilidade (Hoshaw, Malberg *et al.*, 2005). No modelo de desamparo aprendido (teste comportamental onde o animal é submetido a eventos incontroláveis aversivos que geram reações de desamparo, por exemplo, choque elétrico) a infusão de BDNF reduziu a latência e as taxas de erros em relação aos animais controle (Siuciak, Lewis *et al.*, 1997). Juntos, esses dados suportam a hipótese de que o BDNF é necessário

para produzir respostas antidepressivas (Duman e Monteggia, 2006). Neste sentido, o BDNF é uma neurotrofina responsável pela estimulação do processo de regeneração neural em diversas áreas cerebrais, agindo como mediador da eficácia sináptica, aumentando a conectividade entre os neurônios e favorecendo, portanto, a neuroplasticidade (Cotman e Berchtold, 2002).

Tem sido demonstrado que o exercício aeróbio favorece a síntese de BDNF provocando um aumento na neurogênese, bem como, um aumento da resistência aos danos cerebrais e melhoria no aprendizado e no desempenho mental (Cotman e Berchtold, 2002). Devido à neuroproteção promovida pelo exercício físico em doenças neurológicas, esta neurotrofina está sendo considerada como fator de proteção para prevenir o desenvolvimento precoce de demência (Mattson, 2000). No entanto, outros fatores de crescimento também estão sendo envolvidos no efeito neuroprotetor induzido pelo exercício físico. O fator de crescimento similar à insulina (IGF-1) parece compartilhar numerosas características moleculares com o efeito neuroprotetor do BDNF (Mattson, Maudsley *et al.*, 2004; Chen e Russo-Neustadt, 2007). Além disso, recentes publicações sugerem que o neuropeptídeo Vgf possa atuar como possível mediador nas respostas antidepressivas induzidas pelo exercício físico, uma vez que o gene que codifica para Vgf é positivamente estimulado pelo BDNF (Hunsberger, Newton *et al.*, 2007; Thakker-Varia, Krol *et al.*, 2007). Estes dados sugerem que a ativação de determinadas vias de sinalização intracelulares induzidas pelo exercício físico podem se constituir em promissoras estratégias para a prevenção e/ou tratamento ou cotratamento de alterações depressivas.

Por outro lado, sabe-se que o exercício físico aeróbico provoca uma modulação hormonal resultando num aumento das concentrações plasmáticas de testosterona (Grandys, Majerczak *et al.*, 2008; Shkurnikov, Donnikov *et al.*, 2008). Neste sentido, foi demonstrado que além das concentrações cerebrais de BDNF serem também regulados pelas concentrações plasmáticas de testosterona (Rasika, Alvarez-Buylla *et al.*, 1999), o próprio BDNF é responsável pela manutenção da expressão do receptor para andrógenos (Yang e Arnold, 2000), demonstrando assim uma intrínseca relação entre eles.

Além dos efeitos já conhecidos da testosterona na reprodução, diferenciação e conduta sexual, outras funções foram atribuídas a este hormônio, incluindo melhoras na atenção e memória (Cunningham, 2006). Por outro lado, a diminuição nas concentrações de testosterona está associada com aumento de risco de desenvolver doença de

Alzheimer, osteoporose, diabetes do tipo II, doença cardiovascular, obesidade, bem como depressão e ansiedade (Hogervorst, Bandelow *et al.*, 2005; Gold e Voskuhl, 2006; Zitzmann, 2006; Pike, Nguyen *et al.*, 2008). Vários estudos *in vivo* e *in vitro* demonstraram que a testosterona aumenta a atividade serotoninérgica e dopaminérgica no núcleo *accumbens* de ratos machos (De Souza Silva, Mattern *et al.*, 2009), protege a morfologia e função de neurônios motores (Little, Coons *et al.*, 2009), aumenta a plasticidade (Hatanaka, Mukai *et al.*, 2009), bem como o tamanho do hipocampo (Galea, Perrot-Sinal *et al.*, 1999), entre outros. Desta forma, a testosterona está sendo apontada como um potente agente neuroprotetor, vinculada principalmente no que se refere aos efeitos benéficos do exercício físico.

Tendo em vista tais aspectos científicos, o presente estudo tem como principal problema de pesquisa verificar se o treinamento aeróbio resulta em efeitos benéficos no sistema nervoso que permita modular ou prevenir o comportamento depressivo em roedores.

1.1 SITUAÇÃO PROBLEMA

Sendo assim, formulou-se o seguinte problema de pesquisa: **O treinamento aeróbio resulta em efeitos benéficos sobre o sistema nervoso central capaz de prevenir o desenvolvimento de doenças como, por exemplo, transtornos do humor, incluindo nestes a depressão?**

1.2 OBJETIVO GERAL

Investigar os efeitos de um protocolo de exercício físico crônico (treinamento físico) sobre parâmetros comportamentais, bioquímicos e histológicos em um modelo de depressão em roedores induzida pela administração subcutânea e repetida de dexametasona.

1.3 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Investigar o efeito de um protocolo de exercício físico crônico (treinamento físico) sobre parâmetros comportamentais, bioquímicos e histológicos em um modelo de depressão em roedores induzida pela administração subcutânea e repetida de dexametasona. Para isto, foram desenvolvidos os seguintes objetivos específicos:

1) Caracterização do modelo de depressão induzido pela administração subcutânea e repetida de dexametasona mediante a determinação das concentrações plasmáticas de corticosterona, quantificação de colesterol e peso de glândulas adrenais, teste comportamental para avaliação de anedonia (teste da preferência da sacarose) e mensuração da massa corporal;

2) Caracterização do protocolo de treinamento físico crônico e modelo de exercício agudo (utilizado como controle) através da determinação da máxima fase estável do lactato (MLSS) e das concentrações plasmáticas de testosterona, lactato e glicose;

3) Caracterização das alterações neuroquímicas, histológicas e moleculares no hipocampo, induzidas pela administração de dexametasona e o efeito do exercício físico sobre estes parâmetros. Como parâmetros histológicos foram mensurados o conteúdo da neurotrofina BDNF e da 8-hydroxi-deoxi-guanosina (marcador de oxidação do DNA). Ainda, foi determinada a expressão do BDNF e da citocina anti-inflamatória IL-10.

1.4 HIPÓTESE

A partir do problema levantado e dos objetivos específicos delimitados, foi possível formular as seguintes hipóteses:

H1: O treinamento aeróbio de nado resulta em adaptações benéficas cerebrais que previnem o desenvolvimento de doenças do humor, incluindo a depressão.

1.5 JUSTIFICATIVA E RESULTADOS ESPERADOS

A depressão tem sido objeto de muitos estudos devido à crescente incidência de casos no mundo e principalmente pelo peso econômico que tal transtorno gera. Entretanto, poucos são os estudos que investigaram os efeitos antidepressivos do exercício físico, tanto para a prevenção como para o tratamento, o que justificaria em primeira instância o presente trabalho.

A elucidação dos mecanismos que levam aos efeitos benéficos do exercício na depressão também merece atenção especial, sendo que a utilização de animais para tal experimento se faz válida, visto que muitos estudos já utilizam modelos experimentais, validando dessa forma a pesquisa do exercício físico em ratos.

Além disso, acreditamos que o desenvolvimento deste projeto de mestrado além de ser um instrumento valioso e essencial na formação acadêmica e científica, também contribuirá para a geração de conhecimento nas áreas da Educação Física, da Bioquímica e da Neurociência, a partir do estudo dos efeitos benéficos do exercício físico sobre os transtornos do humor (depressão).

Por fim, a motivação pessoal acerca do estudo em questão está diretamente ligada ao interesse e admiração pelo estudo do exercício como principal promotor de saúde e também na busca de maior entendimento do mesmo para futura prática profissional.

1.6 CLASSIFICAÇÃO DAS VARIÁVEIS

Tendo em vista os objetivos do estudo, foram definidas as seguintes variáveis:

✓ *Variáveis independentes*: Desenho de treino de nado (intensidade, volume e frequência); concentração de dexametasona administrada nos animais;

✓ *Variáveis dependentes*: teste comportamental (teste de preferência pela sacarose); concentrações de testosterona, corticosterona, lactato e glicose no plasma; concentrações de colesterol e peso das glândulas adrenais; conteúdo imunorreativo hipocampal de BDNF e 8-hidroxi-deoxi-guanosina, expressão gênica hipocampal de BDNF e IL-10.

✓ *Variáveis de controle*: temperatura da água, ciclo claro/escuro, alimentação, hidratação; treinamento, administrações de fármacos, coletas de sangue e testes comportamentais realizados nos mesmos horários; intensidade, volume e frequência do treinamento; espaço físico individual para o treinamento e alojamento dos animais; idade e massa corporal dos animais.

✓ *Variável interveniente*: individualidade biológica dos animais.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 DADOS EPIDEMIOLÓGICOS DA DEPRESSÃO

A depressão é uma doença crônica, recorrente, mas potencialmente tratável (Berton e Nestler, 2006). Segundo a OMS, cerca

de 20% da população mundial é afetada pela depressão, o que corresponde a 350 milhões de pessoas (Greden, 2001). De acordo com o estudo *Global Burden of Disease* (WHO, 2008), o transtorno depressivo está em segundo no *ranking* de doenças responsáveis por morte precoce ou incapacidade, atrás apenas de doenças cardíacas. A depressão é também o transtorno psicológico de maior prevalência afetando cerca de 25% das mulheres e 12% dos homens durante suas vidas (Kessler, Mcgonagle *et al.*, 1994). De acordo com Greden e colaboradores (Greden, 2001), 340 milhões de pessoas no mundo são afetadas pela depressão. O estudo pan-europeu *DEPRES* (Lepine, Gastpar *et al.*, 1997) mostrou em 1997 que 13359 de 78463 adultos, participantes de entrevistas em seis países na Europa, sofriam de depressão. Esses dados representam uma prevalência de 17% só na Europa Ocidental. No Brasil, segundo dados da PNAD-IBGE (IBGE, 2008), a depressão é a quinta doença de maior ocorrência, atingindo 4,1% das 59,9 milhões de pessoas que se declaram portadoras de alguma doença crônica. Outro dado interessante é o gasto público com a depressão, como mostrado por Greenber e colaboradores (Greenberg, Kessler *et al.*, 2003), onde a carga econômica resultante dessa desordem é de aproximadamente US\$83,1 bilhões por ano somente nos Estados Unidos da América.

Os problemas de saúde causam um impacto (“burden”, do inglês, carga), na vida das pessoas e da sociedade que pode ser medido através de custos financeiros, mortalidade, morbidade e outros indicadores (Who, 2008). A OMS, o Banco Mundial e a Universidade de Harvard criaram a medida denominada “DALY” do inglês “anos de vida ajustados pela incapacidade” (“*disability-adjusted life year*”) para estimar o número de anos de vida envolvidos com doenças, invalidez ou morte precoce. A medida do DALY combina em um mesmo parâmetro a mortalidade e a morbidade de uma doença ou grupo de doenças, sendo bastante útil para medir o impacto de doenças crônicas, como a depressão. Em termos de saúde pública a utilização do DALY revela aspectos importantes. Por exemplo, o relatório da OMS em 1990 revelou que cinco das dez maiores causas de incapacidade são as patologias psiquiátricas. Embora as patologias psiquiátricas e neurológicas sejam responsáveis por 1,4% dos óbitos e 1,1% dos anos de vida perdidos, elas respondem por 28% dos anos de vida envolvidos com doenças. Portanto, as patologias psiquiátricas e neurológicas que tradicionalmente não são consideradas de grande impacto epidemiológico, representam as maiores causas de dias de vida envolvidos com doenças da população mundial, além do gasto financeiro com os tratamentos (WHO, 2008). Se considerarmos apenas

os transtornos psiquiátricos, em 1998 estes representavam em torno de 12% das mortes e da perda de produtividade devido a todas as doenças e traumatismos, no mundo. Em 2020, caso medidas emergenciais não sejam tomadas, o percentual pode subir para 15% nos países mais pobres. Em 2004, os dados da OMS (WHO, 2008) referentes à população brasileira indicaram que o total estimado de anos de vida perdidos, relacionados com doenças era de 19,475 para cada 100.000 brasileiros. As doenças neuropsiquiátricas foram responsáveis por 22% deste montante, seguidas pelas doenças infecciosas (21%), violência (15%), doenças cardiovasculares (11.3%) e, mais distante o câncer com 6% (WHO, 2008). Todos esses dados evidenciam a importância de políticas públicas de prevenção dessas desordens psiquiátricas como a depressão, além da necessidade de se buscar tratamentos eficientes e de baixo custo. Nesse contexto, os tratamentos para os transtornos depressivos atuais permanecem parcialmente eficientes, mostrando que 50% dos pacientes melhoram os sintomas depressivos com o uso crônico de antidepressivos farmacológicos, como fluoxetina, enquanto que 80% apresentam respostas parciais aos tratamentos não farmacológicos, incluindo psicoterapia e exercício físico (Nestler, Barrot *et al.*, 2002).

2.2 SINTOMAS E DIAGNÓSTICO CLÍNICO DA DEPRESSÃO

Os principais sintomas da depressão são humor depressivo, anedonia (perda de interesse ou prazer), aumento do cansaço, irritabilidade, dificuldades em concentração, desequilíbrio no apetite e sono e até intenções de suicídio (Nestler, Barrot *et al.*, 2002). Os sintomas da depressão estão também correlacionados com a presença de diversas doenças crônicas (Schwab, Traven *et al.*, 1978), incapacidade de trabalhar (Borson, Barnes *et al.*, 1986), aumento do risco de mortalidade (Lett, Blumenthal *et al.*, 2004), aumento na utilização dos serviços médicos (Johnson, Weissman *et al.*, 1992), diminuição no bem-estar e funcionalidade (Wells, Stewart *et al.*, 1989). Cerca de 10% das pessoas diagnosticadas com depressão cometem suicídio (Beautrais, Joyce *et al.*, 1996; Suominen, Henriksson *et al.*, 1996); em adição, pacientes com depressão tendem a desenvolver doenças coronarianas e diabetes do tipo 2 (Knol, Twisk *et al.*, 2006) e câncer (Chapman, Perry *et al.*, 2005).

O diagnóstico da depressão baseia-se nos critérios sintomáticos estabelecidos por algumas entidades médicas como o *Diagnostic and*

Statistical Manual (Apa, 2000a; b) e o CID-10 (Who, 1993) (Tabela 1 e 2), ou seja, não pode ser baseado em testes objetivos para o diagnóstico, e sim por um conjunto de sintomas. Portanto a depressão não pode ser vista como uma doença singular; é uma doença que consiste em diversos transtornos de diversas causas e patofisiologias que fazem com que o diagnóstico da depressão seja subjetivo e baseado na documentação de certos sintomas dentro de um tempo de no mínimo duas semanas (Nestler, Barrot *et al.*, 2002). Os critérios de diagnóstico da depressão podem ser também sobrepostos com os provenientes de outras condições como ansiedade, a qual está muito relacionada com as desordens depressivas (Post, 1992).

Tabela 1- Critério diagnóstico para Depressão (Apa, 2000a)

- Humor irritado ou depressivo
 - Diminuição no interesse em atividades normalmente prazerosas e na habilidade em experienciar prazer
 - Perda ou ganho de massa corporal significativos (alteração > 5% em um mês)
 - Insônia ou sonolência exacerbada
 - Hiperatividade ou retardamento psicomotor
 - Fadiga ou perda de energia
 - Sentimentos de culpa e inutilidade
 - Concentração e atenção reduzidas
 - Idéias recorrentes de morte ou suicídio
-

A depressão é caracterizada pelo aparecimento de no mínimo 5 sintomas descritos acima, sendo que cada sintoma deve estar evidente diariamente ou quase todos os dias, por no mínimo duas semanas. A severidade da depressão é caracterizada em leve, moderada ou severa, sendo dependente de outros critérios sociais e econômicos.

Tabela 2- Critério diagnóstico de Episódio depressivo segundo a CID-10 (Who, 1993)

Sintomas fundamentais

- 1) Humor deprimido
- 2) Perda de interesse
- 3) Fatigabilidade

Sintomas acessórios

- 1) concentração e atenção reduzidas
- 2) auto-estima e auto-confiança reduzidas
- 3) idéias de culpa e inutilidade
- 4) visões desoladas e pessimistas do futuro
- 5) idéias ou atos autolesivos ou suicídio
- 6) sono perturbado
- 7) apetite diminuído

Episódio leve: 2 sintomas fundamentais + 2 acessórios

Episódio moderado: 2 sintomas fundamentais + 3 a 4 acessórios

Episódio grave: 3 sintomas fundamentais + > 4 acessórios

2.3 DEPRESSÃO – POSSÍVEIS CAUSAS E ALTERAÇÕES NO SISTEMA NERVOSO CENTRAL

Embora a prevalência da depressão e seu impacto sejam altos, o conhecimento da patofisiologia desta ainda necessita ser elucidado. Tal fato se deve principalmente à dificuldade em se observar alterações patológicas no cérebro humano e que a maioria dos transtornos depressivos ocorrem de forma idiopática (Krishnan e Nestler, 2008). São diversos os fatores de risco para desenvolver depressão como a herança genética (Sanders, Detera-Wadleigh *et al.*, 1999; Fava e Kendler, 2000), eventos diários de estresse e trauma emocional (Drevets, 2001), anormalidades endócrinas (hipertireoidismo e hipercortisolemia) (Nestler, Barrot *et al.*, 2002), infecções virais, câncer, efeitos adversos de medicamentos (Evans, Charney *et al.*, 2005), e até mesmo processos estocásticos durante o desenvolvimento cerebral (Fava e Kendler, 2000).

Diversas regiões e circuitos cerebrais que regulam a emoção, recompensa e funções executivas estão implicadas na depressão.

Disfunções na região cortical no sistema límbico têm sido implicadas na depressão e também em ações antidepressivas (Berton e Nestler, 2006). Um grande volume de estudos em tecidos *post-mortem* de pacientes depressivos demonstraram redução no volume da substância cinzenta e na densidade glial no córtex pré-frontal e no hipocampo. Essas regiões são conhecidas como as responsáveis pelos aspectos cognitivos e emocionais alterados na depressão, incluindo os sentimentos de inutilidade e culpa (Drevets, 2001; Harrison, 2002; Sheline, 2003). Pacientes com depressão têm um volume hipocampal estatisticamente menor (19%) em comparação aos seus controles, sem diferenças no volume de outras regiões (amígdala, núcleo caudado, lobo frontal e temporal) ou volume cerebral total (Bremner, Narayan *et al.*, 2000).

2.4 ATIVIDADE FÍSICA E DEPRESSÃO

Dados de estudos epidemiológicos sugerem uma forte associação entre inatividade física e altos níveis de sintomas depressivos (Farmer, Locke *et al.*, 1988; Camacho, Roberts *et al.*, 1991). Têm sido demonstrado na literatura que baixas quantidades de atividade física levam ao aumento nos sintomas de depressão em adultos de idade avançada (Lampinen, Heikkinen *et al.*, 2000) e tais sintomas diminuem quando a atividade física é retomada (Farmer, Locke *et al.*, 1988). Muitos estudos demonstraram a influência de programas de exercício como tratamento terapêutico para pacientes depressivos, sendo que os autores concluem que o exercício foi tão efetivo quanto os medicamentos antidepressivos (Blumenthal, Babyak *et al.*, 1999; Strawbridge, Deleger *et al.*, 2002). Além disso, diversas meta-análises (North, Mccullagh *et al.*, 1990; Carlson, 1991; Craft e Landers, 1998; Lawlor e Hopker, 2001; Sjosten e Kivela, 2006; Stathopoulou, Powers *et al.*, 2006) estudaram os impactos do exercício na depressão e todos concluíram que o exercício tem efeitos benéficos. Em adição, Frazer e colaboradores (Frazer, Christensen *et al.*, 2005) indicam o exercício crônico como um dos melhores tratamentos não farmacológicos para depressão, além do fato de ser de baixo custo, ter efeitos positivos sobre risco de doenças cardiovasculares e ser um agente de prevenção em potencial para futuros episódios depressivos. Há evidências também que a atividade física induz mudanças fisiológicas nas concentrações de endorfinas e monoaminas, responsáveis pela sensação de bem-estar pós atividade física, e também reduz as concentrações de cortisol, hormônio

do estresse, o qual está intimamente relacionado com eventos depressivos (Duclos, Gouarne *et al.*, 2003).

Muitos estudos sugerem que o exercício estimula liberação de proteínas e peptídeos que favorecem o crescimento e a diferenciação de células nervosas (Van Praag, 2008; Wu, Chang *et al.*, 2008; Fabel, Wolf *et al.*, 2009), incluindo dentro destes o BDNF, fator de crescimento do endotélio vascular (VEGF), IGF-1 e o gene Vgf (Schwarz, Brasel *et al.*, 1996; Asano, Kaneoka *et al.*, 1998; Cotman e Berchtold, 2002; Ernst, Olson *et al.*, 2006).

Embora a relação entre a eficácia do exercício físico na diminuição dos sintomas de depressão já tenha sido amplamente documentada, faltam dados sobre o tipo de exercício físico que induz à melhor resposta antidepressiva. Assim, fatores como a determinação do tipo, frequência, duração e intensidade do exercício devem ser consideradas no momento da prescrição desta terapia não farmacológica (Mead, Morley *et al.*, 2008). Desta forma, pesquisas futuras deverão considerar o desenho (protocolo) do exercício para determinar mais especificamente qual tipo de exercício que resulta em benefícios, e se o exercício deve ser realizado com ou sem supervisão, *indoor* ou *outdoor*, em grupo ou individual.

2.5 A HIPÓTESE DAS MONOAMINAS NA DEPRESSÃO

A hipótese das monoaminas na depressão postula que a depressão é causada por uma diminuição na função do sistema das monoaminas, principalmente da serotonina (5-hidroxitriptamina 5-HT) e norepinefrina (Schildkraut, 1965). Atualmente a terapia farmacológica envolve o uso de fármacos que inibem a recaptção ou o metabolismo das monoaminas, incluindo os antidepressivos tricíclicos, inibidores de monoamina oxidase, inibidores da recaptção de serotonina-norepinefrina e serotonina seletivos (Trivedi, Rush *et al.*, 2006). Embora esses fármacos sejam potentes antidepressivos (Trivedi, Rush *et al.*, 2006), a causa da depressão não pode ser considerada devido apenas à deficiência de monoaminas centrais. O fator negativo é que os inibidores de monoamina oxidase e serotonina seletivos produzem aumentos imediatos na transmissão de monoaminas, enquanto que as respostas de melhora no humor requerem semanas de tratamento. Devido a essa lacuna temporal, pensa-se que esse aumento agudo na quantidade de monoaminas sinápticas induzidas por antidepressivos possam produzir

mudanças neuroplásticas secundárias que ocorrem durante um longo prazo e envolvem mudanças transcricionais que medeiam a plasticidade celular (Nestler, Barrot *et al.*, 2002; Trivedi, Rush *et al.*, 2006). Entretanto, os antidepressivos baseados nas monoaminas permanecem entre os principais tratamentos da depressão, mas o seu longo atraso temporal terapêutico e baixas taxas de remissão (apenas cerca de 50% dos pacientes que recebem esses tratamentos têm melhora significativa nos sintomas de depressão) (Trivedi, Rush *et al.*, 2006), tem fortemente estimulado a busca de agentes mais eficazes no tratamento destas desordens (Berton e Nestler, 2006; Mathew, Manji *et al.*, 2008).

Um dos mecanismos postulados pelo qual o exercício induz os efeitos antidepressivos parece ser similar ao tratamento com medicamentos antidepressivos. A síntese de serotonina cerebral depende de duas variáveis importantes: a concentração neuronal do seu precursor – triptofano, e a atividade de sua enzima limitante – triptofano hidroxilase (converte o triptofano em 5-hidroxitriptofano) (Carlsson e Lindqvist, 1972). Neste contexto, tem sido demonstrado que o exercício aumenta a disponibilidade sérica de triptofano na forma livre, tanto em animais (Chaouloff, Elghozi *et al.*, 1985; Chaouloff, Kennett *et al.*, 1986; Blomstrand, Perrett *et al.*, 1989) como em humanos (Blomstrand, Hassmen *et al.*, 1991; Fischer, Hollmann *et al.*, 1991; Davis, Bailey *et al.*, 1992). Portanto, altas concentrações de triptofano no plasma e também no líquido cefalorraquidiano após o exercício, poderiam aumentar a neurotransmissão de serotonina no cérebro. Neste sentido, foi demonstrado em humanos que há um aumento nas concentrações do metabólito da serotonina, o catabólito 5-hidroxiindolacético, após o exercício (Post, Kotin *et al.*, 1973). Ainda, foi demonstrado em animais de experimentação um aumento significativo na atividade de neurônios que sintetizam norepinefrina após um protocolo de exercício agudo (Barchas e Freedman, 1963; Stone, 1973; Glavin, 1985). Sendo assim, pode-se presumir que o exercício produz efeitos similares aos dos antidepressivos, elevando a disponibilidade da norepinefrina na fenda sináptica.

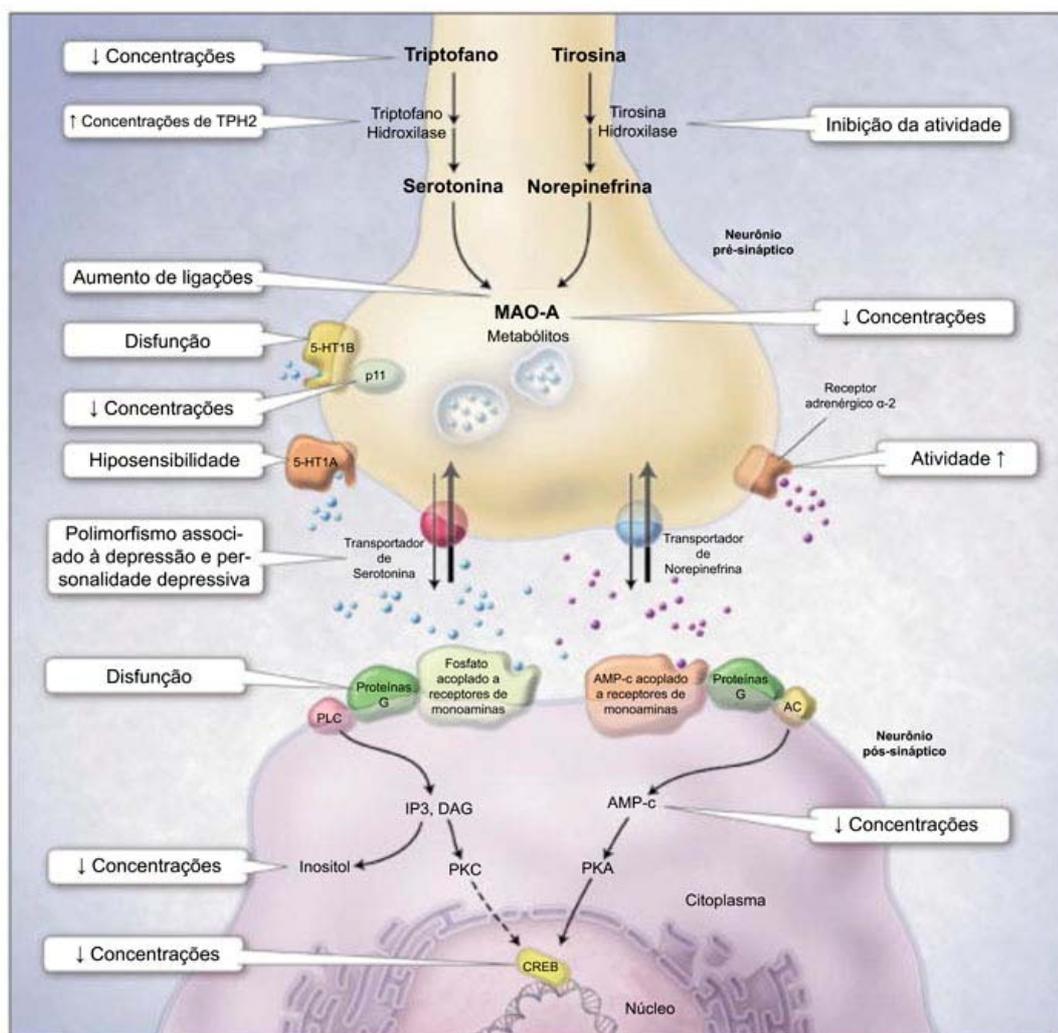


Figura I: Esquema da hipótese das monoaminas da depressão. As monoaminas, sintetizadas a partir de seus precursores triptofano e tirosina, respectivamente, são metabolizadas pela enzima monoamina-oxidase (MAO-A) e posteriormente vesicularizadas. Após estímulo adequado, essas monoaminas são liberadas na fenda sináptica através de seus transportadores, atingindo o neurônio pós-sináptico, sendo captadas por diversos receptores acoplados à proteínas G, ativando vias de sinalização relacionadas principalmente com a síntese protéica. Além disso, as monoaminas também podem ser recaptadas pelo sistema de *feedback* negativo, através de receptores pré-sinápticos específicos como 5HT1A e receptor adrenérgico α_2 . Sendo assim, a hipótese das monoaminas postula que na depressão há qualquer desequilíbrio nesse sistema de neurotransmissão, desde uma diminuição nas concentrações dos precursores (triptofano e tirosina) até disfunções nos receptores pré e pós-sinápticos, todos interferindo no processo de neurotransmissão. Adaptado de (Belmaker e Agam, 2008).

Embora não seja tão consistente, é notável também o efeito do exercício sobre os níveis de dopamina. Tem sido demonstrado que a atividade da dopamina é aumentada após o exercício (Barchas e Freedman, 1963; Post, Kotin *et al.*, 1973). A dopamina parece ter um importante papel em pacientes com a doença de Parkinson, mas tem sido descrito também sua correlação com problemas motivacionais e respostas anedônicas em pacientes afetados pela depressão (Dunlop e Nemeroff, 2007).

2.6 TEORIA NEURÓFICA DA DEPRESSÃO

Fatores tróficos são conhecidos por regular o crescimento e a diferenciação neuronal durante o desenvolvimento, assim como regular a plasticidade e sobrevivência de neurônios adultos e células gliais (Nestler, Barrot *et al.*, 2002). As evidências que suportam a “hipótese do BDNF na depressão” foram demonstradas no trabalho de revisão de Duman e Monteggia (2006), o qual enfatiza que o estresse poderia reduzir a sinalização do BDNF no hipocampo, enquanto que o tratamento com antidepressivos aumentaria a mesma. Neste contexto, foram observadas concentrações diminuídas de BDNF no plasma (Duman e Monteggia, 2006) e tecido *post-mortem* (hipocampo) de indivíduos depressivos (Karege, Vaudan *et al.*, 2005).

Outro ponto que ressalta a importância dos fatores neurotróficos no tratamento da depressão é baseado na demora de os antidepressivos gerarem efeitos sobre o humor (algumas semanas a meses). O efeito celular principal dos antidepressivos está também envolvido com a indução da neurogênese hipocampal – processo pelo qual os neurônios da região da zona subgranular se dividem por mitose para formar novas células que se diferenciam e se integram ao giro dentado (Sahay e Hen, 2007; Pittenger e Duman, 2008). Esse processo acompanha a demora no aparecimento de melhora no humor dos pacientes. O bloqueio da neurogênese hipocampal inibe os efeitos terapêuticos na maioria dos tratamentos antidepressivos em modelos com roedores (Sahay e Hen, 2007). Entretanto o tratamento com antidepressivos, possivelmente pela ação do fator de transcrição CREB (*cAMP response element binding protein*) ou outros reguladores transcricionais (Murray e Lopez, 1997; Sahay e Hen, 2007), aumentam o conteúdo de diversos fatores de crescimento no hipocampo, o que influenciaria na neurogênese. Dentre esses, podemos incluir o BDNF assim como o VEGF, e mais

recentemente o Vgf, os quais têm propriedades antidepressivas e pró-neurogênicas *per se*, em roedores (Hunsberger, Newton *et al.*, 2007; Warner-Schmidt e Duman, 2007). Em adição, a administração central e sistêmica de IGF-1, outro fator de crescimento, aumenta a proliferação celular e neurogênese no hipocampo de ratos adultos (Aberg, Aberg *et al.*, 2000; Anderson, Aberg *et al.*, 2002; Hoshaw, Malberg *et al.*, 2005), efeitos também observados em tratamento com antidepressivos (Hoshaw, Malberg *et al.*, 2005).

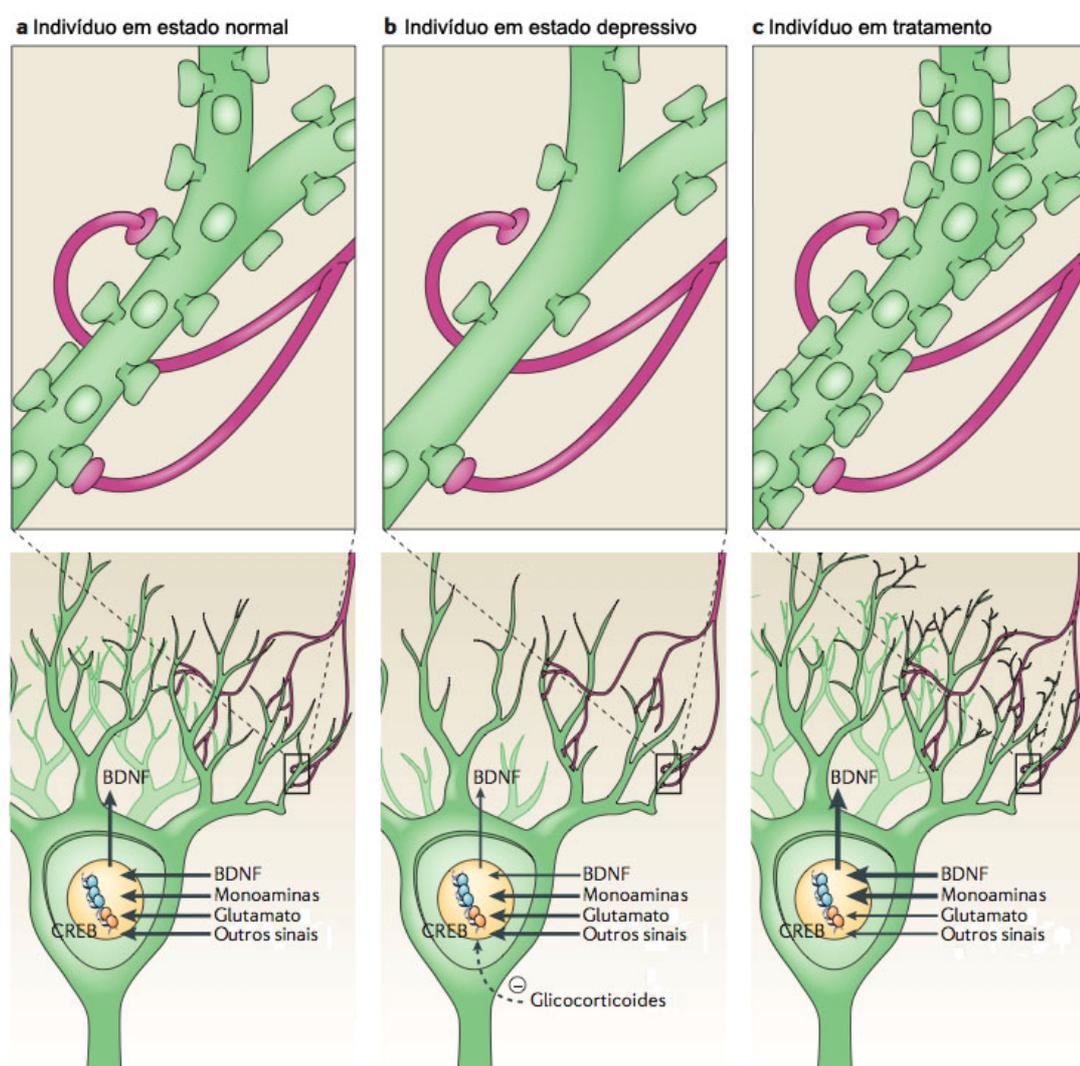


Figura II: Mecanismos neurotróficos na depressão e a ação dos antidepressivos. **a.** Demonstra um neurônio do hipocampo em um estado normal, sadio. **b.** Em estado depressivo, há diminuição na “arborização” dendrítica e na expressão de BDNF, possivelmente pela ação de glicocorticoides. **c.** Os antidepressivos produziram efeitos opostos aos do estado depressivo, sendo que os efeitos seriam, ao menos em parte, explicados pela ativação da CREB, prevenindo o estresse no hipocampo e diminuindo os

sintomas depressivos. BDNF – fator de crescimento do encéfalo; CREB - elemento de ligação a proteínas de resposta à molécula adenosina monofosfato cíclico. Adaptado de (Berton e Nestler, 2006).

2.7 O EXERCÍCIO E FATORES NEUROTRÓFICOS

O exercício, assim como os antidepressivos, tem a capacidade de aumentar o número de novos neurônios em cérebros de adultos e, por conseguinte incitar a uma melhora no humor. Tal fato foi demonstrado por Van Praag e colaboradores (1999), os quais observaram um aumento na neurogênese hipocampal em roedores com livre acesso à roda voluntária (Van Praag, Christie *et al.*, 1999). Em adição, outros estudos também demonstraram que a neurogênese em cérebro adulto pode ser regulada tanto pelo estresse (Gould, Woolley *et al.*, 1990), envelhecimento (Kuhn, Dickinson-Anson *et al.*, 1996), ambiente enriquecido (Kempermann, Kuhn *et al.*, 1997; 1998), além do exercício físico (Van Praag, Christie *et al.*, 1999; Van Praag, Kempermann *et al.*, 1999).

Kempermann e colaboradores observaram que animais submetidos ao teste de memória espacial, o *water maze* de Morris (Morris, Garrud *et al.*, 1982) demonstravam um aprendizado mais rápido que seus respectivos controles, sugerindo que a melhora na cognição se devia à formação de novos neurônios (Kempermann, Kuhn *et al.*, 1997). Em adição, estudos demonstraram que apenas 10 dias de corrida voluntária na roda são suficientes para aumentar a neurogênese em roedores (Persson, Naylor *et al.*, 2004; Stranahan, Khalil *et al.*, 2006; Van Der Borght, Ferrari *et al.*, 2006). Van Praag (2007) e outros também ressaltam a associação do aumento da neurogênese hipocampal em resposta ao exercício e a melhora na plasticidade sináptica do hipocampo (Trejo, Carro *et al.*, 2001; Fabel, Tam *et al.*, 2003; Kitamura, Mishina *et al.*, 2003; Overstreet, Hentges *et al.*, 2004; Van Der Borght, Havekes *et al.*, 2007; Van Praag, Lucero *et al.*, 2007).

Os mecanismos pelos quais o exercício induz a neurogênese também parecem estar relacionados com a concentração de fatores tróficos circulantes (Trejo, Carro *et al.*, 2001; Campuzano, Barrios *et al.*, 2002; Cotman e Berchtold, 2002; Hunsberger, Newton *et al.*, 2007). Diversos estudos observaram aumentos na expressão de BDNF em hipocampo de animais exercitados voluntariamente na roda (Neeper, Gomez-Pinilla *et al.*, 1995; Neeper, Gomez-Pinilla *et al.*, 1996; Russo-Neustadt, Beard *et al.*, 1999; Widenfalk, Olson *et al.*, 1999; Berchtold,

Kesslak *et al.*, 2001; Berchtold, Kesslak *et al.*, 2002; Cotman e Berchtold, 2002), e que esse aumento ocorria no giro denteado, no hilo e na região CA3 do hipocampo. Em adição às respostas no hipocampo, foram também encontrados aumentos de mRNA de BDNF no cerebelo e córtex cerebral (Neeper, Gomez-Pinilla *et al.*, 1996).

Por outro lado, foi demonstrado que o aumento na proliferação celular no hipocampo e zona ventricular induzida pelo exercício estava relacionado com concentrações elevadas do fator pró-angiogênico VEGF (Asano, Kaneoka *et al.*, 1998; Schobersberger, Hobisch-Hagen *et al.*, 2000; Jin, Minami *et al.*, 2001; Fabel, Tam *et al.*, 2003).

Finalmente, foi também evidenciado que as concentrações do IGF-1, fator de crescimento semelhante à insulina, e Vgf, com funções pró-neurogênica, são também regulados positivamente após o exercício (Carro, Nunez *et al.*, 2000; Duclos, Gouarne *et al.*, 2003; Hunsberger, Newton *et al.*, 2007).

2.8 O PAPEL DO EIXO HIPOTÁLAMO-PITUITÁRIA-ADRENAL NA DEPRESSÃO

Numerosos relatos na literatura têm demonstrado que indivíduos com depressão apresentam uma hiperatividade no eixo hipotálamo-pituitária-adrenal (HPA) indicado principalmente por hipercortisolismo (Sachar, Hellman *et al.*, 1973; Carroll, Curtis, G. C. *et al.*, 1976; Carroll, B. J., Curtis, G. C. *et al.*, 1976; Stokes, Stoll *et al.*, 1984; Pfohl, Sherman *et al.*, 1985; Gold, Licinio *et al.*, 1995). Esta situação na depressão é manifestada em diversos níveis, incluindo o comprometimento no receptor de glicocorticóide mediado por *feedback* negativo (Brown, Varghese *et al.*, 2004), hiper-responsividade da adrenal à circulação do hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) (Parker, Schatzberg *et al.*, 2003) e hipersecreção do fator de liberação corticotrófica (CRF) (Nemeroff e Owens, 2002), um ativador hipotalâmico da liberação do ACTH da pituitária (Nestler, Barrot *et al.*, 2002; De Kloet, Joels *et al.*, 2005).

Diversas anormalidades metabólicas também associadas com a depressão, tais como a resistência à insulina e obesidade abdominal, podem, ao menos em parte, serem explicadas pelo aumento nas concentrações de glicocorticóides (Brown, Varghese *et al.*, 2004; Evans, Charney *et al.*, 2005). Pacientes com a síndrome de Cushing, os quais

apresentam altas concentrações de cortisol circulantes, também apresentam características depressivas e atrofia de hipocampo (Nestler, Barrot *et al.*, 2002; Mcewen, 2007).

Algumas regiões do cérebro parecem ser mais susceptíveis aos efeitos de altas concentrações de glicocorticóides (Herbert, Goodyer *et al.*, 2006). Neste sentido, foi demonstrado que concentrações elevadas de glicocorticóides podem levar a uma redução nas taxas de proliferação celular na zona subgranular do hipocampo e gerar mudanças atroficas nas sub-regiões hipocampais (Mcewen, 2007). Tal fato pode contribuir para a redução do volume do hipocampo evidenciado na depressão (Bremner, Narayan *et al.*, 2000). Neste contexto, foi também observado que os modelos animais de depressão induzidos pela administração prolongada de glicocorticoides induzem sintomas depressivos (Casarotto e Andreatini, 2007; Gourley, Wu *et al.*, 2008).

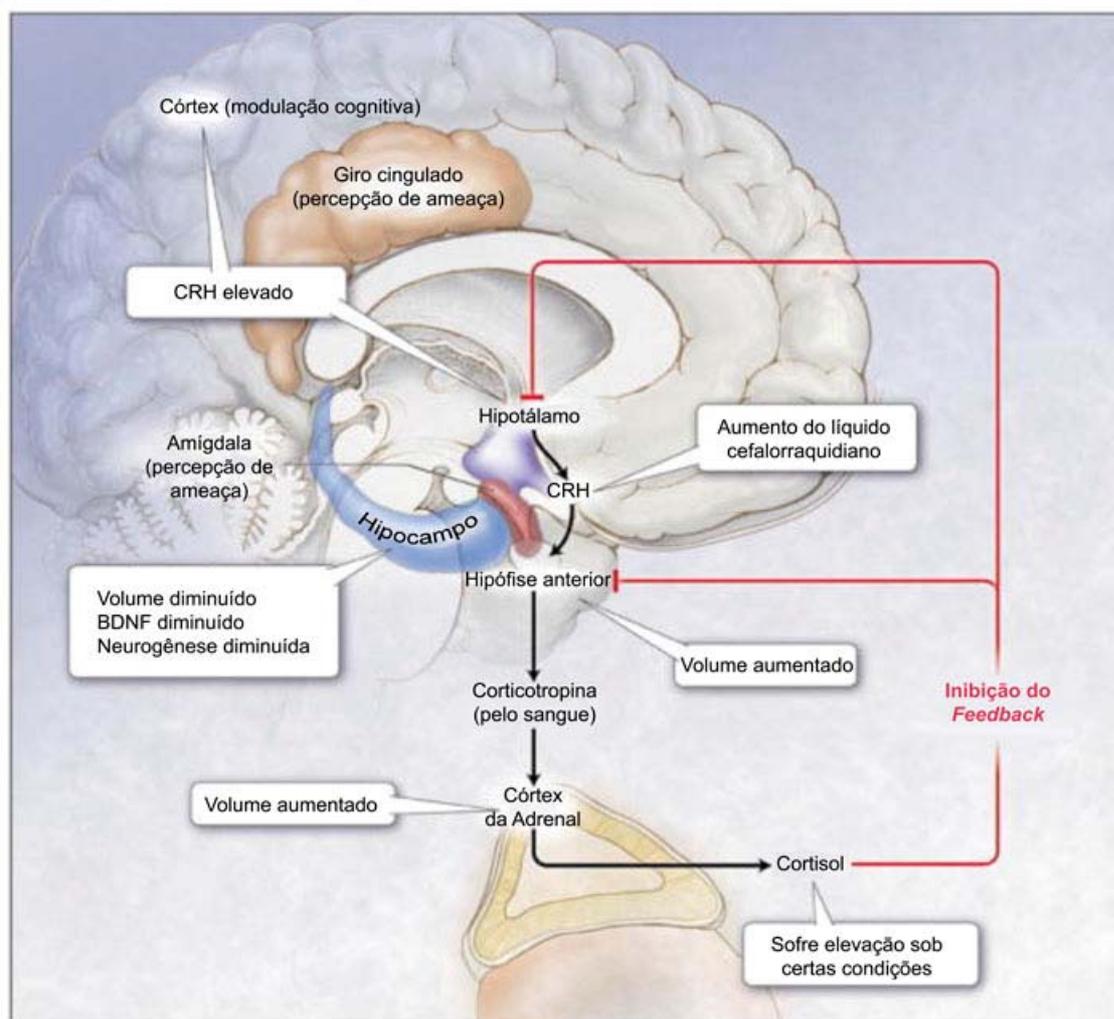


Figura III: Esquema da hipótese de desregulação do eixo HPA na depressão. Esta hipótese sugere que anormalidades na resposta do cortisol ao estresse

poderiam explicar a depressão. As setas pretas indicam que, em resposta ao estresse, o qual é percebido pelo córtex e amígdala, e transmitido ao hipocampo, o hormônio liberador de corticotropina (CRH) é liberado, induzindo a glandula pituitária anterior a secretar corticotropina na corrente sanguínea. As setas vermelhas mostram que o cortisol, por sua vez, induz a uma inibição no sistema de retro-alimentação no hipotálamo e na pituitária, suprimindo a produção de CRH e corticotropina, respectivamente. Adaptado de (Belmaker e Agam, 2008).

2.9 MODULAÇÃO DO EIXO HPA PELO EXERCÍCIO

Tem sido mostrado que a administração crônica de antidepressivos aumenta as concentrações de receptores de corticosteróides, restaurando o *feedback* negativo do eixo HPA e normalizando as concentrações de cortisol e a função do eixo HPA (Barden, 2004). Portanto, parece haver uma relação entre estresse, níveis elevados de glicocorticóides e depressão. Não somente os antidepressivos como também o exercício parece induzir estas modificações no funcionamento do eixo HPA. Embora o exercício agudo de alta intensidade aumente as concentrações dos hormônios de estresse, corticotrópicos e cortisol, o exercício crônico (por exemplo, um programa de treinamento em intensidade moderada por quatro semanas), onde há adaptação aos estímulos, atenua a resposta estressora restaurando a atividade normal do eixo HPA (Sutton, Young *et al.*, 1969; Luger, Deuster *et al.*, 1987; Mazzeo, 1991; Kjaer, 1992; Stranahan, Lee *et al.*, 2008). Em adição, os efeitos do treinamento indicam que, após o final do exercício, as concentrações de cortisol em indivíduos treinados alcançam as concentrações basais mais rápido que em indivíduos não treinados (Kjaer, 1992; Rudolph e Mcaley, 1995).

Estudos experimentais por outro lado, tem demonstrado que animais que se exercitaram na roda de correr (exercício voluntário) apresentam melhoras na resposta adaptativa do eixo HPA (Droste, Gesing *et al.*, 2003; Droste, Schweizer *et al.*, 2006; Droste, Chandramohan *et al.*, 2007), qualidade de sono, aumento na resistência ao estresse (visualizados estes através de perfis de eletroencefalograma) (Lancel, Droste *et al.*, 2003), e na redução do comportamento ansiolítico quando comparados aos controles sedentários (Binder, Droste *et al.*, 2004).

2.10 A RELAÇÃO ENTRE DESORDENS DEPRESSIVAS, CITOCINAS E EXERCÍCIO

Citocinas são pequenos polipeptídeos, os quais foram inicialmente descritos por exercerem uma função imuno-regulatória (Akira e Kishimoto, 1992). Estudos recentes têm demonstrado a participação destas na indução de processos depressivos. Neste contexto, foi demonstrado que em um grupo de indivíduos tratados com a citocina IL-2 (interleucina-2) e interferon- α (IFN- α), 33% deles desenvolveram sintomas depressivos (Raison, Capuron *et al.*, 2006). Além disso, também foram observadas alterações como concentrações elevadas de IL-1 β e TNF- α no sangue e em tecido cerebral *post-mortem* de indivíduos depressivos (Sluzewska, Rybakowski *et al.*, 1995; Maes, Bosmans *et al.*, 1997; Maes, 1999; Mikova, Yakimova *et al.*, 2001; Tuglu, Kara *et al.*, 2003). Em adição, em um estudo com idosos, foi identificado o aumento de marcadores inflamatórios no sangue pouco antes do início da depressão (Musselman, Miller *et al.*, 2001). Esses dados suportam a teoria postulada por Smith (Smith, 1991) e mais tarde por Maes (Maes, Smith *et al.*, 1995), na qual as citocinas induziriam à depressão.

Alguns estudos em modelos animais também demonstraram o papel das citocinas na depressão. A administração sistêmica de lipopolissacarídeo bacteriano (LPS), o qual induz à expressão de IL-1 e outras citocinas pró-inflamatórias no cérebro, foi responsável pelo decréscimo na preferência à sacarose em roedores, sendo que, quando os animais foram tratados com antidepressivos antes do tratamento com LPS, esse comportamento era prevenido (Laye, Parnet *et al.*, 1994; Quan, Stern *et al.*, 1999). Ainda, foi observado que aumentos na concentração da citocina IL-1 β inibe a expressão do BDNF no hipocampo de ratos após isolamento social (Barrientos, Sprunger *et al.*, 2003).

Por outro lado, tem sido demonstrado que o exercício tem a capacidade de influenciar o sistema imune e parece ter um papel importante na relação entre função imune e desordens depressivas. Dados epidemiológicos sugerem uma relação inversa entre atividade física e inflamação em sujeitos saudáveis (Fallon, Fallon *et al.*, 2001; Geffken, Cushman *et al.*, 2001; Abramson e Vaccarino, 2002).

A liberação de citocinas em resposta ao exercício físico difere da clássica resposta às infecções. O padrão de liberação na circulação, após o exercício, é iniciado pelo aumento da IL-6 (Pedersen e Hoffman-

Goetz, 2000), seguida pelas citocinas IL-1 α e IL-10 (Petersen e Pedersen, 2005). Por sua vez, a IL-10 inibe a liberação das citocinas pró-inflamatórias IL-1 α , IL-1 β e TNF- α (Moore, O'garra *et al.*, 1993; Pretolani, 1999). Diversos estudos indicaram aumento de interleucinas, como IL-6 e IL-10 em resposta ao exercício físico em humanos (Ostrowski, Rohde *et al.*, 1999; Ostrowski, Schjerling *et al.*, 2000; Steensberg, Van Hall *et al.*, 2000; Ostrowski, Rohde *et al.*, 2001; Petersen e Pedersen, 2005). Além disso, foi demonstrado em humanos (Starkie, Ostrowski *et al.*, 2003) e em animais (Fiers, 1991) que o exercício pode suprimir a produção de TNF- α induzida por endotoxinas. O aumento das concentrações sanguíneas desta citocina inflamatória pode também ser prevenidas pelo aumento na concentração de epinefrina induzida pelo exercício físico (Van Der Poll, Coyle *et al.*, 1996). Com exceção a exercícios muito intensos, os quais são de natureza pró-inflamatória, não está bem clara qual intensidade de exercício que teria efeitos anti-inflamatórios (Ostrowski, Rohde *et al.*, 1999; Ostrowski, Schjerling *et al.*, 2000; Petersen e Pedersen, 2005). Entretanto, os dados da literatura sugerem que exercícios aeróbios, de intensidade moderada, parecem induzir os efeitos mais promissores, quando considerados os resultados anti-inflamatórios e antidepressivos (Pretolani, 1999; Frazer, Christensen *et al.*, 2005).

2.11 TESTOSTERONA E NEUROPROTEÇÃO

A testosterona é um hormônio esteróide sexual com diversas funções. Além do seu conhecido papel no sistema reprodutor, esse hormônio é também conhecido por aumentar a massa muscular, função sexual e libido, dentre outras ações no sistema periférico (Kaiser e Morley, 1994; Bialek, Zaremba *et al.*, 2004). Em adição, há muitas evidências de efeitos positivos também no sistema nervoso central, como na regulação do humor (Bagatell e Bremner, 1996; Rubinow e Schmidt, 1996; Seidman e Walsh, 1999) e principalmente no possível papel neuroprotetor da testosterona pela promoção do desenvolvimento, crescimento, maturação e diferenciação neuronal (Forger, Hodges *et al.*, 1992; Matsumoto, 1997; Stoffel-Wagner, 2001; Bialek, Zaremba *et al.*, 2004; Mukai, Tsurugizawa *et al.*, 2006). A presença deste hormônio no sistema nervoso central parece estar relacionada com a capacidade da testosterona de atravessar a barreira hemato-encefálica e atingir regiões cerebrais onde pode ser metabolizada (Iqbal, Dalton *et al.*, 1983; Martini e Melcangi, 1991; Pike, 2001); embora tenha sido descrita a

síntese desta em algumas estruturas cerebrais, incluindo o hipocampo (Mukai, Tsurugizawa *et al.*, 2006).

Há evidências de que a secreção da testosterona aparece diminuída em situações de humor depressivo (Seidman e Walsh, 1999). Além disso, o comportamento depressivo tem sido um fenômeno bastante associado a pacientes com hipogonadismo (Woodman e Williams, 1996; Zitzmann, 2006), o que leva a concluir que existe uma relação inversa bastante significativa entre as concentrações de testosterona e comportamentos depressivos. Em adição, sabe-se que a testosterona modula as concentrações de monoaminas no cérebro (Daly, 2001).

A relação entre as concentrações de testosterona sanguíneas e o exercício físico é bem conhecida (Hackney, Szczepanowska *et al.*, 2003; Kraemer, French *et al.*, 2004). Sabe-se que o treinamento de força, por exemplo, usualmente leva a um aumento nas concentrações deste hormônio, criando um ambiente mais anabólico no organismo (Lucia, Chicharro *et al.*, 1996; Kraemer, Hakkinen *et al.*, 1999; Grandys, Majerczak *et al.*, 2008). Entretanto, há divergências na literatura em relação aos efeitos do treinamento de *endurance* nas concentrações de testosterona (Remes, Kuoppasalmi *et al.*, 1979; Keizer, Janssen *et al.*, 1989; Wheeler, Singh *et al.*, 1991; Hoogeveen e Zonderland, 1996; Hackney, Szczepanowska *et al.*, 2003; Maestu, Jurimae *et al.*, 2005; Grandys, Majerczak *et al.*, 2008). Vale ressaltar que o principal fator responsável por essas divergências parece ser a intensidade do exercício prescrito (De Souza e Miller, 1997), sendo que o treinamento de intensidade moderada induz às maiores concentrações de testosterona no sangue (Remes, Kuoppasalmi *et al.*, 1979; Keizer, Janssen *et al.*, 1989; Grandys, Majerczak *et al.*, 2008).

Portanto, conhecendo-se os efeitos positivos da testosterona na depressão (Giltay, Tishova *et al.*; Shores, Kivlahan *et al.*, 2009; Zarrouf, Artz *et al.*, 2009), além da evidência de que o exercício aeróbio pode ser um dos melhores tratamentos não farmacológicos para essa desordem (Frazer, Christensen *et al.*, 2005), fica evidente a necessidade de encontrar uma intensidade de exercício aeróbio adequada para o auxílio do tratamento anti-depressivo ou para a prevenção destas alterações do humor (Virus, 1992).

2.12 TREINAMENTO FÍSICO – PRESCRIÇÃO E MODELOS DE EXERCÍCIO

Muitos programas de treinamento visam produzir adaptações metabólicas, fisiológicas e psicológicas que permitam ao atleta ter melhor desempenho numa determinada modalidade de exercício (McCardle, Katch *et al.*, 1998). Entretanto, quando o objetivo do treinamento é a prevenção das alterações do humor, ou seja, que o treinamento deve visar à saúde mental há a necessidade de se conhecer e mensurar os índices fisiológicos utilizados como referência para a prescrição do exercício, os que incluem frequência, intensidade, volume e especificidade (Paffenbarger, Hyde *et al.*, 1993). Neste contexto, muitos parâmetros têm sido utilizados para a prescrição das intensidades do treinamento, bem como o consumo máximo de oxigênio (VO_2 máx), a frequência cardíaca (FC), a percepção subjetiva de esforço e principalmente as respostas do lactato sanguíneo.

Tem sido crescente a utilização de modelos animais de exercício para a simulação das condições de estresse e adaptação observadas em humanos (Gondim, Zoppi *et al.*, 2007). Os roedores são os animais usados na maioria dos modelos experimentais preferidos pela facilidade no manuseio, pelo tamanho, mas principalmente por responderem positivamente ao exercício (De Araujo, Papoti *et al.*, 2007). Esta resposta tem sido quantificada através da determinação das concentrações de lactato sanguíneo ao exercício (De Araujo, Papoti *et al.*, 2007).

No início do século XX o lactato foi identificado como um indicador de atividade glicolítica (Boycott e Haldane, 1908; Hill, 1924) e, mais tarde, a concentração de lactato foi estabelecida como um forte indicador da intensidade de exercício (Hill, 1924). A resposta do lactato ao exercício é uma complexa interrelação entre formação, distribuição e utilização do lactato em diversos tecidos (Brooks, 1986; Mader e Heck, 1986) e é através dela que podemos identificar a transição metabólica entre os sistemas aeróbio e anaeróbio. Dentre os diversos protocolos, a máxima fase estável de lactato (MLSS – *maximal lactate steady state*) é o protocolo considerado “padrão ouro” para identificação dessa transição metabólica (Beneke, 2003). A MLSS é definida como a mais alta concentração de lactato sanguíneo a qual pode ser mantida por máximo tempo sem que ocorra uma acumulação contínua na concentração de lactato sanguíneo, ou seja, metabolismo predominantemente aeróbio (Billat, Sirvent *et al.*, 2003). Para a

confirmação e/ou identificação da intensidade de exercício correspondente à MLSS, Heck et al. (1985) propuseram que durante a realização de um exercício contínuo (tempo aproximado de 30 minutos), a concentração de lactato no sangue não aumente mais do que 1 mmol.L^{-1} nos últimos 20 minutos de exercício (Heck, Mader *et al.*, 1985).

Diversos estudos também foram realizados em roedores com o intuito de identificar os índices fisiológicos relacionados à MLSS. Inicialmente Pillis e colaboradores (Pillis, Zarzeczny *et al.*, 1993) identificaram o limiar anaeróbio em ratos; esse estudo pioneiro foi logo seguido por diversos outros estudos onde os focos foram as possíveis variações decorrentes desse modelo e suas aproximações com outros modelos humanos (Gobatto, De Mello *et al.*, 2001; Marangon, Gobatto *et al.*, 2002; Voltarelli, Gobatto *et al.*, 2002; Manchado Fde, Gobatto *et al.*, 2006; De Araujo, Papoti *et al.*, 2007; Ferreira, Rolim *et al.*, 2007; Cunha, Cunha *et al.*, 2009). Tem sido recente também a utilização desses modelos de exercício com intensidades bem definidas, mas com o objetivo de se estudar parâmetros bioquímicos, moleculares e fisiológicos em algumas situações patológicas (Papoti, De Almeida *et al.*, 2003; Andersen, Bignotto *et al.*, 2004; Prada, Voltarelli *et al.*, 2004; Contarteze, Manchado *et al.*, 2007).

3 MÉTODOS

3.1 CARACTERIZAÇÃO DA PESQUISA

O presente estudo é caracterizado, quanto a sua natureza, como uma pesquisa aplicada, onde, de acordo com Thomas & Nelson (2002), tende a remeter a problemas imediatos (Thomas e Nelson, 2002).

Em relação à abordagem do problema o estudo caracteriza-se como uma pesquisa quantitativa. Conforme Gil (2010), a abordagem quantitativa considera que tudo pode ser quantificável, o que significa traduzir em números opiniões e informações para classificá-las e analisá-las. Já quanto aos objetivos, classifica-se como pesquisa explicativa, pois visa identificar os fatores que determinam ou contribuem para a ocorrência de algum fenômeno (Gil, 2010).

Do ponto de vista dos procedimentos técnicos, classifica-se como uma pesquisa empírica do tipo experimental a qual, segundo Gil (2010), tem como finalidade testar hipóteses que dizem respeito a relações de

causa e efeito (Gil, 2010). Envolvem grupos de controle, seleção aleatória e manipulação de variáveis independentes e de controle. Tal tipo de pesquisa torna-se importante na medida em que essa auxilia na compreensão de fenômenos naturais como em processos fisiológicos.

3.2 ANIMAIS

Todos os procedimentos envolvendo animais foram conduzidos conforme a Comissão de Ética no uso de Animais (PP000420/CEUA) da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), o qual por sua vez é regido pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA).

Foram empregados ratos Wistar machos adultos (200-250g) obtidos do Biotério Central da UFSC e mantidos no Biotério Setorial do Departamento de Bioquímica, Centro de Ciências Biológicas, UFSC, onde permaneceram sob um ciclo claro-escuro de 12:12 horas, a uma temperatura ambiental de aproximadamente 22 ± 1 °C, com acesso livre à água e ração para roedores (Nuvital, PR, Brasil). A partir do primeiro dia dos experimentos os animais foram mantidos em caixas plásticas individuais de 30 cm x 20 cm x 19 cm.

Os animais foram divididos nos seguintes grupos:

- 1- Grupo controle sedentário (C);
- 2- Grupo sedentário + administração de dexametasona (D);
- 3- Grupo submetido a exercício físico (E);
- 4- Grupo submetido a exercício físico + administração de dexametasona (DE);
- 5- Grupo controle sedentário + administração de fluoxetina (CF);
- 6- Grupo sedentário + administração de dexametasona + administração de fluoxetina (DF).

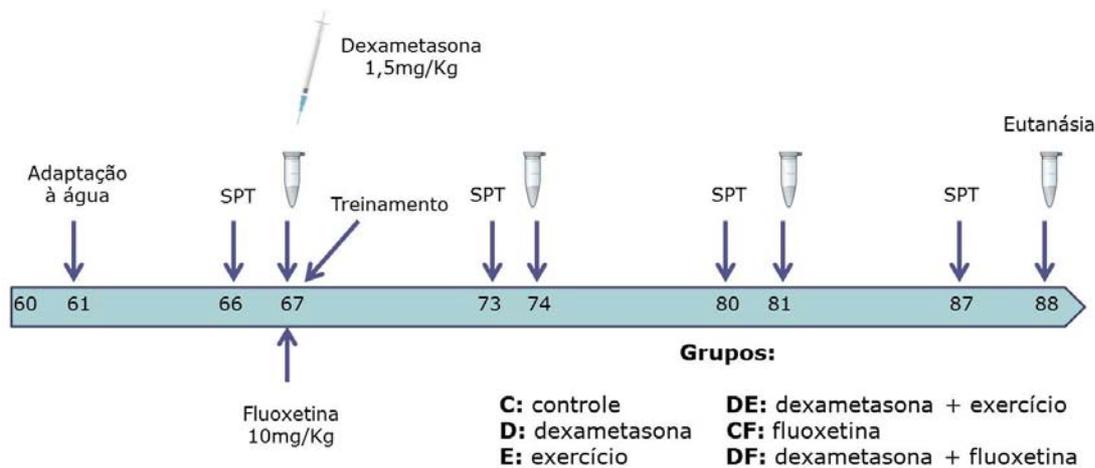


Figura IV: Esquema gráfico do desenho experimental.

Como controle, foi realizado um experimento agudo, no qual os animais foram divididos nos seguintes grupos:

- 7- Grupo controle sedentário (C);
- 8- Grupo submetido a exercício físico agudo (A);
- 9- Grupo submetido a exercício físico agudo incremental (AI);
- 10- Grupo sedentário + administração de dexametasona (D);
- 11- Grupo submetido a exercício agudo + administração de dexametasona (DA);
- 12- Grupo submetido a exercício agudo incremental + administração de dexametasona (DAI);

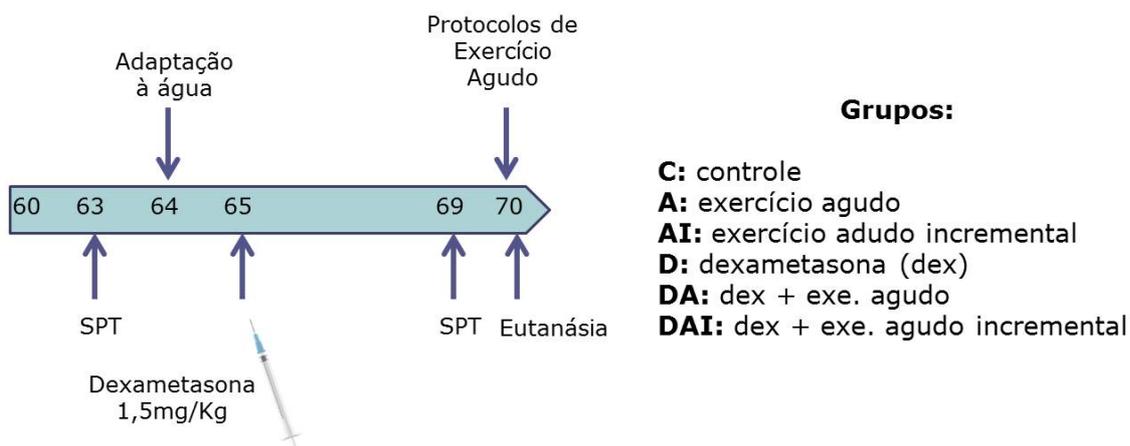


Figura V: Esquema gráfico do desenho experimental do protocolo agudo.

3.3 ADMINISTRAÇÃO DOS FÁRMACOS

A dexametasona é um glicocorticóide sintético que age como anti-inflamatório e imunossupressor. Está bem estabelecido que concentrações elevadas de dexametasona induzem comportamento depressivo em animais (Stranahan, Lee *et al.*, 2008). O protocolo utilizado no presente estudo foi adaptado de Casarotto e Andreatini (Casarotto e Andreatini, 2007). O tratamento com dexametasona (Aché laboratório; Guarulhos, SP, Brasil) teve início após o primeiro teste comportamental. Os animais dos grupos D, DE e DF receberam uma administração diária subcutânea de dexametasona (1,5 mg / Kg; volume médio administrado de 0,09mL), entre 8:00 e 8:30 horas da manhã com o objetivo de induzir uma resposta anedônica associada ao comportamento depressivo. Em adição, para avaliar a desregulação do eixo HPA, as concentrações de corticosterona foram determinadas por radioimunoensaio como descrito (Cadore, Lhullier *et al.*, 2008).

Os animais dos grupos F e D receberam fluoxetina (*Eli-Lilly and Company*; Indianapolis, IN, USA) via gavagem (10mg / Kg; volume médio administrado de 1mL) (Roche, Harkin *et al.*, 2007), utilizado este grupo como controle positivo. Em paralelo, os animais dos grupos C, E e F receberam injeções diárias de salina (1mL / Kg).

3.4 PROTOCOLO DE TREINAMENTO

3.4.1 Adaptação ao meio líquido

Os animais dos grupos E, e DE foram adaptados ao meio líquido antes do treinamento. A adaptação foi realizada por quatro dias, em piscina com 60x72x60cm com água a $31\pm 1^{\circ}\text{C}$, onde os animais ficaram separados por canos de 25cm de diâmetro. No primeiro dia, os animais ficaram por 5 minutos em água rasa. No segundo dia, 5 minutos com água em nível máximo, obrigando os animais a nadarem, seguido por mais dois dias, com incrementos de 5 minutos por dia, finalizando a semana com 15 minutos de nado sem sobrecarga.

3.4.2 Identificação da máxima fase estável de lactato (MLSS)

Para a identificação da MLSS, sete animais foram submetidos inicialmente ao protocolo de adaptação ao meio líquido. Posteriormente, foram submetidos a três esforços de nado, de carga constante, com duração de 30 minutos, nos quais amostras de sangue foram obtidas a cada 10 minutos para subsequente mensuração das concentrações de lactato. Esses animais foram utilizados somente para esse propósito, pois as coletas repetidas, somadas ao estresse de um teste submáximo, poderiam influenciar no comportamento dos animais. Os testes foram realizados em dias diferentes, com 48 horas de intervalo entre os mesmos, de forma randômica e com sobrepesos correspondentes a 5, 7 e 8% da massa corporal. O critério utilizado para identificação da MLSS foi a mais alta intensidade na qual a variação da concentração de lactato foi igual ou menor que $1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, entre o 10° e o 30° minuto, como descrito previamente em humanos (Beneke, 2003). Para a análise das concentrações de lactato, foram coletados 25 μL de sangue, a cada 10 minutos de exercício, através de um pequeno corte na porção distal da cauda do animal por punção via capilar heparinizado. Esse sangue foi colocado em tubos *ependorf* com 50 μL de fluoreto de sódio 1%, homogeneizado e o lactato foi mensurado em analisador específico YSL 2700 (YSL 2700, Yellow Springs, CA, USA).

3.4.3 Protocolo de exercício crônico – Treinamento de nado

O protocolo de exercício crônico foi desenvolvido de acordo com Gobatto *et al.* (2001) com algumas modificações (Gobatto, De Mello *et al.*, 2001). O treinamento consistiu de exercícios de nado (1h / dia, 5 dias / semana) durante 3 semanas, com um sobrepeso correspondente a 5% da massa corporal do animal. Essa sobrecarga correspondeu a aproximadamente 70% da MLSS, ou seja, os animais realizaram o treinamento em intensidade moderada, logo abaixo do limiar anaeróbio. Em adição, os níveis de testosterona foram mensurados para assegurar a intensidade do protocolo de treinamento e as possíveis adaptações em resposta a esse protocolo de exercício. Os níveis de testosterona foram quantificados por radioimunoensaio (Cadore, Lhullier *et al.*, 2008). As amostras de sangue foram coletadas por punção na veia sublingual, toda semana, entre as 9:00 e 10:00 horas da manhã.

3.4.4 Protocolo de exercício agudo

O experimento agudo consistiu em um exercício de nado, nas mesmas condições do protocolo crônico, mas com carga constante ou incremental. Os animais dos grupos A e DA foram submetidos a esforço único de 60 minutos de nado, com sobrepeso de 5% da massa corporal, após o período de quatro dias de adaptação à água. Os animais dos grupos AI e DAÍ foram submetidos a esforço único com cargas incrementais. Inicialmente, o exercício consistiu de 30 minutos de nado com sobrepeso de 5% da massa corporal, seguido por incremento de 1% de sobrecarga a cada 10 minutos, totalizando o exercício com 60 minutos e sobrecarga de 8% da massa corporal, ou até a exaustão do animal.

3.5 AMOSTRAS E COLETAS DE DADOS

Tanto a experimentação quanto as análises bioquímicas foram realizadas no Laboratório de Bioenergética e Estresse Oxidativo, Centro de Ciências Biológicas, UFSC. As análises de lactato foram realizadas no Laboratório de Bionergética e Estresse Oxidativo, Centro de Ciências Biológicas, UFSC; os níveis de corticosterona e testosterona foram analisados no Laboratório de Pesquisa do Exercício, Escola de Educação Física, UFRGS.

3.5.1 Amostras

Amostras de sangue para análise das concentrações de corticosterona e testosterona, no protocolo crônico, foram coletadas pelo método da punção via veia sublingual (Zeller, Weber *et al.*, 1998). Para isto, os animais foram anestesiados em ambiente adequado (capela) com cetamina (80 mg / kg) / xilazina (20 mg / kg) por via intraperitoneal.

Para a determinação dos diferentes parâmetros bioquímicos e histológicos os animais foram submetidos à eutanásia 24 horas após o término do protocolo de treinamento físico (experimento crônico) e 1 minuto após o exercício agudo (experimento agudo). Para isto, os animais foram também anestesiados em ambiente adequado (capela) com cetamina (80 mg / kg) e xilazina (20 mg / kg) por via intraperitoneal e sacrificados por decapitação com guilhotina. O cérebro foi rapidamente dissecado e preparado para as diferentes determinações.

3.5.2 Parâmetro comportamental

O teste de preferência da sacarose (*sucrose preference test – SPT*), utilizado para avaliar o comportamento anedônico, foi realizado como descrito em Casarotto e Andreatini (Casarotto e Andreatini, 2007). Os animais foram submetidos à exposição forçada a uma solução de sacarose 1% por 48h, sendo que nesse período tal solução foi o único líquido disponibilizado aos animais. Sempre antes da realização dos testes, os animais foram submetidos ao jejum por 16h.

Os SPTs foram realizados nas gaiolas dos animais (individuais), onde foram colocadas duas garrafas idênticas (mesmo tamanho, cor e bico) previamente pesadas; uma garrafa continha água filtrada e a outra, solução de sacarose 1%. Essas garrafas foram expostas simultaneamente aos animais por 1 hora, e posteriormente foram pesadas. A diferença nos pesos das garrafas foi considerada como o consumo dos fluidos pelos os animais. A soma dos consumos (água e solução de sacarose 1%) foi considerada como soma total, e a preferência à sacarose foi expressa pelo percentual de sacarose consumida relativa ao consumo total, como a seguir:

$$\% \text{ Preferência à sacarose} = \frac{\text{consumo de sacarose} \times 100}{\text{consumo total}}$$

Após o teste, os animais recebiam novamente água e comida *ad libitum*. Todos os testes foram realizados no mesmo horário e as garrafas foram colocadas de modo aleatório nas gaiolas com o objetivo de evitar uma possível habituação.

3.5.3 Medida do conteúdo de mRNA de BDNF e IL-10

O isolamento de RNA total foi realizado a partir de amostras hipocâmpais como descrito por Schito em colaboradores (Schito et al, 2001). A determinação da expressão de mRNA de BDNF e IL-10 foi realizada por PCR quantitativa em tempo real – *ABI Prism 7900 sequence detection system (Applied Biosystems, Foster City, CA)* – com a utilização de *SYBR Green PCR Master Mix* após a transcrição reversa de 1µg de RNA (HANSEN-SCHWARTZ et al., 2003).

Foram utilizados os seguintes primers: para 18S (normalização das amostras): 5'-CGTTGATTAAGTCCCTGCCCTT-3' (*forward*) e 5'-TCAAGTTCGACCGTCTTCTCA-3' (*reverse*); IL-10: 5'-

GCCAAGCCTTGTCAGAAATGA -3' (*forward*) e 5'-
 TTTCTGGGCCATGGTTCTCT -3 (*reverse*); BDNF: 5'-
 AAGGCTGCAGGGGCATAGAC -3' (*forward*) e 5'-
 TGAACCGCCAGCCAATTCTC - 3' (*reverse*).

3.5.4 Parâmetros histológicos

Após o término dos diferentes tratamentos *in vivo*, os animais foram perfundidos com solução de para-formaldeído 4%. Posteriormente, o cérebro foi removido, imediatamente imerso nesta solução por 24 horas (processo de fixação), e desidratado em série alcoólica crescente (1 hora em cada solução alcoólica: 70%, 80%, 90% e 100%, este último por duas vezes). Posteriormente, as peças foram imersas em solução alcoólica contendo xilol durante vinte minutos, diafanizadas em xilol e incluídas em parafina em moldes apropriados.

Após solidificação, os blocos de parafina foram removidos dos moldes, aparados e acoplados ao micrótomo rotativo. As análises de marcação imunohistoquímica de BDNF e 8-hidroxi-2'-deoxiguanosina (8OHdG) foram realizadas em fatias hipocampais de 7 µm como previamente descrito na literatura (Kato-Semba, Takeuchi *et al.*, 1997). Inicialmente, o anticorpo primário monoclonal anti-8OHdG (*JaICA*®; diluição 1:100) foi utilizado para identificar a oxidação ao DNA. A imunoreatividade ao BDNF foi identificada com a utilização de anticorpo policlonal anti-BDNF (*Chemicon*®; diluição 1:1000), o qual reconhece as formas pró-peptídeo (pro-BDNF) e madura do BDNF.

As imagens das fatias de hipocampo marcadas (regiões CA1, CA2 e CA3) foram obtidas com a utilização de uma câmera digital (*Nikon, Melville, NY, USA*) conectada em microscópio de luz *Eclipse 50i (Nikon, Melville, NY, USA)* em objetiva de imersão (aumento de 1000 x), com auxílio da gráticula de Weibel (*Weibels Graticule n°2*), em 5-8 campos aleatórios. As análises de marcação imunohistoquímica para 8OHdG e BDNF também foram realizadas em 5-8 campos aleatórios, através da análise de densidade óptica, utilizando-se o *software NIH ImageJ 1.36b (NIH, Bethesda, MD, USA)*, e os dados foram expressos através da média da densidade óptica.

3.6 TRATAMENTO ESTATÍSTICO

Inicialmente foram utilizados procedimentos da estatística descritiva (medidas de tendência central e dispersão); em seguida a normalidade das variáveis contínuas foi verificada por meio do teste de *Shapiro-Wilk*.

A análise inferencial da estatística foi realizada dependendo do experimento. No experimento crônico, para as análises da massa corporal e do SPT, foram realizadas análises de variância ANOVA de três vias para medidas repetidas (variáveis independentes: exercício, dexametasona e dias de vida; variáveis dependentes: massa corporal ou %SPT). Os dados de concentrações sanguíneas de corticosterona e testosterona, assim como conteúdo de BDNF e 8OHdG e as expressões de BDNF e IL-10 foram analisados através de análise de variância ANOVA de uma via seguidas por testes *post hoc* de *Duncan* quando os valores de F foram significativos. Em adição, para análise do SPT por dia, quando comparados todos os grupos incluindo os com fluoxetina, foi utilizado análise de variância ANOVA de uma via também seguidas por teste *post hoc* de *Duncan*.

Para o experimento agudo, a massa corporal foi analisada utilizando-se análise de variância ANOVA de duas vias para medidas repetidas (variáveis independentes: grupos e dias de vida; variáveis dependentes: massa corporal). Para as análises de concentrações sanguíneas de lactato e glicose, assim como para o SPT e total de líquido consumido no SPT, foram realizadas análises de variância ANOVA de uma via seguidas por testes *post hoc* de *Duncan* quando os valores de F foram significativos.

As análises estatísticas foram realizadas através do pacote estatístico SPSS® (*Statistical Package for the Social Sciences*) versão 16.0 para *Windows*®, e as diferenças entre grupos foram consideradas significativas quando $P \leq 0,05$ (IC=95%). Os resultados emergentes deste estudo foram organizados em gráficos confeccionados utilizando-se o programa *GraphPadPrism5*®.

4 RESULTADOS

O presente trabalho resultou na confecção de dois manuscritos, sendo o primeiro um artigo de revisão sobre depressão e exercício, e o segundo que contempla os resultados da presente investigação.

Manuscrito 1: “*Alterations Induced by Exercise and Their Impact on Depressive Disorders*”, publicado na *Clinical Practice and Epidemiology in Mental Health Neurobiological* (Helmich, Latini *et al.*, 2010);

Manuscrito 2: “*Molecular aspects involved in swimming exercise training reducing anhedonia in a rat model of depression*”, submetido à *Neuroscience* em 4 de janeiro de 2011.

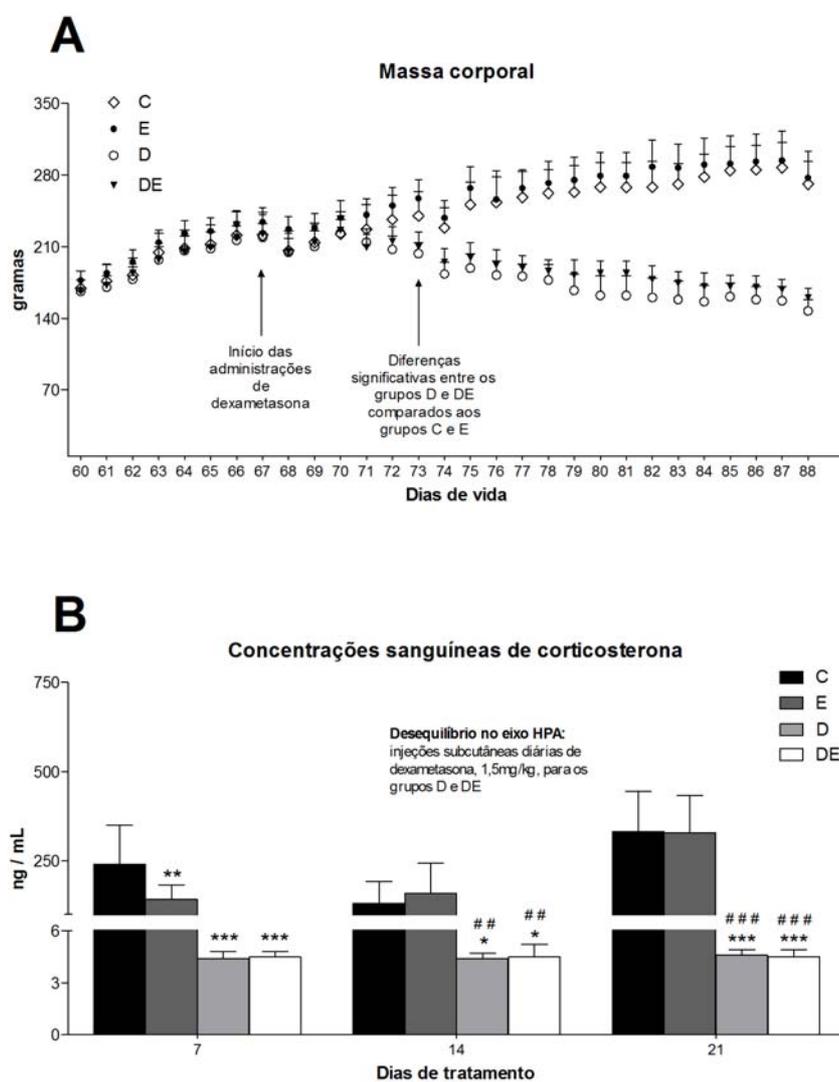
Os resultados a seguir correspondem aos organizados para a submissão no manuscrito 2.

4.1 EFEITOS DA ADMINISTRAÇÃO REPETIDA DE DEXAMETASONA NA MASSA CORPORAL E NAS CONCENTRAÇÕES SANGUÍNEAS DE CORTICOSTERONA

A figura 1A apresenta a redução na massa corporal dos animais dos grupos tratados com dexametasona, com diferenças significativas em seis dias após o início das administrações de dexametasona, mantidas até o final do tratamento. A análise estatística ANOVA de três vias para medidas repetidas mostrou efeito significativo das variáveis ‘dexametasona’ [F= 157,43; P < 0,001], ‘exercício’ [F=4,38; P < 0,05], e ‘dias de vida’ [F=81,81; P < 0,001]. Foi também observada interação entre ‘dexametasona’ e ‘dias de vida’ [F=22,94; P < 0,001], e entre os dois tratamentos ‘dexametasona’ + ‘exercício’ e ‘dias de vida’ [F=3,54; P < 0,001] (n= 5 – 8 por grupo). Em adição, a figura também mostra que o exercício não foi capaz de evitar os efeitos da dexametasona na redução da massa corporal. Finalmente, os animais do grupo C ganharam 60% de massa corporal desde o início do experimento e os do grupo E, 49%, enquanto que os animais que receberam as administrações de dexametasona, grupos D e DE, apresentaram uma redução de 56% e 52% respectivamente.

Na figura 1B está apresentada a desregulação do eixo HPA induzida pelo tratamento com dexametasona. As concentrações

sanguíneas de corticosterona foram significativamente reduzidas nos grupos D e DE, enquanto que os grupos C e E apresentaram concentrações maiores que 230 ng/mL durante o experimento (ANOVA de uma via para o dia 7: $[F(3,8)=16,38; P < 0,001]$; dia 14 : $[F(3,8)=11,36; P < 0,01]$; dia 21: $[F(3,9)=36,75; P < 0,001]$). Em adição, na figura 1C é demonstrada a redução tanto na massa como na síntese de colesterol das adrenais nos animais que receberam glicocorticoide exógeno.



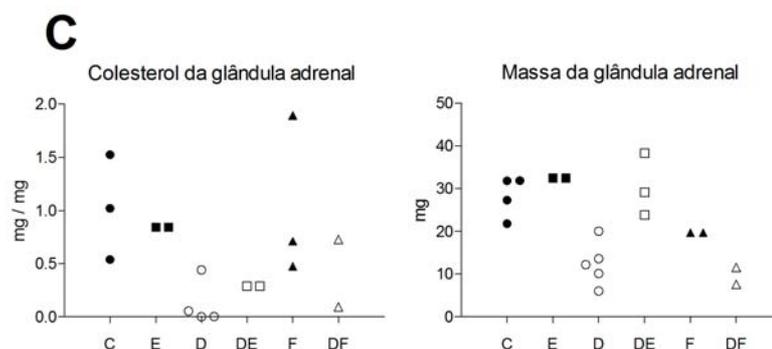


Figura 1: Efeitos da administração repetida de dexametasona na massa corporal (A), concentrações sanguíneas de corticosterona (B) e conteúdo de colesterol e massa das glândulas adrenais (C). A dexametasona (1,5 mg/kg) foi administrada subcutânea e diariamente durante 21 dias, iniciada aos 67 dias de vida dos animais. Foram encontradas reduções significativas na massa corporal a partir o sexto dia de administração. As injeções de glicocorticoide provocaram desequilíbrio no eixo hipotálamo-pituitária-adrenal (HPA) através da redução na síntese endógena de corticosterona. C: controle; E: exercício; D: dexametasona; DE: grupo dexametasona + exercício; F: fluoxetina; DF: dexametasona + fluoxetina. ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$, quando comparados ao grupo C. ## $P < 0,01$, ### $P < 0,001$, relative ao grupo E.

4.2 EFEITOS DO PROTOCOLO DE TREINAMENTO DE NADO NAS CONCENTRAÇÕES SANGUÍNEAS DE TESTOSTERONA NOS ANIMAIS TRATADOS COM DEXAMETASONA

O efeito positivo do treinamento físico em aumentar as concentrações sanguíneas de testosterona é demonstrado na figura 2A. A aplicação do protocolo de nado aumentou as concentrações sanguíneas de testosterona nos animais do grupo E durante todo o treinamento físico (dia 7: $[F(3,16)= 16,96; P < 0,001]$; dia 14: $[F(3,13)= 5,58; P < 0,05]$; dia 21: $[F(3,14)= 7,68; P < 0,01]$). A adaptação ao protocolo de treinamento pode ser observada pela diminuição discreta, mas linear, nas concentrações desse hormônio [$\beta = - 0,67; P < 0,05$]. Por outro lado, os animais do grupo DE apresentaram um aumento leve, mas não significativo, nas concentrações de testosterona durante o experimento (350 % no dia 21).

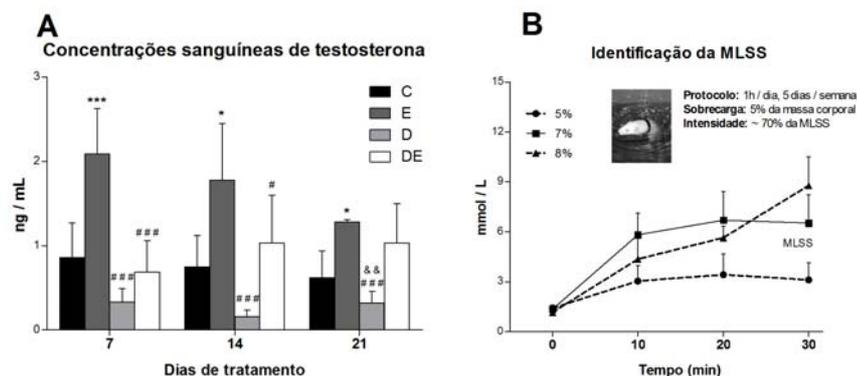


Figura 2: Efeito dos protocolos de nado nas concentrações sanguíneas de testosterona (A) e lactato (B). O treinamento que consistiu de nado de 1h / dia, 5 dias / semana, com sobrecarga de 5% da massa corporal em intensidade ~70% da máxima fase estável de lactato (MLSS), induziu a um aumento significativo nas concentrações de testosterona. Para a identificação da MLSS, 7 animais foram submetidos a três esforços constantes (-●- 5%, -■- 7%, ou -▲- 8% da massa corporal) com duração de 30 minutos, nos quais as concentrações de lactato foram mensuradas a cada 10 min. A MLSS foi considerada como a mais alta intensidade na qual o incremento nas concentrações de lactato foi igual ou menor a 1,0 mmol L⁻¹ min⁻¹, entre o 10^o e o 30^o minuto. Os animais apresentaram MLSS com 6,5 mmol L⁻¹ de lactato com uma sobrecarga equivalente a 7% da massa corporal. C: controle; E: exercício; D: dexametasona; DE: dexametasona + exercício. * P < 0,05, *** P < 0,001, comparados ao grupo C. ### P < 0,001, quando comparados ao grupo E, && P < 0,01, comparado ao grupo DE.

A figura 2B apresenta a identificação da MLSS em protocolo de exercício de nado. Foi utilizada uma intensidade aeróbia moderada para os experimentos, sendo essa representada por uma sobrecarga de 5% da massa corporal (aproximadamente 70% da MLSS), intensidade abaixo do limiar aneróbio. Os animais apresentaram MLSS em 6,5 mmol.L⁻¹ de lactato com sobrepeso de 7% da massa corporal.

4.3 EFEITO DA ADMINISTRAÇÃO AGUDA DE DEXAMETASONA NA MASSA CORPORAL E NAS RESPOSTAS DO LACTATO E GLUCOSE APÓS PROTOCOLOS AGUDOS DE EXERCÍCIO FÍSICO

A figura 3 mostra o efeito da administração aguda de dexametasona sobre a massa corporal, concentrações de lactato e de glicose. A figura 3A mostra que a administração de dexametasona

diminuiu significativamente na massa corporal dos animais dos grupos tratados com dexametasona submetidos aos protocolos de exercício agudo, bem como no grupo sedentário. A análise estatística ANOVA de duas vias para medidas repetidas mostrou efeito significativo dos 'grupos' [$F= 3,27$; $P < 0,05$], e 'dias de vida' [$F=90,80$; $P < 0,001$]. Foi também observada interação entre as duas variáveis [$F=6,63$; $P < 0,001$] ($n= 3 - 4$ por grupo).

Na figura 3B é demonstrado o estado de anaerobiose induzido pelo protocolo de exercício agudo em intensidades ultrapassando a MLSS. Como esperado, um único esforço de exercício, com sobrecarga de 5% da massa corporal durante 1 hora, sem adaptação, gerou concentrações médias de lactato de 4mmol/L no grupo A, enquanto que nos animais tratados com dexametasona essas concentrações foram duplicadas [$F(5,13)= 40,21$; $P < 0,001$]. Esse efeito do glicocorticoide não foi observado nos animais submetidos ao protocolo de exercício agudo incremental (iniciado com intensidade correspondente a 5% da massa corporal por 30 minutos, com incrementos de 1% da massa corporal a cada 10 minutos, finalizando o exercício em 1 hora ou até a exaustão). Um perfil similar foi encontrado nas concentrações de glicose provenientes da mesma amostra (Figura 3C). Os animais tratados com dexametasona apresentaram uma diminuição na tolerância a glicose [$F(5,13)= 19,67$; $P < 0,001$].

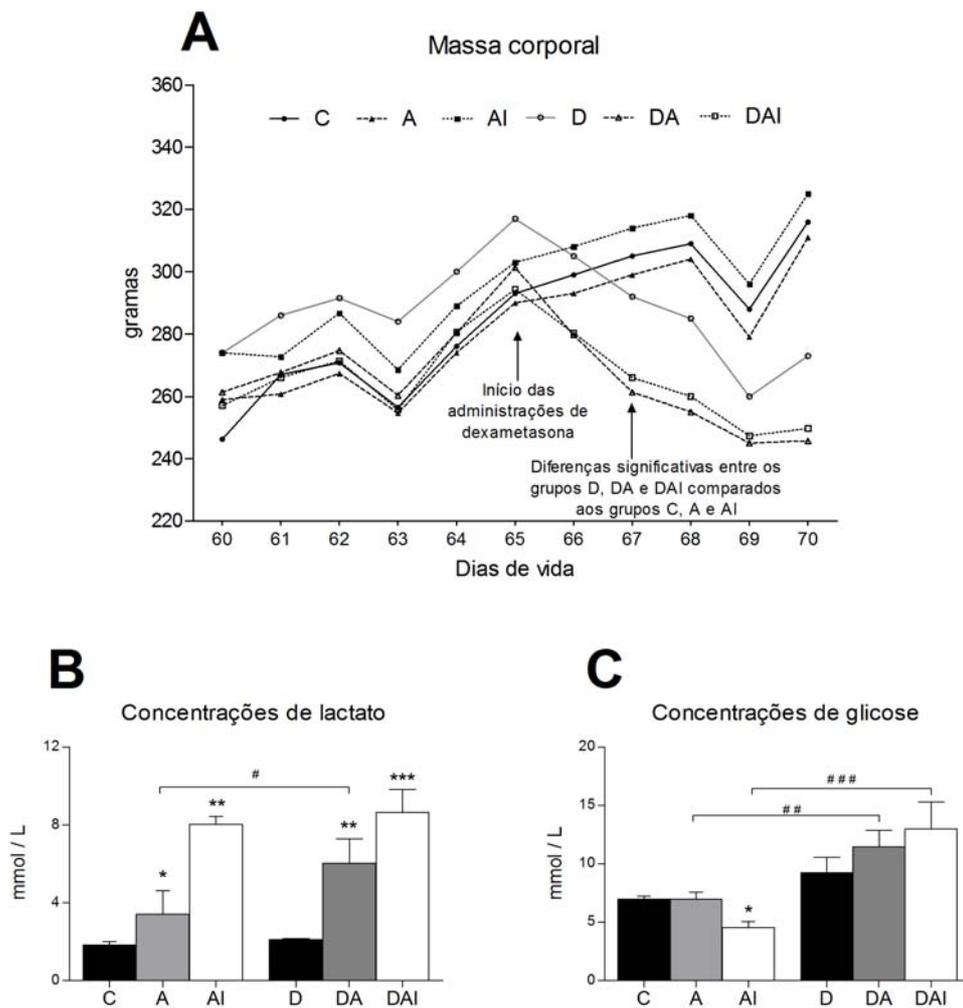


Figura 3: Efeito da administração aguda de dexametasona na massa corporal (A) e concentrações de lactato (B) e glicose (C). As administrações diárias e subcutâneas de dexametasona (1,5 mg / kg) ocorreram durante 4 dias, iniciando aos 65 dias de vida dos animais. Foi observada redução significativa na massa corporal após dois dias de administração. C: controle; E: exercício; D: dexametasona; DE: dexametasona + exercício; A: exercício agudo; AI: exercício agudo incremental; DA: dexametasona + exercício agudo; DAI: dexametasona + exercício agudo incremental. * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$, quando comparados ao grupo C. As diferenças significativas entre os grupos de exercício agudo e exercício agudo incremental estão apresentadas na figura como # $P < 0,05$, ## $P < 0,01$, ### $P < 0,001$.

4.4 EFEITOS DAS ADMINISTRAÇÕES CRÔNICA E AGUDA DE DEXAMETASONA NO COMPORTAMENTO DEPRESSIVO, ANEDONIA

A figura 4A mostra que o modelo de depressão de dexametasona utilizado no presente estudo, foi capaz de induzir um comportamento depressivo nos animais após três semanas de tratamento, sendo que esse efeito foi prevenido pelo treinamento físico. ANOVA de uma via indica que no dia 21, após as administrações de dexametasona, o grupo D diferiu de todos os outros significativamente (dia 7: [F(3,18)= 0,68; P = 0,576]; dia 14: [F(3,18)= 1,57; P = 0,231]; dia 21: [F(3,18)= 9,52; P < 0,001]), indicando um efeito benéfico e antagonista do treinamento físico no comportamento depressivo. Por outro lado, a menor preferência pela sacarose não esteve relacionada com o consumo de líquido, visto que a quantidade de líquido consumido por animal em relação à sua massa corporal não diferiu entre eles (Tabela 3). Em adição, a figura 4B apresenta um efeito similar no SPT quando foi utilizado um antidepressivo clássico, a fluoxetina (10 mg/kg massa corporal/dia) (dia 7: [F(3,25)= 1,79; P = 0,174]; dia 14: [F(3,25)= 1,78; P = 0,177]; dia 21: [F(3,23)= 5,37; P < 0,01]). Ainda, a figura 4C indica que a administração crônica de dexametasona (quatro dias) não foi capaz de induzir ao comportamento depressivo, anedonia.

Tabela 3- Efeito da administração repetida de dexametasona na razão consumo líquido total (g*) / massa corporal animal (g)

	C	E	D	DE
7 dias	0.08 ± 0.01	0.10 ± 0.09	0.07 ± 0.03	0.11 ± 0.06
14 dias	0.05 ± 0.00	0.06 ± 0.01	0.06 ± 0.03	0.06 ± 0.02
21 dias	0.11 ± 0.05	0.09 ± 0.07	0.06 ± 0.02	0.13 ± 0.11

Média ± erro padrão

* Densidade da água 1 g.mL⁻¹

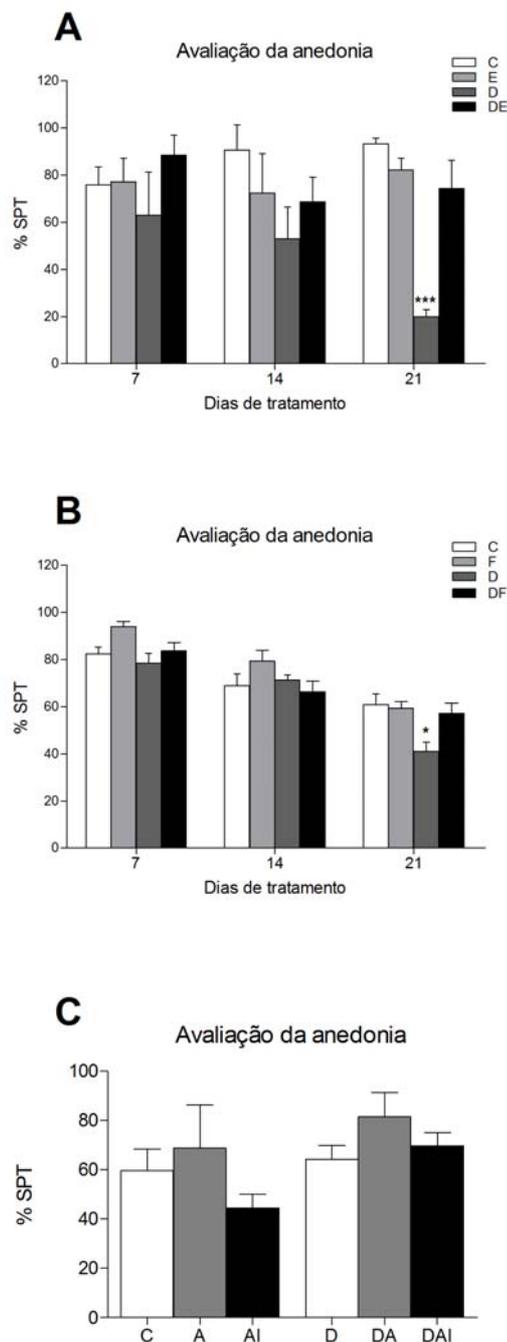
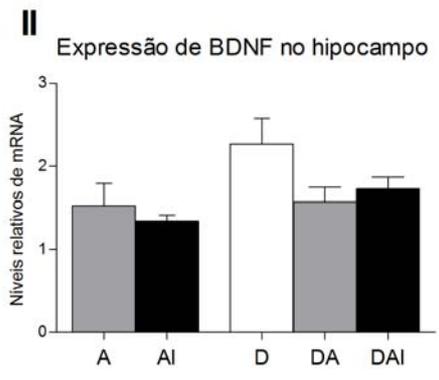
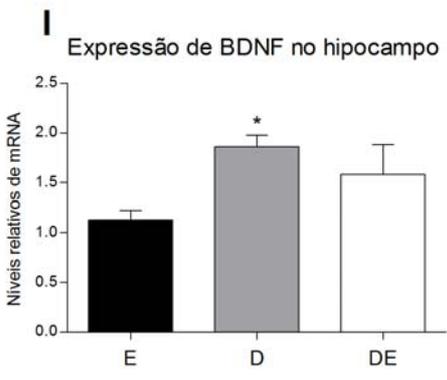
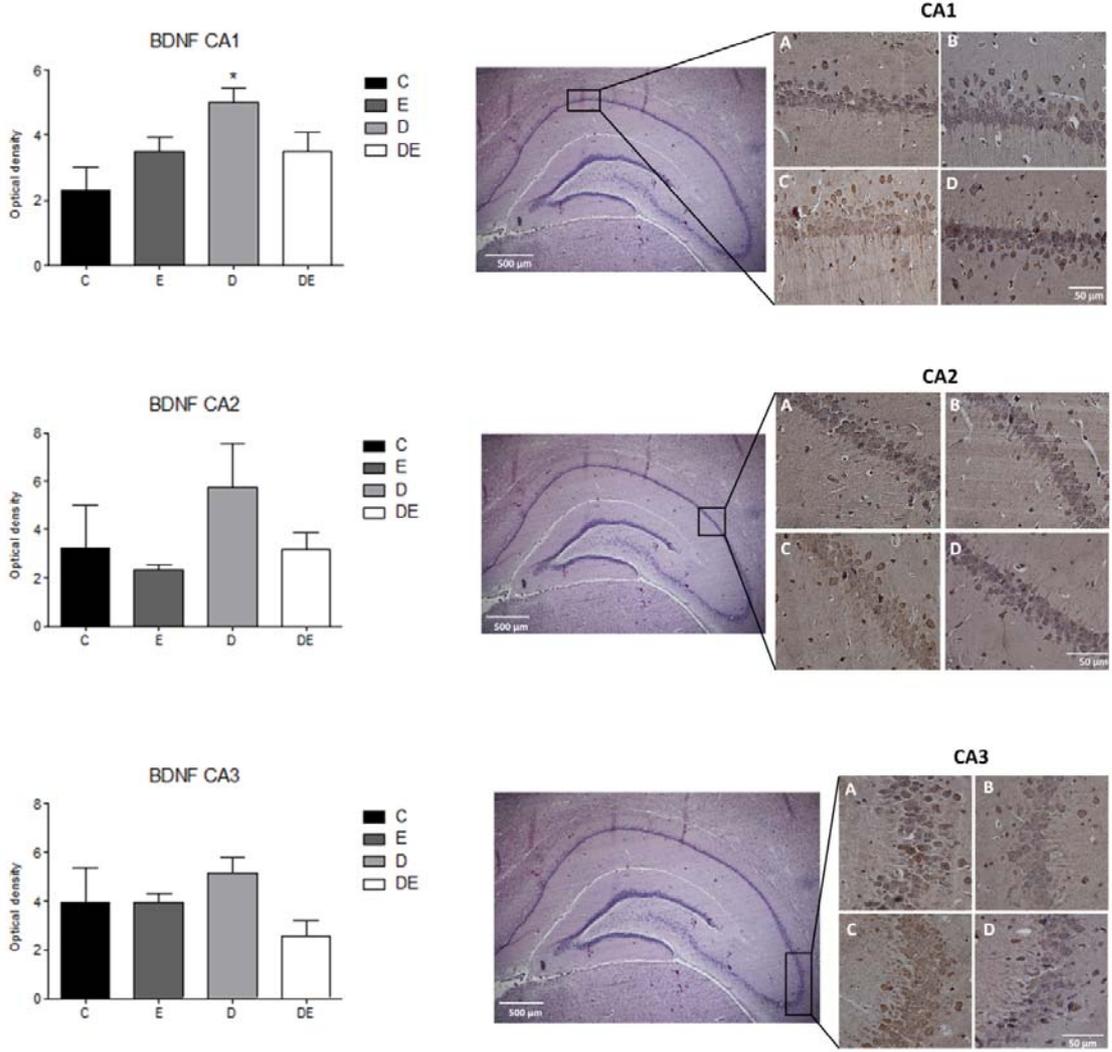


Figura 4: Efeito do treinamento físico (A), administração crônica de fluoxetina (10 mg / kg; gavagem por 21 dias) (B) e exercício físico agudo (C) no comportamento depressivo, anedonia, induzido pela administração repetida de dexametasona (1,5 mg / kg). Os valores estão em média \pm erro padrão ($n = 5 - 8$). O teste de preferência a sacarose foi utilizado para mensuração da anedonia. C: controle; E: exercício; D: dexametasona; DE: dexametasona + exercício; F: fluoxetina; DF: dexametasona + fluoxetina; A: exercício agudo; AI: exercício agudo incremental; DA: dexametasona + exercício agudo; DAI: dexametasona + exercício agudo incremental. Foram observadas diferenças significativas no SPT após 21 dias de administração de dexametasona. * $P < 0,05$, *** $P < 0,001$, quando comparados ao grupo C.

4.5 EFEITOS DA ADMINISTRAÇÃO DE DEXAMETASONA NAS CONCENTRAÇÕES HIPOCAMPAIS DE BDNF (FORMAS PRÓ- E MADURA) E IL-10

As figuras 5A e 5B apresentam os efeitos do treinamento físico na imunoreatividade e expressão da neurotrofina BDNF. A imunoreatividade para a proteína BDNF foi significativamente maior na região CA1 do hipocampo no grupo D, como mostrado na figura 5A [$F_{(3,14)} = 3,97$; $P < 0,05$]. Em adição, também foi demonstrado um aumento significativo na expressão gênica do BDNF [$F_{(3,6)} = 6,28$; $P < 0,05$] quando comparado ao grupo E, ambos relativos ao grupo controle (Figure 5B-I). Esse efeito foi similar também no protocolo de nado agudo (Figure 5B-II [$F_{(4,10)} = 2,70$; $P = 0,09$]). De forma semelhante, a expressão de IL-10 também foi elevada no hipocampo no grupo D, e ambos protocolos, crônico e agudo (Figure 5C-I: [$F_{(2,6)} = 5,82$; $P < 0,05$]; 4C-II: [$F_{(4,11)} = 4,11$; $P < 0,05$]). Como pode ser observado na figura, o treinamento físico previniu significativamente esse efeito.



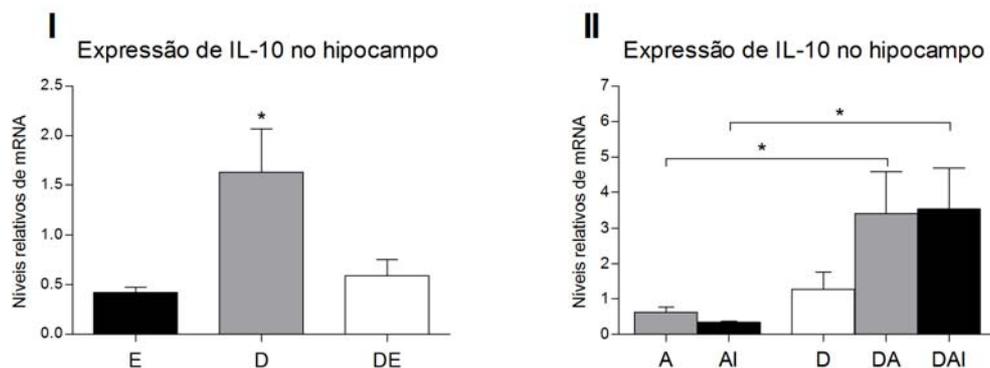


Figura 5: Efeito do exercício no conteúdo de BDNF (pró e maduro) e IL-10 no hipocampo de ratos expostos a dexametasona (1,5 mg / kg) crônica (21 dias) e aguda (4 dias). Foi observado aumento na imunoreatividade do BDNF (pro e maduro) na região CA1 do hipocampo dos animais tratados com dexametasona (A); aumento significativo também nas expressões (mRNA) de BDNF e IL-10 nos animais expostos de forma crônica a dexametasona (BI; CI). O protocolo de exercício agudo foi capaz de induzir aumento na expressão de IL-10, mas sem modificar a expressão de BDNF nos animais tratados com dexametasona (BII; CII) (ver detalhes em métodos). C: controle; E: exercício; D: dexametasona; DE: dexametasona + exercício; A: exercício agudo; AI: exercício agudo incremental; DA: dexametasona + exercício agudo; DAI: dexametasona + exercício agudo incremental. * $P < 0,05$, quando comparados ao grupo C em 5A; * $P < 0,05$, comparados ao grupo E em 5BI e 5BII; * $P < 0,05$, comparando DA vs A e DAI vs AI. Barras: 500 μm e 50 μm no *insert*.

4.6 EFEITO DA ADMINISTRAÇÃO REPETIDA DE DEXAMETASONA NA OXIDAÇÃO AO DNA

A figura 6 apresenta os efeitos do protocolo de treinamento de nado no clássico marcador de dano oxidativo ao DNA, a 8OHdG, no hipocampo. Observa-se que o imunocontéudo de 8OHdG foi significativamente maior nas regiões CA1 e CA2 no hipocampo dos animais do grupo D. Além disso, a figura também demonstra que o treinamento físico foi capaz de prevenir contra esse aumento (CA1: $[F(3,27)= 6,47; P < 0,01]$; CA2: $[F(3,25)= 5,94; P < 0,01]$).

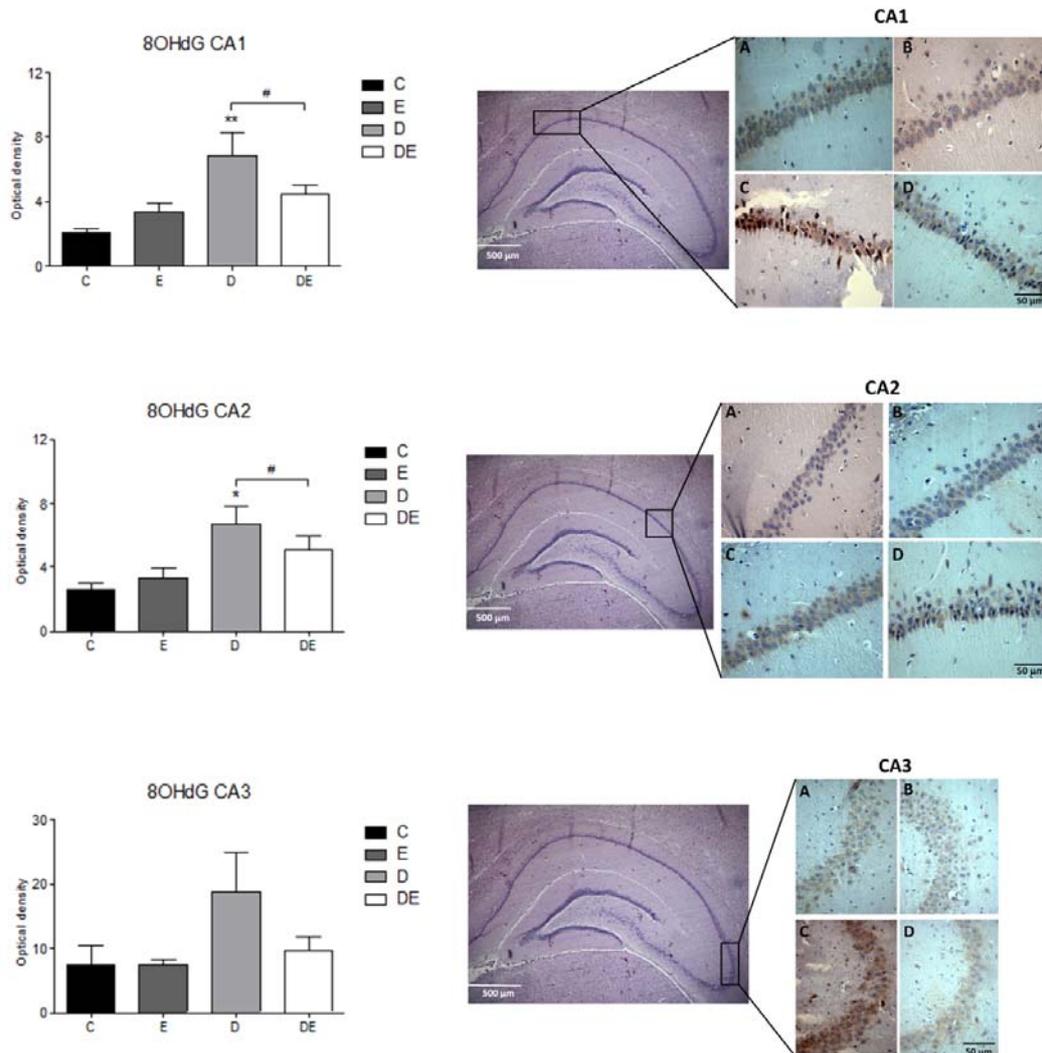


Figura 6: Efeito do exercício na 8-hidroxi-2,-deoxiguanosina (8OHdG) nos animais tratados com dexametasona (1,5 mg / kg) por período de 21 dias. Foi observada um aumento significativo no imunocntéudo de 8OHdG nas regiões CA1 e CA2 do hipocampo de animais tratados com dexametasona, indicando oxidação ao DNA (ver detalhes em métodos). C: controle; E: exercício; D; dexametasona; DE: dexametasona + exercício. * $P < 0,05$, comparados ao grupo C; # $P < 0,05$, comparando D vs DE. Barras: 500 μm e 50 μm no *insert*.

5 DISCUSSÃO

A depressão, caracterizada por humor depressivo, anedonia, sentimentos de inutilidade, fadiga e pensamentos sobre morte e suicídio, é um dos principais problemas de saúde pública no mundo, devido à sua associação com altas taxas de morbidade e mortalidade (Cassano e Fava, 2002; Nestler, Barrot *et al.*, 2002; Parker, Schatzberg *et al.*, 2003; Moussavi, Chatterji *et al.*, 2007; Chapman e Perry, 2008; Helmich, Latini *et al.*, 2010). Há na literatura evidências que sugerem que o exercício pode servir como um tratamento tão eficaz como a psicoterapia e até mais eficiente que outras intervenções comportamentais para o tratamento de distúrbios do humor (North, Mccullagh *et al.*, 1990; Craft e Landers, 1998; Blumenthal, Babyak *et al.*, 1999; Hoffman, Babyak *et al.*, 2010). Em 1984, McCann e colaboradores demonstraram em um grupo de estudantes femininas, com escores elevados no Inventário de Depressão de Beck, uma redução significativa nesses escores de depressão após dez semanas de treinamento aeróbio (McCann e Holmes, 1984). A partir desse estudo, diversos outros demonstram os impactos positivos do exercício na depressão (Phillips, Kiernan *et al.*, 2003; Duman, 2005). Em adição, esses estudos também demonstraram outras vantagens desta terapia não-farmacológica, incluindo baixo custo, efeitos positivos relacionados ao desempenho atlético e risco cardiovascular, ausência de efeitos secundários à depressão e prevenção de episódios depressivos futuros, além de outros. No entanto, o tipo do exercício, assim como a intensidade, volume e frequência, não foram descritos com detalhes, o que provocou algumas divergências nos resultados. Sendo assim, o presente estudo teve como objetivo investigar se o treinamento de nado (21 dias) é um tratamento forte o suficiente para gerar efeitos positivos sobre o comportamento depressivo em animais (modelo animal de anedonia induzido por dexametasona).

No presente trabalho, o SPT foi utilizado como parâmetro para mensuração do comportamento depressivo em ratos e o desequilíbrio do eixo HPA, os quais foram induzidos através da administração crônica e repetida de glicocorticóide sintético, dexametasona. Esse protocolo tem sido utilizado em outros estudos para induzir anedonia em animais, um dos sintomas necessários para o diagnóstico da depressão em humanos (Oei, Verhoeven *et al.*, 1990; Association, 2000; Nestler, Barrot *et al.*, 2002; Willner, 2005). Os animais tratados com dexametasona apresentaram uma perda de massa corporal severa, redução na massa da

glândula adrenal e no colesterol (precursor da corticosterona; figura S1) e diminuição nas concentrações plasmáticas de corticosterona, características frequentemente observadas em indivíduos depressivos (Rannels e Jefferson, 1980; Willner, Moreau *et al.*, 1996; Pignatelli, Magalhaes *et al.*, 1998; Parker, Schatzberg *et al.*, 2003; Casarotto e Andreatini, 2007; Feng, Rhodes *et al.*, 2009; Garcia-Garcia, Elizalde *et al.*, 2009). Em adição, o efeito da redução no sistema de retroalimentação provocado pela contínua e alta concentração de dexametasona (comportamento depressivo) visto nos animais do grupo D, suportam a teoria de que os corticosteroides têm um papel importante na neurobiologia da depressão. Nesse contexto, o modelo genético de depressão recentemente caracterizado, no qual a retirada de um alelo do receptor de glicocorticóide gera uma redução de 50% na quantidade desses receptores, demonstrou que a neurogênese no hipocampo, uma das principais estruturas cerebrais envolvidas nas desordens depressivas, é reduzida quando uma condição depressiva é induzida (Kronenberg, Kirste *et al.*, 2009). Em adição, os tratamentos antidepressivos podem normalizar a disfunção no eixo HPA em pacientes com depressão, além de aumentar os receptores de corticosteroides no cérebro, tanto em animais como em humanos (Holsboer, 2000).

Os resultados do presente estudo demonstraram uma resposta antidepressiva em animais expostos cronicamente à dexametasona, após realizarem um treinamento em intensidade abaixo do limiar anaeróbio (MLSS). Esses animais demonstraram menor anedonia no SPT, sugerindo que o exercício aeróbio, mesmo para sujeitos em estado depressivo, é um tratamento com força suficiente para induzir ações benéficas (Lawlor e Hopker, 2001). Em adição, esse efeito não se deu pela necessidade de maior consumo da solução de sacarose por parte dos animais exercitados, devido às calorias gastas no exercício, visto que a razão líquido consumido / massa corporal foi similar entre os diferentes grupos experimentais (Tabela 3). Entretanto, o impacto do exercício físico observado no comportamento dos animais pôde ser considerado um processo a longo prazo, visto que os efeitos benéficos foram vistos apenas após a terceira semana de treinamento, efeitos não observados nos protocolos de exercício agudo (uma sessão de nado por 1 hora com sobrepeso de 5% da massa corporal ou uma sessão iniciando com 5% da massa corporal por 30 minutos, com incrementos de 1% de massa corporal a cada 10 minutos, finalizando o exercício em 1 hora ou até a exaustão; Figura S4). Em adição, o efeito positivo do exercício físico sobre o comportamento depressivo foi similar ao tratamento com fluoxetina, corroborando com as modificações neuroplásticas induzidas

pelos antidepressivos farmacológicos administrados cronicamente (Berton e Nestler, 2006; Hoffman, Babyak *et al.*, 2010).

Os mecanismos moleculares responsáveis pelos efeitos positivos do treinamento físico observados no modelo de comportamento anedônico induzido por dexametasona, podem ser ligados com o aumento nas concentrações plasmáticas de testosterona, normalização nas concentrações de BDNF (formas madura e pró-BDNF) e no conteúdo de IL-10 e/ou inibição da oxidação ao DNA no hipocampo (imunoc conteúdo de 8OHdG). O aumento das concentrações sanguíneas de BDNF já foi bem descrita em humanos submetidos ao treinamento físico e em diferentes modelos experimentais (Duman, 2005; Duman e Monteggia, 2006; Aguiar, Tuon *et al.*, 2007; Aguiar, Speck *et al.*, 2008; Zoladz, Pilc *et al.*, 2008; Grandys, Majerczak *et al.*, 2009). Entretanto, tais estudos não discriminam claramente qual peptídeo foi investigado, como por exemplo pró-BDNF ou BDNF maduro. Nossos resultados demonstraram um aumento significativo tanto na imunoreatividade ao BDNF, como na expressão de BDNF no hipocampo, nos animais do grupo D (tratados com dexametasona). Como o anticorpo utilizado identifica ambas as formas dessa neurotrofina, e o aumento da expressão gênica de BDNF é relacionada à sua forma pró desse fator neurotrófico, concluímos que o aumento nas concentrações de BDNF no hipocampo estão associadas com essa forma imatura da neurotrofina. Nesse contexto, o BDNF é sintetizado primeiramente por seu precursor, a forma pró-BDNF, o qual é subsequentemente clivado tanto intracelular, pelas pró-hormonioconverteases e/ou furinas, e extracelular através das plasminas e metaloproteases, para gerar a forma madura do BDNF, a qual se liga aos receptores TrkB (Mowla, Pareek *et al.*, 1999; Seidah e Chretien, 1999). A forma pró-BDNF é conhecida por ligar-se ao receptor de neurotrofina p75 (p75NTR), o qual está localizado nos axônios e na região pré-sináptica (Dougherty e Milner, 1999), assim como, nas espinhas dendríticas na região CA1 (Woo, Teng *et al.*, 2005) (região do hipocampo com a maior oxidação ao DNA e conteúdo pró mais maduro de BDNF, Figuras 5 and 4A, respectively). A ativação da p75NTR tem sido implicada na apoptose, alongamento axonal e transmissão sináptica (Dechant e Barde, 2002). Foi proposto recentemente que o p75NTR, via pro-BDNF, pode prejudicar também a plasticidade sináptica, facilitando a depressão de longa duração ao invés de potenciação de longa duração (Woo, Teng *et al.*, 2005). Sendo assim, ambas as formas do BDNF tem funções distintas e opostas na regulação da morte e sobrevivência celular (Teng, Teng *et al.*, 2005).

Consequentemente, a clivagem do pro-BDNF é um passo crucial na neuroplasticidade e, um eventual desequilíbrio nesse processo levaria a uma inibição no crescimento neuronal natural e redução na densidade dendrítica no hipocampo (Koshimizu, Kiyosue *et al.*, 2009). Além disso, foi demonstrado que a redução no conteúdo da forma madura de BDNF incitava em um aumento na ingestão de alimento, massa corporal e atividade locomotora (Hayes, Towner *et al.*, 1997; Ono, Ichihara *et al.*, 1997; Kernie, Liebl *et al.*, 2000; Xu, Goulding *et al.*, 2003; Sha, Xu *et al.*, 2007), e também em desenvolvimento de resistência a insulina, caracterizado pela concentrações elevadas de glicose, insulina e leptina (Kahn, Hull *et al.*, 2006; Sha, Xu *et al.*, 2007), corroborando com a tolerância a glicose aumentada, assim como desequilíbrio no metabolismo oxidativo aeróbio, observado nos animais tratados com dexametasona (Figura S3A e B). Portanto, nossos resultados demonstraram que o protocolo de treinamento de nado foi capaz de evitar o aumento do conteúdo de pró-BDNF induzido pela dexametasona. Além disso, os protocolos de exercício agudo também provocaram aumentos na expressão de BDNF, indicando que a síntese dessa neurotrofina é estimulada pelo exercício físico; entretanto, a clivagem correta, quando modificada, levaria a uma diminuição nos efeitos de neuroplasticidade próprios do BDNF.

A expressão da IL-10 teve um perfil similar ao BDNF. Os níveis dessa citocina inflamatória foram significativamente aumentadas nos animais tratados com dexametasona, tanto no modelo crônico como nos modelos agudos de exercício. Embora seja difícil correlacionar esta alteração no hipocampo, têm sido descrito que o aumento nas concentrações de IL-10 no sangue é um dos principais preditores de mortalidade em condições como infarto do miocárdio (Yip, Youssef *et al.*, 2007), trauma (Stensballe, Christiansen *et al.*, 2009), síndromes mielodisplásicas (Tsimberidou, Estey *et al.*, 2008), dentre outras. Tal dado poderia sugerir uma maior alteração no sistema imune como era considerado para pacientes depressivos, fato que possivelmente se correlaciona com o comprometimento na clivagem do BDNF (Pang, Teng *et al.*, 2004).

Considerando que concentrações sanguíneas elevadas e crônicas de glicocorticoides são capazes de induzir alterações atroficas em subregiões do hipocampo (Mcewen, 2007), contribuindo para as reduções no volume hipocampal visto em tecidos *post-mortem* de pacientes depressivos (Bremner, Narayan *et al.*, 2000), decidimos investigar o percentual de oxidação ao DNA nos animais tratados com dexametasona. Como visto na figura 5, os animais do grupo D

apresentaram uma maior imunoreatividade a 8OHdG nas regiões CA1 e CA2, enquanto que o exercício pareceu ser um agente protetor em potencial no grupo DE. Esses dados demonstram que o exercício pode ter um importante papel contra os danos no hipocampo causados pela exposição aos glicocorticoides, e esse efeito benéfico, como previamente sugerido, pode ser explicado pelas alterações na plasticidade sináptica, neurogênese e sinaptogênese (Castren, 2005), e também pode estar relacionado com o aumento nas concentrações de testosterona no cérebro (Mukai, Tsurugizawa *et al.*, 2006). Nesse interim, a testosterona têm sido proposta como um fator neurotrófico que teria uma função protetora em situações como, por exemplo, dano celular induzido pela administração de ácido caínico (Bi, Broutman *et al.*, 2000; Azcoitia, Sierra *et al.*, 2001; Bialek, Zaremba *et al.*, 2004; Nguyen, Jayaraman *et al.*, 2010). Algumas evidências têm demonstrado uma relação entre baixas concentrações de testosterona (hipogonadismo) e alta predisposição em desenvolver comportamentos depressivos, doença de Alzheimer, osteoporose, diabetes, doenças cardiovasculares e obesidade (Shores, Sloan *et al.*, 2004; Gold e Voskuhl, 2006; Zitzmann, 2006; Rosario e Pike, 2008; Hintikka, Niskanen *et al.*, 2009; Giltay, Tishova *et al.*, 2010). Em adição, outros estudos demonstraram os efeitos positivos do tratamento com testosterona na depressão (Shores, Kivlahan *et al.*, 2009; Zarrouf, Artz *et al.*, 2009; Giltay, Tishova *et al.*, 2010). Como apontado por Frazer e colaboradores, o exercício físico aeróbio e crônico (treinamento aeróbio), o qual eleva as concentrações sanguíneas de testosterona, pode ser um dos melhores tratamento não farmacológicos para a depressão (ou terapia coadjuvante), sendo dependente da sua intensidade (Frazer, Christensen *et al.*, 2005).

Por fim, têm sido demonstrado que as concentrações de BDNF no cérebro podem ser reguladas positivamente pelas concentrações desse fator neurotrófico no sangue, sendo que o próprio BDNF também está envolvido na expressão e manutenção dos receptores andrógenos no cérebro (Yang e Arnold, 2000).

6 CONCLUSÕES

- A administração repetida de dexametasona foi capaz de induzir alterações relacionadas com os sintomas de depressão como desequilíbrio na massa corporal (perda), diminuição nas concentrações de corticosterona e aumento na resposta anedônica;

- A desregulação do eixo HPA provocou um aumento exacerbado na expressão de IL-10 no hipocampo, citocina que pode ser considerada um preditor de morte celular;

- Um dos principais mecanismos responsáveis pelos efeitos benéficos do exercício pode ser atribuído ao aumento da testosterona e da neurotrofina BDNF, sendo que o protocolo de treinamento aeróbio utilizado, próximo da MLSS, parece indicar uma intensidade de exercício adequada para o tratamento da depressão.

Em resumo, nossos experimentos demonstraram que o treinamento físico foi o fator responsável pela proteção contra o comportamento depressivo em ratos expostos a dexametasona. O impacto depressivo do treinamento físico no modelo de depressão em ratos, realizado em intensidade abaixo do limiar aneróbio (MLSS) levou a remissão dos sintomas anedônicos, sugerindo que o treinamento físico poderia induzir a alterações biológicas similares às provocadas pelos antidepressivos farmacológicos. Em adição, tal protocolo de treinamento pode proteger das alterações neuroquímicas induzidas pela administração crônica de dexametasona.

7 PERSPECTIVAS

- Padronização e realização de outros protocolos de exercício, com diferentes intensidades e volumes, a fim de se identificar o desenho de exercício mais apropriado para a prevenção e tratamento da depressão;

- Utilização de outros protocolos de avaliação de comportamentos depressivos além da anedonia;

- Avaliação de mais parâmetros moleculares e bioquímicos, como concentrações de monoaminas, de citocinas, formas diferentes de BDNF, dentre outras capazes de melhor elucidar os mecanismos responsáveis pelos efeitos benéficos do exercício na depressão.

8 REFERÊNCIAS

Aberg, M. A., N. D. Aberg, *et al.* Peripheral infusion of IGF-I selectively induces neurogenesis in the adult rat hippocampus. J Neurosci, v.20, n.8, Apr 15, p.2896-903. 2000.

Abramson, J. L. e V. Vaccarino. Relationship between physical activity and inflammation among apparently healthy middle-aged and older US adults. Arch Intern Med, v.162, n.11, Jun 10, p.1286-92. 2002.

Aguiar, A. S., Jr., A. E. Speck, *et al.* Downhill training upregulates mice hippocampal and striatal brain-derived neurotrophic factor levels. J Neural Transm, v.115, n.9, Sep, p.1251-5. 2008.

Aguiar, A. S., Jr., T. Tuon, *et al.* Mitochondrial IV complex and brain neurotrophic derived factor responses of mice brain cortex after downhill training. Neurosci Lett, v.426, n.3, Oct 22, p.171-4. 2007.

Akira, S. e T. Kishimoto. IL-6 and NF-IL6 in acute-phase response and viral infection. Immunol Rev, v.127, Jun, p.25-50. 1992.

Andersen, M. L., M. Bignotto, *et al.* Different stress modalities result in distinct steroid hormone responses by male rats. Braz J Med Biol Res, v.37, n.6, Jun, p.791-7. 2004.

Anderson, M. F., M. A. Aberg, *et al.* Insulin-like growth factor-I and neurogenesis in the adult mammalian brain. Brain Res Dev Brain Res, v.134, n.1-2, Mar 31, p.115-22. 2002.

Annesi, J. J. Effects of minimal exercise and cognitive behavior modification on adherence, emotion change, self-image, and physical change in obese women. Percept Mot Skills, v.91, n.1, Aug, p.322-36. 2000.

Apa. Diagnostic and Statistical Manual of mental disorders. Washington DC: American Psychiatric Press. 2000a (DSM-IV)

_____. Practice guideline for the treatment of patients with major depressive disorders (revision). Am J Psychiatry, v.157, n.4, p.1-45. 2000b.

Asano, M., K. Kaneoka, *et al.* Increase in serum vascular endothelial growth factor levels during altitude training. Acta Physiol Scand, v.162, n.4, Apr, p.455-9. 1998.

Association, A. P. Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, 4th.ed. Washington DC: APA Press 2000.

Azcoitia, I., A. Sierra, *et al.* Brain aromatase is neuroprotective. J Neurobiol, v.47, n.4, Jun 15, p.318-29. 2001.

Bagatell, C. J. e W. J. Bremner. Androgens in men--uses and abuses. N Engl J Med, v.334, n.11, Mar 14, p.707-14. 1996.

Baldessarini, R. J. e F. I. Tarazi. Brain dopamine receptors: a primer on their current status, basic and clinical. Harv Rev Psychiatry, v.3, n.6, Mar-Apr, p.301-25. 1996.

Barchas, J. D. e D. X. Freedman. Brain Amines: Response to Physiological Stress. Biochem Pharmacol, v.12, Oct, p.1232-5. 1963.

Barden, N. Implication of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in the physiopathology of depression. J Psychiatry Neurosci, v.29, n.3, May, p.185-93. 2004.

Barrientos, R. M., D. B. Sprunger, *et al.* Brain-derived neurotrophic factor mRNA downregulation produced by social isolation is blocked by intrahippocampal interleukin-1 receptor antagonist. Neuroscience, v.121, n.4, p.847-53. 2003.

Baumgartner, A., K. J. Graf, *et al.* The Dexamethasone Suppression Test in depression, in schizophrenia, and during experimental stress. Biol Psychiatry, v.20, n.6, Jun, p.675-9. 1985.

Beautrais, A. L., P. R. Joyce, *et al.* Prevalence and comorbidity of mental disorders in persons making serious suicide attempts: a case-control study. Am J Psychiatry, v.153, n.8, Aug, p.1009-14. 1996.

Belmaker, R. H. e G. Agam. Major depressive disorder. N Engl J Med, v.358, n.1, Jan 3, p.55-68. 2008.

Beneke, R. Maximal lactate steady state concentration (MLSS): experimental and modelling approaches. Eur J Appl Physiol, v.88, n.4-5, Jan, p.361-9. 2003.

Berchtold, N. C., J. P. Kesslak, *et al.* Hippocampal brain-derived neurotrophic factor gene regulation by exercise and the medial septum. J Neurosci Res, v.68, n.5, Jun 1, p.511-21. 2002.

_____. Estrogen and exercise interact to regulate brain-derived neurotrophic factor mRNA and protein expression in the hippocampus. Eur J Neurosci, v.14, n.12, Dec, p.1992-2002. 2001.

Berton, O. e E. J. Nestler. New approaches to antidepressant drug discovery: beyond monoamines. Nat Rev Neurosci, v.7, n.2, Feb, p.137-51. 2006.

Bi, R., G. Broutman, *et al.* The tyrosine kinase and mitogen-activated protein kinase pathways mediate multiple effects of estrogen in hippocampus. Proc Natl Acad Sci U S A, v.97, n.7, Mar 28, p.3602-7. 2000.

Bialek, M., P. Zaremba, *et al.* Neuroprotective role of testosterone in the nervous system. Pol J Pharmacol, v.56, n.5, Sep-Oct, p.509-18. 2004.

Billat, V. L., P. Sirvent, *et al.* The concept of maximal lactate steady state: a bridge between biochemistry, physiology and sport science. Sports Med, v.33, n.6, p.407-26. 2003.

Binder, E., S. K. Droste, *et al.* Regular voluntary exercise reduces anxiety-related behaviour and impulsiveness in mice. Behav Brain Res, v.155, n.2, Dec 6, p.197-206. 2004.

Blomstrand, E., P. Hassmen, *et al.* Effect of branched-chain amino acid supplementation on mental performance. Acta Physiol Scand, v.143, n.2, Oct, p.225-6. 1991.

Blomstrand, E., D. Perrett, *et al.* Effect of sustained exercise on plasma amino acid concentrations and on 5-hydroxytryptamine metabolism in six different brain regions in the rat. Acta Physiol Scand, v.136, n.3, Jul, p.473-81. 1989.

Blumenthal, J. A., M. A. Babyak, *et al.* Effects of exercise training on older patients with major depression. Arch Intern Med, v.159, n.19, Oct 25, p.2349-56. 1999.

Blumenthal, J. A., R. S. Williams, *et al.* Psychological changes accompany aerobic exercise in healthy middle-aged adults. Psychosom Med, v.44, n.6, Dec, p.529-36. 1982.

Borson, S., R. A. Barnes, *et al.* Symptomatic depression in elderly medical outpatients. I. Prevalence, demography, and health service utilization. J Am Geriatr Soc, v.34, n.5, May, p.341-7. 1986.

Boycott, A. E. e J. S. Haldane. The effects of low atmospheric pressures on respiration. J Physiol, v.37, n.5-6, Dec 15, p.355-77. 1908.

Bremner, J. D., M. Narayan, *et al.* Hippocampal volume reduction in major depression. Am J Psychiatry, v.157, n.1, Jan, p.115-8. 2000.

Brooks, G. A. The lactate shuttle during exercise and recovery. Med Sci Sports Exerc, v.18, n.3, Jun, p.360-8. 1986.

Brown, E. S., F. P. Varghese, *et al.* Association of depression with medical illness: does cortisol play a role? Biol Psychiatry, v.55, n.1, Jan 1, p.1-9. 2004.

Cadore, E. L., F. L. Lhullier, *et al.* Hormonal responses to resistance exercise in long-term trained and untrained middle-aged men. J Strength Cond Res, v.22, n.5, Sep, p.1617-24. 2008.

Camacho, T. C., R. E. Roberts, *et al.* Physical activity and depression: evidence from the Alameda County Study. Am J Epidemiol, v.134, n.2, Jul 15, p.220-31. 1991.

Campuzano, R., V. Barrios, *et al.* Serum basic fibroblast growth factor levels in exercise-induced myocardial ischemia more likely a marker of endothelial dysfunction than a marker of ischemia? Eur J Med Res, v.7, n.3, Mar 28, p.93-7. 2002.

Carlson, D. L. The effects of exercise on depression: a review and meta regression analysis. University of Wisconsin, Milwaukee, 1991.

Carlsson, A. e M. Lindqvist. The effect of L-tryptophan and some psychotropic drugs on the formation of 5-hydroxytryptophan in the mouse brain in vivo. J Neural Transm, v.33, n.1, p.23-43. 1972.

Carro, E., A. Nunez, *et al.* Circulating insulin-like growth factor I mediates effects of exercise on the brain. J Neurosci, v.20, n.8, Apr 15, p.2926-33. 2000.

Carroll, G. C. Curtis, *et al.* Neuroendocrine regulation in depression. I. Limbic system-adrenocortical dysfunction. Arch Gen Psychiatry, v.33, n.9, Sep, p.1039-44. 1976.

Carroll, B. J., G. C. Curtis, *et al.* Cerebrospinal fluid and plasma free cortisol concentrations in depression. Psychol Med, v.6, n.2, May, p.235-44. 1976.

Casarotto, P. C. e R. Andreatini. Repeated paroxetine treatment reverses anhedonia induced in rats by chronic mild stress or dexamethasone. Eur Neuropsychopharmacol, v.17, n.11, Nov, p.735-42. 2007.

Cassano, P. e M. Fava. Depression and public health: an overview. J Psychosom Res, v.53, n.4, Oct, p.849-57. 2002.

Castren, E. Is mood chemistry? Nat Rev Neurosci, v.6, n.3, Mar, p.241-6. 2005.

Chaouloff, F., J. L. Elghozi, *et al.* Effects of conditioned running on plasma, liver and brain tryptophan and on brain 5-hydroxytryptamine metabolism of the rat. Br J Pharmacol, v.86, n.1, Sep, p.33-41. 1985.

Chaouloff, F., G. A. Kennett, *et al.* Amino acid analysis demonstrates that increased plasma free tryptophan causes the increase of brain tryptophan during exercise in the rat. J Neurochem, v.46, n.5, May, p.1647-50. 1986.

Chapman, D. P. e G. S. Perry. Depression as a major component of public health for older adults. Prev Chronic Dis, v.5, n.1, Jan, p.A22. 2008.

Chapman, D. P., G. S. Perry, *et al.* The vital link between chronic disease and depressive disorders. Prev Chronic Dis, v.2, n.1, Jan, p.A14. 2005.

Chen, M. J. e A. A. Russo-Neustadt. Running exercise- and antidepressant-induced increases in growth and survival-associated signaling molecules are IGF-dependent. Growth Factors, v.25, n.2, Apr, p.118-31. 2007.

Contarteze, R. V. L., F. B. Manchado, *et al.* Biomarcadores de estresse em ratos exercitados por natação em intensidades igual e superior à máxima fase estável de lactato. Rev Bras Med Esporte, v.13, n.3. 2007.

Cotman, C. W. e N. C. Berchtold. Exercise: a behavioral intervention to enhance brain health and plasticity. Trends Neurosci, v.25, n.6, Jun, p.295-301. 2002.

Craft, L. L. e D. M. Landers. The effects of exercise on clinical depression and depression resulting from mental illness: A meta-regression analysis. Journal of Sport & Exercise Psychology, v.20, n.4, p.339-357. 1998.

Cunha, R. R., V. N. Cunha, *et al.* Determination of the lactate threshold and maximal blood lactate steady state intensity in aged rats. Cell Biochem Funct, v.27, n.6, Aug, p.351-7. 2009.

Cunningham, G. R. Testosterone replacement therapy for late-onset hypogonadism. Nat Clin Pract Urol, v.3, n.5, May, p.260-7. 2006.

Daly, R. C. Anabolic steroids, brain and behaviour. Ir Med J, v.94, n.4, Apr, p.102. 2001.

Davis, J. M., S. P. Bailey, *et al.* Effects of carbohydrate feedings on plasma free tryptophan and branched-chain amino acids during prolonged cycling. Eur J Appl Physiol Occup Physiol, v.65, n.6, p.513-9. 1992.

De Araujo, G. G., M. Papoti, *et al.* Protocols for hyperlactatemia induction in the lactate minimum test adapted to swimming rats. Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol, v.148, n.4, Dec, p.888-92. 2007.

De Kloet, E. R., M. Joels, *et al.* Stress and the brain: from adaptation to disease. Nat Rev Neurosci, v.6, n.6, Jun, p.463-75. 2005.

De Souza, M. J. e B. E. Miller. The effect of endurance training on reproductive function in male runners. A 'volume threshold' hypothesis. Sports Med, v.23, n.6, Jun, p.357-74. 1997.

De Souza Silva, M. A., C. Mattern, *et al.* Dopaminergic and serotonergic activity in neostriatum and nucleus accumbens enhanced by intranasal administration of testosterone. Eur Neuropsychopharmacol, v.19, n.1, Jan, p.53-63. 2009.

Dechant, G. e Y. A. Barde. The neurotrophin receptor p75(NTR): novel functions and implications for diseases of the nervous system. Nat Neurosci, v.5, n.11, Nov, p.1131-6. 2002.

Dougherty, K. D. e T. A. Milner. p75NTR immunoreactivity in the rat dentate gyrus is mostly within presynaptic profiles but is also found in some astrocytic and postsynaptic profiles. J Comp Neurol, v.407, n.1, Apr 28, p.77-91. 1999.

Drevets, W. C. Neuroimaging and neuropathological studies of depression: implications for the cognitive-emotional features of mood disorders. Curr Opin Neurobiol, v.11, n.2, Apr, p.240-9. 2001.

Droste, S. K., Y. Chandramohan, *et al.* Voluntary exercise impacts on the rat hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis mainly at the adrenal level. Neuroendocrinology, v.86, n.1, p.26-37. 2007.

Droste, S. K., A. Gesing, *et al.* Effects of long-term voluntary exercise on the mouse hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis. Endocrinology, v.144, n.7, Jul, p.3012-23. 2003.

Droste, S. K., M. C. Schweizer, *et al.* Long-term voluntary exercise and the mouse hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis: impact of concurrent treatment with the antidepressant drug tianeptine. J Neuroendocrinol, v.18, n.12, Dec, p.915-25. 2006.

Duclos, M., C. Gouarne, *et al.* Acute and chronic effects of exercise on tissue sensitivity to glucocorticoids. J Appl Physiol, v.94, n.3, Mar, p.869-75. 2003.

Duman, R. S. Neurotrophic factors and regulation of mood: role of exercise, diet and metabolism. Neurobiol Aging, v.26 Suppl 1, Dec, p.88-93. 2005.

Duman, R. S. e L. M. Monteggia. A neurotrophic model for stress-related mood disorders. Biol Psychiatry, v.59, n.12, Jun 15, p.1116-27. 2006.

Dunlop, B. W. e C. B. Nemeroff. The role of dopamine in the pathophysiology of depression. Arch Gen Psychiatry, v.64, n.3, Mar, p.327-37. 2007.

Ernst, C., A. K. Olson, *et al.* Antidepressant effects of exercise: evidence for an adult-neurogenesis hypothesis? J Psychiatry Neurosci, v.31, n.2, Mar, p.84-92. 2006.

Evans, D. L., D. S. Charney, *et al.* Mood disorders in the medically ill: scientific review and recommendations. Biol Psychiatry, v.58, n.3, Aug 1, p.175-89. 2005.

Fabel, K., B. Tam, *et al.* VEGF is necessary for exercise-induced adult hippocampal neurogenesis. Eur J Neurosci, v.18, n.10, Nov, p.2803-12. 2003.

Fabel, K., S. A. Wolf, *et al.* Additive effects of physical exercise and environmental enrichment on adult hippocampal neurogenesis in mice. Front Neurosci, v.3, p.50. 2009.

Fallon, K. E., S. K. Fallon, *et al.* The acute phase response and exercise: court and field sports. Br J Sports Med, v.35, n.3, Jun, p.170-3. 2001.

Farmer, M. E., B. Z. Locke, *et al.* Physical activity and depressive symptoms: the NHANES I Epidemiologic Follow-up Study. Am J Epidemiol, v.128, n.6, Dec, p.1340-51. 1988.

Fava, M. e K. S. Kendler. Major depressive disorder. Neuron, v.28, n.2, Nov, p.335-41. 2000.

Feng, Y., P. G. Rhodes, *et al.* Dexamethasone induces neurodegeneration but also up-regulates vascular endothelial growth

factor A in neonatal rat brains. Neuroscience, v.158, n.2, Jan 23, p.823-32. 2009.

Ferreira, J. C., N. P. Rolim, *et al.* Maximal lactate steady state in running mice: effect of exercise training. Clin Exp Pharmacol Physiol, v.34, n.8, Aug, p.760-5. 2007.

Fiers, W. Tumor necrosis factor. Characterization at the molecular, cellular and in vivo level. FEBS Lett, v.285, n.2, Jul 22, p.199-212. 1991.

Fischer, H. G., W. Hollmann, *et al.* Exercise changes in plasma tryptophan fractions and relationship with prolactin. Int J Sports Med, v.12, n.5, Oct, p.487-9. 1991.

Forger, N. G., L. L. Hodges, *et al.* Regulation of motoneuron death in the spinal nucleus of the bulbocavernosus. J Neurobiol, v.23, n.9, Nov, p.1192-203. 1992.

Francis, K. T. e R. Carter. Psychological characteristic of joggers. J Sports Med Phys Fitness, v.22, n.3, Sep, p.386-91. 1982.

Frazer, C. J., H. Christensen, *et al.* Effectiveness of treatments for depression in older people. Med J Aust, v.182, n.12, Jun 20, p.627-32. 2005.

Galea, L. A., T. S. Perrot-Sinal, *et al.* Relations of hippocampal volume and dentate gyrus width to gonadal hormone levels in male and female meadow voles. Brain Res, v.821, n.2, Mar 13, p.383-91. 1999.

Garcia-Garcia, A. L., N. Elizalde, *et al.* Increased vulnerability to depressive-like behavior of mice with decreased expression of VGLUT1. Biol Psychiatry, v.66, n.3, Aug 1, p.275-82. 2009.

Geffken, D. F., M. Cushman, *et al.* Association between physical activity and markers of inflammation in a healthy elderly population. Am J Epidemiol, v.153, n.3, Feb 1, p.242-50. 2001.

Gil, A. C. Como elaborar projetos de pesquisa. São Paulo: Editora Atlas. 2010

Giltay, E. J., Y. A. Tishova, *et al.* Effects of testosterone supplementation on depressive symptoms and sexual dysfunction in hypogonadal men with the metabolic syndrome. J Sex Med, v.7, n.7, Jul, p.2572-82.

_____. Effects of testosterone supplementation on depressive symptoms and sexual dysfunction in hypogonadal men with the metabolic syndrome. J Sex Med, v.7, n.7, Jul, p.2572-82. 2010.

Glavin, G. B. Stress and brain noradrenaline: a review. Neurosci Biobehav Rev, v.9, n.2, Summer, p.233-43. 1985.

Glenister, D. Exercise and mental health: a review. J R Soc Health, v.116, n.1, Feb, p.7-13. 1996.

Gobatto, C. A., M. A. De Mello, *et al.* Maximal lactate steady state in rats submitted to swimming exercise. Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol, v.130, n.1, Aug, p.21-7. 2001.

Gold, P. W., J. Licinio, *et al.* Corticotropin releasing hormone in the pathophysiology of melancholic and atypical depression and in the mechanism of action of antidepressant drugs. Ann N Y Acad Sci, v.771, Dec 29, p.716-29. 1995.

Gold, S. M. e R. R. Voskuhl. Testosterone replacement therapy for the treatment of neurological and neuropsychiatric disorders. Curr Opin Investig Drugs, v.7, n.7, Jul, p.625-30. 2006.

Gondim, F. J., C. C. Zoppi, *et al.* Determination of the anaerobic threshold and maximal lactate steady state speed in equines using the lactate minimum speed protocol. Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol, v.146, n.3, Mar, p.375-80. 2007.

Gould, E., C. S. Woolley, *et al.* Short-term glucocorticoid manipulations affect neuronal morphology and survival in the adult dentate gyrus. Neuroscience, v.37, n.2, p.367-75. 1990.

Gourley, S. L., F. J. Wu, *et al.* Regionally specific regulation of ERK MAP kinase in a model of antidepressant-sensitive chronic depression. Biol Psychiatry, v.63, n.4, Feb 15, p.353-9. 2008.

Grandys, M., J. Majerczak, *et al.* Endurance training of moderate intensity increases testosterone concentration in young, healthy men. Int J Sports Med, v.30, n.7, Jul, p.489-95. 2009.

_____. The effect of endurance training on muscle strength in young, healthy men in relation to hormonal status. J Physiol Pharmacol, v.59 Suppl 7, Dec, p.89-103. 2008.

Greden, J. F. The burden of recurrent depression: causes, consequences, and future prospects. J Clin Psychiatry, v.62 Suppl 22, p.5-9. 2001.

Greenberg, P. E., R. C. Kessler, *et al.* The economic burden of depression in the United States: how did it change between 1990 and 2000? J Clin Psychiatry, v.64, n.12, Dec, p.1465-75. 2003.

Hackney, A. C., E. Szczepanowska, *et al.* Basal testicular testosterone production in endurance-trained men is suppressed. Eur J Appl Physiol, v.89, n.2, Apr, p.198-201. 2003.

Handschin, C. e B. M. Spiegelman. The role of exercise and PGC1alpha in inflammation and chronic disease. Nature, v.454, n.7203, Jul 24, p.463-9. 2008.

Harrison, P. J. The neuropathology of primary mood disorder. Brain, v.125, n.Pt 7, Jul, p.1428-49. 2002.

Hatanaka, Y., H. Mukai, *et al.* Androgen rapidly increases dendritic thorns of CA3 neurons in male rat hippocampus. Biochem Biophys Res Commun, v.381, n.4, Apr 17, p.728-32. 2009.

Hayes, V. Y., M. D. Towner, *et al.* Organization, sequence and functional analysis of a mouse BDNF promoter. Brain Res Mol Brain Res, v.45, n.2, May, p.189-98. 1997.

Heck, H., A. Mader, *et al.* Justification of the 4-mmol/l lactate threshold. Int J Sports Med, v.6, n.3, Jun, p.117-30. 1985.

Helmich, I., A. Latini, *et al.* Draft for clinical practice and epidemiology in mental health neurobiological alterations induced by exercise and their impact on depressive disorders. Clin Pract Epidemiol Ment Health, v.6, p.115-25. 2010.

Herbert, J., I. M. Goodyer, *et al.* Do corticosteroids damage the brain? J Neuroendocrinol, v.18, n.6, Jun, p.393-411. 2006.

Hill, A. V. Muscular Activity and Carbohydrate Metabolism. Science, v.60, n.1562, Dec 5, p.505-14. 1924.

Hintikka, J., L. Niskanen, *et al.* Hypogonadism, decreased sexual desire, and long-term depression in middle-aged men. J Sex Med, v.6, n.7, Jul, p.2049-57. 2009.

Hoffman, B. M., M. A. Babyak, *et al.* Exercise and Pharmacotherapy in Patients With Major Depression: One-Year Follow-Up of the SMILE Study. Psychosom Med, Dec 10. 2010.

Hogervorst, E., S. Bandelow, *et al.* Increasing testosterone levels and effects on cognitive functions in elderly men and women: a review. Curr Drug Targets CNS Neurol Disord, v.4, n.5, Oct, p.531-40. 2005.

Holsboer, F. The corticosteroid receptor hypothesis of depression. Neuropsychopharmacology, v.23, n.5, Nov, p.477-501. 2000.

Hoogeveen, A. R. e M. L. Zonderland. Relationships between testosterone, cortisol and performance in professional cyclists. Int J Sports Med, v.17, n.6, Aug, p.423-8. 1996.

Hoshaw, B. A., J. E. Malberg, *et al.* Central administration of IGF-I and BDNF leads to long-lasting antidepressant-like effects. Brain Res, v.1037, n.1-2, Mar 10, p.204-8. 2005.

Hunsberger, J. G., S. S. Newton, *et al.* Antidepressant actions of the exercise-regulated gene VGF. Nat Med, v.13, n.12, Dec, p.1476-82. 2007.

Ibge. Pesquisa Nacional por Amostras de Domicílio - PNAD. 2010 2008.

Iqbal, M. J., M. Dalton, *et al.* Binding of testosterone and oestradiol to sex hormone binding globulin, human serum albumin and other plasma proteins: evidence for non-specific binding of oestradiol to sex hormone binding globulin. Clin Sci (Lond), v.64, n.3, Mar, p.307-14. 1983.

Jin, K., M. Minami, *et al.* Neurogenesis in dentate subgranular zone and rostral subventricular zone after focal cerebral ischemia in the rat. Proc Natl Acad Sci U S A, v.98, n.8, Apr 10, p.4710-5. 2001.

Johnson, J., M. M. Weissman, *et al.* Service utilization and social morbidity associated with depressive symptoms in the community. JAMA, v.267, n.11, Mar 18, p.1478-83. 1992.

Kahn, S. E., R. L. Hull, *et al.* Mechanisms linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes. Nature, v.444, n.7121, Dec 14, p.840-6. 2006.

Kaiser, F. E. e J. E. Morley. Gonadotropins, testosterone, and the aging male. Neurobiol Aging, v.15, n.4, Jul-Aug, p.559-63. 1994.

Karege, F., G. Vaudan, *et al.* Neurotrophin levels in postmortem brains of suicide victims and the effects of antemortem diagnosis and psychotropic drugs. Brain Res Mol Brain Res, v.136, n.1-2, May 20, p.29-37. 2005.

Katoh-Semba, R., I. K. Takeuchi, *et al.* Distribution of brain-derived neurotrophic factor in rats and its changes with development in the brain. J Neurochem, v.69, n.1, Jul, p.34-42. 1997.

Keizer, H., G. M. Janssen, *et al.* Changes in basal plasma testosterone, cortisol, and dehydroepiandrosterone sulfate in previously untrained males and females preparing for a marathon. Int J Sports Med, v.10 Suppl 3, Oct, p.S139-45. 1989.

Kempermann, G., H. G. Kuhn, *et al.* More hippocampal neurons in adult mice living in an enriched environment. Nature, v.386, n.6624, Apr 3, p.493-5. 1997.

_____. Experience-induced neurogenesis in the senescent dentate gyrus. J Neurosci, v.18, n.9, May 1, p.3206-12. 1998.

Kernie, S. G., D. J. Liebl, *et al.* BDNF regulates eating behavior and locomotor activity in mice. EMBO J, v.19, n.6, Mar 15, p.1290-300. 2000.

Kessler, R. C., K. A. McGonagle, *et al.* Sex and depression in the National Comorbidity Survey. II: Cohort effects. J Affect Disord, v.30, n.1, Jan, p.15-26. 1994.

Kitamura, T., M. Mishina, *et al.* Enhancement of neurogenesis by running wheel exercises is suppressed in mice lacking NMDA receptor epsilon 1 subunit. Neurosci Res, v.47, n.1, Sep, p.55-63. 2003.

Kjaer, M. Regulation of hormonal and metabolic responses during exercise in humans. Exerc Sport Sci Rev, v.20, p.161-84. 1992.

Knol, M. J., J. W. Twisk, *et al.* Depression as a risk factor for the onset of type 2 diabetes mellitus. A meta-analysis. Diabetologia, v.49, n.5, May, p.837-45. 2006.

Koshimizu, H., K. Kiyosue, *et al.* Multiple functions of precursor BDNF to CNS neurons: negative regulation of neurite growth, spine formation and cell survival. Mol Brain, v.2, n.1, p.27. 2009.

Kraemer, W. J., D. N. French, *et al.* Changes in exercise performance and hormonal concentrations over a big ten soccer season in starters and nonstarters. J Strength Cond Res, v.18, n.1, Feb, p.121-8. 2004.

Kraemer, W. J., K. Hakkinen, *et al.* Effects of heavy-resistance training on hormonal response patterns in younger vs. older men. J Appl Physiol, v.87, n.3, Sep, p.982-92. 1999.

Krishnan, V. e E. J. Nestler. The molecular neurobiology of depression. Nature, v.455, n.7215, Oct 16, p.894-902. 2008.

Kronenberg, G., I. Kirste, *et al.* Reduced hippocampal neurogenesis in the GR(+/-) genetic mouse model of depression. Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci, v.259, n.8, Dec, p.499-504. 2009.

Kuhn, H. G., H. Dickinson-Anson, *et al.* Neurogenesis in the dentate gyrus of the adult rat: age-related decrease of neuronal progenitor proliferation. J Neurosci, v.16, n.6, Mar 15, p.2027-33. 1996.

Lampinen, P., R. L. Heikkinen, *et al.* Changes in intensity of physical exercise as predictors of depressive symptoms among older adults: an eight-year follow-up. Prev Med, v.30, n.5, May, p.371-80. 2000.

Lancel, M., S. K. Droste, *et al.* Influence of regular voluntary exercise on spontaneous and social stress-affected sleep in mice. Eur J Neurosci, v.17, n.10, May, p.2171-9. 2003.

Lawlor, D. A. e S. W. Hopker. The effectiveness of exercise as an intervention in the management of depression: systematic review and meta-regression analysis of randomised controlled trials. BMJ, v.322, n.7289, Mar 31, p.763-7. 2001.

Laye, S., P. Parnet, *et al.* Peripheral administration of lipopolysaccharide induces the expression of cytokine transcripts in the brain and pituitary of mice. Brain Res Mol Brain Res, v.27, n.1, Nov, p.157-62. 1994.

Lepine, J. P., M. Gastpar, *et al.* Depression in the community: the first pan-European study DEPRES (Depression Research in European Society). Int Clin Psychopharmacol, v.12, n.1, Jan, p.19-29. 1997.

Lett, H. S., J. A. Blumenthal, *et al.* Depression as a risk factor for coronary artery disease: evidence, mechanisms, and treatment. Psychosom Med, v.66, n.3, May-Jun, p.305-15. 2004.

Little, C. M., K. D. Coons, *et al.* Neuroprotective effects of testosterone on the morphology and function of somatic motoneurons following the death of neighboring motoneurons. J Comp Neurol, v.512, n.3, Jan 20, p.359-72. 2009.

Lobstein, D. D., B. J. Mosbacher, *et al.* Depression as a powerful discriminator between physically active and sedentary middle-aged men. J Psychosom Res, v.27, n.1, p.69-76. 1983.

Lucia, A., J. L. Chicharro, *et al.* Reproductive function in male endurance athletes: sperm analysis and hormonal profile. J Appl Physiol, v.81, n.6, Dec, p.2627-36. 1996.

Luger, A., P. A. Deuster, *et al.* Acute hypothalamic-pituitary-adrenal responses to the stress of treadmill exercise. Physiologic adaptations to physical training. N Engl J Med, v.316, n.21, May 21, p.1309-15. 1987.

Mader, A. e H. Heck. A theory of the metabolic origin of "anaerobic threshold". Int J Sports Med, v.7 Suppl 1, Jun, p.45-65. 1986.

Maes, M. Major depression and activation of the inflammatory response system. Adv Exp Med Biol, v.461, p.25-46. 1999.

Maes, M., E. Bosmans, *et al.* Increased serum IL-6 and IL-1 receptor antagonist concentrations in major depression and treatment resistant depression. Cytokine, v.9, n.11, Nov, p.853-8. 1997.

Maes, M., R. Smith, *et al.* The monocyte-T-lymphocyte hypothesis of major depression. Psychoneuroendocrinology, v.20, n.2, p.111-6. 1995.

Maestu, J., J. Jurimae, *et al.* Hormonal response to maximal rowing before and after heavy increase in training volume in highly trained male rowers. J Sports Med Phys Fitness, v.45, n.1, Mar, p.121-6. 2005.

Manchado Fde, B., C. A. Gobatto, *et al.* Non-exhaustive test for aerobic capacity determination in swimming rats. Appl Physiol Nutr Metab, v.31, n.6, Dec, p.731-6. 2006.

Mann, J. J., P. A. McBride, *et al.* Blunted serotonergic responsivity in depressed inpatients. Neuropsychopharmacology, v.13, n.1, Aug, p.53-64. 1995.

Marangon, L., C. A. Gobatto, *et al.* Utilization of an hiperbolic model for the determination of the critical load in swimming rats. Med Sci Sports Exerc (Suppl), v.34, p.149. 2002.

Martini, L. e R. C. Melcangi. Androgen metabolism in the brain. J Steroid Biochem Mol Biol, v.39, n.5B, Nov, p.819-28. 1991.

Mathew, S. J., H. K. Manji, *et al.* Novel drugs and therapeutic targets for severe mood disorders. Neuropsychopharmacology, v.33, n.9, Aug, p.2080-92. 2008.

Matsumoto, A. Hormonally induced neuronal plasticity in the adult motoneurons. Brain Res Bull, v.44, n.4, p.539-47. 1997.

Mattson, M. P. Neuroprotective signaling and the aging brain: take away my food and let me run. Brain Res, v.886, n.1-2, Dec 15, p.47-53. 2000.

Mattson, M. P., S. Maudsley, *et al.* A neural signaling triumvirate that influences ageing and age-related disease: insulin/IGF-1, BDNF and serotonin. Ageing Res Rev, v.3, n.4, Nov, p.445-64. 2004.

Mazzeo, R. S. Catecholamine responses to acute and chronic exercise. Med Sci Sports Exerc, v.23, n.7, Jul, p.839-45. 1991.

Mcardle, W. D., F. I. Katch, *et al.* Fisiologia do exercício: energia, nutrição e desempenho humano. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan. 1998

Mccann, I. L. e D. S. Holmes. Influence of aerobic exercise on depression. J Pers Soc Psychol, v.46, n.5, May, p.1142-7. 1984.

Mcewen, B. S. Physiology and neurobiology of stress and adaptation: central role of the brain. Physiol Rev, v.87, n.3, Jul, p.873-904. 2007.

Mead, G. E., W. Morley, *et al.* Exercise for depression. Cochrane Database Syst Rev, n.4, p.CD004366. 2008.

Mikova, O., R. Yakimova, *et al.* Increased serum tumor necrosis factor alpha concentrations in major depression and multiple sclerosis. Eur Neuropsychopharmacol, v.11, n.3, Jun, p.203-8. 2001.

Moore, K. W., A. O'garra, *et al.* Interleukin-10. Annu Rev Immunol, v.11, p.165-90. 1993.

Morris, R. G., P. Garrud, *et al.* Place navigation impaired in rats with hippocampal lesions. Nature, v.297, n.5868, Jun 24, p.681-3. 1982.

Moussavi, S., S. Chatterji, *et al.* Depression, chronic diseases, and decrements in health: results from the World Health Surveys. Lancet, v.370, n.9590, Sep 8, p.851-8. 2007.

Mowla, S. J., S. Pareek, *et al.* Differential sorting of nerve growth factor and brain-derived neurotrophic factor in hippocampal neurons. J Neurosci, v.19, n.6, Mar 15, p.2069-80. 1999.

Mukai, H., T. Tsurugizawa, *et al.* Local neurosteroid production in the hippocampus: influence on synaptic plasticity of memory. Neuroendocrinology, v.84, n.4, p.255-63. 2006.

Murray, C. J. e A. D. Lopez. Global mortality, disability, and the contribution of risk factors: Global Burden of Disease Study. Lancet, v.349, n.9063, May 17, p.1436-42. 1997.

Musselman, D. L., A. H. Miller, *et al.* Higher than normal plasma interleukin-6 concentrations in cancer patients with depression: preliminary findings. Am J Psychiatry, v.158, n.8, Aug, p.1252-7. 2001.

Neeper, S. A., F. Gomez-Pinilla, *et al.* Exercise and brain neurotrophins. Nature, v.373, n.6510, Jan 12, p.109. 1995.

_____. Physical activity increases mRNA for brain-derived neurotrophic factor and nerve growth factor in rat brain. Brain Res, v.726, n.1-2, Jul 8, p.49-56. 1996.

Nemeroff, C. B. e M. J. Owens. Treatment of mood disorders. Nat Neurosci, v.5 Suppl, Nov, p.1068-70. 2002.

Nestler, E. J., M. Barrot, *et al.* Neurobiology of depression. Neuron, v.34, n.1, Mar 28, p.13-25. 2002.

Nguyen, T. V., A. Jayaraman, *et al.* Androgens selectively protect against apoptosis in hippocampal neurones. J Neuroendocrinol, v.22, n.9, Sep, p.1013-22. 2010.

North, T. C., P. McCullagh, *et al.* Effect of exercise on depression. Exerc Sport Sci Rev, v.18, p.379-415. 1990.

Oei, T. I., W. M. Verhoeven, *et al.* Anhedonia, suicide ideation and dexamethasone nonsuppression in depressed patients. J Psychiatr Res, v.24, n.1, p.25-35. 1990.

Ono, M., J. Ichihara, *et al.* Brain-derived neurotrophic factor reduces blood glucose level in obese diabetic mice but not in normal mice. Biochem Biophys Res Commun, v.238, n.2, Sep 18, p.633-7. 1997.

Ostrowski, K., T. Rohde, *et al.* Pro- and anti-inflammatory cytokine balance in strenuous exercise in humans. J Physiol, v.515 (Pt 1), Feb 15, p.287-91. 1999.

_____. Chemokines are elevated in plasma after strenuous exercise in humans. Eur J Appl Physiol, v.84, n.3, Mar, p.244-5. 2001.

Ostrowski, K., P. Schjerling, *et al.* Physical activity and plasma interleukin-6 in humans--effect of intensity of exercise. Eur J Appl Physiol, v.83, n.6, Dec, p.512-5. 2000.

Overstreet, L. S., S. T. Hentges, *et al.* A transgenic marker for newly born granule cells in dentate gyrus. J Neurosci, v.24, n.13, Mar 31, p.3251-9. 2004.

Paffenbarger, R. S., Jr., R. T. Hyde, *et al.* The association of changes in physical-activity level and other lifestyle characteristics with mortality among men. N Engl J Med, v.328, n.8, Feb 25, p.538-45. 1993.

Pang, P. T., H. K. Teng, *et al.* Cleavage of proBDNF by tPA/plasmin is essential for long-term hippocampal plasticity. Science, v.306, n.5695, Oct 15, p.487-91. 2004.

Papoti, M., P. B. L. De Almeida, *et al.* Máxima fase estável de lactato durante a natação em ratos recuperados de desnutrição protéica. Motriz, v.9, n.2, p.97-104. 2003.

Parker, K. J., A. F. Schatzberg, *et al.* Neuroendocrine aspects of hypercortisolism in major depression. Horm Behav, v.43, n.1, Jan, p.60-6. 2003.

Pate, R. R., M. Pratt, *et al.* Physical activity and public health. A recommendation from the Centers for Disease Control and Prevention and the American College of Sports Medicine. JAMA, v.273, n.5, Feb 1, p.402-7. 1995.

Pedersen, B. K. e L. Hoffman-Goetz. Exercise and the immune system: regulation, integration, and adaptation. Physiol Rev, v.80, n.3, Jul, p.1055-81. 2000.

Persson, A. I., A. S. Naylor, *et al.* Differential regulation of hippocampal progenitor proliferation by opioid receptor antagonists in running and non-running spontaneously hypertensive rats. Eur J Neurosci, v.19, n.7, Apr, p.1847-55. 2004.

Petersen, A. M. e B. K. Pedersen. The anti-inflammatory effect of exercise. J Appl Physiol, v.98, n.4, Apr, p.1154-62. 2005.

Pfohl, B., B. Sherman, *et al.* Differences in plasma ACTH and cortisol between depressed patients and normal controls. Biol Psychiatry, v.20, n.10, Oct, p.1055-72. 1985.

Phillips, W. T., M. Kiernan, *et al.* Physical Activity as a Nonpharmacological Treatment for Depression: A Review. Complementary Health Practice Review, v.8, n.2, p.139-52. 2003.

Pignatelli, D., M. M. Magalhaes, *et al.* Direct effects of stress on adrenocortical function. Horm Metab Res, v.30, n.6-7, Jun-Jul, p.464-74. 1998.

Pike, C. J. Testosterone attenuates beta-amyloid toxicity in cultured hippocampal neurons. Brain Res, v.919, n.1, Nov 16, p.160-5. 2001.

Pike, C. J., T. V. Nguyen, *et al.* Androgen cell signaling pathways involved in neuroprotective actions. Horm Behav, v.53, n.5, May, p.693-705. 2008.

Pillis, W., R. Zarzeczny, *et al.* Anaerobic threshold in rats. Comp Biochem Physiol, v.106 A, p.285-9. 1993.

Pittenger, C. e R. S. Duman. Stress, depression, and neuroplasticity: a convergence of mechanisms. Neuropsychopharmacology, v.33, n.1, Jan, p.88-109. 2008.

Post, R. M. Transduction of psychosocial stress into the neurobiology of recurrent affective disorder. Am J Psychiatry, v.149, n.8, Aug, p.999-1010. 1992.

Post, R. M., J. Kotin, *et al.* Psychomotor activity and cerebrospinal fluid amine metabolites in affective illness. Am J Psychiatry, v.130, n.1, Jan, p.67-72. 1973.

Prada, F. J. A., F. A. Voltarelli, *et al.* Aerobic condition and oxidative stress in rats swim-trained at the anaerobic threshold intensity. R. bras. Ci e Mov., v.12, n.2, p.29-34. 2004.

Pretolani, M. Interleukin-10: an anti-inflammatory cytokine with therapeutic potential. Clin Exp Allergy, v.29, n.9, Sep, p.1164-71. 1999.

Quan, N., E. L. Stern, *et al.* Induction of pro-inflammatory cytokine mRNAs in the brain after peripheral injection of subseptic doses of lipopolysaccharide in the rat. J Neuroimmunol, v.93, n.1-2, Jan 1, p.72-80. 1999.

Raison, C. L., L. Capuron, *et al.* Cytokines sing the blues: inflammation and the pathogenesis of depression. Trends Immunol, v.27, n.1, Jan, p.24-31. 2006.

Rannels, S. R. e L. S. Jefferson. Effects of glucocorticoids on muscle protein turnover in perfused rat hemicorpus. Am J Physiol, v.238, n.6, Jun, p.E564-72. 1980.

Rasika, S., A. Alvarez-Buylla, *et al.* BDNF mediates the effects of testosterone on the survival of new neurons in an adult brain. Neuron, v.22, n.1, Jan, p.53-62. 1999.

Remes, K., K. Kuoppasalmi, *et al.* Effect of long-term physical training on plasma testosterone, androstenedione, luteinizing hormone and sex-hormone-binding globulin capacity. Scand J Clin Lab Invest, v.39, n.8, Dec, p.743-9. 1979.

Roche, M., A. Harkin, *et al.* Chronic fluoxetine treatment attenuates stressor-induced changes in temperature, heart rate, and neuronal activation in the olfactory bulbectomized rat. Neuropsychopharmacology, v.32, n.6, Jun, p.1312-20. 2007.

Rosario, E. R. e C. J. Pike. Androgen regulation of beta-amyloid protein and the risk of Alzheimer's disease. Brain Res Rev, v.57, n.2, Mar, p.444-53. 2008.

Rubinow, D. R. e P. J. Schmidt. Androgens, brain, and behavior. Am J Psychiatry, v.153, n.8, Aug, p.974-84. 1996.

Rudolph, D. L. e E. McAuley. Cortisol and affective responses to exercise. J Sport Exercise Psy, v.17, p.206-213. 1995.

Russo-Neustadt, A., R. C. Beard, *et al.* Exercise, antidepressant medications, and enhanced brain derived neurotrophic factor expression. Neuropsychopharmacology, v.21, n.5, Nov, p.679-82. 1999.

Sachar, E. J., L. Hellman, *et al.* Disrupted 24-hour patterns of cortisol secretion in psychotic depression. Arch Gen Psychiatry, v.28, n.1, Jan, p.19-24. 1973.

Sahay, A. e R. Hen. Adult hippocampal neurogenesis in depression. Nat Neurosci, v.10, n.9, Sep, p.1110-5. 2007.

Sanders, A. R., S. D. Detera-Wadleigh, *et al.* Molecular genetics of mood disorders. In: D. S. Charney e E. J. Nestler (Ed.). Neurobiology of Mental Illness. New York: Oxford University Press - USA, 1999. Molecular genetics of mood disorders

Schildkraut, J. J. The catecholamine hypothesis of affective disorders: a review of supporting evidence. Am J Psychiatry, v.122, n.5, Nov, p.509-22. 1965.

Schobersberger, W., P. Hobisch-Hagen, *et al.* Increase in immune activation, vascular endothelial growth factor and erythropoietin after an ultramarathon run at moderate altitude. Immunobiology, v.201, n.5, Apr, p.611-20. 2000.

Schwab, J. J., N. D. Traven, *et al.* Relationships between physical and mental illness. Psychosomatics, v.19, n.8, Aug, p.458-63. 1978.

Schwarz, A. J., J. A. Brasel, *et al.* Acute effect of brief low- and high-intensity exercise on circulating insulin-like growth factor (IGF) I, II, and IGF-binding protein-3 and its proteolysis in young healthy men. J Clin Endocrinol Metab, v.81, n.10, Oct, p.3492-7. 1996.

Seidah, N. G. e M. Chretien. Proprotein and prohormone convertases: a family of subtilases generating diverse bioactive polypeptides. Brain Res, v.848, n.1-2, Nov 27, p.45-62. 1999.

Seidman, S. N. e B. T. Walsh. Testosterone and depression in aging men. Am J Geriatr Psychiatry, v.7, n.1, Winter, p.18-33. 1999.

Sha, H., J. Xu, *et al.* Disruption of a novel regulatory locus results in decreased Bdnf expression, obesity, and type 2 diabetes in mice. Physiol Genomics, v.31, n.2, Oct 22, p.252-63. 2007.

Sheline, Y. I. Neuroimaging studies of mood disorder effects on the brain. Biol Psychiatry, v.54, n.3, Aug 1, p.338-52. 2003.

Shkurnikov, M. U., A. E. Donnikov, *et al.* Free testosterone as marker of adaptation to medium-intensive exercise. Bull Exp Biol Med, v.146, n.3, Sep, p.354-7. 2008.

Shores, M. M., D. R. Kivlahan, *et al.* A randomized, double-blind, placebo-controlled study of testosterone treatment in hypogonadal older men with subthreshold depression (dysthymia or minor depression). J Clin Psychiatry, v.70, n.7, Jul, p.1009-16. 2009.

Shores, M. M., K. L. Sloan, *et al.* Increased incidence of diagnosed depressive illness in hypogonadal older men. Arch Gen Psychiatry, v.61, n.2, Feb, p.162-7. 2004.

Siuciak, J. A., D. R. Lewis, *et al.* Antidepressant-like effect of brain-derived neurotrophic factor (BDNF). Pharmacol Biochem Behav, v.56, n.1, Jan, p.131-7. 1997.

Sjosten, N. e S. L. Kivela. The effects of physical exercise on depressive symptoms among the aged: a systematic review. Int J Geriatr Psychiatry, v.21, n.5, May, p.410-8. 2006.

Sluzewska, A., J. K. Rybakowski, *et al.* Interleukin-6 serum levels in depressed patients before and after treatment with fluoxetine. Ann N Y Acad Sci, v.762, Jul 21, p.474-6. 1995.

Smith, R. S. The macrophage theory of depression. Med Hypotheses, v.35, n.4, Aug, p.298-306. 1991.

Stahl, S. M. Blue genes and the monoamine hypothesis of depression. J Clin Psychiatry, v.61, n.2, Feb, p.77-8. 2000.

Starkie, R., S. R. Ostrowski, *et al.* Exercise and IL-6 infusion inhibit endotoxin-induced TNF-alpha production in humans. FASEB J, v.17, n.8, May, p.884-6. 2003.

Starkman, M. N., S. S. Gebarski, *et al.* Hippocampal formation volume, memory dysfunction, and cortisol levels in patients with Cushing's syndrome. Biol Psychiatry, v.32, n.9, Nov 1, p.756-65. 1992.

Stathopoulou, G., M. B. Powers, *et al.* Exercise interventions for mental health: a quantitative and qualitative review. Clin Pshchol Sci Prac, v.13, p.179-193. 2006.

Steensberg, A., G. Van Hall, *et al.* Production of interleukin-6 in contracting human skeletal muscles can account for the exercise-induced increase in plasma interleukin-6. J Physiol, v.529 Pt 1, Nov 15, p.237-42. 2000.

Stensballe, J., M. Christiansen, *et al.* The early IL-6 and IL-10 response in trauma is correlated with injury severity and mortality. Acta Anaesthesiol Scand, v.53, n.4, Apr, p.515-21. 2009.

Stoffel-Wagner, B. Neurosteroid metabolism in the human brain. European Journal of Endocrinology, v.145, p.669-679. 2001.

Stokes, P. E., P. M. Stoll, *et al.* Pretreatment DST and hypothalamic-pituitary-adrenocortical function in depressed patients and comparison groups. A multicenter study. Arch Gen Psychiatry, v.41, n.3, Mar, p.257-67. 1984.

Stone, E. A. Accumulation and metabolism of norepinephrine in rat hypothalamus after exhaustive stress. J Neurochem, v.21, n.3, Sep, p.589-601. 1973.

Stranahan, A. M., D. Khalil, *et al.* Social isolation delays the positive effects of running on adult neurogenesis. Nat Neurosci, v.9, n.4, Apr, p.526-33. 2006.

Stranahan, A. M., K. Lee, *et al.* Central mechanisms of HPA axis regulation by voluntary exercise. Neuromolecular Med, v.10, n.2, p.118-27. 2008.

Strawbridge, W. J., S. Deleger, *et al.* Physical activity reduces the risk of subsequent depression for older adults. Am J Epidemiol, v.156, n.4, Aug 15, p.328-34. 2002.

Suominen, K., M. Henriksson, *et al.* Mental disorders and comorbidity in attempted suicide. Acta Psychiatr Scand, v.94, n.4, Oct, p.234-40. 1996.

Sutton, J. R., J. D. Young, *et al.* The hormonal response to physical exercise. Australas Ann Med, v.18, n.2, May, p.84-90. 1969.

Teng, H. K., K. K. Teng, *et al.* ProBDNF induces neuronal apoptosis via activation of a receptor complex of p75NTR and sortilin. J Neurosci, v.25, n.22, Jun 1, p.5455-63. 2005.

Thakker-Varia, S., J. J. Krol, *et al.* The neuropeptide VGF produces antidepressant-like behavioral effects and enhances proliferation in the hippocampus. J Neurosci, v.27, n.45, Nov 7, p.12156-67. 2007.

Thomas, J. R. e J. K. Nelson. Métodos de pesquisa em atividade física. Porto Alegre: ARTMED. 2002

Trejo, J. L., E. Carro, *et al.* Circulating insulin-like growth factor I mediates exercise-induced increases in the number of new neurons in the adult hippocampus. J Neurosci, v.21, n.5, Mar 1, p.1628-34. 2001.

Trivedi, M. H., A. J. Rush, *et al.* Evaluation of outcomes with citalopram for depression using measurement-based care in STAR*D: implications for clinical practice. Am J Psychiatry, v.163, n.1, Jan, p.28-40. 2006.

Tsimberidou, A. M., E. Estey, *et al.* The prognostic significance of cytokine levels in newly diagnosed acute myeloid leukemia and high-risk myelodysplastic syndromes. Cancer, v.113, n.7, Oct 1, p.1605-13. 2008.

Tuglu, C., S. H. Kara, *et al.* Increased serum tumor necrosis factor-alpha levels and treatment response in major depressive disorder. Psychopharmacology (Berl), v.170, n.4, Dec, p.429-33. 2003.

Van Der Borght, K., F. Ferrari, *et al.* Hippocampal cell proliferation across the day: increase by running wheel activity, but no effect of sleep and wakefulness. Behav Brain Res, v.167, n.1, Feb 15, p.36-41. 2006.

Van Der Borght, K., R. Havekes, *et al.* Exercise improves memory acquisition and retrieval in the Y-maze task: relationship with hippocampal neurogenesis. Behav Neurosci, v.121, n.2, Apr, p.324-34. 2007.

Van Der Poll, T., S. M. Coyle, *et al.* Epinephrine inhibits tumor necrosis factor-alpha and potentiates interleukin 10 production during human endotoxemia. J Clin Invest, v.97, n.3, Feb 1, p.713-9. 1996.

Van Praag, H. Neurogenesis and exercise: past and future directions. Neuromolecular Med, v.10, n.2, p.128-40. 2008.

Van Praag, H., B. R. Christie, *et al.* Running enhances neurogenesis, learning, and long-term potentiation in mice. Proc Natl Acad Sci U S A, v.96, n.23, Nov 9, p.13427-31. 1999.

Van Praag, H., G. Kempermann, *et al.* Running increases cell proliferation and neurogenesis in the adult mouse dentate gyrus. Nat Neurosci, v.2, n.3, Mar, p.266-70. 1999.

Van Praag, H., M. J. Lucero, *et al.* Plant-derived flavanol (-)epicatechin enhances angiogenesis and retention of spatial memory in mice. J Neurosci, v.27, n.22, May 30, p.5869-78. 2007.

Viru, A. Plasma hormones and physical exercise. Int J Sports Med, v.13, n.3, Apr, p.201-9. 1992.

Voltarelli, F. A., C. A. Gobatto, *et al.* Determination of anaerobic threshold in rats using the lactate minimum test. Braz J Med Biol Res, v.35, n.11, Nov, p.1389-94. 2002.

Warner-Schmidt, J. L. e R. S. Duman. VEGF is an essential mediator of the neurogenic and behavioral actions of antidepressants. Proc Natl Acad Sci U S A, v.104, n.11, Mar 13, p.4647-52. 2007.

Wells, K. B., A. Stewart, *et al.* The functioning and well-being of depressed patients. Results from the Medical Outcomes Study. JAMA, v.262, n.7, Aug 18, p.914-9. 1989.

Wheeler, G. D., M. Singh, *et al.* Endurance training decreases serum testosterone levels in men without change in luteinizing hormone pulsatile release. J Clin Endocrinol Metab, v.72, n.2, Feb, p.422-5. 1991.

Who, W.H.O. Classificação de transtornos mentais e de comportamento da CID-10: descrições clínicas e diretrizes diagnósticas. Genebra: WHO. 1993

_____. The global burden of disease: 2004 update. Geneva, Switzerland: WHO Press. 2010 2008.

Widenfalk, J., L. Olson, *et al.* Deprived of habitual running, rats downregulate BDNF and TrkB messages in the brain. Neurosci Res, v.34, n.3, Aug, p.125-32. 1999.

Willner, P. Chronic mild stress (CMS) revisited: consistency and behavioural-neurobiological concordance in the effects of CMS. Neuropsychobiology, v.52, n.2, p.90-110. 2005.

Willner, P., J. L. Moreau, *et al.* Decreased hedonic responsiveness following chronic mild stress is not secondary to loss of body weight. Physiol Behav, v.60, n.1, Jul, p.129-34. 1996.

Woo, N. H., H. K. Teng, *et al.* Activation of p75NTR by proBDNF facilitates hippocampal long-term depression. Nat Neurosci, v.8, n.8, Aug, p.1069-77. 2005.

Woodman, C. L. e W. R. Williams. Testosterone, mood and psychotropic medication. 149th Annual Meeting, American Psychiatric Association 1996.

Wu, C. W., Y. T. Chang, *et al.* Exercise enhances the proliferation of neural stem cells and neurite growth and survival of neuronal progenitor cells in dentate gyrus of middle-aged mice. J Appl Physiol, v.105, n.5, Nov, p.1585-94. 2008.

Xu, B., E. H. Goulding, *et al.* Brain-derived neurotrophic factor regulates energy balance downstream of melanocortin-4 receptor. Nat Neurosci, v.6, n.7, Jul, p.736-42. 2003.

Yang, L. Y. e A. P. Arnold. Interaction of BDNF and testosterone in the regulation of adult perineal motoneurons. J Neurobiol, v.44, n.3, Sep 5, p.308-19. 2000.

Yip, H. K., A. A. Youssef, *et al.* Association of interleukin-10 level with increased 30-day mortality in patients with ST-segment elevation acute myocardial infarction undergoing primary coronary intervention. Circ J, v.71, n.7, Jul, p.1086-91. 2007.

Zarrouf, F. A., S. Artz, *et al.* Testosterone and depression: systematic review and meta-analysis. J Psychiatr Pract, v.15, n.4, Jul, p.289-305. 2009.

Zeller, W., H. Weber, *et al.* Refinement of blood sampling from the sublingual vein of rats. Lab Anim, v.32, n.4, Oct, p.369-76. 1998.

Zitzmann, M. Testosterone and the brain. Aging Male, v.9, n.4, Dec, p.195-9. 2006.

Zoladz, J. A., A. Pilc, *et al.* Endurance training increases plasma brain-derived neurotrophic factor concentration in young healthy men. J Physiol Pharmacol, v.59 Suppl 7, Dec, p.119-32. 2008.