

Paula Vieira Pacheco

A INFLUÊNCIA DO FATOR NEUOTRÓFICO DERIVADO DO
CÉREBRO E DOS EXERCÍCIOS FÍSICOS SOBRE A
NEUROPLASTICIDADE APÓS ACIDENTE VASCULAR ENCEFÁLICO

Belo Horizonte

Instituto de Ciências Biológicas da UFMG

2009

Paula Vieira Pacheco

A INFLUÊNCIA DO FATOR NEUOTRÓFICO DERIVADO DO
CÉREBRO E DOS EXERCÍCIOS FÍSICOS SOBRE A
NEUROPLASTICIDADE APÓS ACIDENTE VASCULAR ENCEFÁLICO

Monografia apresentada ao curso de Pós-Graduação
latu sensu em Neurociência e Comportamento, da
Universidade Federal de Minas Gerais, como
requisito parcial do título de Especialista em
Neurociência e Comportamento.

Orientadora: Profa. Luciana Hoffert Castro Cruz

Belo Horizonte

Instituto de Ciências Biológicas da UFMG

2009

AGRADECIMENTOS

À Profa. Luciana Hoffert Castro Cruz a aceitação do desafio, orientando-me, mostrando-me outra forma de ver a Neurociência e fazendo-me acreditar que seria capaz.

Aos meus colegas e professores da Especialização em Neurociência e Comportamento os agradáveis finais de semana de aprendizado e amizade.

Aos meus amigos os agradáveis momentos de descontração e alegria.

Aos meus pais Inez e Geraldo, aos meus irmãos Everson e Gustavo, às minhas cunhadas Cris e Marilene, às minhas sobrinhas Tatá e Amandinha e à vovó Teodora, porque, sem o amor e a compreensão de vocês eu jamais conseguiria.

Ao César o incentivo e por estar sempre ao meu lado.

E, finalmente, a todos que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste trabalho.

RESUMO

Os fatores neurotróficos são polipeptídeos que atuam na sobrevivência, manutenção e desenvolvimento de células do sistema nervoso e exercem seus efeitos através da ligação a receptores específicos. O BDNF é um fator neurotrófico de grande importância sobre a neuroplasticidade, por promover a sobrevivência e a diferenciação neuronal. Também é um componente crítico de mecanismos moleculares, pelos quais os exercícios têm impacto na neuroplasticidade após lesões do sistema nervoso central. O Acidente Vascular Encefálico é a terceira maior causa de morte em países desenvolvidos e a maior causa de incapacidades crônicas. Os recursos financeiros destinados ao tratamento de pacientes após AVE são bastante elevados. Os exercícios físicos são estratégias terapêuticas importantes para a melhora da saúde e da função do sistema nervoso central, cujos benefícios funcionais parecem estar relacionados ao aumento da disponibilidade do BDNF. Os exercícios, além de aumentar os níveis de BDNF, aumentam a expressão de proteínas envolvidas na plasticidade sináptica. Dessa forma, essa intervenção terapêutica potencializa a recuperação funcional de pacientes após AVE, por meio de neuroproteção e como forma de reabilitação. Várias hipóteses têm sido elaboradas para explicar a recuperação funcional após AVE. Muitos autores apontam para os benefícios de exercícios em esteira motorizada com suporte parcial de peso, que permite uma inserção mais precoce em atividades locomotoras, proporcionando melhora na qualidade da marcha, com ganho de velocidade e força muscular, e conseqüente melhora da qualidade de vida dos indivíduos após AVE.

ABSTRACT

Neurotrophic factors are polypeptides that act in the survival, maintenance and development of the nervous system cells exerting their effects by binding to specific receptors. The BDNF is a major important neurotrophic factor on the neuroplasticity for promoting survival and neural differentiation. It is also a critical component of molecular mechanisms. That is why exercises have an impact on neuroplasticity after central nervous system injuries. Stroke is the third leading cause of death in developed countries and the major cause of chronic disability. The financial sources addressed to treatment of patients after stroke are very high. Physical exercises are important therapeutic strategies in order to improve both health and the central nervous system function. Their functional benefits seem to be related to the rise of availability of BDNF. Besides raising the levels of BDNF, exercises also raises the liberation of proteins involved in synaptic plasticity. Thus this therapeutic intervention leads to functional recovery of patients after stroke by means of neuroprotection and as a way of rehabilitation. Several hypotheses have been elaborated to explain functional recovery after stroke. Many authors point out the benefit of exercises on treadmill with partial body weight support allowing an early insertion in locomotive activities, promoting better gait quality, gain of speed and muscle strength as well as providing better life quality for individuals after stroke.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 -	Modelo de ativação dos receptores TrK e p75.....	12
Figura 2 -	Vias de sinalização do BDNF	15
Figura 3 -	Mecanismos pelos quais o exercício modula a Neuroplasticidade.....	19
Figura 4 -	Diagrama de eventos que ocorrem após oclusão de vasos encefálicos e subsequente reperfusão.....	32
Figura 5 -	Apoptose no AVE	34
Figura 6 -	Processos moleculares envolvidos na LTP.....	42

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACM	Artéria cerebral média
AMPA	α -amino-3-hidroxi-5-metilsoxazole-4-propionic acid
AKT/PKB	Serina/treonina cinase
ATP	Adenosina trifosfato
AVD	Atividades de vida diária
AVE	Acidente vascular encefálico
Bcl-2	B-cell CLL/ lymphoma 2
BDNF	Fator neurotrófico derivado do cérebro
bFGF	Fator de crescimento básico do fibroblasto
Ca ⁺⁺ /ATPase	Bomba cálcio ATPase
CAMK I	Cálcio calmodulina cinase I
CAMK II	Cálcio calmodulina cinase II
CAMK IV	Cálcio calmodulina cinase IV
CREB	Elemento de ligação a proteínas de resposta ao cAMP
DAG	Diacilglicerol
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DPI	Despolarização peri-infarto
ERK	Cinases reguladas extracelularmente
GAP-43	Proteína associada ao crescimento 43
GDNF	Fator neurotrófico derivado da glia
IGF	Fator de crescimento do tipo insulínico
i-LTP	Potenciação de longo prazo induzida por isquemia
IL-1	Interleucina 1

IL-1 β	Interleucina 1 beta
IL-6	Interleucina 6
IP3	Inositol 1,4,5-trifosfato
LTP	Potenciação de longo prazo
MAPK	Proteínas cinases ativadas mitogênicamente
Na ⁺ /K ⁺ ATPase	Bomba sódio-potássio ATPase
NGF	Fator de crescimento neural
NMDA	N-metil-D-aspartato
NT	Neurotrofina
NT3	Neurotrofina 3
NT4/5	Neurotrofina 4/5
NT6	Neurotrofina 6
NT7	Neurotrofina 7
HGF	Fator de crescimento do hepatócito
O ₂ ⁻	Superóxido
OMS	Organização Mundial de Saúde
pCREB	Elemento de ligação a proteínas de resposta ao cAMP fosforilada
p75 ^{NTR}	Receptor p75
PI3K	Fosfatidilinositol 3-cinase
PLC- γ	Fosfolipase C gama
PKC	Proteína cinase C
RNA _m	Ácido ribonucleico mensageiro
SNC	Sistema nervoso central
SNP	Sistema nervoso periférico

TNF α	Fator de necrose tumoral alfa
TrK	Receptor de tirosina cinase
TrKA	Receptor de tirosina cinase A
TrKB	Receptor de tirosina cinase B
TrKC	Receptor de tirosina cinase C
VEGF	Fator de crescimento vascular endotelial

SUMÁRIO

1	FATORES NEUROTROFICOS.....	11
1.1	BDNF.....	14
1. 2	BDNF e suas inter-relações.....	16
1. 2. 1	Depressão e ansiedade.....	16
1. 2. 2	Exercícios físicos.....	17
1. 2. 3	Ambiente pré-natal.....	23
1. 2. 4	Estresse.....	24
1. 2. 5	Interleucinas.....	25
1. 2. 6	Fatores nutricionais	26
2	ACIDENTE VASCULAR ENCEFÁLICO.....	28
2.1	Patofisiologia da isquemia.....	29
2. 2	Modelos experimentais em AVE.....	35
2. 3	Análise do desempenho de ratos submetidos a oclusão da ACM.....	36
3	NEUROPLASTICIDADE.....	39
4	IMPLICAÇÕES PARA A REABILITAÇÃO.....	45
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	47
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	48

1 FATORES NEUOTRÓFICOS

Os fatores neurotróficos pertencem a um grupo de proteínas similares, do qual fazem parte várias neurotrofinas, como o fator de crescimento neural (NGF), o fator neuronal derivado do cérebro (BDNF), as neurotrofinas (NT) 3, 4/5 6 e 7. Também constituem o grupo de fatores neurotróficos os fatores de crescimento do tipo insulínico (IGF), os fatores de crescimento básico do fibroblasto (bFGF), os fatores de crescimento vascular endoteliais (VEGF), a família do fator neurotrófico derivado da glia (GDNF) e os fatores de crescimento do hepatócito (HGF), dentre outros (DING, 2006; GAO, 2005; GÓMEZ-PINILLA, 20005; NOMURA, 2005; PETTI, 2005).

Os precursores de estudos sobre os fatores neurotróficos foram Victor Hamburger e Rita Levi-Montalcini (YUAN, 2000). Esses autores demonstraram que uma determinada substância era capaz de alterar a diferenciação, sobrevivência e crescimento neuronal. Essa substância foi denominada fator de crescimento neural (NGF) e foi atribuído a ela papel importante nas fases iniciais do desenvolvimento de células nervosas, na diferenciação e crescimento de neuritos e no direcionamento do crescimento ou da regeneração (LEVI-MONTALCINI, 1987). Esses autores sugeriram que a sobrevivência desses neurônios em desenvolvimento é diretamente relacionado à integridade do contato sináptico entre o neurônio e sua célula-alvo (LEVI-MONTALCINI, 1987; YUAN, 2000). Esses achados foram essenciais para o desenvolvimento de estudos posteriores relacionados a outros fatores neurotróficos na comunidade científica atual.

Os fatores neurotróficos exercem seus efeitos através da ligação e ativação da superfície de receptores específicos (VAYMAN, 2004; SHABITZ, 2007). Os

efeitos dos fatores neurotróficos são mediados pela sua ligação a duas classes de receptores transmembrânicos: o receptor de neurotrofina p75 ($p75^{NTR}$) e os receptores tirosina cinase (Trk), que incluem TrkA, TrkB e TrkC (PETTI, 2005; CHAO, 2003). O $p75^{NTR}$ é um receptor de baixa afinidade e especificidade, não seletivo, e ao qual se ligam todas as neurotrofinas, já aos Trk se ligam preferencialmente a cada uma delas (PETTI, 2005). O NGF liga-se ao receptor TrkA, o BDNF e o NT4 ligam-se ao receptor TrkB, e o NT3 ao receptor TrkC (PETTI, 2005) (FIG.1).

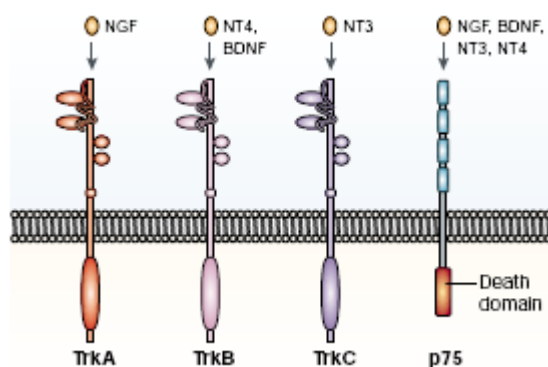


FIGURA 1 – Modelo de ativação dos receptores Trk e p75

Fonte: CHAO *et al.*, 2003, p.300.

Os neurônios podem receber suporte trófico de células-alvo (mecanismo retrógrado), através de neurônios aferentes (influência anterógrada), por meio de células gliais (mecanismo parácrino) ou através deles mesmos (mecanismo autócrino) (ALBERCH, 2002).

As neurotrofinas são inicialmente sintetizadas como precursores ou pro-neurotrofinas e posteriormente clivadas para produzir proteínas maduras (PETTI, 2005). As pro-neurotrofinas ligam-se com alta afinidade ao $p75^{NTR}$, enquanto as neurotrofinas maduras ligam-se preferencialmente a receptores Trk (CHAO, 2003).

A interação de proteínas maduras com o receptor TrK leva à sobrevivência neuronal, já a interação de pró-neurotrofinas com o receptor p75^{ntr} leva à apoptose (CHAO, 2003). Isso implica que a clivagem de pró-neurotrofinas é um mecanismo importante que orquestra a ação das neurotrofinas (CHAO, 2003).

A liberação das neurotrofinas pode ser regulada ou constitutiva. Na forma regulada, as neurotrofinas são liberadas logo após serem sintetizadas, permitindo que a neurotrofina esteja constantemente disponível para células que delas necessitam. Já na via constitutiva, uma vez sintetizada, as neurotrofinas são estocadas em glândulas secretoras e liberadas em resposta a uma atividade. O BDNF é ofertado na forma regulada, e as demais neurotrofinas são ofertadas constitutivamente (VAYNMAN, 2005).

Cada neurotrofina tem particularidades funcionais, porém, nesta revisão, concentraremos nossos estudos no BDNF por ele ser um componente crítico de mecanismos moleculares pelos quais os exercícios têm impacto na Neuroplasticidade (MOLTENI, 2002).

A plasticidade neural refere-se à habilidade do sistema nervoso em alterar sua estrutura e função durante a maturação ou desenvolvimento, aprendizado, desafios ambientais ou durante processos patológicos (LLEDO, 2006). O crescimento dendrítico, o brotamento axonal colateral e a formação de novas sinapses ocorrem possivelmente secundários à liberação de fatores neurotróficos na região lesada e representam mudanças morfológicas e funcionais ocorridas em neurônios, células da glia e na vascularização próximas ao evento patológico (CENTOZE, 2007).

1. 1 BDNF

O BDNF é um dos fatores neurotróficos mais amplamente distribuído no Sistema Nervoso Central (SNC) (SHABITZ, 2007). É sintetizado predominantemente por neurônios localizados no hipocampo, região cerebral intimamente relacionada ao processamento da função cognitiva (MOLTENI, 2002; 2004).

O BDNF exerce seus efeitos ligando-se ao TrKB ou $p75^{ntr}$, através de duas vias de ativação. Em uma via, a sua ligação com o receptor TrKB induz à atividade do fosfatidilinositol 3-cinase (PI3K), que leva à ativação da serina/treonina cinase (AKT/PKB), suprimindo a morte celular devido à inibição de atividades apoptóticas da *forkhead*, Bcl-2 e Bad (PETTI, 2005; SOSSIN, 2007). Na outra via, há a ativação de proteínas cinase ativadas mitogênicamente (MAPK) e cinases reguladas extracelularmente (ERK), resultando no aumento da atividade de proteínas anti-apoptóticas Rsk1 e Msk1. O CREB, elemento de ligação de proteínas em resposta ao AMP cíclico, uma vez fosforilado pela ligação do BDNF ao receptor TrKB, induz a transcrição de vários genes que promoverão a sobrevivência neuronal (PETTI, 2005; SOSSIN, 2007).

O BDNF ligado ao TrKB também resulta na ativação da fosfolipase C gama (PLC- γ) e conseqüente produção do segundo mensageiro diacilglicerol (DAG) e inositol 1,4,5-trifosfato (IP3) (CHAO, 2003; SOSSIN, 2007). O DAG ativa a proteína cinase C (PKC). O IP3 desencadeia a liberação de cálcio, que, por sua vez, ativa a ERK e a cálcio calmodulina cinase IV (CAMIVK) e, conseqüentemente CREB, contribuindo para a sobrevivência neuronal (SOSSIN, 2007) (FIG. 2).

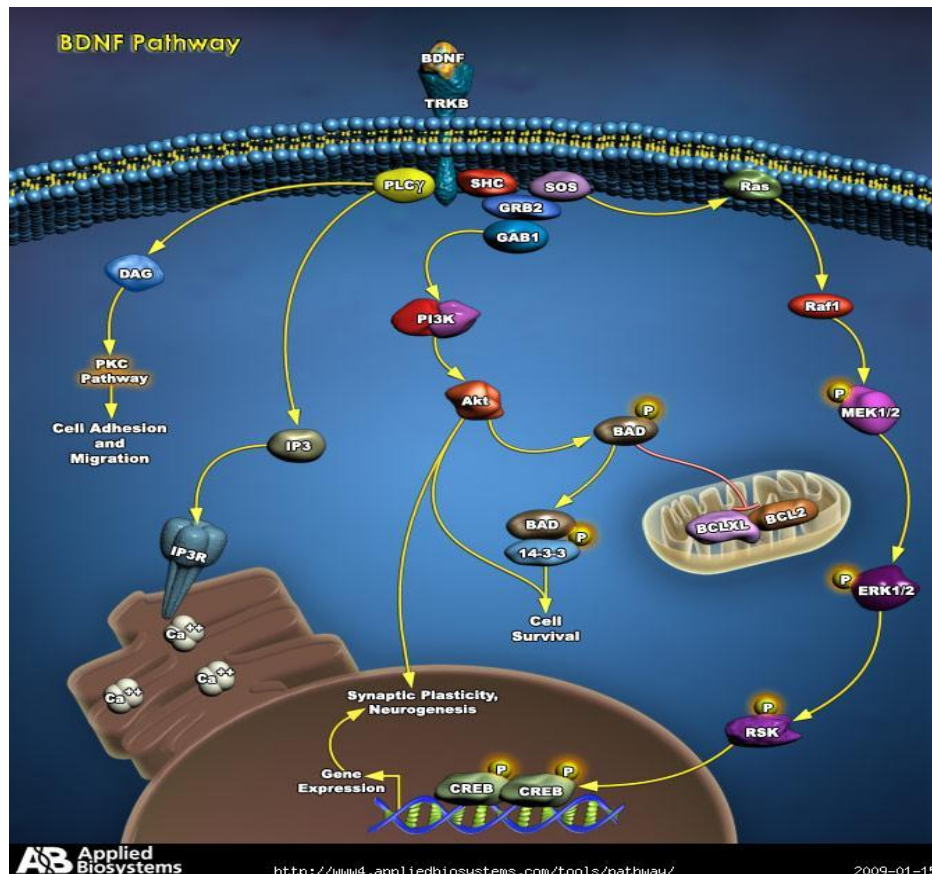


FIGURA 2 - Via de ativação do BDNF

Fonte: Disponível em: <www.ambion.com/tools/pathway/pathway.php?pathway=BDNF%20Pathway>.
Acesso em: 15 jan. 2009.

O BDNF desempenha diferentes funções relacionadas ao aprendizado e memória (PLOUGHMAN, 2005, VAYNMAN, 2003, 2006b; WU, 2004), à neuroproteção (COTMAN, 2002; NOMURA, 2005), à plasticidade axonal e sináptica (KIM, 2005; PLOUGHMAN, 2005; VAYNMAN, 2003, 2006a; 2006b; WU, 2004). Está associado à recuperação motora (PLOUGHMAN, 2007), à manutenção do estado oxidativo celular (CECHETTI, 2008), à promoção ou desenvolvimento de espículas dendríticas (PLOUGHMAN, 2007; VAYNMAN, 2004), à sobrevivência, crescimento e diferenciação de neurônios durante o desenvolvimento (CECHETTI, 2008; COTMAN, 2002; PLOUGHMAN, 2007; VAYNMAN, 2003, 2004; WU, 2000).

Outras atividades são atribuídas às funções do BDNF como controle do metabolismo energético (VAYNMAN, 2006a), modulação da eficácia da liberação de

neurotransmissores (ANG, 2003; VAYNMAN, 2006b), proteção contra radicais livres (WU, 2004) e depressão e ansiedade (CHEN, 2006).

1. 2 BDNF E SUAS INTER-RELAÇÕES

1. 2. 1 DEPRESSÃO E ANSIEDADE

Eventos estressantes são associados à ansiedade e depressão (MARTINOWICH, 2007). Evidências científicas sugerem que o comportamento depressivo está também relacionado a níveis reduzidos de BDNF no hipocampo e que o uso de fármacos antidepressivos aumentam a expressão dessa neurotrofina (MARTINOWICH, 2007). Dessa forma, o BDNF relaciona-se a distúrbios de ansiedade e depressão (CHEN, 2006).

Outros estudos relatam a íntima correlação entre o BDNF e drogas antidepressivas (GARCIA, 2003). Nesses estudos, a utilização crônica de fármacos antidepressivos produziu aumento da expressão de BDNF no hipocampo de ratos. Essas evidências sugerem que o aumento na expressão do BDNF pode ser um importante mecanismo antidepressivo, resultando em melhora da função neuronal e na neuroproteção.

Além do tratamento farmacológico, a atividade física é conhecida por supra-regular os níveis do ácido ribonucléico mensageiro (RNAm) do BDNF, quando associados ou utilizados de maneira isolada (GARCIA, 2003). A supra-regulação de BDNF no hipocampo resultante de exercício crônico em ratos tem efeito antidepressivo, similarmente àquele adquirido por meio de fármacos (DUMAN, 2008).

1. 2. 2 EXERCÍCIOS FÍSICOS

Os benefícios do exercício físico na saúde do sistema nervoso central têm sido reconhecidos há séculos (VAYNMAN, 2005). Seneca, um filósofo e dramaturgo romano que viveu entre 4 a.c a 65 d.c, já prescrevia exercícios em suas anotações como maneira de obter saúde do corpo e da mente (VAYNMAN, 2005). Existem grandes evidências de que a atividade física é associada à diminuição da incidência de Acidente Vascular Encefálico (AVE) em homens e mulheres, assim como à redução do risco de doenças cardiovasculares (DING, 2004b). Estudos apontam para os efeitos benéficos da atividade física sobre outros fatores de risco como peso corporal, pressão arterial, níveis séricos de colesterol e intolerância a glicose (DING, 2004b). A atividade física tem sido relacionada à diminuição do declínio cognitivo induzido pela idade (CECHETTI, 2008; DING, 2006; VAYNAMAN, 2006;) e é recomendada como estratégia terapêutica para a prevenção ou recuperação de muitas doenças neurodegenerativas (CECHETTI, 2008).

A maioria das pessoas que sobrevivem a um AVE têm prejuízos permanentes na função motora, os quais afetam a produtividade, a qualidade de vida e as atividades de vida diárias (AVD) (PLOUGHMAN, 2007a,b). O exercício ou atividade física (BERCHTOLD, 2005) é uma das muitas intervenções utilizadas para o aumento da recuperação funcional em várias desordens neurológicas (KIM, 2005). O exercício aumenta a atenção e função cognitiva e o reaprendizado de habilidades motoras após AVE (GÓMEZ-PINILLA, 2002; PLOUGHMAN, 2007a). Entretanto, apesar dessas fortes evidências, o exercício de resistência ainda não é um componente típico de programas de reabilitação após AVE (PLOUGHMAN, 2007a). Apenas dois minutos da sessão de fisioterapia ou terapia ocupacional são gastos em

intensidade suficiente para elevar os batimentos cardíacos a um nível que tenha efeito de treinamento (PLOUGHMAN, 2008). Portanto o exercício de resistência deveria ser prática comum na reabilitação de pacientes que sofreram AVE.

O exercício físico pode ativar circuitos neurais específicos para modificar a maneira como as informações são transmitidas ao longo das sinapses, possivelmente ativando moléculas especializadas, tais como o BDNF (VAYNMAN, 2005). Os benefícios funcionais do exercício parecem estar relacionados ao aumento da disponibilidade do BDNF, que, por sua vez, induz o aumento da sobrevivência neuronal e resistência a insultos cerebrais, o aumento da neurogênese no hipocampo, o aumento na resistência à depressão e a facilitação do aprendizado (BERCHTOLD, 2005).

Os mecanismos pelos quais o exercício físico atua no encéfalo, e o lugar que o BDNF ocupa nesse processo são alvos de vários estudos (MOLTENI, 2002). O aumento do BDNF resultante do exercício pode afetar a plasticidade neuronal atuando nos terminais pré e pós-sinápticos (MOLTENI, 2002). A transdução do sinal do BDNF é mediada primariamente através receptor TrkB, cuja expressão é aumentada pelo exercício (MOLTENI, 2002). A sinalização do TrkB nos terminais pré e pós-sinápticos é devida à supra-regulação da MAPKI e MAPKII, PKC- γ e CAMKII. Nos terminais pré-sinápticos, o exercício pode atuar na sinafisina I e na sinaptofisina para modular a liberação de neurotransmissores (GRIESBACH, 2004; MOLTENI, 2002). A sinafisina pertence a uma família de fosfoproteínas envolvidas no agrupamento e liberação das vesículas sinápticas (GÓMEZ-PINILLA, 2002; VAYNMAN, 2006). Já a sinaptofisina é um componente específico da membrana de vesículas pré-sinápticas, e possivelmente importante na biogênese das vesículas sinápticas, brotamento e endocitose (VAYNMAN, 2006).

O efeito pós-sináptico do exercício pode ser mediado através do influxo de cálcio via receptor de N-metil-D-aspartato (NMDA), cuja expressão é supra-regulada pelo exercício. Esse processo pode ativar a cascata MAPK via CAMK. A MAPK vai atuar no CREB, cujos níveis estão aumentados pelo exercício (GRIESBACH, 2004; MOLTENI, 2002). O CREB fosforilado ativa genes que regulam as proteínas estruturais, enzimas, canais iônicos e neurotransmissores que resultam em mudanças duradouras na função neuronal (PLOUGHMAN, 2005) (FIG.3).

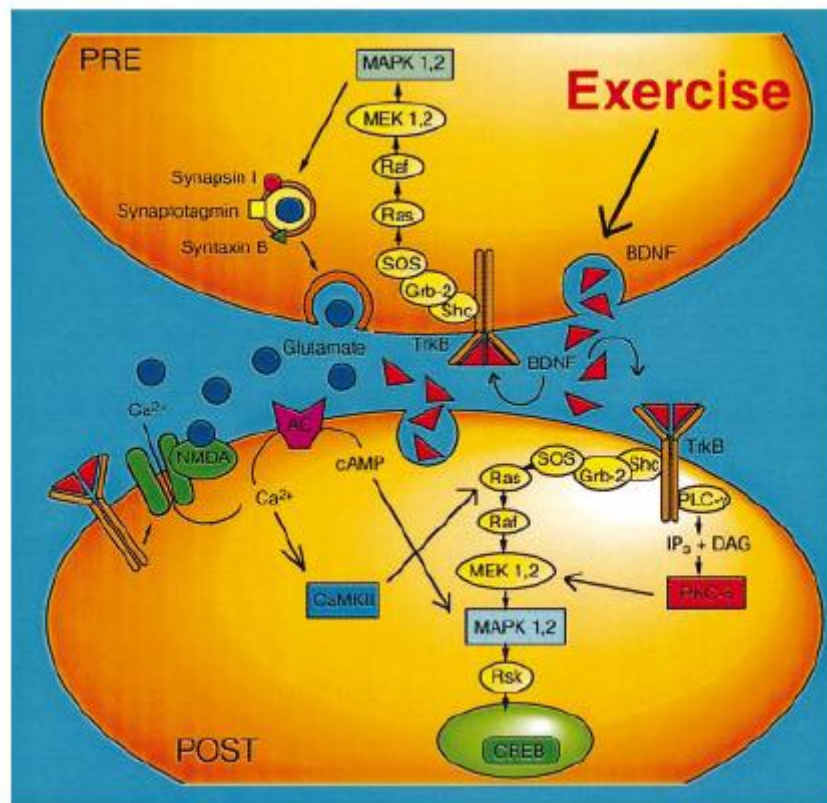


FIGURA 3 - Mecanismos pelos quais o exercício modula a Neuroplasticidade

FONTE: MOLTENI *et al*, 2002, p.1114.

O exercício é um fator de comportamento importante que aumenta a função e a saúde cerebral. O aumento da expressão do BDNF em resposta ao exercício parece ser o fator central desses benefícios (BERCHTOLD, 2005). Exercícios feitos diariamente ou em dias alternados em ratos hígidos aumentaram os níveis de BDNF

progressivamente. Exercícios realizados em dias alternados obtiveram os mesmos efeitos dos praticados diariamente. O BDNF manteve-se elevado vários dias após a interrupção do exercício (BERCHTOLD, 2005). Entretanto, em outro estudo feito por Cechetti *et al* (2008), o treino na esteira não modificou os níveis de BDNF no encéfalo de ratos.

O BDNF liberado após exercício físico é importante no aprendizado e memória. Inibindo-se a ação do BDNF através de um agonista do receptor de TrkB, há bloqueio do benefício do exercício sobre a função cognitiva (VAYNMAN, 2004). Animais submetidos a treinamento físico que receberam bloqueador de receptores de BDNF tiveram suas habilidades de memória e aprendizado prejudicadas (VAYNMAN, 2004). Os animais que apresentaram maiores níveis de BDNF e CREB demonstraram melhor desempenho em testes de aprendizado e memória (VAYNMAN, 2004).

Vaynman e colaboradores (2006) verificaram a capacidade do exercício, por meio de exercícios, em alterar a transmissão sináptica. Nesse estudo, o BDNF foi bloqueado seletivamente no hipocampo durante os três dias de corrida voluntária. Foram mensurados sinafisina I, sinaptofisina e syntaxina. Observou-se que o bloqueio dos receptores de BDNF reduziu os níveis de sinafisina I e sinaptofisina, sem alterar os níveis de syntaxina. Concluiu-se que o exercício utiliza o BDNF para modular seletivamente proteínas envolvidas na transmissão sináptica (VAYNMAN, 2006).

Em interessante estudo realizado por Gómez-Pinilla e colaboradores (2002), foi avaliado se o exercício pode induzir alterações nos níveis de BDNF e do seu receptor TrkB, resultando em modificação ou adaptação sináptica. O exercício físico foi capaz de aumentar a expressão do BDNF e seu receptor TrkB, da sinafisina I, da

CREB e da proteína associada ao crescimento 43 (GAP-43) na medula espinhal de ratos. Em estudo paralelo também feito por Gómez-Pinilla e colaboradores (2002), animais tiveram seu músculo sóleo de um lado do corpo paralisado por injeção de toxina botulínica, e, após serem submetidos a treinamento físico o exercício não alterou os níveis de ácido ribonucleico mensageiro (RNAm) de BDNF, concluindo-se que níveis basais de atividade neuromuscular são necessários para a manutenção de níveis normais de BDNF nesse sistema e para potencial neuroplasticidade.

Há grandes evidências de que a atividade física está associada à diminuição dos riscos de AVE (CECHETTI, 2008). O exercício físico pode induzir neuroproteção direta contra o dano cerebral após isquemia, aumentando a produção de RNAm de neurotrofinas como o BDNF (CECHETTI, 2008) e NGF no sistema nervoso central de ratos (DING, 2004b).

Em estudo feito por Ding e colaboradores (2004a), ratos foram treinados diariamente na esteira por 30 minutos, durante três semanas e posteriormente submetidos a oclusão da artéria cerebral média (ACM) por fio intraluminal por duas horas, seguidas de 48 horas de reperfusão. Os animais que praticaram atividade física antes da isquemia obtiveram menores *deficits* neurológicos, menores volumes de infarto no córtex frontoparietal e estriado dorsolateral, assim como aumento da expressão do NGF e BDNF.

Wang e colaboradores (2001) também estudaram os efeitos neuroprotetores relacionados ao treinamento na esteira em ratos submetidos à oclusão da ACM. Observou-se que o treinamento feito por duas semanas antes do AVE foi suficiente para diminuir a área de infarto e edema celular.

Assim como o exercício é utilizado na neuroproteção dos *déficits* causados pelo AVE, outros autores também relataram benefícios dos exercícios na reabilitação

após o AVE. Ang, e colaboradores (2003) submeteram ratos à isquemia por oclusão da ACM e depois ao treinamento físico em esteira por 12 semanas. Em ratos corredores houve aumento da expressão do NGF em relação a ratos não corredores. A corrida proporcionou reduções significativas na área de infarto após AVE, possivelmente através de suporte neurotrófico endógeno.

Kim e colaboradores (2005) levantaram a hipótese de que o exercício pode promover melhora da função motora através do BDNF e seu receptor TrKB. Foram analisados os níveis de BDNF e TrKB nos hemisférios ipsilateral e contralateral à lesão isquêmica, juntamente com o índice de comportamento motor, *Motor Behavior Index*. No grupo de ratos submetidos ao exercício na esteira, houve aumento de BDNF e TrKB no lado contralateral à lesão e conseqüente melhora do índice de comportamento motor, sugerindo uma associação indireta entre melhora motora e níveis aumentados de BDNF e TrKB.

Apesar de diversos estudos relatarem os efeitos benéficos dos exercícios físicos sobre o sistema nervoso central, a quantidade ideal de exercícios necessários para elevar proteínas envolvidas na neuroplasticidade ainda não é conhecida. Plougman e colaboradores (2005) compararam os efeitos de exercícios de resistência de várias intensidades e durações, usando corrida voluntária e corrida em esteira motorizada. Os animais foram treinados após isquemia induzida por endotelina 1. Os níveis de BDNF e IGF estavam aumentados no hipocampo do hemisfério submetido à isquemia, em animais exercitados e também nos sedentários. O BDNF estava aumentado no lado contralateral à lesão no córtex sensoriomotor após 30 minutos de caminhada rápida. Porém, não houve diferença entre grupos em relação aos níveis de IGF no córtex sensoriomotor. A sinafisina I estava aumentada no hipocampo após 60 minutos de caminhada rápida e, no córtex

sensoriomotor, houve aumento aos 30 e 60 minutos após caminhada rápida. Concluiu-se, com esse estudo, que caminhada rápida com duração de 30 minutos pode aumentar proteínas envolvidas na plasticidade sináptica em áreas cerebrais importantes no reaprendizado motor após AVE.

Esses mesmos autores examinaram os efeitos temporais do exercício físico, seja por meio de corrida motorizada ou corrida voluntária, realizados duas semanas após evento isquêmico (Ploughman, 2007b). Foram analisadas proteínas relacionadas à transmissão sináptica no hipocampo e no córtex sensoriomotor. Os autores desse estudo concluíram que atividades de baixa intensidade, como a corrida voluntária, podem ser preferíveis para aqueles pacientes que sofreram AVE, por ser uma atividade mais segura, apesar de o aumento dos níveis de BDNF serem observados mais tardiamente.

1. 2. 3 AMBIENTE PRÉ-NATAL

Gómez-Pinilla (2005) descreveu que o estilo de vida pode influenciar a expressão de neurotrofinas. A exposição a um ambiente pré-natal deficiente, em que há diminuição do fluxo sanguíneo fetal e conseqüente má nutrição, pode comprometer a função cognitiva do feto, afetando a expressão de BDNF no hipocampo, ocasionando prejuízos na memória e aprendizagem na vida adulta (GÓMEZ-PINILLA, 2005). Dieni e Rees segundo Gómez-Pinilla (2005) relataram que um feto exposto a um ambiente intra-uterino comprometido apresenta alterações estruturais no hipocampo e mudanças nos níveis de BDNF e de seu receptor TrKB.

1. 2. 4 ESTRESSE

Os níveis de corticosterona em ratos, um hormônio glicocorticóide similar ao cortisol em humanos, estão aumentados durante eventos estressantes e podem exacerbar lesões no sistema nervoso (HAYES, 2008). Elevados níveis séricos de corticosterona estão associados à morbidade e mortalidade, aumentando a área encefálica submetida à privação de oxigênio e glicose (HAYES, 2008). Além da morte neuronal, a exposição a altas concentrações de corticoesteróides induz maior susceptibilidade a insultos neuronais subseqüentes (HAYES, 2008).

A corticotesterona também tem sido relacionada à inibição da potenciação de longo prazo (LTP) através de vias relacionadas ao BDNF. A potenciação de longo prazo refere-se a um expressivo aumento do potencial pós-sináptico excitatório após uma estimulação tetânica, que pode durar horas ou até mesmo dias (LENT, 2005). Um estudo feito por Ploughman e colaboradores (2007b) comparou exercícios voluntários em rodas e exercícios em esteira motorizada após lesão isquêmica em ratos. O exercício agudo feito na esteira motorizada induziu um rápido aumento dos níveis de BDNF, porém, o exercício voluntário em rodas produziu efeitos mais prolongados. O grupo submetido a exercícios na esteira motorizada teve maior aumento nos níveis de sinafisina I em várias regiões cerebrais, e também maiores níveis de corticosterona, assim como maior aumento da frequência cardíaca. Em ambos os grupos houve diminuição da expressão de pCREB e da sinafisina I, no hipocampo. Estes autores concluíram que a corrida forçada é mais estressante do que a corrida voluntária, porém, o estresse diminui com o treino (PLOUGHMAN, 2007).

Estudos feitos por Hayes e colaboradores (2008), avaliaram o volume de infarto em animais submetidos à oclusão da artéria cerebral média e posteriormente expostos a eventos estressantes, sejam eles estresse de contenção ou choque elétrico. Estes animais também foram submetidos à corrida voluntária ou forçada em esteira elétrica. Os autores relataram que não houve aumento do volume de infarto nos ratos submetidos a contenção física e nem naqueles submetidos a corrida voluntária na esteira em relação ao grupo controle. Já nos animais que receberam o choque elétrico, houve aumento do volume de infarto em relação ao grupo controle. Vale ressaltar que esse mesmo choque elétrico foi utilizado para estimular animais a correrem na esteira elétrica. Houve redução do volume de infarto nos animais submetidos a corrida em esteira em relação ao grupo controle. Concluiu-se que o exercício associado a componente estressor é capaz de reduzir o volume de infarto de maneira mais eficaz do que o exercício voluntário ou somente o estresse (HAYES, 2008).

Estudos em animais demonstraram que a exposição a altos níveis de corticoesteróides reduzem os níveis BDNF disponíveis no hipocampo, porém, exercícios realizados previamente ao evento estressante podem amenizar esses efeitos prejudiciais (COTMAN, 2007).

1. 2. 5 INTERLEUCINAS

A interleucina 1 (IL-1) é uma citocina pró-inflamatória que ativa respostas de defesa contra infecção e lesão do sistema nervoso periférico (SNP) e do SNC (TONG, 2008). Em lesões agudas como isquemia cerebral e traumatismos, a expressão de IL-1 pode estar exacerbada (WANG, 2007). Em cérebros hígidos a

concentração de IL-1 é baixa, e seu aumento após uma lesão está relacionada à lesão ou morte neuronal (TONG, 2008). O mecanismo pelo qual a IL-1 leva a morte neuronal parece estar relacionada com a regulação do receptor de N-metil-D-aspartato (NMDA) e com a ativação do fator nuclear kappa presente na glia (ROTHEL, 2000), juntamente com a liberação de radicais livres e ativação de caspases (TONG, 2008). A interleucina 1 β (IL- 1 β) parece ser neurotóxica apenas em grandes concentrações e em exposição prolongada (TONG, 2008). A IL- 1 β parece interferir negativamente na ação neuroprotetora do BDNF (TONG, 2008).

Em um estudo feito por Tong e colaboradores (2008), verificou se que a IL- β pode comprometer a sobrevivência celular interferindo no efeito neuroprotetor do BDNF. Constatou-se que a IL- β reduz os efeitos neuroprotetores do BDNF, afetando a sua expressão através das vias de sinalização PI3K/AKT e Ras/ERK. Essas vias são importantes para a neuroproteção em diferentes condições, principalmente quando há exposição a substancias tóxicas que levam a fragmentação do DNA ou situações resultantes de insultos isquêmicos.

1. 2. 6 FATORES NUTRICIONAIS

O sistema nervoso central não pode sintetizar e nem armazenar energia, portanto esta é proveniente da dieta alimentar (MOLTENI, 2004). Uma dieta rica em gorduras diminui os níveis de BDNF no hipocampo, mas não no córtex cerebral (MOLTENI, 2004). Um estudo feito por Molteni e colaboradores (2004), avaliou se havia alguma interação entre o exercício físico voluntário e dieta. A atividade física compensou o efeito deletério da dieta rica em gordura, aumentando os níveis de

BDNF, sinafisina I e CREB. A sinafisina atua modulando a liberação de neurotransmissores, e o CREB é um ativador de fator de transcrição, ambos são importantes para a aprendizagem e memória (MOLTENI, 2004). O exercício físico voluntário também preveniu os déficits na aprendizagem espacial induzido pela dieta rica em gordura, conforme teste feito na plataforma aquática de Morris (MOLTENI, 2004).

Estudos indicam que ratos submetidos a dieta rica em gordura por dois meses com suplementação de vitamina E apresentaram níveis normais de BDNF, sinafisina I e CREB, ao contrário dos animais que não ingeriram vitamina E (WU, 2004). Estes autores concluíram que, através da ingestão de vitamina E, a função cognitiva prejudicada pela alimentação rica em gordura pode ser restaurada.

2 ACIDENTE VASCULAR ENCEFÁLICO

A Organização Mundial de Saúde (OMS) define o AVE como uma síndrome clínica de *déficit* cerebral focal, de rápido início e com duração superior a 24 horas, de origem exclusivamente vascular (OMS, 2006). A maioria dos AVEs, cerca de 87%, são classificados como isquêmicos e ocorrem devido a oclusão de vasos sanguíneos encefálicos, mais frequentemente da artéria cerebral média (ACM) (DURUNKAN, 2007). Os AVEs hemorrágicos, abrangem 13% dos casos e originam-se após a ruptura de vasos sanguíneos (OMS, 2008).

O AVE é terceira causa de morte em países desenvolvidos e também a maior causa de incapacidade (WU, 2005). De acordo com a Associação Americana do Coração, *American Heart Association* (2008), a prevalência de pessoas que sofreram AVE em 2005 foi de 5,8 milhões, destes, 2,3 milhões são do sexo masculino enquanto 3,4 milhões do sexo feminino. Dentre as pessoas que sobrevivem a um AVE 31% apresentam seqüelas permanentes que afetam suas atividades de vida diária (AVD) e sua qualidade de vida (PLOUGHMAN, 2007). Após sete anos de ocorrência do AVE, alguns dos indivíduos que sobrevivem necessitam de ajuda para o auto-cuidado. 20% precisam de ajuda para caminhar, 71% têm prejuízos na capacidade profissional, e 16% têm que ser institucionalizados (WHITE, 2000). O custo indireto e direto estimados para o tratamento de AVE em 2008 é de 65.5 bilhões de dólares nos Estados Unidos (Associação Americana do Coração, 2008).

2.1 PATOFISIOLOGIA DA ISQUEMIA

A restrição do fluxo sanguíneo encefálico por trombose, embolismo ou hipoperfusão sistêmica pode causar AVE isquêmico (DURUNKAN, 2007). O fluxo sanguíneo inadequado leva a insuficiente oxigenação e transporte de glicose para manter a homeostase celular (WHITE, 2000). A escassez de energia desencadeará uma série de eventos neuroquímicos como, a excitotoxicidade, a acidotoxicidade e desequilíbrio iônico, a despolarização da área peri-infarto, o estresse oxidativo, a inflamação e apoptose, culminando com a morte celular (DOYLE, 2008). Cada um desses processos patofisiológicos ocorre em tempos distintos, desde alguns minutos, até horas e também dias após a isquemia (GONZALEZ, 2006).

O encéfalo humano corresponde a 2% do peso corporal, mas requer 20% do consumo total de oxigênio (EDVINSON, 2002). Estima-se que a bomba sódio-potássio ATPase (Na^+/K^+ ATPase), encontrada na membrana plasmática de neurônios, consuma 70% da energia destinada ao encéfalo (EDVINSON, 2002). A bomba Na^+/K^+ ATPase é responsável por manter os níveis intracelulares de potássio elevados e os baixos níveis intracelulares de sódio para manter normal a propagação dos potenciais de ação (DOYLE, 2008; KRNJEVIC, 2008). Após a isquemia há um consumo rápido de trifosfato de adenosina (ATP), a membrana plasmática do neurônio se despolariza e permite o efluxo de potássio da célula, assim como o influxo de o sódio, gerando assim, um desequilíbrio iônico (DOYLE, 2008; KRNJEVIC, 2008).

Além disso, a escassez de energia após a isquemia não permite que a bomba cálcio ATPase ($\text{Ca}^{++}/\text{ATPase}$) funcione adequadamente, aumentando o nível intracelular deste íon (DOYLE, 2008; KRNJEVIC, 2008). O influxo de cálcio estimula

a liberação de glutamato das vesículas pré-sinápticas (WHITE, 2000). A ativação dos receptores ionotrópicos de glutamato NMDA e ácido α -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxasole propiônico (AMPA) permitem a abertura de canais de cálcio e sódio, respectivamente (WHITE, 2000). Tanto a liberação de glutamato, quanto a grande concentração intracelular de cálcio vão levar à excitotoxicidade (WHITE, 2000). Outros fatores como repetidas despolarizações também podem contribuir para o aumento intracelular de cálcio (KNERJEVIC, 2008).

A despolarização peri-infarto (DPI) são ondas de despolarização espontâneas que se propagam na área de penumbra da isquemia (DOYLE, 2008). A área de penumbra corresponde a uma área em que, após a isquemia focal, o tecido nervoso encontra-se fisiologicamente alterado, mas não em processo de morte (LO, 2008). Nessas áreas as DPIs parecem contribuir para a expansão da área de infarto devido a positiva correlação entre volume de infarto e número de DPIs (SASAKI, 2009; STRONG, 2007). A repetição de DPIs leva a danos no tecido nervoso (SASAKI, 2009; STRONG, 2007) devido ao acúmulo de cálcio, ao aumento da acidez no tecido isquemiado e à formação de radicais livres (KRNJEVIC, 2008). O sistema nervoso é bastante susceptível aos danos causados pelos radicais livres, pois, possui baixos níveis de agentes antioxidantes (WHITE, 2000).

As fosfolipases C e A, ativadas durante a isquemia pela despolarização da membrana celular dos neurônios e pelo aumento intracelular de cálcio respectivamente (WANG, 2007; WHITE, 2000), vão hidrolisar a membrana fosfolipídica liberando ácido aracdônico livre (ADIBHATLA, 2005,2008). As mudanças na conformação do ácido aracdônico livre resultante da ação da cicloxygenase e da 5-lipoxigenase (WANG, 2007) alteram a permeabilidade e a fluidez da membrana plasmática dos neurônios (ADIBHATLA, 2008). O ácido

aracônico é uma grande fonte de superóxido (O_2^-) durante a reperfusão, e é responsável em grande parte pelos danos causados durante a reperfusão (WHITE, 2000). Após a reperfusão há aumento de óxido nítrico, O_2^- e do peroxinitrito. Esses radicais ativam metaloproteases que degradam colágeno e lamininas na lâmina basal, e quebram a integridade da barreira hemato-encefálica aumentando sua permeabilidade, levando a edema, hemorragia e morte neuronal (LO, 2008; WANG, 2007).

O processo inflamatório também é desencadeado após a reperfusão. (WANG, 2007). Espécies reativas de oxigênio desencadeiam o recrutamento e a migração de neutrófilos e leucócitos para os vasos cerebrais, podendo ocorrer hemorragia do parênquima, edema cerebral vasogênico e infiltração de neutrófilos no cérebro (WANG, 2007; WHITE, 2000). A inflamação é uma reação de defesa contra vários insultos e serve para remover agentes infecciosos e limitar seus efeitos tendo papel importante na isquemia do SNC (KRIZ, 2006). O processo inflamatório envolve diferentes tipos de células tais como: neutrófilos, linfócitos, além de citocinas e quimiocinas (WANG, 2007; KRIZ, 2006). A isquemia causa aumento do número de neutrófilos, linfócitos e monócitos circulantes (DOYLE, 2008). Os neutrófilos acumulam-se no tecido nervoso aproximadamente 30 minutos após processo isquêmico (DOYLE, 2008). Uma vez no tecido cerebral os neutrófilos vão liberar radicais livres e enzimas proteolíticas causando dano tecidual (WANG, 2007) (FIG.4).

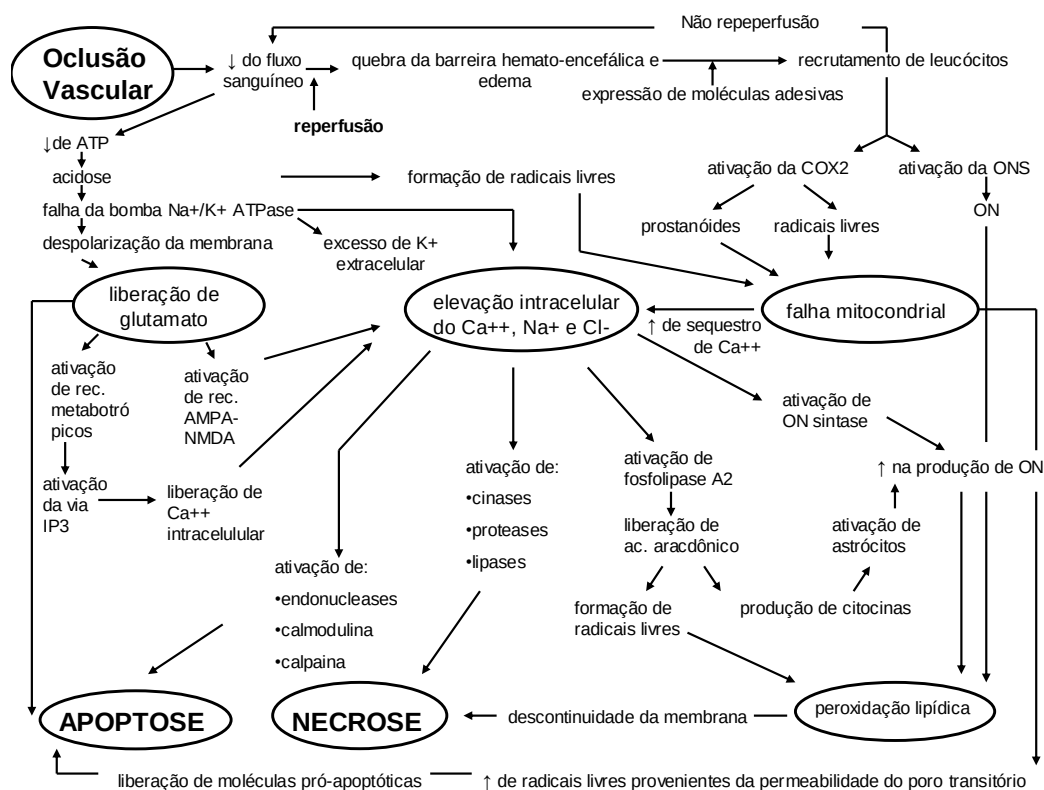


FIGURA 4 – Diagrama de eventos que ocorrem com a oclusão de vasos encefálicos e subsequente reperfusão.

Fonte: Adaptado de DURUNKAN., *et al*, 2007, p. 187.

Os linfócitos também são responsáveis por causar danos em resposta à isquemia (WANG, 2008). O linfócito não é uma célula típica do SNC hígido, porém é encontrado 24 horas após a isquemia neste sistema. A migração de linfócito para o SNC parece ser devido também a quebra da barreira hemato-encefálica, seja pela movimentação livre do linfócito ou pela ligação a antígenos cerebrais resultando em transmigração de linfócitos ativos (DOYLE, 2008).

Diversas citocinas e quimiocinas podem afetar a função neural e promover neurotoxicidade (WANG, 2007). Os níveis da interleucina 6 (IL-6) encontram-se aumentados em pacientes após AVE e são detectados no líquido (ou líquido cérebro-espinhal) algumas horas após o evento isquêmico (DOYLE, 2008). Os níveis de IL-6

estão correlacionados com aumento da área infartada (DOYLE, 2008). Há uma positiva correlação entre os níveis de fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), uma citocina, e extensão da lesão isquêmica (KRIZ, 2006). O TNF- α também está relacionado a transmigração e o acúmulo de neutrófilos, a promoção de moléculas adesivas e a produção de proteínas que quebram a barreira hematoencefálica, assim como a indução de outros processos inflamatórios (DOYLE, 2008).

A apoptose é um processo de morte celular que envolve ativação de mecanismos decodificados no genoma de todos eucariotas (WHITE, 2000). Pode ocorrer em regiões de penumbra isquêmica, área em que as lesões são mais moderadas e ainda há preservação de ATP se o fator causal deste processo não for retirado (YUAN, 2000). A apoptose pode ser desencadeada por radicais livres provenientes do oxigênio, ligação com receptores de morte celular, danos no DNA, ativação de proteases e desequilíbrio iônico (DOYLE, 2008). A liberação do citocromo C tem papel importante na morte celular em resposta a isquemia (DOYLE, 2008). Sua liberação é causada pelo desequilíbrio iônico ou pela formação de um poro na membrana mitocondrial externa, por onde o citocromo C e outras proteínas da intermembrana podem escapar (HENGARTNER, 2000). A família de proteínas Bcl-2 tem papel regulador na sobrevivência e morte celular (ADAMS, 2001; HENGARTNER, 2000; YUAN, 2000). As proteínas Bcl-2 (Bax, Bak, Bad, Bim, Bld) são pró-apoptóticas, e promovem a formação do poro, enquanto que as (Bcl-2, Bcl-XL, Bcl-W) são anti-apoptóticas e previnem a formação desse poro (ADAMS, 2001; HENGARTNER, 2000; YUAN, 2000).

Fatores anti-apoptóticos, como Bcl-2 e Bcl-XL atuam na inibição da Bax, prevenindo a formação de poros e fechando canais ânion voltagem-dependentes, que se abertos permitem a passagem do citocromo C (ADAMS, 2001; YUAN, 2000).

Outros fatores de sobrevivência celular atuam para prevenir a liberação de citocromo C através da ativação das vias de ERK e AKT/PKB (DOYLE, 2008; WHITE, 2000).

Alguns fatores neurotróficos são capazes de atenuar a morte celular por meio da ativação de vias de sinalização de transdução anti-apoptóticas (WHITE, 2000). As neurotrofinas regulam a apoptose neuronal através ação de proteínas cinases, como o fosfoinositídeo-3-cinase/AKT e vias MAPK (YUAN, 2000). A sobrevivência de neurônios em desenvolvimento dependem da disponibilidade de fatores neurotróficos, pois, esses polipeptídeos atuam como sinais de sobrevivência para a morte celular, suprimindo a apoptose (YUAN, 2000)(FIG.5).

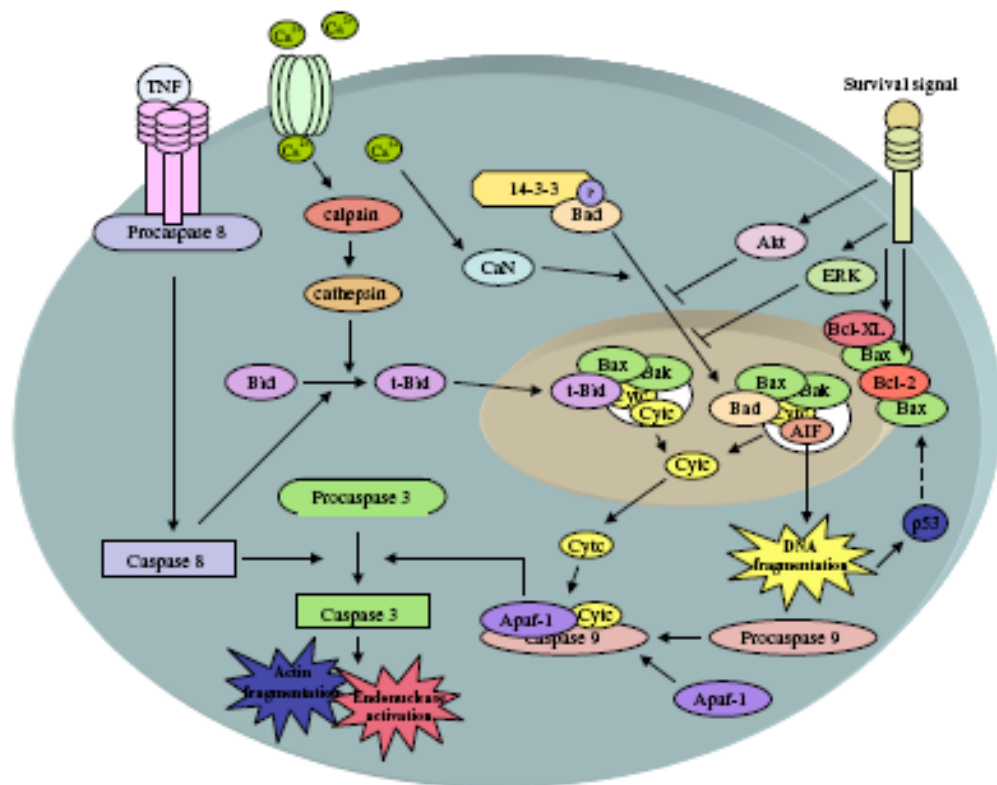


FIGURA 5 – Apoptose no AVE

FONTE: DOYLE *et al*, 2008, p. 315.

2. 2 MODELOS EXPERIMENTAIS DE AVE

Modelos animais de AVE têm sido desenvolvidos para mimetizar o AVE humano e servir como ferramenta para a pesquisa na área de Neurociências (SACCO, 2007). Grande variedade de modelos de isquemia focal foram desenvolvidos nas últimas décadas, e sua maioria trouxe conhecimentos acerca dos mecanismos patofisiológicos da isquemia (HOSSMAN, 2008). O sucesso de um modelo experimental depende da reprodução dos eventos neuroquímicos ou comportamentais ocorridos em humanos (PEREL, 2007).

Os modelos experimentais podem reproduzir uma isquemia global e focal, permanentes ou transitórios (DURUNKAN, 2007; HOSSMAN, 2008). Os modelos mais difundidos são aqueles em que há oclusão da ACM em ratos (DURUNKAN, 2007; HORIE, 2008; HOSSMAN, 2008; REGLODI, 2003). A sutura intraluminal da ACM é muito utilizada, é de fácil aplicação, pouco invasiva e pode ser utilizada tanto na forma de isquemia transitória quanto na forma permanente (DURUNKAN, 2007; HOSSMAN, 2008). Nesse modelo, introduz-se um fio intraluminal na artéria carótida interna, via artéria carótida externa até que haja o bloqueio do fluxo sanguíneo para a ACM. Esse modelo permite a reperfusão, retirando-se a sutura (WOITZIK, 2006). Outro modelo bastante utilizado é o de isquemia induzida por aplicação de endotelina 1 diretamente na ACM, ou adjacente a ela (DURUNKAN, 2007). A endotelina 1 age como potente vasoconstritor, diminuindo o fluxo sanguíneo, resultando em lesão isquêmica semelhante às reproduzidas cirurgicamente (HORIE, 2008). É um método invasivo e permite a sua aplicação em qualquer região cerebral desejada, porém, a ação dose-dependente da endotelina 1 diminui o controle sobre a duração e frequência da isquemia (DURUNKAN, 2007).

Assim como é de grande importância a reprodução de modelos experimentais de AVE para estudo dessa patologia (SACCO, 2007), é necessário também avaliar e testar as alterações ocorridas após a lesão (MODO, 2000).

2.3 ANÁLISE DO DESEMPENHO DE RATOS SUBMETIDOS À OCLUSÃO DA ACM

Existe uma grande variedade de testes utilizados para avaliar o desempenho funcional em animais submetidos à oclusão da ACM (REGLODI, 2003; MODO, 2000). Esses testes são utilizados para avaliar alterações motoras e sensitivas (HUNTER, 2000). As avaliações realizadas a curto e longo prazo são importantes para prover informações complementares sobre a lesão e determinar os efeitos do tratamento e resultados funcionais (MODO, 2000).

Reglodi e colaboradores (2003) examinaram o desempenho sensório-motor de ratos após oclusão de ACM e sua correlação com a área de infarto. Após 14 dias do evento isquêmico não houve recuperação do alinhamento postural ou mesmo da atividade espontânea. Pouca correlação entre o tamanho da área de infarto foi relacionada com a recuperação no distúrbio de marcha, reações de colocação, peso corporal diário e atividade espontânea, e mesmo assim encontrada somente em alguns dias. Os testes sensório-motores mais comumente usados fornecem informações sobre *déficits* funcionais. Entretanto, mesmo grandes diferenças no tamanho do infarto não foram refletidas nos escores neurológicos. Esses testes provavelmente medem apenas *déficits* causados pela área central de isquemia.

Nedelman e colaboradores (2007) também utilizaram diferentes testes funcionais na análise do desempenho de ratos submetidos a oclusão da ACM. Nestes experimentos, foi utilizado uma bateria de testes que incluía a travessia de barras paralelas, a observação do comportamento em campo aberto e na plataforma de oito braços, assim como o resultado de avaliação neurológica por itens sensório-motores e de coordenação motora. A avaliação dos itens e exploração comportamental foi inversamente proporcional ao volume de infarto. Estes autores concluíram que as alterações neurológicas comportamentais foram detectadas de maneira eficiente por meio dos testes funcionais.

Em outro estudo feito por Modo e colaboradores (2000) foram avaliados déficits na integração da função motora de ratos submetidos a oclusão da ACM através do teste de passo em falso, assim como déficits crônicos no processamento de informações espaciais, mensurados na plataforma aquática de Morris. As diferenças relatadas entre animais controle e animais submetidos a oclusão de ACM nessa bateria de testes indicou que este protocolo foi eficiente para avaliar os resultados dos tratamentos antes e depois do AVE.

Déficits sensório-motores em camundongos isquemiados por oclusão da ACM foram avaliados por Hunter e colaboradores (2000). Após 24 horas de isquemia, os animais apresentaram déficits em tarefas sensoriais e motoras, juntamente com o declínio no desempenho na roda giratória e em atividades locomotoras.

Riek-Burchardt e colaboradores (2004) estabeleceram um procedimento de testes comportamentais a serem utilizados na avaliação de modelo de isquemia focal transitória induzida por endotelina 1. Este protocolo permite a avaliação de prejuízos quantitativos e qualitativos na habilidade motora, e é sensível na detecção

de *déficits* crônicos. O teste de caminhada na escada faz parte deste protocolo é sensível a avaliação da função motora fina.

Uma avaliação dos efeitos da neuroproteção, neurogênese e mecanismos compensatórios resultante de insultos isquêmicos necessitam de avaliação de parâmetros morfológicos e funcionais (RIEK-BURCHARDT, 2004). Todos esses testes são importantes para correlacionar estudos sobre a neuroplasticidade e a recuperação da função.

3 NEUROPLASTICIDADE

As lesões isquêmicas agudas possuem duas áreas distintas, uma central, constituída por neurônios que sofreram necrose e outra área periférica, denominada área de penumbra isquêmica (HOSSMAN, 2008; ROSSINI, 2003). Nesta região, os neurônios encontram-se funcionalmente prejudicados devido a condições deficitárias de fluxo sanguíneo das arteríolas, capilares e vasos colaterais (ROSSINI, 2003). A área de penumbra contribui significativamente para os déficits neurológicos iniciais (ROSSINI, 2003). Caso o fluxo sanguíneo não seja restaurado, os neurônios da área de penumbra só sobrevivem por um curto período de tempo, podendo ocorrer necrose e estabilização dos déficits clínicos (FILIPPO, 2008; ROSSINI, 2003). A restauração do fluxo sanguíneo vai impedir que essa área de penumbra se torne uma área de lesão focal, aumentando assim os déficits neurológicos após o AVE.

A recuperação funcional após AVE envolve pelo menos dois processos: resolução do dano tecidual agudo, e compensação comportamental (CARMICHAEL, 2003). O reparo do dano tecidual, incluindo resolução do edema celular, de micro e macro hemorragias e controle da inflamação estão associados aos períodos iniciais de lesão (CARMICHAEL, 2003; ROSSINI, 2003).

Algumas semanas ou meses após a lesão, os pacientes adotam estratégias para compensar a fraqueza muscular, a alteração de fala e a perda de sensibilidade, denominadas compensações comportamentais (CARMICHAEL, 2003). Essas compensações tardias permitirão que os pacientes realizem determinadas funções ou AVD, porém, com padrões diferentes de aprendizado daqueles vistos previamente à lesão (CARMICHAEL, 2003), pois o AVE gera profundas mudanças no padrão de ativação de circuitos corticais (YEN, 2008).

A neuroplasticidade após AVE inclui alterações na estrutura e fisiologia dos circuitos corticais (CARMICHAEL, 2003). Acredita-se que o fenômeno da plasticidade neural contribui para a recuperação parcial da função que normalmente ocorre no período pós-isquêmico e que a reabilitação física pode melhorar ainda mais a recuperação funcional (CENTOZE, 2007). Entretanto um estudo feito por Allred e colaboradores (2008) relatou que animais que treinavam o alcance com o lado sadio do corpo, tiveram prejuízos na recuperação funcional do lado lesionado. Isso é relacionado a uma ativação diminuída no córtex que foi lesionado. O treino da pata não afetada promoveu uma neuroplasticidade com resultados funcionais mal adaptados (ALLRED, 2008), ou seja, uma forma negativa de plasticidade. Tais compensações podem contribuir para o aprendizado do não-uso do lado do corpo afetado (TAUB, 2006).

A plasticidade neural fisiológica pode ser atribuída, em grande parte, à potenciação de longo prazo (LTP), que é um aumento de longa duração da força sináptica induzida em várias áreas cerebrais (GÓMEZ-PALACIO, 2008). É um grupo de processos com diversas características eletrofisiológicas e bioquímicas (GÓMEZ-PALACIO, 2008), relacionados a mecanismos de consolidação da memória e aprendizagem (GÓMEZ-PALACIO, 2008; FILLIPO, 2008). Pode ser induzida pela ativação sináptica dos receptores NMDA durante a despolarização pós-sináptica ou pela estimulação tetânica de alta frequência (MALENKA, 2004). Muitos mecanismos envolvidos na indução e manutenção da LTP são os mesmos ativados durante eventos de isquemia e excitotoxicidade do tecido neuronal, sugerindo uma ligação entre plasticidade fisiológica e patológica (FILIPPO, 2008; CALABRESI, 2003).

A LTP fisiológica (atividade-dependente ou tetânica) e a LTP induzida por isquemia (i-LTP) compartilham processos moleculares similares. Episódios de

privação de energia são capazes de induzir LTP através da ativação do receptor glutamatérgico NMDA no hipocampo (MALENKA, 2004; CARMICHAEL, 2003). A i-LTP é dependente do aumento intracelular de cálcio, assim como ocorre durante a LTP fisiológica (CALABRESI, 2003; MALENKA, 2004).

Após a privação de oxigênio e glicose, neurônios falham em gerar ATP suficiente, conseqüentemente os gradientes iônicos são perdidos, e o bloqueio voltagem-dependente feito pelo magnésio no receptor de NMDA é removido (FILIPPO, 2008). O aumento da liberação de glutamato promove ativação dos receptores ionotrópicos de NMDA levando à excessiva entrada de cálcio (FILIPPO, 2008; MALENKA, 204). O cálcio liga-se à calmodulina para ativar a CAMKII e CAMKIV. A CAMKII, por sua vez, fosforila os receptores AMPA, aumentando seu sinal de condutância e, conseqüentemente, influencia o transporte de mais receptores para a membrana plasmática (FILIPPO, 2008; MALENKA, 2004). A CAMKIV ativa a CREB, levando a ativação de fator de transcrição. O influxo de cálcio é também crucial para a ativação da via Ras-Raf-ERK, resultando na fosforilação da ERK, que, por sua vez, leva à ativação da CREB (FILIPPO, 2008)(FIG.6). Contudo não há consenso se os efeitos da i-LPT são benéficos ou maléficos. É possível que os efeitos finais dessa forma de neuroplasticidade sejam o de permitir a reorganização da representação de mapas corticais e seu conseqüente retorno funcional após o AVE (CALABRESI, 2003).

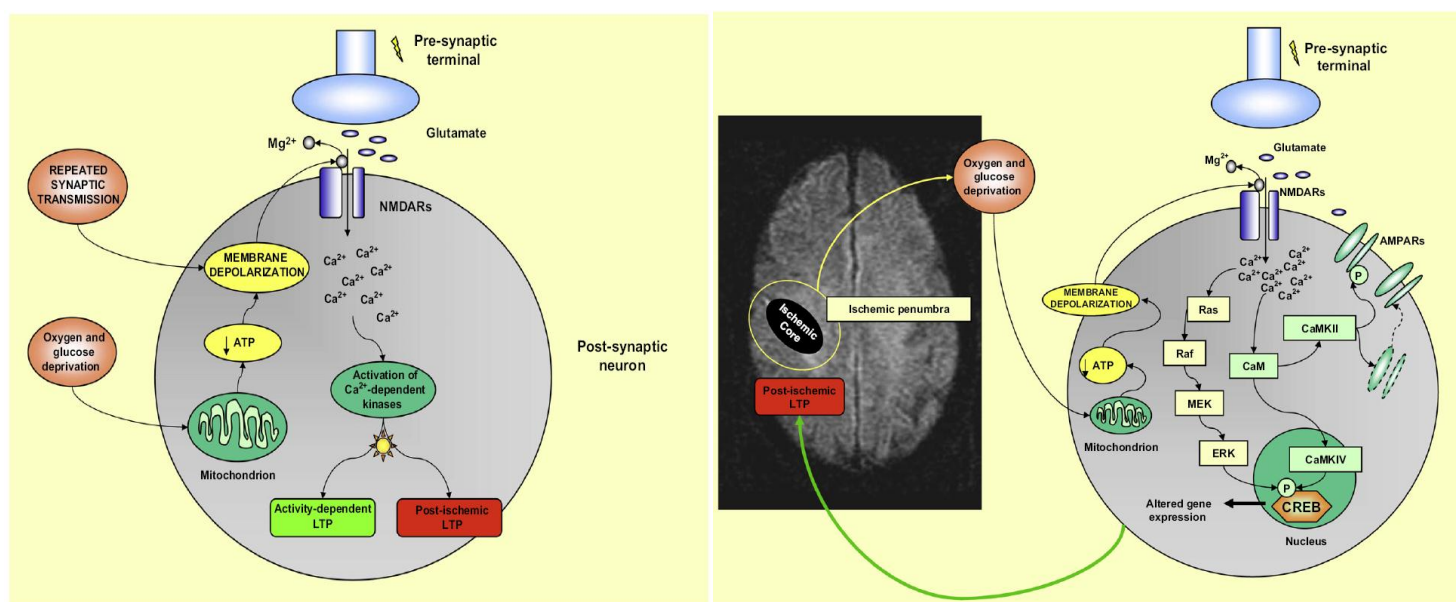


Figura 6- Processos moleculares envolvidos na LTP e i-LTP
 Fonte: FILIPPO *et al*, 2008, p.355-356.

Estudos recentes indicam que a i-LTP pode representar o processo tardio de morte neuronal programada ou apoptose ocorrido na área de penumbra de um infarto isquêmico se o fluxo sanguíneo não for restabelecido (FILIPPO, 2008). A i-LTP e a morte celular apoptótica compartilham mecanismos comuns, pois ambos envolvem a ativação de receptores AMPA, NMDA e receptores metabotrópicos de glutamato, assim como as vias da PKC e MAPK/ERK (FILIPPO, 2008). Dessa forma, Centoze (2007) e Filippo (2008) relataram que o bloqueio farmacológico da i-LTP na área de penumbra previne o aumento da área de infarto mensurado de 24 horas a uma semana após a oclusão da ACM.

Evidências sugerem que o aumento da excitabilidade neuronal quando ocorrida na área de penumbra é importante para a recuperação funcional e está associado à melhora progressiva dos *déficits* neurológicos (CENTOZE, 2007). A

habilidade da isquemia em promover plasticidade neuronal pode explicar a recuperação dos *déficits* neurológicos vistos em pacientes após o AVE (NUDO, 2007). Alguns eventos bioquímicos podem facilitar o processo de recuperação, tais como a perda de inibição GABAérgica perilesional e o aumento da sensibilidade do receptor glutamatérgico (CALABRESI, 2003; NUDO, 2007). Esses eventos foram observados após o evento isquêmico e podem contribuir para a neuroplasticidade reparadora, diminuindo o limiar de indução da i-LTP (CALABRESI, 2003; NUDO, 2007). Fisiologicamente, conexões corticais após a isquemia tornam-se hiperexcitáveis e mais susceptíveis à indução da LTP (CARMICHAEL, 2003; NUDO, 2007).

A plasticidade de mapas corticais é um evento fisiológico que pode ocorrer na vida adulta e ser observado após o AVE (FILLIPO, 2008; YEN, 2008). A reorganização dos mapas corticais motores após AVE e durante o processo de recuperação motora envolve o recrutamento de áreas motoras adjacentes e contralaterais a incorporação de porções somatosensoriais para a função motora (CARMICHAEL, 2003).

A i-LTP pode influenciar a reorganização neuronal e gerar nova representação de mapas corticais através de recentes conexões funcionais entre neurônios que não interagem, ou desconectando neurônios associados previamente (FILIPPO, 2008). Grupos de neurônios que estão anatomicamente conectados ao sítio de lesão isquêmica adotam as funções da área lesada, através do brotamento axonal (CARMICHAEL, 2003; NUDO, 2007; ROSSINI, 2003). A recuperação do dano parcial pode ser mediada pela adaptação de sinapses existentes, entretanto a recuperação após lesão completa necessita de ativação de outros sistemas

relacionados que podem assumir a função dos a circuitos lesionados (ROSSINI, 2003).

A isquemia pode induzir brotamentos axonais através da reativação de atividades sinápticas, permitindo que projeções corticais respondam à liberação de fatores de crescimento e ao estabelecimento de novos contatos entre neurônios (CARMICHAEL, 2003). Algumas terapias reabilitadoras, como o suporte de peso parcial na esteira, podem induzir neuroplasticidade (YEN, 2008), promovendo uma melhora funcional do paciente após o AVE.

4 IMPLICAÇÕES PARA A REABILITAÇÃO

Uma das áreas de interesse na pesquisa sobre o AVE é o entendimento sobre como a plasticidade neural influencia a recuperação neurológica e seus subsequentes impactos na reabilitação clínica (CARMICHAEL, 2008; TEASELL, 2003). Várias hipóteses têm sido elaboradas para explicar a recuperação funcional após AVE (CRAMER, 2008; TEASELL, 2003). Infelizmente, muitos pacientes, após AVE, apresentam *déficits* residuais que afetam a produtividade e a qualidade de vida (PLOUGHMAN, 2005). A inatividade física e a ausência de condicionamento aceleram o declínio da função neuromuscular, aumentam os riscos de doenças cardiovasculares e geram incapacidade funcional (LUFT, 2008).

Estudos têm dado grande ênfase a métodos que intensificam a reabilitação, como a utilização do suporte parcial de peso durante a locomoção na esteira (MCAIN, 2008; PLOUGHMAN, 2005; YEN, 2008). Os efeitos positivos do treinamento na esteira, em combinação com o suporte de peso, têm sido demonstrados em pacientes após AVE e que se encontravam em diferentes estágios de recuperação (YEN, 2008). O treinamento na esteira com suporte de peso pode ser um método efetivo para a melhora da qualidade da marcha, velocidade e força muscular (McCAIN, 2008). A utilização do suporte de peso na esteira permite que pessoas que não podem andar seguramente no solo sejam treinadas em segurança, possibilitando sua antecipada inclusão em atividades locomotoras (BARBEAU, 2003; NORMAN, 1995). Tem sido demonstrado que a recuperação precoce da marcha após AVE é associada a uma futura marcha independente (FRIEDMAN, 1990).

Apesar desses benefícios, durante as sessões de reabilitação pouco tempo é despendido em atividades que elevam a frequência cardíaca e tenham efeito de

treinamento (PLOUGHMAN, 2008). Deve-se levar em consideração que o custo metabólico de deambular é significativamente mais alto em pessoas após AVE da artéria cerebral média quando comparados a indivíduos hígidos (McCAIN, 2008). Natarajan *et al.* (2008) estudaram as práticas clínicas realizadas por fisioterapeutas e terapeutas ocupacionais na reabilitação após AVE por meio de um questionário relacionado ao cuidado dos pacientes que sofreram AVE. A proposta de tratamento de preferência foram os métodos Bobath e Brunnstron, utilizados por 93% dos fisioterapeutas. Alguns tratamentos mais recentes e mais eficazes, como a terapia do uso forçado eram utilizados apenas pela minoria dos profissionais (NATARAJAN, 2008). A incerteza de alguns terapeutas em responder a questões de relevância clínica revela que mais estudos têm de ser feitos para validar os tratamentos utilizados na prática clínica e que os profissionais devem manter contato freqüente com a literatura científica disponível, para basear suas práticas em evidências científicas (NATARAJAN, 2008).

Para o estabelecimento do início da reabilitação após AVE, é necessário observar que a implementação da atividade física durante fases iniciais, caracterizadas pelo comprometimento energético, pode acelerar a disfunção celular (PLOUGHMAN, 2005). Em modelo animal de lesão cerebral traumática, exercícios iniciados prematuramente bloquearam os efeitos do BDNF e pioraram a recuperação da função cognitiva (PLOUGHMAN, 2005). Exercícios iniciados 14 dias após lesão cerebral traumática, entretanto, aumentaram os níveis de BDNF e também a função cognitiva (VAYNMAN, 2005). É importante que o início da prática de exercício de resistência se inicie pelo menos 14 dias após o evento isquêmico para que haja efeitos benéficos na recuperação funcional.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O exercício físico é uma prática simples e amplamente difundida. Evidências apontam para os benefícios do exercício físico de resistência, tanto na forma de prevenção quanto para o tratamento de pacientes após o AVE. Esses benefícios parecem ser mediados por fatores neurotróficos como o BDNF. O aumento na sua expressão após a atividade física atua na plasticidade sináptica, reorganizando os mapas corticais e conseqüentemente potencializando a melhora da função. Apesar de grandes evidências para o tratamento pós AVE com exercícios de resistência, pouco tempo é destinado à aplicação de atividades aeróbicas nas sessões de reabilitação física. Isso pode ser devido a dificuldades de iniciar uma atividade aeróbica precocemente, por falta de estrutura física e equipamentos para auxiliar o tratamento, pela própria limitação física do paciente ou pelo desconhecimento de evidências apresentadas na literatura científica. O suporte de peso na esteira é um meio eficiente de colocar os pacientes para deambular de uma maneira segura e mais precoce, permitindo que ele comece o treino na esteira mesmo antes de ser capaz de deambular sozinho no solo. Entretanto mais estudos devem ser realizados para o entendimento de possíveis mecanismos moleculares pelos quais o processo de reabilitação têm impacto positivo na neuroplasticidade e na conseqüente melhora funcional dos pacientes que sofreram AVE.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, J. M.; CORY, S. Life or death decisions by Bcl-2 protein family. *Trends in Biochemical Sciences*, v. 26, p. 61-66, 2001.

ADIBHTLA, R. M.; HATVHER, J. F. Phospholipase A₂, reactive oxygen species, and lipid peroxidation in CNS pathologies. *BMB reports*, v.41, p. 560-567, 2008.

ALLRED, R. P.; JONES, T. A. Maladaptive effects of learning with the less-affected forelimb after focal cortical infarcts in rats. *Experimental Neurology*, v. 210, p. 172-181, 2008.

ALBERCH, J.; PÉREZ-NAVARRO, E.; CANALS, J.M. Neuroprotection by neurotrophins and GDNF family members in the excitotoxic model of Huntington's disease. *Brain Research Bulletin*, v. 57, p. 817-822, 2002.

AMERICAN HEART ASSOCIATION. Heart disease and stroke statistics-2008 update. Dallas: American Heart Association, 2008

ANG, E. T.; WHONG, P. T. H.; MOOCHHALA, S.; NG, Y, K. Neuroprotection associated with running: is it a result of increased endogenous neurotrophic factors? *Neuroscience*, v.118, p. 335-345, 2003.

BARBEAU, H.; VISINTIN, M. Optimal outcomes obtained with body-weight support combined with treadmill training in stroke subjects. *Arch Phys Med Rehab*, v. 84, p. 1458-1465, 2003.

BERCHTOLD, N. C.; CHINN, G.; CHOU, M. KESSLAK, J. P.; COTMAN, C. W. Exercise primes molecular memory for brain-derived neurotrophic factor protein induction in the rat hippocampus. *Neuroscience*, v. 133, p. 853-861, 2005.

CALABRESI, P.; CENTOZE, ROSSINI, P.; CUPINI, L. M.; BERNARDI, G. Synaptic plasticity in the ischaemic brain. *Lancet Neurology*, v. 2, p. 622-629, 2003.

CARMICHAEL, T. S. Plasticity of cortical projections after stroke. *The Neuroscientist*, v.9, p.64-75, 2003.

CARMICHAEL, T. S. Themes and strategies for studying the biology of stroke recovery in the poststroke epoch. *Stroke*, v. 39, p. 1380-1388, 2008.

CECHETTI, F.; FOCESATTO, C.; SCOPEL, D.; NARDIN, P.; GONÇALVES, C. A.; NETTO, C. A.; SIQUEIRA, I. R. Effect of a neuroprotective exercise protocol on oxidative state and BDNF levels in the rat hippocampus. *Brain Research*, v.1188, p.182-188, 2008.

CENTOZE, D.; ROSSI, S.; TORTIGLIONE, A.; PICCONI, B.; PROSPERETTI, C.; DE CHIARA, V.; BERNARDI, G.; CALABRESI, P. Synaptic plasticity during recovery from permanent occlusion of the middle cerebral artery. *Neurobiology of Disease*, v. 27, p. 44-53, 2007.

CHAO, M. V. Neurotrophins and their receptors: a convergence point for many signaling pathways. *Nature Reviews Neuroscience*, v. 4, p. 299-309, 2003.

CHEN, Z. Y.; JING, D.; BATH, K. G.; LERACI, A.; KHAN, T.; SIAO, J. HERRERA, D. G.; TOTH, M.; YANG, C.; MCEWEN, B. S.; HEMPSTEAD, L.; LEE, F. S. Genetic variant BDNF (Val66Met) polymorphism alters anxiety-related behavior. *Science*, v. 6, p. 140-143, 2006.

COTMAN, C. W.; BERTCHOLD, C. Exercise: a behavioral intervention to enhance brain health and plasticity. *Trends in Neuroscience*, v. 25, p. 295-301, 2002.

CRAMER, S. C.; RILEY, J. D. Neuroplasticity and brain repair after stroke. *Current Opinion in Neurology*, v. 21, p. 76-82, 2008.

DING, Y.; LI, J.; LAI, Q.; RAFOLS, A.; LUAN, X.; CLARK, J.; DIAZ, F. G. Motor balance and coordination training enhances functional outcome in rats with transient middle cerebral artery occlusion. *Neuroscience*, v. 123, p. 667-674, 2004a

DING, Y.; LI, J.; LUAN, X.; LAI, Q.; RAFOLS, J. A.; PHILLIS, J. W.; CLARK, J. C.; DIAZ, F. Exercise pre-conditioning reduces brain damage in ischemic rats that may be associated with regional angiogenesis and cellular overexpression of neurotrophin. *Neuroscience*, v. 124, p. 583-591, 2004b.

DING, Q.; VAYNMAN, S.; AKHAVAN, M.; YING, Z.; GOMEZ-PINILLA, G. Insulin-like growth factor I interfaces with brain-derived neurotrophic factor-mediated synaptic plasticity to modulate aspects of exercise-induced cognitive function. *Neuroscience*, v. 140, p. 823-833, 2006.

DOYLE, K. P.; SIMON, R.; STENZEL-POORE, M. P. Mechanism of ischemic brain damage. *Neuropharmacology*, v. 55, p. 310-318, 2008.

DUMAN, C. H.; SCHLESINGER, L.; RUSSEL, D. S.; DUMAN, R. S. Voluntary exercise produces antidepressant and anxiolytic behavioral effects in mice. *Brain Research*, v. 148, p. 148-158, 2008.

DURUNKAN, A.; TATLISUMAK, T. Acute ischemic stroke: overview of major experimental rodent models, pathophysiology, and therapy of focal cerebral ischemia. *Pharmacology, biochemistry and behavior*. V. 87, p. 179-197, 2007.

EDVINSSON, L.; KRAUSE, D. N. Cerebral blood flow and metabolism. *Lippincott Williams and Wilkins*, 2002.

FILLIPO, M.; TOZZI, A.; COSTA, C.; BELCASTRO, V.; TANTUCCI, M.; PICCONI, B.; CALABRESI, P. Plasticity and repair in the post-ischemic brain. *Neuropharmacology*, v. 55, p. 353-362, 2008.

FRIEDMAN, P. J. Gait recovery after hemiplegic stroke. *Int Disabil Stu*, v. 12, p. 119-122, 1990.

GAO, Q.; LI, Y.; CHOPP, M. Bone marrow stromal cells increase astrocyte survival via upregulation of phosphoinositide 3-kinase/ threonine protein kinase and mitogen-activated protein kinase/extracellular signal-regulated kinase expression after anaerobic insult. *Neuroscience*, v.136, p. 123-134, 2005.

GARCIA, C.; CHEN, M.J.; GARZA, A. A.; COTMAN, C. W.; RUSSO-NEUSTADT, A. The influence of specific noradrenergic and serotonergic lesions on hte expression of hippocampal brain-derived neurotrophic factor transcripts following volutary phisical activity. *Neuroscience*, v. 119, p. 721-732, 2003.

GÓMEZ-PALACIO, A.; ESCOBAR, M. L. In vivo BDNF modulation of adult functional and morphological synaptic plasticity at hippocampal mossy fibers. *Neuroscience Letters*, v. 445, p. 62-67, 2008.

GOMEZ-PINILLA, F.; VAYNMAN, S. A “deficient enviroment” in prenatal life may compromise systems important for cognitive function by affecting BDNF in the hippocampus. *Experimental Neurology*, v.192, p. 235-243, 2005.

GÓMEZ-PINILLA F.; YING, Z.; ROY, R.; MOLTENI, R.; EDGERTON, R. Voluntary exercice induces a BDNF-mediated mechanism that promotes neuroplasticity. *Journal Neurophysiology*, v.88, p.2187-2195, 2002.

GONZALEZ, R.; HIRSCH, J. Acute Ischaemic stroke. *Imaging and Intervention*, 2006.

GRIESBACH, G. S.; GÓMEZ-PINILLA, F.; HOVDA, D.A. The regulation of plasticity-related proteins following TBI is disrupted with acute voluntary exercise. *Brain Research*, v. 1016, p. 154-162, 2004.

HAYES, K.; SPRAGUE, S.; GUO, M.; DAVIS, W.; FRIEDMAN, A.; KUMAR, A.; JIMENEZ, D. F.; DING, Y. Forced, not voluntary, exercise induces neuroprotection in stroke. *Acta Neuropathol*, v.115, p. 289-296, 2008.

HENGARTNER, M. O. The biochemistry of apoptosis. *Nature*, v.470, p. 770-776, 2000.

HORIE, N.; MAAG, A. L.; HAMILTON, S. A.; SHICHINOHE, H.; BLISS, T. M.; STEINBERG, G. K. Mouse model of focal cerebral ischemia using endothelin-1. *Journal of Neuroscience Methods*, v.173, p.286-290, 2008.

HOSSMANN, K. A. Cerebral ischemia: models, methods and outcomes. *Neuropharmacology*. v. 55, p. 257-270, 2008.

HUNTER, A. J.; HATCHER, J.; VIRLEY, D.; NELSON, P.; IRVING, J.; HADINGHAM, S. J.; A. A.; PARSONS. Functional assessments in mice and rats after focal stroke. *Neuropharmacology*, v. 39, p. 806-816, 2000.

KIM, M. W.; BANG, M. S.; HAN, T. R.; KO, Y.J.; YOON, B. W.; KIM, J. H.; KANG, L. M.; LEE, K. M.; KIM, M. H. Exercise increased BDNF and trkB in the contralateral hemisphere of the ischemic brain. *Brain Research*, v.1052, p.16-21, 2005.

KRIZ, J. Inflammation in ischemic brain injury: timing is important. *Critical Reviews in Neurobiology*, v.18, p. 145-157, 2006.

KRNEJEVIC, K. Electrophysiology of cerebral ischemia. *Neuropharmacology*, v.55, p.319-333, 2008.

LENT, Roberto. Cem bilhões de neurônios: conceitos fundamentais de neurociência. In: ____ Os neurônios se transformam: bases biológicas da neuroplasticidade. São Paulo: Atheneu, 2005. cap. 5, p.135-165.

LEVI-MONTALCINI, R. The nerve growth factor 35 years later. *Science*, v. 237, p. 1154-1162, 1987.

LLEDO, P. M.; ALONSO, M.; GRUBB, M. Adult neurogenesis and functional plasticity in neuronal circuits. *Nature Reviews Neuroscience*, v.7, p. 179-193, 2006.

LO, E. H. A new penumbra: transitioning from injury into repair after stroke. *Nature Medicine*, v.14, p.497-500 2008.

LUFT, A. R.; MACKO, R. F.; FORRESTER, L. W.; VILLAGRA, F.; IVEY, F.; SORKIN, J. D.; WHITALL, K.; McCOMBE-WALLER, S.; KATZEL, L.; GOLDBERG, A. P.; HANLEY, D. F. Treadmill exercise activates subcortical neural networks and improves walking after stroke: a randomized controlled trial. *Stroke*, v. 39, p. 3341-3350, 2008.

MALENKA, R. C.; BEAR, M. F. LTP and LTD: an embarrassment of riches. *Neuron*, v. 44, p.5-21, 2004.

MARTINOWICH, K.; MANJI, H.; LU, B. New insights into BDNF function in depression and anxiety. *Nature Neuroscience*, v.10, p.1089-, 2007.

McCAIN, K. J.; POLLO, F. E.; BAUM, B. S.; COLEMAN, S. C.; BAKER, S.; SMITH, P. Locomotor treadmill training with partial body-weight support before overground gait in adults with acute stroke: a pilot study. *Arch Phys Med Rehabil*, v. 89, p. 684-691, 2008.

MODO, M.; STROEMER, R. P.; TANG, E.; VEIZOVIC, T.; SOWNISKI, P.; HODGES, H. Neurological sequelae and long-term behavioral assessment in rat with transient middle cerebral artery occlusion. *Journal of Neuroscience Methods*, v.194, p. 99-109, 2000.

MOLTENI, R.; YING, Z.; GÓMEZ-PINILLA, F. Differential effects of acute and chronic exercise on plasticity-related genes in the rat hippocampus revealed by microarray. *European Journal of Neuroscience*, v.16, p.1107-1116, 2002.

MOLTENI, R.; WU, A.; VAYNMAN, S.; YING, Z.; BARNARD, R. J.; GÓMEZ-PINILLA, F. Exercise reverses the harmful effects of consumption of a high-fat diet on synaptic and behavioral plasticity associated to the action of brain-derived neurotrophic factor. *Neuroscience*, v. 123, p.429-440, 2004.

NATARAJAN, P.; OELSCHLAGER, A.; AGAH, A.; POHL, P. S.; AHMAD, S. O.; LIU, W. Current clinical practices in stroke rehabilitation: regional pilot survey. *Journal of Rehabilitation Research & Development*, v. 45, p. 841-850, 2008.

NEDELMANN, M.; WILHELM-SCHWENKMEZGER, T.; ALESSANDRI, B.; HEIMANN, A.; SCHNEIDER, F.; EICKE, B. M.; DIETERICH, M.; KEMPSKI, O. Cerebral embolic ischemia in rats: Correlation of stroke severity and functional deficit as important outcome parameter. *Brain Research*, v. 1130, p. 188-196, 2007.

NOMURA, T.; HONMOU, O.; HARADA, K.; HOUKIN, K.; HAMADA, H.; KOCSIS, J.D. I.V. infusion of brain-derived neurotrophic factor gene-modified human mesenchymal stem cells protects against injury in a cerebral ischemia model in adult rat. *Neuroscience*, v. 136, p.161-169, 2005.

NORMAN, K. E.; PEPIN, A.; LADOUCEUR, M.; BARBESU, H. A treadmill apparatus and harness support for evaluation and rehabilitation of gait. *Arch Phys Med Rehabil*, v. 76, p. 772-778, 1995.

NUDO, R. J. Postinfarct cortical plasticity and behavioral recovery. *Stroke*, v. 38, p. 840-845, 2007.

PEREL, P.; ROBERTS, I.; SENA, E.; WHEBLE, P.; BRISCOE, C.; SANDERCOCK, P.; MACLEOD, M.; MIFNINI, L. E.; JAYARAM, P.; KHAN, K. Comparison of treatment effects between animal experiments and clinical trials: systematic review. *BMJ*, v.334, p.197, 2006.

PETTI, B. L.; PANG, T.; WOO, H. The ying and yang of neurotrophin action. *Nature Reviews Neuroscience*, v.6, p.603-614, 2005.

PLOUGHMAN, M.; GRANTER-BUTTON, S.; CHERNENKO, G.; TUCKER, B. A.; MEAROW, K. M.; CORBETT, D. Endurance exercise regimens induce differential effects on brain-derived neurotrophic factor, synapsin-I and insulin-like growth factor I after focal ischemia. *Neuroscience*, v.136, p.991-1001, 2005.

PLOUGHMAN, M.; ATTWOOD, Z.; WHITE, N.; DORÉ, J. J. E.; CORBETT, D. Endurance exercise facilitates relearning of forelimb motor skill after focal ischemia. *European Journal of Neuroscience*, v.25, p. 3453-3460, 2007a.

PLOUGHMAN, M.; GRANTER-BUTTON, S.; CHERNENKO, G.; ATTWOOD, Z.; TUCKER, B. A.; MEAROW, K. M.; CORBETT, D. Exercise intensity influences the temporal profile of growth factors in neuronal plasticity following focal ischemia. *Brain Research*, v. 1150, p. 207-216, 2007b.

PLOUGHMAN, M.; MCCARTHY, J.; BOSSÉ, M.; SULLIVAN, H. J.; CORBETT, D. Does treadmill exercise improve performance of cognitive or upper-extremity tasks in

people with chronic stroke? A randomized cross-over trial. *Arch Phys Med Rehabil*, v. 89, p. 2041-2047, 2008.

REGLODI, D.; TAMÁS, A.; LENGVARI, I. Examination of sensorimotor performance following middle cerebral artery occlusion in rats. *Brain Research Bulletin*, v.59, p. 459-466, 2003.

RIEK-BURCHARDT, M.; HENRICH-NOACK, P.; METZ, G. A.; REYMAN, K. G. Detection of chronic sensorimotor impairments in the ladder rung walking tasks in rats with endothelin-1-induced mild focal ischemia. *Journal of Neuroscience Methods*, v. 137, p. 227-223, 2004.

ROSSINI, P. M.; CALAUTTI, C.; PAURI, F.; BARON, J. B. Post-stroke plastic reorganisation adult brain. *Lancet Neurology*, v. 2, p. 493-502, 2003.

ROTHEL, N. J.; LUHESHI, G. N. Interleukin I in the brain: biology, pathology and therapeutic target. *Trends Neuroscience*, v. 23, p. 618-625, 2000.

SACCO, R.; YCHONG, J.; PRABHAKARAN, S.; ELKINF, M. S, V. Experimental treatments for acute ischaemic stroke. *Lancet*, v. 369, p. 331-341, 2007.

SASAKI, T.; TAKEDA, Y.; TANINISHI, H.; ARAI, M.; SHIRAISHI, K.; MORITA, K. Dynamic changes in cortical NADH fluorescence in rat focal ischemia: evaluation of the effects of hypothermia in propagation of peri-infarct depolarization by temporal and spatial analysis. *Neuroscience Letters*, v.449, p.61-65, 2009.

SHABITZ, W. R.; STEIGLEDER, T.; COOPER-KUHN, C.M.; SCHWAB, S.; SOMMER, C.; SCHNEIDER, A.; KUHN, H.G. Intravenous brain-derived neurotrophic factor enhances poststroke sensorimotor recovery and stimulates neurogenesis. *Stroke*, v.38, p.2165-2172, 2007.

SOSSIN, W. S.; BARKER, P. Something old, something new: BDNF-induced neuron survival requires TRPC channel function. *Nature Neuroscience*, v.10, p.537-538, 2007.

STRONG, A. J.; ANDERSON, P. J.; WATTS, H. R.; VIRLEY, D. J.; LLOYD, A.; IRVING, E. A.; NAGAFUJI, T.; NINOMIYA, M.; NAKAMURA, H.; DUNN, A. K.; GRAF, R. Peri-infarct depolarizations lead to loss of perfusion in ischaemic gyrencephalic cerebral cortex. *Brain*, v. 130, p.995-1008, 2007.

TAUB, E.; USWATT, G.; KING, D. K.; MORRIS, D.; CRAGO, J. E.; CHATTERJEE, A. A placebo controlled trial of constraint-induced movement therapy for upper extremity after stroke. *Stroke*, v. 37, p. 1045-1049, 2006.

TEASELL, R. Stroke recovery and rehabilitation. *Stroke*, v. 34, p. 365-366, 2003.

TONG, L.; BALAZS, R.; SOIAMPORNKUL, R.; THANGNIPON, W.; COTMAN, C. W. *Neurobiology of Aging*, v. 29, p.1380-1393, 2008.

VAYNMAN, S.; YING, Z.; GÓMEZ-PINILLA, F. Hippocampal BDNF mediates the efficacy of exercise on synaptic plasticity and cognition. *European Journal of Neuroscience*, v.20, p.2580-2590, 2004.

VAYNMAN, S.; YING, Z.; GÓMEZ-PINILLA, F. Interplay between brain-derived neurotrophic factor and signal transduction modulators in the regulation of the effects of exercise on synaptic-plasticity. *Neuroscience*, v.122, p. 647-657, 2003.

VAYNMAN, S.; YING, Z.; YIN, D.; GÓMEZ-PINILLA, F. Exercise differentially regulates synaptic proteins associated to the function of BDNF. *Brain Research*, v. 1070, p. 124-130, 2006a.

VAYNMAN, S. S.; YING, Z.; YIN, D.; GÓMEZ-PINILLA, F. Exercise differentially regulates synaptic proteins associated to the function of BDNF. *Brain Research*, v.1070, p.124-130, 2006b.

VAYNMAN, S.; GÓMEZ-PINILLA, F. License to run: exercise impacts functional plasticity in the intact and injured central nervous system by using neurotrophins. *Neurorehabil Neural Repair*, v.19, p. 283-295, 2005.

WANG, R. Y.; YANG, Y.R.; YU, S.M. Protective treadmill training on infarction in rats. *Brain Research*. V.922, p.140-143, 2001.

WANG, Q.; TANG, X.; YENARI, M. A. The inflamamatory response in stroke. *Journal of Neuroimmunology*, v. 184, p. 53-68, 2007.

WHITE, B.C.; SULLIVAN, J. M.; DEGARCIA D. J.; O'NEIL, B. J.; NEUMAR, R. W.; GROSSMAN, L. I.; RAFOLS, J. A.; KRAUSE, G. S. Brain ischemia and reperfusion: molecular mechanisms of neuronal injury. *Journal of Neurological Sciences*, v.179, p.1-33, 2000.

WOITZIK, J.; SCHNEIDER, U. THOMÉ, C. SCHROECK, H. SHILLING, L. Comparision of different intravascular thread occlusion models for experimental stroke in rats. *Journal of Neuroscience Methods*, v. 151, p. 224-231, 2006.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. World health statistics. Switzerland: World Health Organization Press, 2008.

WU, A.; YING, Z; GÓMEZ-PINILLA; F. The interplay between oxidative stress and brains-derived neurotrophic factor modulates the outcome of a saturated fat diet on synaptic plasticity and cognition. *European Journal of Neuroscience*, v. 19, p. 1699-1707, 2004.

WU, D. Neuroprotection in experimental stroke with target neurotrophins. *NeuroRx*, v.2, p.120-128, January 2005.

YEN, C. L.; WANG, R. Y.; LIAO, K. K.; HUANG, C. C.; YANG, Y. R. Gait training induced change in corticomotor excitability in patients with chronic stroke. *Neurorehabil Neural Repair*, v. 22, 22-30, 2008.

YUAN, J.; YANKNER, B. A. Apoptosis in the nervous system. *Nature*, v. 407, p.802-809, 2000.