

EFEITOS DO EXERCÍCIO FÍSICO ESPONTÂNEO NO TRANSCRIPTOMA DO NÚCLEO ACCUMBENS DE CAMUNDONGOS

Palavras-Chave: RNA-Seq; núcleo accumbens; exercício físico;

Autores:

Thalia Figueiredo Martins da Silva (Departamento de Biologia Estrutural e Funcional, Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas),

João Paulo Dorta Machado (Departamento de Biologia Estrutural e Funcional, Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas),

Dr. Arthur Freitas Brandão (Departamento de Biologia Estrutural e Funcional, Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas)

Prof. Dr. Cesar Renato Sartori (Departamento de Biologia Estrutural e Funcional, Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas)

Dr. Maria Carolina Pedro Athie (Departamento de Medicina Translacional, Universidade Estadual de Campinas).

Prof. Dr. André Schwambach Vieira (Departamento de Biologia Estrutural e Funcional, Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas)

I. INTRODUÇÃO:

A implementação de técnicas de RNA-Seq revolucionou a maneira a qual conseguimos obter, interpretar e explorar elementos funcionais do genoma e seus constituintes moleculares.

Dentre as inúmeras vantagens da utilização destas técnicas, podemos ressaltar que, além de não se limitar a detectar apenas sequências genômicas conhecidas (ou pequenos fragmentos), ela também é capaz de aferir correlações entre dois ou mais exons (ou genes), com pouquíssimo ruído de fundo (Wang et al., 2009).

Aferir relações entre dois ou mais exons (ou genes), especificamente, têm sido de grande relevância para a pesquisa clínica, tanto para o melhoramento do bem-estar quanto para

a identificação, tratamento e prevenção de doenças e distúrbios fisiológicos.

Um campo de pesquisa que vêm sendo bem explorado nos últimos anos, por exemplo, é a relação entre a prática de atividades físicas e a modulação da expressão de alguns genes, que podem estar relacionados ao agravo ou controle de determinadas doenças e sinais clínicos causados por distúrbios fisiológicos.

Um importante objeto de estudo que vem sendo investigado é o Núcleo Accumbens (Nacc), a principal estrutura do Corpo Estriado. O Nacc está relacionado ao processamento de informações atreladas à recompensa, cumprindo funções emocionais, motivacionais e psicomotoras, estando também envolvido no diagnóstico de diversas patologias neuropsiquiátricas (Kawashita, 2008).

Devido a isso, estudos sobre o Nacc (e como genes regulados por ele são afetados em determinados diagnósticos) acabam ganhando maior notoriedade na comunidade científica.

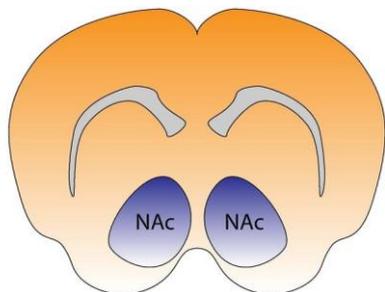


Figura 1. Esquema simplificado da localização anatômica do Nacc em camundongos. Fonte: Wiki commons(https://en.wikipedia.org/wiki/File:Mouse_Nucleus_Accumbens.pdf)

Exemplificando este fato, destacamos aqui estudos recentes que sugeriram que o exercício físico voluntário, em humanos com sobrepeso, promove uma redução significativa da dor crônica (Cooper et al., 2018). Além disso, também tomou-se conhecimento de que roedores com dieta rica em gordura (high-fat diet - HFD) e que fazem atividade física voluntária em roda (Running Wheel Exercise - RWE), apresentam uma modulação na expressão gênica do Núcleo Accumbens (quanto à susceptibilidade à dor crônica), independente do status de obesidade (Brandão et al., 2020).

Todavia, embora esses achados sejam muito pertinentes atualmente, pouco se sabe sobre os efeitos isolados que a prática de atividades físicas podem causar na expressão gênica do Núcleo Accumbens e é exatamente isso que propomos abordar neste trabalho.

II. MATERIAIS E MÉTODOS:

A) Animais

Os dados de transcriptoma analisados no presente estudo foram coletados previamente por Brandão e colaboradores (Brandão et al., 2020), a partir de camundongos C57BL/6JUnib machos com 18 semanas de idade, no Centro Multidisciplinar de Investigação Biológica em Zootecnia da Universidade Estadual de Campinas (CEMIB - UNICAMP).

Esses animais foram retirados do CEMIB com 4 semanas de idade e alojados em Biotério local dispondo de temperatura controlada (21 ± 1 ° C) e em um ciclo claro/escuro de 12 horas, com livre acesso à ração padrão e água. Com 6 semanas de idade os camundongos foram separados e colocados aleatoriamente em gaiolas individuais até o fim do experimento (18 semanas).

Todos os procedimentos foram revisados e aprovados de acordo com a legislação federal brasileira sobre experimentação animal (n° 11.794 de 08 de outubro de 2008) e pelo Comitê de Ética em Animais da Universidade de Campinas (CEUA-UNICAMP) sob o protocolo número 4243-1.

B) Grupos e amostras selecionadas

As amostras analisadas tratam-se de disseções do Núcleo Accumbens de camundongos com 18 semanas mantidos em dieta padrão, que receberam injeções de solução salina na pata e que eram submetidos ou não (quando não, são considerados sedentários) a 6 semanas de acesso a roda de atividade para exercício espontâneo (n = 5 para cada grupo).

C) Alinhamento de sequências e análise estatística

Cada amostra possuía em média 19 milhões de fragmentos de 100 bases. As sequências das amostras analisadas foram alinhadas, através do *Software STAR*, com a

sequência do genoma do camundongo (*Mus musculus*) proveniente do banco de dados Ensembl (GRCm38).

Em contrapartida, as análises estatísticas apresentadas no presente trabalho foram realizadas por meio do ambiente estatístico R, utilizando pacote de software DE-seq2. A análise de vias enriquecidas foi realizada utilizando-se software ClusterProfiler, considerando apenas genes que possuíam o valor de p ajustado menor que 0,05 ($p < 0,05$).

III. RESULTADOS E DISCUSSÃO:

Um total de 2375 genes apresentaram diferença de expressão significativa entre os grupos exercício físico espontâneo e sedentários. Desses genes, 1284 estavam com expressão aumentada e 1101 estavam com expressão diminuída no grupo exercício físico espontâneo quando comparado ao grupo sedentário.

As vias que se encontraram enriquecidas e foram moduladas positivamente (*up regulation*) pelo exercício físico envolvem, principalmente, atividades mitocondriais, ribossomais e respostas ao estresse metabólico/imunológico, ao passo que as vias que se encontraram reguladas negativamente (*down regulation*) pela prática física envolviam atividades estruturais para ligação, adesão e projeção de proteínas, íons e canais iônicos.

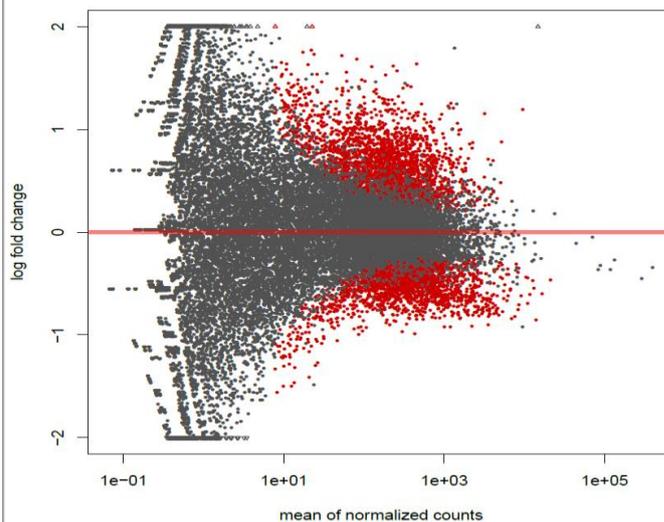


Figura 2. Gráfico representando o log da mudança de expressão (*log fold change* – eixo y) vs a média normalizada da contagem de fragmentos alinhados para cada gene (*mean of normalized counts* – eixo x). Pontos pretos – genes com p ajustado $< 0,05$, pontos vermelhos – genes com p ajustado $> 0,05$.

Tais achados sugerem que a atividade física voluntária modula, no núcleo accumbens, a expressão de genes envolvidos em processos metabólicos e de plasticidade. Este conjunto de genes diferencialmente regulados pode consistir na maquinaria molecular responsável pelos efeitos do exercício físico sobre a resiliência ao estresse crônico, tolerância à dor e tolerância à adicção.

Todavia, maiores estudos e análises precisam ser feitas para determinar a relação exata entre o conjunto de genes de expressão alterada pela atividade física voluntária e suas ações na modulação desses comportamentos.

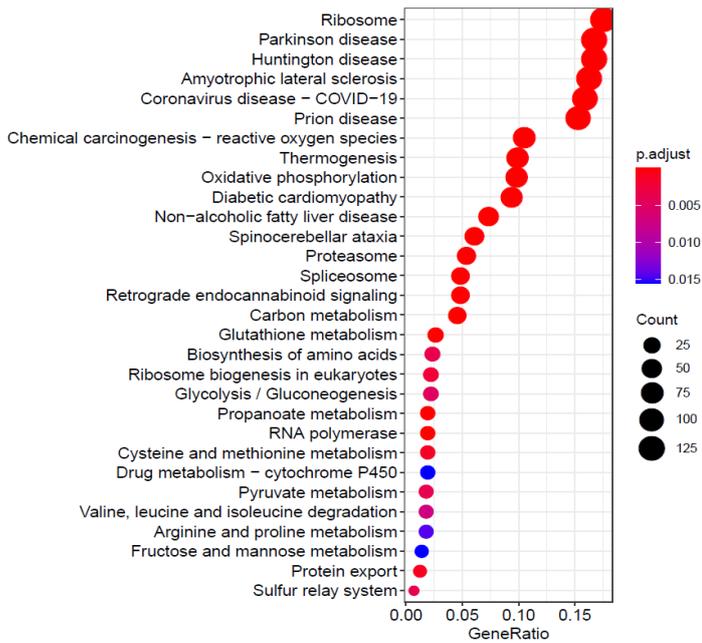


Figura 3. Vias enriquecidas considerando genes com expressão aumentada no grupo exercício.

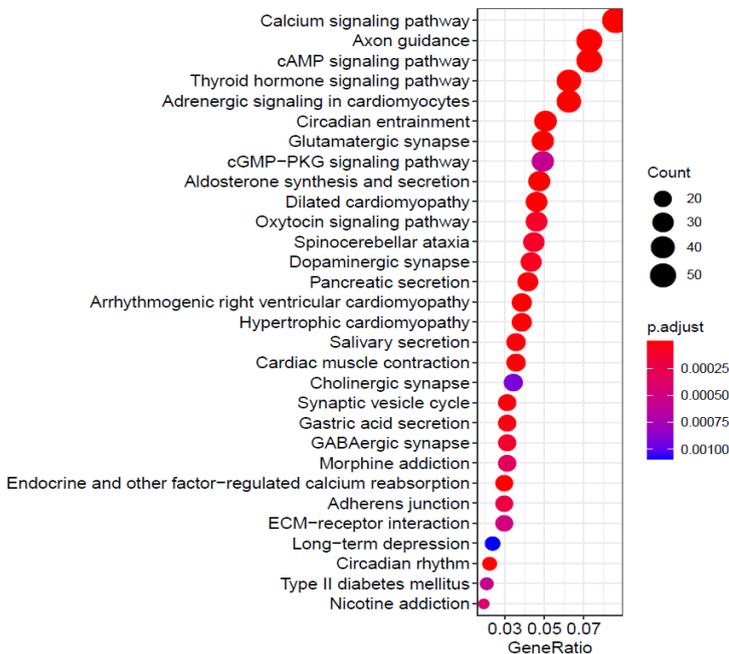


Figura 4. Vias enriquecidas considerando genes com expressão reduzida no grupo exercício.

IV. CONCLUSÕES:

O exercício físico voluntário induz, no núcleo accumbens, alteração na expressão de extensa rede de genes associados a diversos processos biológicos, tais como respiração celular, síntese proteica e plasticidade neuronal.

BIBLIOGRAFIA

Wang, Zhong; Gerstein, Mark; Snyder, Michael. RNA-Seq: a revolutionary tool for transcriptomics. *Nature reviews genetics*, v. 10, n. 1, p. 57-63, 2009.

Kawashita, Priscila Tiemi. O núcleo accumbens e a substância cinzenta periaquedutal modulam de modo distinto a hiperalgesia inflamatória crônica e aguda em ratos. Piracicaba, SP : [s.n.], 2008.

Cooper, Lesley et al. Weight loss interventions for adults with overweight/obesity and chronic musculoskeletal pain: a mixed methods systematic review. *Obesity reviews*, v. 19, n. 7, p. 989-1007, 2018.

Brandão, Arthur Freitas et al. Physical activity induces nucleus accumbens genes expression changes preventing chronic pain susceptibility promoted by high-fat diet and sedentary behavior in mice. *Frontiers in neuroscience*, v. 13, p. 1453, 2020.