Florianópolis, 06 de novembro de 2017.

Carta Resposta aos Revisores

A/C Editor da Revista VITTALLE

Agradecemos a apreciação da nossa revisão intitulada ***Exercício físico e neuroplasticidade hipocampal: Revisão de literatura***.Abaixo seguem as respostas aos comentários dos avaliadores B e C.

**Avaliador B**

**Parecer 1:** O manuscrito tem como objetivo reunir informações de trabalhos recentes sobre a ação do exercício físico voluntário na neuroplasticidade hipocampal. Os autores trouxeram de forma clara e didática os principais fatores envolvidos nessa alteração cerebral. Além disso, fizeram uma boa correlação dos estudos com animais e estudos com humanos. O manuscrito se encaixa no escopo da revista e possui um tema de grande interesse aos pesquisadores da área da saúde. No entanto, o tópico “considerações finais” deve ser melhor abordado e trazer uma discussão crítica sobre quais seriam os próximos passos para compreender com mais detalhes os mecanismos envolvidos na ação do exercício físico na neuroplasticidade hipocampal. Nesse tópico seria possível, também, fazer uma análise crítica da forma que os experimentos são realizados, destacando as limitações das técnicas utilizadas.

**R: Os autores agradecem o revisor por ter apontado as sugestões acima. O tópico “considerações finais” foi modificado neste manuscrito seguindo as contribuições do avaliador.**

***“****Várias evidências pré-clínicas mostram que o EFV promove a plasticidade estrutural e funcional do hipocampo adulto. O EF é capaz de modular uma série de processos moleculares e celulares, levando a uma melhora da função hipocampal e, consequentemente, conferindo alteração comportamental (principalmente ligada a função cognitiva, como demonstrada nessa revisão). A plasticidade hipocampal está relacionada com o processo de envelhecimento, com doenças neurodegenerativas e com transtornos de humor como a depressão justificando o estudo dos diversos mecanismos envolvidos no controle deste processo e a busca por terapias que possam afetar diretamente o hipocampo. Em roedores, a roda de corrida é o modelo mais utilizado para as avaliações dos efeitos do EFV e, claramente, são evidenciados inúmeros efeitos positivos no SNC. Porém, a extrapolação de resultados de modelos animais para humanos requer a validação destes efeitos do EF na neurogênese em indivíduos que praticam o EFV. Além do estudo na neurogênese em humanos in vivo não ser metodologicamente possível outros fatores dificultam a translação dos estudos animais para humanos. Entre estes podemos destacar os diferentes protocolos de EFV existentes, os diferentes modelos animais empregados (camundongos e ratos), as condições de alojamento do animal (isolamento ou não) utilizadas nos variados protocolos e, principalmente, somados a isso, a forma como o EFV modula o processo de neurogênese adulta e o exato papel deste processo nos comportamentos ligados ao hipocampo, como aprendizagem, memória e depressão, ainda não estão completamente elucidados. Porém, apesar das alterações celulares e químicas ainda serem desconhecidas em seres humanos, os amplos efeitos do EFV para a estrutura e função hipocampal observados em roedores, reforça que a pratica do EFV poderia ser sugerida, com a potencialidade de alcançar efeitos neurológicos em humanos semelhantes aos encontrados nos modelos animais, em condições normais de saúde para a manutenção da plasticidade hipocampal, além de poder alterar o curso de doenças ou danos decorrentes do envelhecimento associados a prejuízos na plasticidade do SNC e, mais especificamente, no hipocampo. Portanto, o EF é um comportamento simples que pode ser amplamente praticado em qualquer idade com o objetivo de melhorar o aprendizado e a memória e retardar o declínio cognitivo associado ao envelhecimento, e prevenir transtornos psiquiátricos que podem estar diretamente ligados plasticidade hipocampal, deste modo aumentando a qualidade de vida”.*

**Parecer 2:** O tópico “Plasticidade Estrutural do Hipocampo” pode ser o texto inicial do tópico “Exercício Físico aumenta a Plasticidade Estrutural no Hipocampo Adulto”. Da mesma forma, o tópico “Plasticidade Funcional ou Sináptica do Hipocampo” pode ser unido ao tópico “Exercício Físico aumenta a Plasticidade Sináptica Hipocampal Adulta”. Dessa forma, as informações ficam mais contextualizadas e o texto menos fragmentado.

**R: Os autores agradecem a sugestão. A modificação foi realizada no manuscrito.**

**Avaliador C**

**Parecer 1:** Esta revisão tenta reunir artigos relevantes sobre o exercício físico voluntário na plasticidade funcional e estrutural do hipocampo. O trabalho é relativamente bem escrito e aborda o assunto de uma forma bem geral e simplificada, sem discutir o achados encontradas, principalmente quando conflitantes.

O trabalho apresenta falta de profundidade na abordagem do assunto (muitas vezes vago) em questão, principalmente em se tratando de uma revisão. Qual é a relevância do EFV em diferentes neuropsicopatologias deveria ser abordada.

**R: Os autores agradecem as contribuições do avaliador. A contribuição do EFV em diferentes neuropatologias foi introduzida no resumo e na seção “Resultados e Discussão”. Favor observar o texto em vermelho no manuscrito.**

**Parecer 2:** No resumo, o autor descreve o hipocampo como uma estrutura bilateral... Acho que se alguém encontrar esta revisão, já saberá que o hipocampo é uma estrutura bilateral.

**R: Os autores agradecem a sugestão do avaliador. Esta informação foi retirada do resumo.**

**Parecer 3:** Ainda no resumo, o autor refere-se ao hipocampo como uma estrutura relevante para o aprendizado e memória, embora o hipocampo (e a plasticidade hipocampal) está intimamente relacionado com, por exemplo, depressão e ansiedade.

**R: Os autores agradecem as observações do avaliador. O envolvimento do hipocampo nos transtornos de humor foi acrescentado no resumo. No entanto, vale ressaltar que o foco da nossa revisão foi o papel do hipocampo na cognição.**

**Parecer 4:** Na introdução, linha 67, o autor cita Mosby, 2009 para descrever o exercício físico. Eu então pergunto para o autor onde eu encontro a descrição sobre exercício físico, ou até mesmo plasticidade, neste artigo sobre anemia?

**R: Os autores agradecem o revisor por ter apontado este erro e a referência correta foi adicionada ao manuscrito.**

**Parecer 5:** Durante todo o texto, o autor prefere usar revisões ao invés de artigos originais para referenciar o presente trabalho.

**R: Os autores agradecem o revisor por este comentário. No entanto, procuramos sempre citar o artigo original juntamente com as revisões. Por favor, observe que as informações que não estavam corretamente referenciadas com os artigos originais foram corrigidas.**

**Parecer 6:** Linha 78-79. Neurônios são adicionados? Seria mais conveniente dizer que neurônios nascem?

**R: Os autores agradecem as sugestões do avaliador. O termo foi alterado no manuscrito.**

**Parecer 7:** Ainda no parágrafo da linha 77-91, o autor poderia dividir os efeitos sobre a neurogênese entre positivo e negativo. Acredito que o EF pode tanto influenciar positivamente como de forma negativa, dependendo da sua intensidade e preparo do indivíduo. O mesmo vale para o estresse.

**R: Os autores agradecem as observações do avaliador. A divisão em fatores que regulam positivamente e negativamente a neurogênese hipocampal foi realizada.**

**Parecer 8:** Em materiais e métodos: O que seria modelos experimentais knockout.

**R: Favor observar que esta expressão foi modificada para animais geneticamente modificados na seção materiais e métodos.**

**Parecer 9:** Por que estudos envolvendo animais knockout não foram incluídos?

**R: A escolha por excluir animais manipulados geneticamente deste estudo foi porque estas modificações genéticas podem influenciar os efeitos do EF e assim estaríamos adicionando mais uma variável a grande hetereogeneidade de protocolos utlizados.**

**Parecer 10:** Por que apenas referências em inglês foram escolhidas em uma revisão, que na verdade é em português?

**R: Quando as bases de dados *Pubmed* e *Science Direct* foram escolhidas para a pesquisa dos artigos automaticamente utilizamos os unitermos em inglês. No entanto, após o questionamento do revisor procuramos artigos originais em português e não encontramos. Se o avaliador puder nos indicar trabalhos em português sobre o tema ficaremos felizes de adicioná-los a nossa revisão.**

**Parecer 11:** Sobre o período que as citações foram coletadas (1999-2017), por que estudos anteriores não foram incluídos já que muitos estudos pioneiros sobre plasticidade são anteriores a 1999.

**R: Os autores agradecem as observações do avaliador. A determinação do período referido acima foi para os artigos que envolvem EFV e Neuroplasticidade, já que a neurogênese hipocampal adulta induzida pelo EFV foi descrita pela primeira vez por Van Praag e colaboradores em 1999. Quanto à referência correta sobre o trabalho pioneiro *(Altman and Das, 1965)* descrevendo a plasticidade estrutural (neurogênese), ela foi adicionada ao manuscrito.**

**Parecer 12:** Embora a revisão seja sobre EFV, é difícil de imaginar o que seria o EFV e todas as suas variações. Uma tabela demonstrando os diferentes tipos de EFV em discussão nesta revisão poderia ser útil.

**R: Os autores agradecem a sugestão do avaliador. Favor observar que as informações abaixo foram adicionadas ao texto:**

***“Os tipos de EFV em humanos são bastante variáveis (por exemplo, diferentes esportes) e variam muito quanto à intensidade e duração. Nesta revisão, a maioria dos artigos utilizou a caminhada como EFV”.***

***“Em animais, a roda de corrida voluntária é a forma de EFV mais utilizada e nesta revisão todos os trabalhos com roedores utilizaram a roda de corrida como forma de EFV”.***

**Parecer 13*:*** Linha 128, quais são os genes e proteínas relacionados com plasticidade sináptica?

**R: Os autores agradecem as contribuições do avaliador. Favor observar que os genes e proteínas envolvidos na plasticidade sináptica foram exemplificados no texto:**

***“... de genes envolvidos no tráfego sináptico (por exemplo, STY1, STY11), e proteínas relacionadas à formação de vesículas e exocitose (por exemplo, SYN1 e SNAP25)...”***

**Parecer 14*:*** Linha 133, quais são os neurotransmissores envolvidos*.*

**R: Favor observar que os principais neurotransmissores (serotonina e dopamina) foram exemplificados no texto.**

**Parecer 15*:*** *Linha 140-143, quando esta ideia mudou. Os primeiros trabalhos envolvendo plasticidade são dos anos 60...*

**R: Os autores agradecem a correção do avaliador. A citação correta foi introduzida no manuscrito.**

**Parecer 16*:*** Linha 145, capacidade de adaptabilidade do encéfalo ou do hipocampo? O autor menciona no começo desta revisão que apenas poucas regiões são passíveis de plasticidade. Citar o encéfalo seria generalizar...

**R: Favor observar que no contexto apontado o termo plasticidade é aplicável ao encéfalo como um todo. A neurogênese adulta (plasticidade estrutural) é sim restrita a algumas regiões encefálicas especificas (hipocampo e zona subventricular). Se pensarmos na reabilitação que ocorre pós um acidente vascular encefálico, por exemplo, fica claro que a neuroplasticidade (novas sinapses e rearranjos das sinapses existentes) podem ocorrer em praticamente todas as regiões encefálicas.**

**Parecer 17*:*** Linha 173, o que seria sinapse funcional? Qual a relevância para uma sinapse funcional?

**R: A definição de sinapse funcional é quando o neurônio gerado no hipocampo adulto projeta seus dendritos e seu axônio de modo a se integrar na circuitaria hipocampal existente. Favor observar que para tornar mais claro para o leitor o termo foi substituído por: “...*onde se integram a circuitaria neuronal local”...***

**Parecer 18*:*** Linha 205, o que são fatores de crescimento?

**R: Favor observar que a definição de fatores de crescimento foi adicionada ao texto: “...*substâncias que modulam sinalização, diferenciação e sobrevivência celular”*.**

**Parecer 19*:*** Linha 249, quais as proteínas sinápticas e fatores de transcrição?

**R: As proteínas e fatores de transcrição modulados pelo EFV e mencionados na tabela foram introduzidas no texto.**

**Parecer 20*:*** Linha 279, há estudos com camundongos adultos demonstrando o mesmo?

**R: Os autores agradecem a contribuição do avaliador. Favor observar que o termo camundongos jovens foi corretamente substituído por camundongos adultos no texto.**

**Parecer 21*:*** Linha 275-277, qual é a diferença entre imunodetecção e imunohistoquímica para diferenciação neuronal?

**R: No trabalho de Kerr and Swain (2011) a avaliação da diferenciação neuronal foi feita por western blot o que fornece uma mensuração semi-quantitativa (através da densidade optica). Além disso, esta técnica envolve a dissecação da estrutura de interesse e neste caso não permite visualizar a localização exata desta proteína (DCX). Por outro lado, a imunohistoquímica fornece uma mensuração quantitativa e precisa da localização das células positivas para a proteína de interesse.**

**Parecer 22*:*** Linha 295, o autor provavelmente gostaria de dizer “promoverem”.

**R: Os autores agradecem a correção sugerida pelo avaliador. O termo foi corrigido.**

**Parecer 23*:*** Linha 300-301, por que alguns estudos não foram capazes de demonstrar alteração na proliferação celular?

**R: Favor observar que uma explicação para estes resultados divergentes foi adicionada ao manuscrito: *“Um dos possíveis fatores responsáveis por essa divergência de resposta em relação à proliferação do GD é a condição social empregada nos diferentes trabalhos. Camundongos alojados em grupo expostos a roda de corrida demonstram aumento da proliferação celular (Van Praag 1999) enquanto que camundongos alojados individualmente este efeito do EFV não é observado (Fuss 2010, Bierderman, 2016). A proliferação celular também pode ser diferenciada entre as espécies de roedores utilizadas. Por exemplo, Bednarczyk e colaboradores (2009; 2011) encontraram aumento da proliferação celular em camundongos CD1 que estavam em condições de isolamento durante longo período de EFV”.***

**Parecer 24*:*** Linha 310-312, qual é a diferença entre proliferação celular e aumento de novos neurônios? Como os autores explicam o fato de a roda de girar bloqueada promover proliferação celular?

**R: A proliferação celular não reflete a neurogênese uma vez que apenas uma pequena parcela das células proliferativas se diferenciarem em neurônios funcionais.**

**Favor observar que esta explicação foi adicionada ao manuscrito:**

**“*O enriquecimento ambiental é uma condição complexa na qual os animais podem encontrar estímulos de diferentes modalidades (visuais, táteis, proprioceptivas) e este tipo de ambiente pode ser suficiente para estimular a proliferação celular. Por exemplo, Bednarczyk e colaboradores (2011) separaram os diversos componentes presentes no ambiente enriquecido e demonstraram que o efeito sobre a proliferação ocorre independente da atividade física (roda de corrida desbloqueada). No entanto, o aumento de neurônios imaturos positivos para DCX e de novos neurônios foi observado apenas em camundongos que se exercitaram, indicando que o EF é necessário para a maturação e sobrevivência dos neuroblastos pós-mitóticos (Bednarczyk et al., 2011)”.***

**Parecer 25*:*** Linha 329, a citação (2 – 7 dias) deve estar entre parênteses?

**R: Os autores agradecem as contribuições do avaliador. A correção foi realizada.**

**Parecer 26*:*** Linha 329-33 está muito confuso. Favor reescrever para facilitar a compreensão.

**R: Os autores concordam com o avaliador e esta parte do texto foi reescrita (favor observar no manuscrito).**

**Parecer 27*:*** Linha 405-408, o autor diz que o uma intensa pesquisa sugere que... mas cita duas revisões.

**R: Os autores agradecem as observações do avaliador. Artigos originais foram incluídos no texto.**

**Parecer 28*:*** Linha 412, além da memória e aprendizado, o que mais o EF pode aumentar?

**R: Efeitos positivos do EFV também são extensivamente relatados para melhora da depressão e da ansiedade (Dimeo et al., 2011; Martinsen et al., 1985; Farmer et al., 1988). Além disso, o EFV pode retardar déficits cognitivos ocasionados pelo envelhecimento (Christensen et al., 1996; Yaffe et al., 2001) . Favor observar que estas informações constam agora no manuscrito.**

**Parecer 29*:*** Linha 468, o autor poderia falar mais sobre o impacto do EF no Alzheimer e demência, bem como outras doenças relacionadas.

**R: Os autores agradecem a sugestão do avaliador. No entanto, o foco desta revisão não é doenças neurodegenerativas.**

**Parecer 30*:*** Uma ótima revisão da tabela é necessária. Há dados repetidos em algumas ocasiões. Procurar não exceder uma página. Podem ser criadas divisões entre ratos e camundongos, entre jovens e adultos/idosos, entre período de EF...

**R: Os autores agradecem a sugestão do avaliador. Favor observar que as tabelas foram distribuídas entre períodos curtos (12h-28 dias) e períodos longos (1-8 meses) de EFV.**