



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PAMPA - UNIPAMPA
CADASTRO DE PROJETO INSTITUCIONAL



Dados do Projeto

Número de Registro:	2022.PE.UR.361	Código:	361
Coordenador:	Pamela Billig Mello Carpes	Controle:	65212
Área:	Pesquisa	Unidade Origem:	CAMPUS URUGUAIANA
Modalidade:	Projeto de Pesquisa	Telefone:	55996612454
Título:	Mecanismos neuroquímicos envolvidos na modulação da persistência da memória induzida pelo exercício físico agudo		
Execução:	De 15/03/2022 a 02/02/2026	Nº de Registro no SIPPEE:	20210706183556
Autoriza Publicação Resumo:	Sim	Área de Conhecimento:	Ciências Biológicas
Formação Continuada:	Não informado		
Grupo de Pesquisa:	Grupo de Pesquisa em Fisiologia - GPFis UNIPAMPA	Possui interação com o setor produtivo:	Não
Cooperação interinstitucional dentro do país:	Sim	Cooperação interinstitucional fora do país:	Sim
Palavras-chave:	bioquímica / dopamina / noradrenalina / exercício físico / cérebro		

Resumo do Projeto

Introdução: Evidências atuais sugerem que o exercício físico (EF) agudo, caracterizado pela prática de uma ou poucas sessões de exercício, pode atuar como um importante modulador da memória. Nós já sabemos que uma única sessão de EF após um aprendizado melhora a consolidação e persistência da memória por meio de mecanismos catecolaminérgicos. **Objetivo:** Este projeto tem como objetivo ampliar os conhecimentos acerca dos efeitos do EF agudo sobre a memória e dos mecanismos neurobiológicos envolvidos. **Materiais e métodos:** Serão utilizados ratos machos adultos da raça Wistare a memória será testada através da tarefa de reconhecimento de objetos (RO). Os experimentos serão divididos em três estudos principais. No estudo 1, nós iremos investigar o envolvimento da área tegmental ventral (ATV) e do locus coeruleus (LC) na modulação do aprendizado pelo EF agudo. No estudo 2, nós avaliaremos a requisição de síntese proteica hipocampal mediada pelo EF agudo para a promoção da persistência da memória. No estudo 3, o efeito e mecanismos do EF agudo sob a memória será investigado considerando a fase de consolidação tardia da memória, 12 horas após o aprendizado. **Resultados esperados:** Ao final deste projeto esperamos ter maior compreensão sobre os efeitos do EF agudo sobre a memória e as principais vias neuroquímicas envolvidas.

Introdução e Justificativa

As experiências vivenciadas ao longo da nossa vida nos permitem formar diferentes tipos de memórias, que podem ser classificadas sob diferentes aspectos (23, 24). Em roedores, é possível estudar os processos de aquisição e consolidação do aprendizado através de uma diversidade de tarefas comportamentais (5). Dentre elas, a tarefa de reconhecimento de objetos (RO) ganha destaque nos estudos científicos, uma vez que este paradigma é altamente comparável à experiência humana diária, pois a memória de reconhecimento garante ao indivíduo a habilidade de lidar com a complexidade das situações do cotidiano (10, 25). Além do interesse em entender os mecanismos de aquisição e consolidação, compreender como e por que algumas memórias duram mais tempo do que outras têm despertado o interesse dos pesquisadores (6, 22, 31). Embora o estudo da persistência da memória tenha avançado nas últimas décadas, estratégias que possam contribuir com o fortalecimento e consolidação de um aprendizado, bem como o entendimento dos mecanismos neuroquímicos envolvidos neste processo, requerem maiores investigações (12).

Estudos tem demonstrado que o exercício físico (EF) agudo pode atuar como um excelente modulador da

memória reconhecimento. Em nosso grupo de pesquisa, nós testamos o efeito de uma única sessão de EF em esteira, realizada após a aquisição da memória de RO, e observamos que os animais que praticaram 30 minutos de atividade física apresentaram persistência da memória por pelo menos 14 dias a mais em comparação ao grupo controle (7, 27, 28). Dentre os mecanismos envolvidos neste processo, destacamos o aumento dos níveis de noradrenalina e dopamina no hipocampo dos animais exercitados. Ademais, observamos uma dependência da ativação hipocampal de receptores b-adrenérgicos e dopaminérgicos D1/D5. Diante destes achados, é evidente o papel dos sistemas noradrenérgico e dopaminérgico no efeito do EF agudo sobre a persistência da memória. Nós supomos que o aumento destes neurotransmissores seja capaz de modular a consolidação do aprendizado prévio, contribuindo para sua manutenção e persistência ao longo do tempo; assim como ocorre em memórias formadas em eventos com um alto grau emocional (5).

Sabendo que a área tegmental ventral (ATV) e o locus coeruleus (LC) são áreas cerebrais altamente envolvidas na liberação de dopamina e noradrenalina à região CA1 do hipocampo (11, 16), e que ambos os sistemas de neurotransmissores têm forte influência sobre a modulação da persistência da memória (27, 28), surge o questionamento: "Qual o papel destas áreas cerebrais no efeito do EF agudo sobre a memória?". É provável que o EF agudo aumente a atividade destas regiões e, com isso, pode-se pensar que haja também o aumento do fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF, sigla em inglês). Já foi demonstrado que a ativação destas áreas estimula a síntese desta proteína, que tem um papel-chave na neuroquímica da persistência da memória (22, 26). De fato, uma única sessão de exercício parece ser suficiente para aumentar a expressão de BDNFmRNA no hipocampo de roedores (30). E com isto, outro questionamento é levantado: "A persistência da memória requer síntese de proteínas mediada pelo EF agudo?".

Uma hipótese levantada por pesquisadores da área é que o EF agudo atua através da doação de proteínas relacionadas à plasticidade (como o BDNF), fortalecendo o traço mnemônico de uma tarefa dependente do hipocampo aprendida em uma janela temporal próxima (9). Além da síntese proteica hipocampal que ocorre nas primeiras horas após a aquisição, uma memória persistente parece requerer uma fase tardia de síntese de proteínas no hipocampo, que ocorre 12 horas após a aquisição (1), portanto, surge uma terceira pergunta: "Quais seriam os efeitos e mecanismos do EF agudo quando realizado nesta janela de tempo?". A modulação do aprendizado durante a consolidação tardia é mediada pelo aumento da expressão de BDNF e de conexões catecolaminérgicas (1, 22). Tendo em vista que o EF agudo atua estimulando estas vias, é provável que ele possa também melhorar a persistência da memória quando aplicado várias horas após a aquisição de um aprendizado.

Através deste projeto propomos responder estes questionamentos e, assim, melhor investigar os mecanismos neuroquímicos pelos quais o EF agudo atua para a modulação da persistência memória de reconhecimento. Assim, pretendemos dar continuidade aos estudos desta linha de pesquisa no Grupo de Pesquisa em Fisiologia (GPFis/Unipampa) e ampliar o entendimento sobre como esta prática de exercício atua para modular a memória.

Objetivos

Objetivo geral:

Investigar a requisição das vias noradrenérgicas e dopaminérgicas e da síntese proteica hipocampal no efeito modulatório do EF agudo sobre a persistência da memória de RO.

Objetivos específicos:

- i. Investigar a participação da ATV e LC na promoção da persistência da memória de RO induzida pelo EF agudo;
- ii. Investigar o efeito da inibição da ATV e LC após o EF agudo sob os níveis de dopamina e noradrenalina no hipocampo e córtex pré-frontal;
- iii. Investigar a requisição de síntese proteica hipocampal para a promoção da persistência da memória de RO induzida pelo EF agudo;
- iv. Investigar o efeito do EF agudo sob a expressão de BDNF no hipocampo e córtex pré-frontal;
- v. Investigar o efeito do EF agudo realizado na janela de consolidação tardia da memória

(12 horas após o aprendizado) sob a persistência da memória de RO;

vi. Investigar a dependência do possível efeito do EF agudo na janela de consolidação tardia da memória (12 horas após o aprendizado) de síntese proteica e de receptores dopaminérgicos D1/D5 ou b-adrenérgicos no hipocampo.

Materiais e Métodos

Amostra e aspectos éticos:

A amostra será composta por 350 ratos adultos (3 meses de idade) machos da raça Wistar. Os animais serão alocados em caixas plásticas especiais com capacidade para 4 animais, forradas com maravalha autoclavada e mantidos em um ciclo claro/escuro de 12h (luz a partir das 7h e escuro a partir das 19h), com água e ração à vontade e uma temperatura ambiente de $22 \pm 1^\circ\text{C}$. As caixas serão trocadas e limpas a cada 2 dias. Trata-se de um estudo com animais experimentais, desta forma o tamanho amostral (número de animais por grupo) foi definido com base nos de estudos da área, sendo que o máximo de precaução será tomado, com o intuito de reduzir o número de animais utilizados e minimizar o seu sofrimento. Todos os experimentos serão realizados de acordo com as normas dos "Principles of laboratory animal care" (NIH publication Nº 85-23, revised 1996) e somente após a aprovação do Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal do Pampa.

Delineamento:

Os experimentos serão divididos em três estudos, que contemplam investigações farmacológicas, comportamentais e bioquímicas, a fim de entender os mecanismos neuroquímicos envolvidos nos efeitos do EF agudo na memória. Para as análises de memória e comportamento, cada grupo experimental será composto por 10 animais; para as análises bioquímicas, utilizaremos um número de 5 animais por grupo. O desenho experimental é apresentado na Figura 1.

Figura 1. Desenho experimental dos estudos 1, 2 e 3 (em anexo).

Estudo 1. Investigação do requerimento da ATV e LC para a modulação da memória de reconhecimento pelo EF agudo

No estudo 1 iremos investigar o requerimento das regiões ATV e LC para a modulação do aprendizado na tarefa de RO pelo EF agudo.

Inicialmente, os animais serão submetidos à cirurgia estereotáxica para implantação de cânulas guias na ATV ou LC. Após habituação prévia na esteira e no aparato da tarefa de RO, os animais serão submetidos à sessão de treino na tarefa de RO. Logo após o treino, os animais serão submetidos à uma sessão de EF em esteira por 30 minutos, com intensidade de 60-70% do VO₂ máximo indireto previamente mensurado. Após o EF, os animais receberão a infusão de veículo ou muscimol (agonista gabaérgico, para inibição da região em estudo). Para controle farmacológico, alguns animais não realizarão o EF e, 30 minutos após o treino na tarefa de RO, somente receberão a infusão de veículo, muscimol ou NMDA (agonista glutamatérgico, para estimulação da região em estudo). Todos os animais serão testados na tarefa de RO 24 horas após o treino, para avaliar a consolidação da memória de longa duração (MLD), 7 e 14 dias após o treino, para avaliar a persistência da memória.

Para as análises bioquímicas serão considerados os seguintes grupos: naive, cujos animais não passarão por nenhum protocolo experimental; veículo, animais que receberão infusão (na ATV ou LC) de veículo, NMDA ou muscimol após o treino na tarefa de RO; animais submetidos ao treino seguido de EF e infusão (na ATV ou LC) de veículo ou muscimol. Serão analisados os níveis de dopamina e noradrenalina, por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE).

Estudo 2. Investigação do envolvimento da síntese proteica hipocampal para a modulação da memória de reconhecimento pelo EF agudo

No estudo 2, nós avaliaremos se a síntese de proteínas na região CA1 do hipocampo é requerida para a modulação do aprendizado na tarefa de RO pelo EF agudo. Nosso objetivo é entender se a persistência da MLD mediada pelo EF ocorre por um mecanismo dependente de síntese proteica hipocampal.

Inicialmente, os animais serão submetidos à cirurgia estereotáxica para implantação de cânulas guias na região CA1 do hipocampo. Após habituação prévia na esteira e no aparato da tarefa de RO, os animais serão submetidos à sessão de treino na tarefa de RO. Logo após o treino, os animais serão

submetidos à uma sessão de EF em esteira por 30 minutos, com intensidade de 60-70% do VO₂ máximo indireto previamente mensurado. Após o EF, os animais receberão a infusão de veículo, anisomicina (inibidor da tradução da proteína ribossomal) ou rapamicina (inibidor da síntese proteica mediada por mTOR). Para controle farmacológico, alguns animais não realizarão o EF e, 30 minutos após o treino, somente receberão a infusão de veículo, anisomicina ou rapamicina. Todos os animais serão testados na tarefa de RO 24 horas após o treino, para avaliar a consolidação da MLD, 7 e 14 dias após o treino, para avaliar a persistência da memória.

Para as análises bioquímicas serão considerados os seguintes grupos: animais do grupo naive, que não passarão por nenhum protocolo experimental; animais que receberão veículo em CA1 após o treino na tarefa de RO; e animais submetidos ao treino seguido de EF e infusão de veículo em CA1. Será analisado a expressão de BDNF e CAMKII, por Western Blotting (WB) e de BDNFmRNA por Reação em Cadeia da Polimerase (RCP).

Estudo 3. Investigação dos efeitos e mecanismos do EF agudo na janela de consolidação tardia da memória de reconhecimento

No estudo 3, o efeito do EF agudo sob a memória de reconhecimento será investigado na janela de consolidação tardia, isto é, 12 horas após o aprendizado. Nós também investigaremos a requisição hipocampal (em CA1) de síntese de proteínas, dos receptores dopaminérgicos da D1/D5 e b-adrenérgicos. Inicialmente, os animais serão submetidos à cirurgia estereotáxica para implantação de cânulas guias na região CA1 do hipocampo. Após habituação prévia na esteira e no aparato da tarefa de RO, os animais serão submetidos à sessão de treino na tarefa de RO. 12 horas após, os animais serão submetidos à uma sessão de EF em esteira por 30 minutos, com intensidade de 60-70% do VO₂ máximo indireto previamente mensurado. Após o EF, os animais receberão a infusão de veículo (controle), rapamicina ou anisomicina (para avaliar a requisição de síntese proteica), SCH23390 (antagonista dopaminérgico dos receptores D1/D5), ou timolol (antagonista dos receptores b-adrenérgicos). Para controle farmacológico, alguns animais não realizarão o EF e, 12 horas após o treino, somente receberão a infusão de veículo, rapamicina, anisomicina, SKF38393 (agonista dos receptores D1/D5) ou noradrenalina (agonista dos receptores b-adrenérgicos). Todos os animais serão testados na tarefa de RO 24 horas após o treino, para avaliar a consolidação da MLD, 7 e 14 dias após o treino, para avaliar a persistência da memória.

Protocolos:

Drogas:

As drogas serão adquiridas da Sigma-Aldrich, dissolvidas em salina 0,9%, e armazenadas de acordo com as recomendações do fabricante. As concentrações e volumes são baseados em estudos prévios: muscimol 0,01µg/µL; NMDA 0,01µg/µL; anisomicina 80µg/µL; rapamicina 5pg/µL; SKF38393 12,5µg/µL; SCH23390 1µg/µL; timolol 1µg/µL; noradrenalina 1µg/µL (7, 13, 18, 27-29).

Cirurgia e infusão

De acordo com o estudo experimental, os animais passarão por cirurgia estereotáxica para implantação de cânulas guia de 0,2 mm de calibre e 9,0 mm de comprimento na região ATV, LC ou CA1 do hipocampo dorsal. As coordenadas antero-anterior, latero-lateral e dorsol-ventral para implantação das cânulas nestas regiões são, respectivamente: -4,8, ± 1,0 e -3,0 mm, para ATV; -9,7, ± 1,3 e -3,0 mm, para LC; e -4,2, ± 3,0 e -2,0 mm, para CA1 (7, 14, 17). Todo o procedimento será realizado com os animais previamente anestesiados com cetamina e xilazina, administrados intra-peritonealmente (i.p.), nas doses de 75mg/kg e 10mg/kg, respectivamente.

No momento da infusão das drogas, as agulhas de infusão serão inseridas nas cânulas guia. As agulhas serão preparadas à fim de atingir uma determinada profundidade em relação à cânula para alcançar a região de interesse, respeitando as coordenadas de Paxinos & Watson (20). Serão considerados 1,0 mm de profundidade para CA1 do hipocampo (agulha de tamanho 10 mm); 5,0 mm de profundidade para ATV (agulha de tamanho 14 mm); e 4,0 mm de profundidade para LC (agulha de tamanho 13 mm). As infusões (1µL/lado) serão realizadas por um período de 60 segundos, e as agulhas serão deixadas no local por mais 60 segundos para evitar o refluxo.

EF agudo:

O EF será conduzido em uma esteira motorizada construída para roedores (Insight Ltda., São Paulo, Brasil), e o protocolo está conforme descrito previamente (7). Os animais serão inicialmente habituados à esteira para evitar efeitos de novidade e/ou estresse. A habituação será feita uma semana antes do início dos experimentos cirúrgicos e comportamentais. Nos dois primeiros dias, os animais serão colocados na esteira ligada a uma velocidade de 2 a 5 m/min e permanecerão por 10 minutos; do terceiro ao quinto dia a velocidade será aumentada para 8m/min. No sexto dia de habituação, os animais serão submetidos ao teste indireto de VO₂, à fim de determinar a intensidade individual do exercício para cada animal. Para o teste, os animais serão colocados na esteira com velocidade de 1m/min, que será aumentada em 5m/min a cada 3 minutos, até a exaustão do animal. O tempo até a fadiga (minutos) e o volume de trabalho (m/min) serão considerados como uma medida indireta do VO₂ máximo. O EF agudo será realizado imediatamente ou 12 horas após a sessão de treino de RO (conforme o estudo), terá duração de 30 minutos e será realizado em uma intensidade de 60-70% do VO₂ máximo indireto previamente mensurado.

Tarefa de RO:

A tarefa de RO se baseia na tendência natural dos animais em explorar novos objetos em um ambiente conhecido (3). A tarefa será realizada em uma caixa de madeira (50 x 50 x 50 cm), conforme descrito previamente (7, 19). Os animais serão inicialmente habituados no aparato, sendo colocados individualmente para livre exploração do ambiente durante 20 minutos por dia, por 4 dias consecutivos. 24 horas após o último dia de habituação, será realizada a sessão de treino, que consiste em colocar dois objetos diferentes na caixa, para livre exploração dos animais durante 5 minutos. 24 horas após o treino, será realizado o teste de MLD, no qual um dos objetos será substituído por um novo objeto, e os animais serão deixados para livre exploração durante 5 minutos. 7 e 14 dias após o treino, serão realizados os testes de persistência da MLD, no qual será apresentado aos animais um objeto conhecido (de acordo com o tempo da primeira exploração) e um objeto novo. O tempo de exploração para os objetos será contabilizado e a exploração será considerada a partir do toque dos objetos com as patas frontais ou da olfação. Nós nomeamos os objetos com diferentes letras (A, B, C, D e E), e eles consistem em, respectivamente, um cubo mágico, copo plástico, lata circular, peças de lego, e um cilindro metálico. As combinações de objetos utilizadas nesta tarefa já foram testadas previamente, sendo confirmado que os animais não possuem preferência por nenhum dos objetos (7, 19). A fim de evitar interferências olfativas, a caixa e os objetos serão limpos entre os testes com etanol 70%.

Controles comportamentais:

Serão realizados após as sessões de teste da tarefa de RO. Têm como objetivo garantir que os resultados observados se referem à memória, e não à possíveis alterações de comportamento, como locomoção, comportamento exploratório e ansioso.

Campo aberto (CA):

Avalia a atividade locomotora e o comportamento exploratório dos animais (4). A tarefa será realizada em um caixa de madeira (50 x 50 x 39 cm), dividida em 12 quadrantes com igual área de superfície. Os animais serão colocados individualmente no aparato e, durante 5 minutos, será contabilizado o número de cruzamentos pelos quadrantes e o número de elevações sobre as patas traseiras, comportamentos que nos roedores denotam locomoção e exploração.

Labirinto em Cruz Elevado (LCE):

Avalia o comportamento ansioso dos animais (21). A tarefa será realizada em uma plataforma em cruz, com 40 cm de comprimento em cada braço, posicionada a 1 m de altura; dois braços contralaterais do labirinto possuem paredes elevadas (braços fechados), e os outros dois não possuem paredes (braços abertos). Os animais serão colocados individualmente no centro do labirinto e deixados livres para explorar por 5 minutos. Nós contabilizaremos o tempo de permanência e o número de entradas nos braços abertos e fechados. Quanto mais ansioso estiver o animal, maior o tempo de permanência e o número de entradas nos braços fechados.

Análises bioquímicas:

Para os experimentos bioquímicos, os animais serão eutanasiados por decapitação, 30 minutos após o EF agudo ou em tempo equivalente para os demais grupos. O córtex pré-frontal e o hipocampo serão

removidos para mensuração da expressão de BDNF, por WB e BDNFmRNA, por RCP; dos níveis de dopamina e noradrenalina, por CLAE, e da atividade da enzima tirosina hidroxilase, precursora catecolaminérgica.

Western blotting (WB):

Será realizado conforme descrito previamente (15). As amostras serão preparadas e os níveis de proteínas totais serão quantificados pelo método BCA. As proteínas serão separadas por eletroforese e transferidas para uma membrana. A membrana será incubada com anticorpo primário (anti-BDNF, anti-CAMKII ou anti-tubulina) durante a noite a 4°C. No dia seguinte, a membrana será incubada com anticorpo secundário (anti-Ig peroxidase) e, posteriormente, será adicionado um reagente fotoluminescente. As imagens serão capturadas e analisadas utilizando o software ImageQuant RT-ECL.

Reação em Cadeia da Polimerase (RCP):

Será realizado conforme descrito previamente (30). 1µg de RNA total será transcrito em cDNA e RCP será utilizado para avaliar a expressão de mRNA de BDNF.

Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE):

Será realizado conforme descrito previamente (2, 8, 27). As amostras serão homogeneizadas em Tris HCl 50 mM, pH 7,4 na proporção 1:10 (peso:volume); centrifugadas a 2400 rpm durante 20 min, e os sobrenadantes serão filtrados e depois armazenados a -80°C até a detecção.

Análise dos resultados:

A análise estatística será conduzida com o auxílio do programa Graph Pad Prism 6 (GraphPad Software®, San Diego, CA). Os dados serão analisados considerando sua normalidade. O tempo de exploração do objeto na tarefa de RO será convertido em porcentagem do tempo total de exploração e, em caso de distribuição paramétrica, um teste t de uma amostra será usado para comparar a porcentagem do tempo total de exploração para cada objeto a partir de uma média teórica (50%). Adicionalmente, o índice de discriminação (ID) nos testes de retenção será determinado pela diferença de tempo gasto explorando os objetos novos (t novo) e familiares (t familiar): $ID = [(t \text{ novo} - t \text{ familiar}) / (t \text{ novo} + t \text{ familiar}) \times 100 (\%)]$. Os resultados do ID, CA, LCE, WB e CLAE serão analisados utilizando ANOVA de uma via seguida por *post hoc* de Tukey. Todos os dados serão expressos como média $\pm$ DP. O nível de significância considerado em todas as análises será de $P \leq 0,05$.

Resultados Esperados

Ao final destes estudos esperamos:

- i. Confirmar a requisição da ATV e LC na promoção da persistência da memória de RO modulada pelo EF agudo;
- ii. Confirmar que a inibição da ATV e LC após o EF agudo diminui os níveis de dopamina e noradrenalina do hipocampo e córtex pré-frontal;
- iii. Confirmar a requisição de síntese proteica hipocampal na promoção da persistência da memória de RO modulada pelo EF agudo;
- iv. Confirmar que o EF agudo aumenta a expressão de BDNF no hipocampo e córtex pré-frontal;
- v. Confirmar que o EF agudo realizado na janela de consolidação tardia promove a persistência da memória de RO;
- vi. Identificar que os efeitos do EF agudo realizado na janela de consolidação tardia sob a memória de RO são dependentes de síntese proteica, e da ativação de receptores dopaminérgicos D1/D5 e b-adrenérgicos no hipocampo.

Estes resultados trarão inovação conceitual na área e possibilitarão publicações em periódicos com QUALIS de qualidade. Ainda, auxiliarão na consolidação das atividades do Grupo de Pesquisa em Fisiologia da UNIPAMPA. Este projeto também contribuirá para formação de recursos humanos de qualidade em diferentes níveis, envolvendo a participação de alunos de iniciação científica da graduação, e alunos de mestrado e doutorado dos PPGs Bioquímica e Ciências Fisiológicas da UNIPAMPA.

Relação Ensino, Pesquisa, Extensão

O projeto será realizado junto ao Grupo de Pesquisa em Fisiologia (GPFis) da Unipampa. O GPFis sempre

procurou/procura articular atividades de ensino, pesquisa e extensão, promovendo uma relação dialógica entre estes três componentes essenciais à formação do aluno. Desta forma, a equipe também promoverá atividades de ensino (grupos de estudo, ciclos de debates), nas quais se discutem e estudam a aplicabilidade e relação da temática de pesquisa com os cursos e conteúdos da graduação e pós-graduação. Cabe mencionar que o tema proposto no projeto se articula fortemente com os conteúdos estudados nos cursos de saúde e ciências biológicas. Ainda, o tema do projeto será trabalhado em atividades de extensão que envolvem, principalmente, a divulgação da ciência e, especialmente, da neurociência, junto à comunidade de Uruguaiana, através de atividades realizadas junto à comunidade, como na Semana do Cérebro, na Semana Nacional de Ciência e Tecnologia e na FERIA Municipal de Ciências, nas quais nosso grupo participa. Ademais, o grupo coordena o programa de extensão POPNEURO, que divulga ciência em escolas e em redes sociais (Instagram @programapopneuro). Os resultados da presente pesquisa também serão divulgados no Instagram do GPFis (@gpfisunipampa).

Aderência às áreas de Tecnologias Prioritárias do MCTI

O presente projeto de pesquisa busca ampliar os conhecimentos acerca dos efeitos do EF agudo sobre a memória e dos mecanismos neurobiológicos envolvidos. Este conhecimento possibilitará o desenvolvimento de estratégias de ensino mais efetivas, e também de estratégias de neuroproteção, que poderão contribuir na redução da taxa de evolução de doenças neurodegenerativas, como o Alzheimer. Desta forma, o tema da pesquisa tem grande aderência com a área de Tecnologias para Qualidade de Vida, subtema Saúde. Destaca-se que, em seres humanos, é muito difícil a realização de estudos com humanos nesta área, especialmente o estudo dos mecanismos neurobiológicos, por isto modelos em ratos tem sido utilizados, com grande potencial translacional.

Geração de Resíduos

Serão gerados resíduos químicos, biológicos, e material de descarte (luvas, vidros quebrados, etc.).

Detalhamento:

Carcasas de animais (ratos Wistar) que serão utilizados para experimentos comportamentais e, na sequência, bioquímicos, pequenos volumes de reagentes químicos, luvas descartáveis, material perfurocortante (agulhas, lâminas de bisturi) e alguma vidraria quebrada.

Quantidade:

~350 animais; dez sacos de luvas descartáveis, gaze, papel toalha, etc., uma caixa de material perfurocortante (vidraria quebrada, lâmina de bisturi, agulha, etc.), ~3L de restos de reagentes químicos.

Os resíduos serão acondicionados para posterior tratamento. Os restos dos animais serão armazenados em freezer no laboratório de Neuroquímica □ NUPEVI até o dia de coleta realizado por empresa terceirizada na Universidade. Os demais materiais serão armazenados em sacos apropriados, vidro âmbar e/ou caixas para descarte de material perfurocortante até o dia da coleta por empresa terceirizada (coleta semanal todas as terças ou quartas), de acordo com a orientação da Coordenação de Laboratórios do campus Uruguaiana.

Outras Informações Relevantes

Este projeto faz parte de uma tese de doutorado a ser desenvolvida junto ao PPGBioquímica/Unipampa.

Referências

1. Bekinschtein P, Cammarota M, Katze C, Slipczuk L, Rossato JI, Goldin A, Izquierdo I, Medina JH. BDNF is essential to promote persistence of long-term memory storage. *Proc Natl Acad Sci U S A* 105: 2711□2716, 2008. doi: 10.1073/pnas.0711863105.
2. da Silva de Vargas L, Neves BHS das, Roehrs R, Izquierdo I, Mello-Carpes P. One-single physical exercise session after object recognition learning promotes memory persistence through hippocampal noradrenergic mechanisms. *Behav Brain Res* 329: 120□126, 2017. doi: 10.1016/j.bbr.2017.04.050.
3. Ennaceur, Delacour. A new one-trial test for neurobiological studies of memory in rats. *Behav Brain Res* 31: 47□59, 1998.
4. Hall C. Drive and emotionality: factors associated with adjustment in the rat. *J Comp Psychol* 27: 89□108, 1934.
5. Izquierdo I. Memória. 2018.
6. Katze C, Tomaiuolo M, Dorman G, Medina JH, Viola H. Novelty during a late postacquisition time window attenuates the persistence of fear memory. *Sci Rep* 6: 1□8, 2016. doi: 10.1038/srep35220.
7. Lima KR, da Rosa AC de S, Picua SS, Silva SS e, Soares NM, Mello-Carpes PB. One single physical exercise session improves memory persistence by hippocampal activation of D1 dopamine receptors and PKA signaling in rats. *Brain Res* 1762: 147439, 2021. doi: 10.1016/j.brainres.2021.147439.
8. Lima KR, Vargas L da S de, Ramborger B, Roehrs R, Sevenster D, Izquierdo I, D□Hooge R, Mello-Carpes PB. Noradrenergic and dopaminergic involvement in novelty modulation of aversive

- memory generalization of adult rats. *Behav Brain Res* 371: 111991, 2019. doi: 10.1016/j.bbr.2019.111991.
9. Loprinzi PD, Ponce P, Frith E. Hypothesized mechanisms through which acute exercise influences episodic memory. *Physiol Int* 105: 285–297, 2018. doi: 10.1556/2060.105.2018.4.28.
 10. Manns JR, Hopkins RO, Reed JM, Kitchener EG, Squire LR. Recognition memory and the human hippocampus. *Neuron* 37: 171–180, 2003. doi: 10.1016/S0896-6273(02)01147-9.
 11. McNamara CG, Dupret D. Two sources of dopamine for the hippocampus. *Trends Neurosci* 40: 383–384, 2017. doi: 10.1016/j.tins.2017.05.005.
 12. Medina JH, Bekinschtein P, Cammarota M, Izquierdo I. Do memories consolidate to persist or do they persist to consolidate? *Behav Brain Res* 192: 61–69, 2008. doi: 10.1016/j.bbr.2008.02.006.
 13. Mello-Carpes PB, da Silva de Vargas L, Gayer MC, Roehrs R, Izquierdo I. Hippocampal noradrenergic activation is necessary for object recognition memory consolidation and can promote BDNF increase and memory persistence. *Neurobiol Learn Mem* 127: 84–92, 2016. doi: 10.1016/j.nlm.2015.11.014.
 14. Mello-Carpes PB, da Silva de Vargas L, Gayer MC, Roehrs R, Izquierdo I. Hippocampal noradrenergic activation is necessary for object recognition memory consolidation and can promote BDNF increase and memory persistence. *Neurobiol Learn Mem* 127: 84–92, 2016. doi: 10.1016/j.nlm.2015.11.014.
 15. Menezes J, Souto das Neves BH, Gonçalves R, Benetti F, Mello-Carpes PB. Maternal deprivation impairs memory and cognitive flexibility, effect that is avoided by environmental enrichment. *Behav Brain Res* 381: 1–9, 2020. doi: 10.1016/j.bbr.2020.112468.
 16. Moncada D. Evidence of VTA and LC control of protein synthesis required for the behavioral tagging process. *Neurobiol Learn Mem* 138: 226–237, 2017. doi: 10.1016/j.nlm.2016.06.003.
 17. Moncada D. Evidence of VTA and LC control of protein synthesis required for the behavioral tagging process. *Neurobiol Learn Mem* 138: 226–237, 2017. doi: 10.1016/j.nlm.2016.06.003.
 18. Myskiw JDC, Regina C, Furini G, Schmidt B, Ferreira F, Izquierdo I. Extinction learning , which consists of the inhibition of retrieval , can be learned without retrieval. : 10–13, 2014. doi: 10.1073/pnas.1423465112.
 19. Neves BHS, Barbosa GPDR, Rosa AC de S, Picua SS, Gomes GM, Sosa PM, Mello-Carpes PB. On the role of the dopaminergic system in the memory deficits induced by maternal deprivation. *Neurobiol Learn Mem* 173, 2020. doi: 10.1016/j.nlm.2020.107272.
 20. Paxinos G, Watson C. *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*. Acad Press 7th Editio: 1–472, 2013.
 21. Pellow S, Chopin P, File SE, Briley M. Validation of open:closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. .
 22. Rossato JI, Bevilaqua LRM, Izquierdo I, Medina JH, Cammarota M. Dopamine controls persistence of long-term memory storage. *Science* (80-) 325: 1017–1020, 2009. doi: 10.1126/science.1172545.
 23. Squire LR. Nondeclarative Memory: Multiple Brain Systems Supporting Learning [Online]. *Neuroscience* 4: 232–243, 1984. <http://www.mitpressjournals.org/doi/abs/10.1162/jocn.1992.4.3.232>.
 24. Squire LR, Zola SM. Structure and function of declarative and nondeclarative memory systems. *Proc Natl Acad Sci U S A* 93: 13515–13522, 1996. doi: 10.1073/pnas.93.24.13515.
 25. Stern C, Hasselmo M. *Recognition Memory*. .
 26. Tyler WJ, Pozzo-Miller LD. BDNF Enhances Quantal Neurotransmitter Release and Increases the Number of Docked Vesicles at the Active Zones of Hippocampal Excitatory Synapses. *J Neurosci* 21: 4249–4258, 2001. doi: 10.1523/JNEUROSCI.21-12-04249.2001.
 27. Vargas L da S de, Lima KR, Ramborger BP, Roehrs R, Izquierdo I, Mello-Carpes PB. Catecholaminergic hippocampal activation is necessary for object recognition memory persistence induced by one-single physical exercise session. *Behav Brain Res* 379: 112356, 2020. doi: 10.1016/j.bbr.2019.112356.
 28. Vargas L da S de, Neves BHS das, Roehrs R, Izquierdo I, Mello-Carpes P. One-single physical exercise session after object recognition learning promotes memory persistence through hippocampal noradrenergic mechanisms. *Behav Brain Res* 329: 120–126, 2017. doi:

10.1016/j.bbr.2017.04.050.

29. Vargas L da S de, Sevenster D, Lima KR, Izquierdo I, D'Hooge R, Mello-Carpes PB. Novelty exposure hinders aversive memory generalization and depends on hippocampal protein synthesis. Behav Brain Res 359: 89-94, 2019. doi: 10.1016/j.bbr.2018.10.034.

30. Venezia AC, Quinlan E, Roth SM. A single bout of exercise increases hippocampal Bdnf: influence of chronic exercise and noradrenaline. Genes, Brain Behav 16: 800-811, 2017. doi: 10.1111/gbb.12394.

31. Wang SH. Novelty enhances memory persistence and remediates propranolol-induced deficit via reconsolidation. Neuropharmacology 141: 42-54, 2018. doi: 10.1016/j.neuropharm.2018.08.015.

Possui Bolsistas

Não, mas vou pleitear em alguma chamada

Unidades e Cursos

Unidade	Curso
Campus Uruguaiana	Doutorado em Bioquímica (URDB)
Campus Uruguaiana	Doutorado em Ciências Fisiológicas (URDCFI)
Campus Uruguaiana	Fisioterapia (URFIS)
Campus Uruguaiana	Mestrado em Ciências Fisiológicas (URMCFI)

Equipe Executora

Nome	E-mail	Tipo	Função	CH Semanal	Período Participação
Ana Carolina de Souza da Rosa	aninhadarosa95@hotmail.com	Discente	Discente - Voluntário	10	De 15/03/2022 a 02/02/2026
Ana Caroline Moura de Oliveira	anacmdo.aluno@unipampa.edu.br	Discente	Discente - Voluntário	4	De 26/05/2023 a 02/02/2026
Anna Cecília Perretto Vieira de Souza	annasouza.aluno@unipampa.edu.br	Discente	Discente - Voluntário	6	De 26/05/2023 a 02/02/2026
Ben-hur Souto das Neves	benhur.neves@hotmail.com	Discente	Discente - Voluntário	5	De 15/03/2022 a 02/02/2026
Bruno Pereira Coura	brunocoura.aluno@unipampa.edu.br	Discente	Discente - Voluntário	10	De 26/05/2023 a 02/02/2026
Gabriela Cristiane Mendes Gomes	gabrielamendes.aluno@unipampa.edu.br	Discente	Discente - Voluntário	10	De 26/05/2023 a 02/02/2026
Gabriela Jaques Sigaran	gabrielasigaran.aluno@unipampa.edu.br	Discente	Discente - Voluntário	10	De 26/05/2023 a 02/02/2026
Giulia Azevedo Martinez	giuliamartinez.aluno@unipampa.edu.br	Discente	Discente - Voluntário	6	De 26/05/2023 a 02/02/2026
Guilherme Salgado Carrazoni	guilhermecarrazoni@gmail.com	Discente	Discente - Voluntário	5	De 15/03/2022 a 02/02/2026
Karine Ramires Lima	karinelima96@hotmail.com	Discente	Colaborador	20	De 15/03/2022 a 02/02/2026
Larissa de Almeida Dias	larissadias.aluno@unipampa.edu.br	Discente	Discente - Voluntário	6	De 26/05/2023 a 02/02/2026
Marisele dos Santos Soares	mariselesoares.aluno@unipampa.edu.br	Discente	Discente - Bolsista	20	De 26/05/2023 a 02/02/2026
Nelson Gustavo Novais Marinho	nelsonmarinho.aluno@unipampa.edu.br	Discente	Discente - Voluntário	6	De 26/05/2023 a 02/02/2026
Pamela Billig Mello Carpes	pamelacarpes@unipampa.edu.br	Docente	Coordenador	1	De 15/03/2022 a 02/02/2026

Cronograma

Data Início	Data Fim	Atividade	Carga Horária	Local	Membros
15/03/2022	02/02/2026	Revisão de literatura e reuniões de estudo da equipe.	500	Unipampa/Urguaiana	Ana Carolina de Souza da Rosa, Ben-hur Souto das Neves, Guilherme Salgado Carrazoni, Karine Ramires Lima, Pamela Billig Mello Carpes
15/03/2022	06/02/2023	Experimentos previstos no estudo 1	1000	Unipampa/Uruguaiiana.	Ana Carolina de Souza da Rosa, Ben-hur Souto das Neves, Guilherme Salgado Carrazoni, Karine Ramires Lima
06/02/2023	28/11/2025	Análise dos resultados.	1500	Unipampa/Uruguaiiana	Karine Ramires Lima, Pamela Billig Mello Carpes
06/02/2023	02/02/2026	Escrita de trabalhos para eventos. Apresentação de trabalhos em eventos. Redação e submissão de artigos.	3000	Unipampa/Uruguaiiana	Ana Carolina de Souza da Rosa, Karine Ramires Lima, Pamela Billig Mello Carpes
07/02/2023	06/02/2024	Experimentos previstos no estudo 2.	1000	Unipampa/Uruguaiiana.	Ana Carolina de Souza da Rosa, Ben-hur Souto das Neves, Guilherme Salgado Carrazoni, Karine Ramires Lima
03/07/2023	18/12/2023	Qualificação de tese de doutorado	40	Unipampa/Uruguaina	Karine Ramires Lima, Pamela Billig Mello Carpes
05/02/2024	04/02/2025	Experimentos previstos no estudo 3.	1500	Unipampa/Uruguaiiana.	Ana Carolina de Souza da Rosa, Ben-hur Souto das Neves, Guilherme Salgado Carrazoni, Karine Ramires Lima
13/12/2024	03/02/2025	Excrita e defesa da tese de doutorado	1000	Unipampa/Uruguaiiana	Karine Ramires Lima, Pamela Billig Mello Carpes

Pareceres Solicitados

Parecer
Parecer da Comissão de Ética no Uso de Animais

Dados do Fomento

Código	Agência de Fomento	Edital	Total Fomento (R\$)
59	IBRO (International Brain Research Organization)	PROLAB	R\$ 21.000,00
58	CAPES	Bolsa DS	R\$ 79.200,00
57	CNPq	Bolsa produtividade em pesquisa 1C	R\$ 48.680,00

Planejamento de Despesas

Despesas de Custeio	Opção	Valor Estimado (R\$)	Fonte de Financiamento	Especificações
Auxílio a Estudantes (Bolsas)	Já Possui	79.200,00	Edital Externo	CAPES, bolsa de doutorado. No entanto iremos pleitear bolsa de IC em editais internos.
Diárias	Não Necessita	0,00		
Passagens	Não Necessita	0,00		
Material de Consumo	Necessita	40.000,00	Edital Interno e Externo	Necessita algum material adicional que será solicitado em editais internos, como AGP. Possui a maioria dos materiais adquiridos por editais como: CNPq-PQ1C, e PROLAB-IBRO
Serviços de Terceiros (Pessoa Física)	Não Necessita	0,00		
Serviços de Terceiros (Pessoa Jurídica)	Não Necessita	0,00		
Outros	Não Necessita	0,00		
Total		119.200,00		

Despesas de Capital	Opção	Valor Estimado (R\$)	Fonte de Financiamento	Especificações
Equipamentos e Material Permanente	Necessita	15.000,00	Edital Interno e Externo	Possui a maioria dos materiais permanentes, sendo necessário apenas a aquisição de novos equipamentos extereotáticos.

Total Geral de Despesas (R\$): **134.200,00**

Alternativas caso a fonte de financiamento não se confirme: - A maior parte das fontes de financiamento já se confirmaram. Os recursos do Ed. PROLAB já foram recebidos. Os do Edital Pq/CNPq são pagos mensalmente (taxa de bancada da docente orientadora), assim como os das bolsas. - Adicionalmente, serão solicitadas bolsas de IC para atuação de estudantes de graduação junto ao presente projeto. - Recursos adicionais serão solicitados em editais internos (APPG e AGP/PROPPI) - Quanto à infraestrutura e equipamentos (capital), os laboratórios de Estresse, Memória e Comportamento Animal e o Laboratório de Neuroquímica (NUPEVI), coordenados pela coordenadora do projeto, possuem todo aparato instrumental e materiais permanentes necessários para execução deste projeto.

Alterações ref. ao projeto no SIPPEE:

Alterações no cronograma, especialmente em função da pandemia, e na equipe.

Documento gerado por: Pamela Billig Mello Carpes **Data/Hora:** 04/08/2024 às 12:22:07