

Título: Efeitos da atividade física ao longo da vida na disfunção cerebral – Relevância dos mecanismos mitocondriais na doença de Alzheimer e no Envelhecimento.

Title: Effects of life-long physical activity on brain function in Alzheimer Disease and Aging - Relevance of mitochondrial-mediated mechanisms

Palavras chave: exercício; envelhecimento; doença de Alzheimer, bioenergética

Keywords: Exercise, aging; Alzheimer disease; bioenergetics

RESUMO (5000 caracteres)

Rational: As desordens cognitivas associadas ao envelhecimento, como a Doença de Alzheimer(DA), são um problema de saúde preocupante. O cérebro é um órgão particularmente sensível a lesões oxidativas de proteínas, lípidos e DNA, as quais ocorrem durante o processo normal de envelhecimento devido às elevadas necessidades metabólicas e reduzidas defesas antioxidantes deste tecido. Como consequência, surgem perturbações no metabolismo energético decorrentes da disfunção mitocôndria e activação de vias de morte celular. Desta forma, as estratégias preventivas e terapêuticas contra etapas iniciais da DA deverão incluir a protecção mitocondrial, redução do dano oxidativo e da sinalização apoptótica. O exercício físico, como promotor da plasticidade do tecido cerebral e melhoria a função cognitiva, tem sido recomendado contra um largo espectro de patologias. O exercício regular melhora a plasticidade do hipocampo, via incremento da neurogénese, angiogénese e paralelamente de adaptações metabólicas[1]. Adicionalmente, alguns estudos sugerem que o exercício modela a função mitocondrial [2-4]. O exercício parece reverter a sinalização apoptótica mediada pelas mitocôndrias após stress crónico[5]. Contudo, os seus efeitos contra as sequelas mitocondriais cerebrais associadas ao processo de envelhecimento e à DA não se encontram ainda estudados, constituindo o problema central deste projecto inovador

Hipótese de trabalho: Os efeitos do exercício ao longo da vida aumentam a capacidade mitocondrial do cérebro diminuem a susceptibilidade à permeabilidade transitória e apoptose.

Objectivos específicos e métodos: De forma a confirmar as hipóteses de trabalho, iremos permitir o acesso de animais a exercício em roda livre, um modelo que mimetiza a actividade física voluntária com elevada validade ecológica, em oposição ao exercício intenso forçado realizado em tapete rolante. O tratamento intercerebroventricular com streptozotocina(ICV-STZ) é um modelo efetivo e amplamente utilizado de indução de DA em roedores, caracterizado por inúmeras alterações neuroquímicas que conduzem à disfunção cognitiva e demência[6]. Entre outros, está descrito que este modelo induz a elevação de marcadores de disfunção mitocondrial associados ao sistema fosforilativo e homeostasia do ião cálcio, assim como com o aumento da sinalização para morte celular[7]. Ratos macho serão divididos nos seguintes grupos: jovem sedentário, envelhecido sedentário, envelhecido sedentário tratado com ICV-STZ (DA), envelhecido activo (32-semanas roda livre), envelhecido activo tratado com ICV-STZ (DA). Serão realizados testes comportamentais para avaliar a função cognitiva (aprendizagem e memória espacial). As fracções mitocondriais isoladas do córtex e hipocampo serão utilizadas para a avaliação do sistema fosforilativo e indução do poro transitório sensível à ciclosporina A(mtPTP). Serão analisados também na fracção mitocondrial e/ou no homogeneizado tecidual marcadores de stress oxidativo, apoptose e capacidade antioxidante. Paralelamente, serão estudadas proteínas associadas à dinâmica mitocondrial e ao stress do RE de forma a confirmar o dano na homeostasia mitocondrial durante AD e o papel protetor do exercício físico.

Pretendemos, paralelamente, analisar a relação entre a função e dinâmica mitocondriais e antioxidantes com o decréscimo do dano oxidativo. Complementarmente, pretendemos estudar o impacto do exercício físico nos níveis de stress do reticulo endoplasmático(RE)

Significado do trabalho: Pretende-se com este projecto fornecer um contributo para a compreensão dos mecanismos mitocondriais associados ao papel do exercício na disfunção cerebral associada ao processo de envelhecimento e à DA. Dependendo dos resultados obtidos, poderemos sugerir que um estilo de vida activo reduz o dano cerebral, a disfunção mitocondrial e morte celular devendo ser recomendado como estratégia preventiva e terapêutica contra as condições fisiopatológicas em estudo

Equipa de investigação: Temos colaborado com o CNC, o IBMC e com o Departamento de Biologia da Universidade de Barcelona (UB). Os primeiros têm realizado trabalho de elevada qualidade sobre os efeitos de agentes tóxicos na função mitocondrial em diversos tecidos incluindo no cérebro[8, 9] tendo colaborado com o nosso laboratório, juntamente com o IBMC e a UB no estudo dos efeitos do exercício na função mitocondrial[10-14]. Este projecto incrementará a colaboração entre o CIAFEL e estes laboratórios. Os resultados do presente projeto contribuirão para uma tese de Mestrado e uma de Doutoramento. Adicionalmente, a contratação de um investigador contribuirá para o incremento da formação de recursos humanos

Summary (5000 c)

Rational: With the increasing average life span, age-related cognitive disorders such as Alzheimer's disease (AD) are a major health concern in nowadays. The brain is particularly sensitive to cumulative oxidative damage of proteins, lipids and DNA, which occurs during normal aging process due to the high metabolic demands of the brain tissue and low levels of antioxidant defences. Perturbations of energy metabolism including mitochondrial dysfunction and activation of signalling pathways leading to cell death that culminate in functional deficits are observed in aged and AD brains. Therefore, important targets for prevention and long-term treatment of early stages of age-related AD should include mitochondrial protection with subsequent reduction of oxidative damage and associated apoptotic signalling. Physical exercise is a widely recommended intervention for most disease conditions, known to promote brain plasticity and to improve cognitive functions. Regular exercise improves hippocampus plasticity, increasing neurogenesis and angiogenesis, which are coupled with metabolic energetic adaptations such as regulation of glucose uptake [1]. Results of proteomic and molecular studies revealing exercise-mediated alterations in mitochondrial energy producing systems correlate well with improved mitochondrial activity [2-4]. Moreover, exercise reversed chronic stress-induced mitochondrial-mediated apoptosis initiation [5]. However, effects of lifelong exercise against deleterious brain mitochondrial sequels

associated with aging and AD conditions have not been studied, which makes this submission highly innovative.

Hypothesis: Our work hypothesis is that life-long physical exercise increases brain mitochondrial capacity and decreases vulnerability to induction of the permeability transition and apoptotic signalling. We expect to find a tight correlation between improved mitochondrial function, dynamics and antioxidants with decreased oxidative damage. As a side objective, we will also study the impact of exercise on endoplasmic reticulum (ER) stress levels.

Specific aims and methods: To confirm our work hypothesis, we will submit rats to running in a free wheel, which is an established rodent model of voluntary physical activity with high physiological relevance, as opposed to forced treadmill running protocols. Intracerebroventricular treatment with streptozotocin (ICV-STZ) is a largely and effectively used model of AD in rodents, characterized by numerous neurochemical changes leading to cognitive dysfunction and dementia [6]. Among others, several signs of mitochondrial dysfunction at the level of phosphorylative system and calcium homeostasis, as well as increased cell death signaling are described in this model [7]. Wistar rats will be assigned to different groups: young sedentary, aged sedentary, aged sedentary+ICV-STZ (AD), aged exercised (32wks life-long physical activity) and aged exercised+ICV-STZ (AD). Behavioral tests will be performed to evaluate cognitive function (spatial learning and memory). Isolated cortical and hippocampal mitochondria will be obtained for real-time measurements of phosphorylating system and induction of the cyclosporine A-sensitive transition pore (mtPTP). Also, several markers of oxidative damage, apoptosis and antioxidants will be measured in mitochondria and/or brain homogenates. Finally, proteins involved in mitochondrial dynamics and ER stress (unfolded protein response-related proteins) will be investigated to confirm disrupted mitochondrial homeostasis during AD and the protective role of physical activity.

Significance of the work: Important contributions to understand the mitochondrial mechanisms associated with the role of exercise to counteract age- and AD-related brain dysfunction will be provided. Depending on the data obtained, it may be suggested that an active life-style during life course reduces brain damage, mitochondrial dysfunction, and cell

death and thus should likely be advised as preventive and therapeutic tool against these pathophysiological conditions.

Research team: We have been collaborating with groups of CNC, IBMC and with Biology Department of University of Barcelona (UB). The CNC has developed high quality works regarding the effects of toxicants on mitochondria in several tissues including brain [see 8, 9] and have also worked with our lab, together with IMBC and UB, following the effects of exercise on mitochondrial function [10-14]. This project will improve the links between CIAFEL and these laboratories. Results from this project will contribute to one Master thesis and one Ph.D thesis. Furthermore, we will hire one research fellow, contributing to the formation of human resources.