

**UNIVERSIDADE DE MOGI DAS CRUZES  
LEANDRO SUZUKI AMARAL**

**EFEITO DO EXERCÍCIO FÍSICO AERÓBIO NA EXPRESSÃO  
DE PARVALBUMINA NA FORMAÇÃO HIPOCAMPAL DE  
RATOS IDOSOS COM EPILEPSIA**

**Mogi das Cruzes  
2008**

# **Livros Grátis**

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

**UNIVERSIDADE DE MOGI DAS CRUZES  
LEANDRO SUZUKI AMARAL**

**EFEITO DO EXERCÍCIO FÍSICO AERÓBIO NA EXPRESSÃO  
DE PARVALBUMINA NA FORMAÇÃO HIPOCAMPAL DE  
RATOS IDOSOS COM EPILEPSIA**

Dissertação apresentada à Universidade  
de Mogi das Cruzes, como exigência para  
obtenção do título de mestre em  
Engenharia Biomédica

**Orientador: Prof<sup>o</sup>. Dr<sup>o</sup>. Ricardo Mário Arida**

**Mogi das Cruzes  
2008**

### FICHA CATALOGRÁFICA

Universidade de Mogi das Cruzes - Biblioteca Central

Amaral, Leandro Suzuki

Efeito do exercício físico aeróbio na expressão de parvalbumina na formação hipocampal de ratos idosos com epilepsia / Leandro Suzuki Amaral. -- 2008.

41 f.

Dissertação (Mestrado em Engenharia Biomédica) - Universidade de Mogi das Cruzes, 2008

Área de concentração: Bioengenharia

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Mário Arida

1. Epilepsia 2. Exercício físico 3. Plasticidade neuronal 4. Parvalbumina I. Título II. Arida, Ricardo Mário

CDD 619.93

**DEFESA DE DISSERTAÇÃO DO MESTRADO  
EM ENGENHARIA BIOMÉDICA**

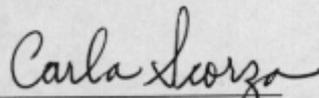
No dia 18/06/08 o candidato *Leandro Suzuki Amaral*, após realizar os créditos exigidos, ser aprovado no exame de Proficiência em Inglês, e no exame de Qualificação, apresentou o trabalho "*Efeito do exercício físico aeróbio na expressão de parvalbumina na formação hipocampal de ratos idosos com epilepsia*" para obtenção do Título de Mestre em Engenharia Biomédica.

Os membros da banca consideram o candidato:

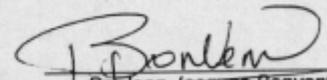
Dr<sup>a</sup> Carla Alessandra Scorza  
Dr. Jean Jacques Bonvent  
Dr. Ricardo Mario Arida

**Conceito**

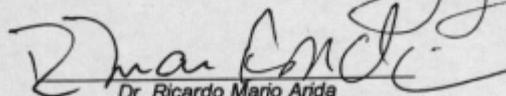
Aprovado  
Aprovado  
APROVADO



Dr<sup>a</sup> Carla Alessandra Scorza  
Universidade Federal de São Paulo



Dr. Jean Jacques Bonvent  
Universidade de Mogi das Cruzes



Dr. Ricardo Mario Arida  
Universidade Federal de São Paulo

## **DEDICATÓRIA**

Dedico este trabalho, primeiramente aos meus pais e minhas irmãs, a Deus, aos meus grandes amigos que sempre estiveram ao meu lado e as pessoas que puderam contribuir.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço as minhas irmãs Juliane e Larissa que são pessoas fundamentais na minha vida, e aos meus pais Letícia e Dioclécio que mesmo muito longe depositaram suas confianças em mim. Ao professor Ricardo Mário Arida por todo o conhecimento, atenção, apoio e brilhante orientação, além da paciência gigantesca que teve comigo; aos meus amigos de laboratório Rude, Sérgio e principalmente Fabiano, Jaqueline e Mônica que me auxiliaram na parte experimental da pesquisa e todos os colegas que conquistei aqui dentro do NPT, e a grandes amigos que Deus me deu como José Henrique, Aline, Gabriel, Rafael, Juliano, Daniel, Rodrigo, Betinho, Maria Carol, Jefferson, Juliana e Kátia entre muitos outros que sempre me apoiaram em momentos difíceis e contribuíram das mais diversas formas.

Agradeço também a Faep e ao CNPq pelo apoio financeiro.

*Por maior que seja a tempestade não perca seu equilíbrio, porque todas as tempestades passam, e sua fé, força e coragem permanecem.*

*(Provérbio Japonês)*

## RESUMO

A epilepsia é a doença neurológica mais comum no mundo. A característica de muitas doenças neurodegenerativas como a epilepsia em humanos é a permanente perda de neurônios. O cérebro humano é geralmente incapaz de produzir novos neurônios de forma suficiente para reparar as áreas danificadas por essas doenças. O exercício físico apresenta papel importante na recuperação física e mental após danos causados por diferentes tipos de distúrbios cerebrais. Estudos em modelos experimentais têm demonstrado um efeito positivo do exercício físico na epilepsia em animais adultos. Neste sentido, o presente estudo teve como objetivo verificar a influência de um programa de treinamento físico na expressão da parvalbumina em ratos idosos com epilepsia. Ratos Wistar (n=20), machos, com idade de um ano e seis meses de vida foram divididos em 4 grupos (n=5): controle, exercício, epilepsia e epilepsia exercício. Os grupos de exercício físico (exercício e epilepsia exercício) foram submetidos à corrida em esteira durante 10 dias consecutivos. Os animais de todos os grupos foram perfundidos para fixação do tecido, fatiados, e em seguida foi realizada a técnica de imunohistoquímica para marcação de parvalbumina. Foi observado um aumento significativo na expressão de parvalbumina nas células e fibras da região do hilo do giro denteado dos grupos treinados quando comparados com seus respectivos controles. Entretanto, não foi observada diferença estatística significativa entre o grupo controle e epilepsia exercício. Os resultados deste trabalho indicam que um programa de exercício físico forçado provoca plasticidade neuronal na formação hipocampal em ratos idosos com epilepsia.

**Palavras-chave:** epilepsia, exercício físico, neuroplasticidade, parvalbumina.

## ABSTRACT

Epilepsy is the most common neurological disease in the world. The feature of many neurodegenerative diseases such as epilepsy in humans is the permanent loss of neurons. The human brain is generally unable to produce new neurons in order enough to repair the damaged areas by such diseases. The exercise presents important role in physical and mental rehabilitation after damage caused by different types of brain disorders. Studies in experimental models have demonstrated a positive effect of exercise in epilepsy in adult animals. Therefore, this study aimed to verify the influence of a programme of physical training in parvalbumin expression of elderly rats with epilepsy. Male Wistar rats (n=20), aged one year and six months of life were divided into 4 groups (n=5): control, exercise, epilepsy and epilepsy exercise. Animals from exercise groups (exercise and exercise epilepsy) were submitted to a physical training in a treadmill for 10 consecutive days. Animals of all groups were killed and the brains were performed to immunocytochemistry procedure using parvalbumin (PV). It was observed a significant increase in PV expression of cells and fibers in the hilus of the dentate gyrus of trained groups when compared to their respective controls. However, no significant difference was observed between the control group and epilepsy group. The results from our study indicate that a program of physical exercise induces neuronal plasticity in the hippocampal formation in elderly rats with epilepsy.

**Keywords:** epilepsy, physical exercise, neuroplasticity, parvalbumin.

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

SE	<i>status epilepticus</i>
PV	Parvalbumina
CA1	Corno de Amon 1
CA2	Corno de Amon 2
CA3	Corno de Amon 3
µm	Mícron
ANOVA	Análise de Variância
SNC	Sistema Nervoso Central
BDNF	<i>Brain-Derived Neurotrophic Factor</i>
ELT	Epilepsia de Lobo Temporal
NGF	<i>Nerve Growth Factor</i>
EEG	Eletroencefalograma
FGF	Fibroblast Growth Factor
PILO	Pilocarpina
I.P.	Intraperitoneal
DAB	Diamenobenzidina
EP + EX	Epilepsia + Exercício

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Localização anatômica do hipocampo no cérebro.....17
- Figura 2.** Fotomicrografias de células imunorreativas a parvalbumina e fibras na região do hilo do giro denteado. Grupo Controle (A), Grupo exercício (B), Grupo Epilepsia (C) Grupo Epilepsia Exercício (D). (N=5). Aumento de 400 X em *a, b, c* e *d*.....27
- Figura 3.** Fotomicrografias de células imunorreativas a parvalbumina e fibras na região de CA3. Grupo Controle (*a*), Grupo Exercício (*b*), Grupo Epilepsia (*c*) Grupo Epilepsia Exercício (*d*). (N=5). Aumento de 200 X em *a, b, c* e *d*.....28
- Figura 4.** Fotomicrografias de células imunorreativas a parvalbumina e fibras na região de CA1. Grupo Controle (A), Grupo Exercício (B), Grupo Epilepsia (C) grupo Epilepsia e Exercício (D). (N=5). Aumento de 200 X em *a, b, c* e *d*.....28
- Figura 5.** Comparação da densidade de fibras de células PV-positivas na região do hilo do giro denteado dos grupos controle, exercício, epilepsia e epilepsia exercício.....30
- Figura 6.** Comparação da densidade de fibras de células PV-positivas na região corno de Ammon 3 dos grupos: controle, exercício, epilepsia e EP+EX.....30
- Figura 7.** Comparação da densidade de fibras de células PV-positivas na região corno de Ammon 1 dos grupos: controle, exercício, epilepsia e EP+EX.....31
- Figura 8.** Comparação da densidade de fibras de células PV-positivas entre as regiões do hilo, Corno de Ammon1 (CA1) e Corno de Ammon 3 (CA3) dos grupos: controle, exercício, epilepsia e epilepsia exercício (EP+EX).....31

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Tabela de dados da média e desvio padrão (Média $\pm$ DP) da porcentagem da densidade de fibras do Hilo, CA1 e CA3 dos grupos: Controle; Exercício; Epilepsia e Exercício + Epilepsia. (P< 0,001).....	29
---	----

# SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>12</b>
<b>1.1 Epilepsia.....</b>	<b>12</b>
<b>1.2 Efeitos Positivos Do Exercício Físico Em Indivíduos Com Epilepsia.....</b>	<b>13</b>
<b>1.3 Plasticidade Neuronal.....</b>	<b>15</b>
<b>1.3.1 Alterações Plásticas Decorrentes Da Evolução Da Idade.....</b>	<b>16</b>
<b>1.3.2 Alterações Plásticas Decorrentes Do Exercício Físico.....</b>	<b>16</b>
<b>1.3.3 Alterações Plásticas Decorrentes Do Exercício Físico Em Idosos.....</b>	<b>18</b>
<b>1.4 Modelo Experimental De Epilepsia.....</b>	<b>19</b>
<b>3.2.1 Modelo Experimental De Epilepsia Induzido Por Pilocarpina.....</b>	<b>20</b>
<b>1.4 Parvalbumina.....</b>	<b>21</b>
<b>1.5 Justificativa.....</b>	<b>22</b>
<b>2 OBJETIVO.....</b>	<b>23</b>
<b>3 MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>24</b>
<b>3.1 Animais.....</b>	<b>24</b>
<b>3.2 Programa De Treinamento Físico.....</b>	<b>24</b>
<b>3.3 Preparação Do Tecido.....</b>	<b>25</b>
<b>3.4 Imunohistoquímica.....</b>	<b>25</b>
<b>3.5 Análise Dos Dados.....</b>	<b>26</b>
<b>4 RESULTADOS.....</b>	<b>27</b>
<b>4.1 Análise Qualitativa.....</b>	<b>27</b>
<b>4.2 Análise Quantitativa.....</b>	<b>29</b>
<b>5 DISCUSSÃO.....</b>	<b>32</b>
<b>6 CONCLUSÃO.....</b>	<b>35</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>36</b>

# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 Epilepsia

O termo epilepsia se refere a um distúrbio da atividade cerebral caracterizada pela ocorrência periódica e espontânea de atividade elétrica altamente sincronizada, acompanhada de manifestações comportamentais (MCNAMARA, 1994). Portanto a epilepsia não é uma doença específica ou uma única síndrome, ela representa um grupo complexo de distúrbios decorrentes de funções cerebrais alteradas que podem ser secundárias a um grande número de processos patológicos (FISHER, *et al.*, 2005).

As crises epiléticas referem-se a uma alteração transitória do comportamento devido a uma descarga desordenada e sincrônica de populações de neurônios do sistema nervoso central. Uma crise pode ser “não epilética” como, por exemplo, decorrente de eletrochoque ou convulsivantes químicos ou “epilética”, quando ocorre sem indução aparente (MCNAMARA, 1994).

As epilepsias são mais freqüentes em países subdesenvolvidos e de baixa renda, pois estão relacionadas a alguns fatores desencadeantes como desnutrição, baixo controle medicamentoso durante a gravidez e durante o parto, crises de febre, traumatismo craniano e infecções. No Brasil, a neurocisticercose é a causa mais freqüentemente identificada de epilepsia (BASCH *et al.*, 1997).

A epilepsia envolve um número diferente de síndromes. Embora crises específicas possam ser classificadas de acordo com suas características clínicas, as síndromes epiléticas também podem ser classificadas de acordo com o tipo de crise, a presença ou ausência de desenvolvimento de anormalidades neurológicas e achados eletroencefalográficos (BENBADIS, 2001). As síndromes epiléticas gerais abrangem duas categorias: generalizadas e parciais. Muitas epilepsias generalizadas possuem um forte componente genético, mas na maioria a função neurológica é normal (CHANG; LOWENSTEIN, 2003).

Existem muitos tipos de crises epiléticas, cada uma com suas manifestações características. De acordo com a proposta da Liga Internacional Contra a Epilepsia (ILAE, 1981), as crises estão divididas em generalizadas e parciais. As crises generalizadas são divididas em tônico-clônica, de ausência, mioclônica, atônica e

crises clônicas. As crises parciais são divididas em parcial simples e parcial complexa (de acordo com a preservação ou alteração da consciência). As crises generalizadas são aquelas nas quais as descargas epiléticas envolvem ambos os hemisférios cerebrais simultaneamente, desde o início da crise, enquanto que, nas crises parciais, a atividade epilética está limitada a uma área focal do cérebro. A atividade epilética das crises parciais (simples ou complexas) pode se difundir tornando-as generalizadas e, neste caso, a crise é denominada secundariamente generalizada.

Os dados epidemiológicos mostram que a forma mais comum de síndrome epilética é a epilepsia do lobo temporal (ELT), ocorrendo em cerca de 40% de todos os casos de epilepsias (HAUSER; KURLAND, 1975), sendo a forma mais comum de epilepsia em adultos (WALCZAK, 1995) e apresentando geralmente história de convulsão febril (FRENCH, 1993).

Uma variedade de procedimentos cirúrgicos tem sido desenvolvido para o tratamento de epilepsia de lobo temporal (WIESER, 1996). Exames foram realizados com sucesso usando diversos bioquímicos e técnicas anatômicas para investigar os mecanismos da epilepsia. Porém os mecanismos básicos de atividade das crises são relatados como uma atividade cortical anormal (MC NAMARA, 1994). A maioria das hipóteses é baseada nas alterações glutamatérgicas (excitatória) e gabaérgicas (inibitória) no sistema nervoso central (SNC) (DEFELIPE, 1999; HOUSER, 1991).

## **1.2 Efeitos Positivos Do Exercício Físico Em Indivíduos Com Epilepsia**

A relação entre epilepsia e atividade física tem sido assunto de controvérsia por muito tempo, havendo a necessidade de maiores investigações para seu melhor esclarecimento. Uma atitude superprotetora em relação aos indivíduos com epilepsia normalmente evita sua participação em atividades esportivas. A principal preocupação desses indivíduos em relação ao exercício físico tem sido a possibilidade deste atuar como fator indutor de crises ou o aumento da frequência das mesmas após o início de um programa de treinamento físico ou atividade esportiva (WILLIAMS *et al.*, 1991; BJORHOLT *et al.*, 1990).

Nas últimas décadas pacientes com desordens crônicas têm sido encorajados a praticar atividades esportivas como parte de sua reabilitação. Pessoas com epilepsia são facilmente excluídas de atividades físicas pelo medo, proteção ou ignorância (ARIDA *et al.*, 1999). Entretanto as atitudes de restrição e proteção a indivíduos com epilepsia têm sido mudadas nos últimos tempos (VAN LINSCHOTEN *et al.*, 1990). A superproteção em relação a atividades físicas ocorre devido à idéia que atividades podem provocar crises epiléticas, que ocorrem apenas em casos específicos, mas não é geralmente documentado (OGUNYEMI *et al.*, 1988).

Dados epidemiológicos da literatura têm mostrado o efeito do exercício físico na epilepsia. Estudos mostram que indivíduos com epilepsia apresentam um baixo grau de participação em atividades físicas (NAKKEN, 1990; ARIDA *et al.*, 2003). Pessoas com epilepsia que levam vidas sedentárias apresentam maior peso corporal e uma diminuição significativa da capacidade respiratória e de força muscular quando comparados a pessoas sem epilepsia que praticam exercício físico regular (JALAVA; SILLANPAA, 1997).

Indivíduos com epilepsia apresentam os mesmos benefícios de um programa de exercício que pessoas sem epilepsia. Estes benefícios incluem aumento de capacidade aeróbia máxima, melhora de capacidade de trabalho, redução da frequência cardíaca submáxima para a mesma carga de trabalho, redução de peso com redução de gordura, aumento da auto-estima e diminuição da depressão (NAKKEN *et al.*, 1990; ARIDA, *et al.*, 1998).

É essencial entender os fatores de um exercício físico que pode afetar a desordem epilética. Experimentos com atividade elétrica cerebral têm mostrado que as descargas anormais desaparecem durante a atividade física na maioria dos pacientes, pois eleva os níveis de atenção e de vigilância, reduzindo o número de crises epiléticas (CORDOVA, 1993).

Estudos têm sugerido que o exercício aumenta o limiar de crises e confere um efeito protetor em pacientes epiléticos (KUIJER, 1980). Muitos experimentos mostram que o exercício físico reduz a atividade epilética no EEG e reduz o número de crises em muitos pacientes durante a atividade física, mas retornam em repouso (GOTZE *et al.*, 1967). Tem sido também observado que estas pessoas estão propensas a terem menos crises quando estão ativamente ocupadas e que poucas crises ocorrem durante a atividade mental e física comparado com períodos de repouso. Durante o exercício físico, um fator que pode também reduzir a

freqüência ou a indução de crises é o limiar de vigilância. Alerta e vigilância são fatores que podem prevenir crises. Toda atividade física necessita de uma certa quantidade de alerta. Este fator tem sido justificado como possível contribuinte em evitar crises durante o exercício (KUIJER, 1980).

### **1.3 Plasticidade Neuronal**

Plasticidade neuronal é a propriedade do sistema nervoso de se desenvolver e reagir aos ajustes e mudanças internas e externas do ambiente, ambas sob condições patológicas e fisiológicas. A literatura científica propõe várias classificações e terminologias neste campo. Achados experimentais e observações clínicas têm revelado o dinamismo do sistema nervoso baseado no balanço entre rigidez e plasticidade. A plasticidade do sistema nervoso é baseada num amplo mecanismo que possui dois aspectos característicos: o primeiro tipo é o funcional de plasticidade que é manifestado de forma relativamente rápida e as mudanças são reversíveis; o segundo tipo de plasticidade que é baseado na adaptação do genótipo se transformando em fenótipo. Dentre as mudanças importantes que podem ocorrer no SNC estão os fatores de crescimento neuronal, como família de neurotrofinas, moduladoras da plasticidade neuronal e o processo de neurogênese. A neuroplasticidade pode ser ativada também por fatores prejudiciais ao cérebro (TROJAN; POKORNY, 1999).

Alguns fatores são de grande interesse por desencadearem mudanças importantes no SNC. O exercício físico, que é responsável por um aumento do fluxo sanguíneo cerebral, promovendo o crescimento de células neuronais (FRIEDLAND *et al.*, 2001), atua de forma positiva nos mecanismos de plasticidade neuronal ao passo que, o envelhecimento que é um processo lento, progressivo e inevitável, caracterizado pela diminuição da atividade fisiológica com adaptação ao meio externo e surgimento de processos patológicos (OLIVEIRA; FURTADO, 1999), acarreta em uma diminuição do número de células neuronais (RICHARD, 1991) e provoca alterações negativas no SNC.

Muitas evidências sugerem que o cérebro pode ter uma considerável capacidade de auto-reparo. Em estudos realizados com ratos com déficit motor e comportamental submetidos à atividade física diária, foi observada uma diminuição

deste déficit mostrando que a reparação cerebral induzida pelo exercício físico tem se mostrado cada vez mais evidente (DRÖBRÖSSY; DUNNETT, 2003; SMITH; ZIGMOND, 2003).

### **1.3.1 Alterações Plásticas Decorrentes Da Evolução Da Idade**

O cérebro é uma estrutura em processo dinâmico de modificações. Fatores como o envelhecimento que é um processo lento, progressivo e inevitável, com adaptação ao meio externo e surgimento de processos patológicos podem provocar alterações nessa estrutura cerebral (OLIVEIRA; FURTADO, 1999).

Muitas alterações cerebrais podem ser conseqüências da evolução da idade, como a diminuição no volume e peso do cérebro (DAVIES; WRIGTH, 1977), alterações na sua estrutura química e redução nos níveis de vários neurotransmissores em diferentes regiões do encéfalo (TRELLES, 1986).

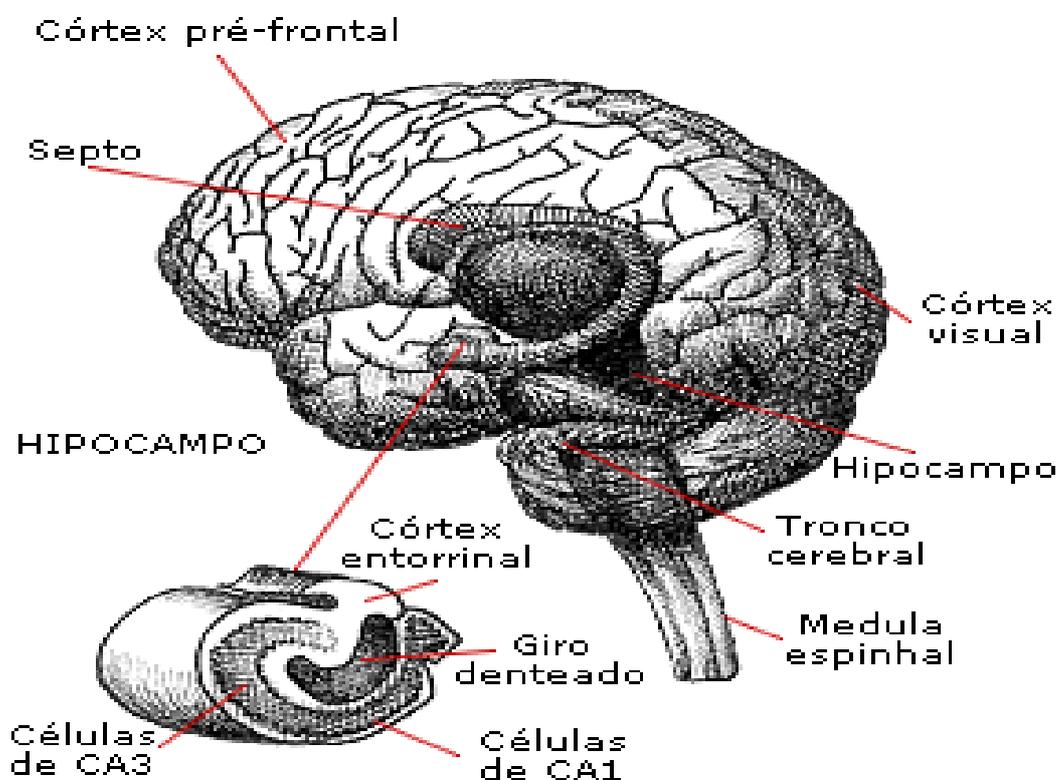
Himeda *et al.*, (2005) demonstraram que dendritos e axônios de neurônios da região de CA1 do hipocampo de camundongos também estavam particularmente sensíveis ao processo de envelhecimento. Outro estudo mostrou diversas alterações durante o processo de envelhecimento como diminuição do número de células neuronais, alterações dendríticas, placas senis e degeneração neurofibrilar.

Prejuízos de memória relacionados com a idade começam na meia vida e este déficit cognitivo continua com o avançar da idade. Dentro da população de idosos sem demência, existe uma variabilidade muito grande de níveis de memória (FOSTER, 2006). Grande parte de ratos idosos analisados em laboratório exibe um profundo déficit de memória espacial, quando testados em labirintos (testes de memória). Esta tarefa depende da integridade de áreas cerebrais responsáveis pelo aprendizado e memória, como a formação hipocampal. Animais idosos com memória prejudicada mostram perda de espinhos dendríticos no giro denteado quando comparados com o animal adulto jovem (GEINISMAN *et al.*, 1986).

### **1.3.2 Alterações Plásticas Decorrentes Do Exercício Físico**

Ultimamente, um grande incentivo para indivíduos sedentários começar a se exercitar, tem sido a descoberta de pesquisas mostrando que o exercício é um meio de aumentar e proteger a função cerebral. A região cerebral que tem mostrado

prematuramente e mantida a alta regulação neurotrófica em resposta ao exercício é o hipocampo (figura 1).



**Figura 1.** Localização anatômica do hipocampo no cérebro.

O exercício físico exerce uma importante melhora na qualidade de vida, pois, está relacionado a uma redução da ansiedade e depressão (MARTINSEN *et al.*, 1985), melhora do humor (FOLKINS; SIME, 1981), redução do déficit cognitivo (STEWART *et al.*, 2001), aumento da plasticidade sináptica e a diminuição dos efeitos deletérios do envelhecimento (VAYNMAN; PINILLA, 2005).

Vários estudos têm mostrado os benefícios do exercício nas funções cerebrais em ratos (ARIDA *et al.*, 2004; SMITH; ZIGMOND, 2003; SETKOWICZ; MAZUR, 2006). Muitas evidências sugerem que o exercício físico pode afetar a atividade neural (VISSING *et al.*, 1996), a neuroquímica hipocampal (FORDYCE; WEHNER, 1993) e a proliferação de células granulares (VAN PRAAG *et al.*, 1999). Neste sentido, muitos estudos relatam que o exercício promove aumento nas funções cognitivas tanto em animais quanto em humanos. Há muitas evidências de aumento na formação de novos neurônios causados pelo exercício. Experimentos comparando ratos submetidos à atividade física com ratos vivendo em condições

laboratoriais comuns, mostram uma maior plasticidade neuronal na região hipocampal do grupo submetidos a exercício físico (UYSAL *et al.*, 2005).

Embora a literatura relate várias alterações no SNC, os mecanismos moleculares pelo qual o exercício influenciaria na plasticidade, ou seja, na estruturação e na função do SNC, não estão bem definidos. Fatores de crescimento, como a família das neurotrofinas tem sido candidatos a moduladores da plasticidade neuronal. *Brain-Derived Neurotrophic Factor* (BDNF) e *Nerve Growth Factor* (NGF), membros da família das neurotrofinas, são de particular interesse pela sua capacidade de promover a sobrevivência e função de vários sistemas de neurotransmissão. A regulação da expressão de neurotrofinas está claramente ligada à atividade neuronal (BOATELL *et al.*, 1992; GALL, 1993; LAUTERBORN *et al.*, 1994). Estudos prévios têm mostrado que ratos com acesso a atividade voluntária em roda, apresentam um aumento da expressão de BDNF no hipocampo (NEEPER *et al.*, 1995).

### **1.3.3 Alterações Plásticas Decorrentes Do Exercício Físico Em Idosos**

Pesquisas com humanos sugerem que o exercício físico fornece efeitos benéficos para a saúde e funções cognitivas, principalmente em idosos (DRAPEAU *et al.*, 2003). Estudos recentes usando modelos animais de idade avançada foram direcionados a compreender esses benefícios comprovando que o exercício físico pode aumentar os níveis de BDNF e outros fatores de crescimento, aumentando a neurogênese e a resistência ao insulto cerebral e melhorando o desempenho mental (COTMAN, 2002).

Com o avanço da idade a plasticidade hipocampal diminui, ocorrendo um declínio na formação de novos neurônios (MIKKONEN *et al.*, 2001). Ratos idosos submetidos a exercício físicos aquáticos mostram aumento de neurogênese e melhora do aprendizado (DRAPEAU *et al.*, 2003).

Tem sido também observado que o exercício físico voluntário em roda, facilita a recuperação de lesões neuronais, melhora a função cognitiva, promove fatores neurotróficos associados à sobrevivência de células progenitoras, diferenciação e elevação da memória de longo prazo (VAN PRAAG *et al.*, 1999). Van Praag e colaboradores (2005) mostraram em ratos com 19 meses de idade submetidos ao exercício físico voluntário por 30 dias, um aumento no número de neurônios no giro

denteado e melhora no teste de memória (water maze), quando comparados com ratos controle da mesma idade.

O exercício físico tem sido associado a mudanças positivas na saúde geral, função cognitiva e memória, particularmente durante o envelhecimento (KRAMER *et al.*, 1999; COLCOMBE *et al.*, 2004). Diversos estudos têm indicado um efeito neuroprotetor do exercício físico após diferentes modelos de lesão cerebral, como por exemplo, a recuperação funcional do SNC após dano cerebral, a redução da vulnerabilidade da dopamina a agentes agressores e a diminuição da frequência de crises epiléticas em animais tratados com pilocarpina (ARIDA *et al.*, 1999; JONES *et al.*, 1999; SMITH; ZIGMOND, 2003)

## 1.4 Modelo Experimental De Epilepsia

Para um melhor entendimento para o estudo das epilepsias se fez necessária a busca por modelos experimentais, dentre eles o que mais se destaca é o modelo de indução de epilepsia por pilocarpina (PILO) o qual mimetiza a epilepsia do lobo temporal em humanos.

Durante as últimas décadas foram desenvolvidos basicamente dois tipos de modelos experimentais de epilepsias. Os chamados modelos agudos, cujas crises são únicas e não espontâneas, e os modelos crônicos, nos quais as crises epiléticas podem se repetir a intervalos mais ou menos variáveis e os registros eletrencefalográficos podem evidenciar anormalidades elétricas intercríticas espontâneas (PURPURA *et. al.*, 1972).

Uma vez que as epilepsias humanas apresentam crises recorrentes e na maioria das vezes ocorrem de forma espontânea, os modelos crônicos se revestem de maior importância por mimetizarem, mais adequadamente, a condição humana servindo, portanto, para uma maior caracterização fisiopatológica e para avaliação de drogas antiepiléticas (LEITE *et. al.*, 1990; BLÜMCKE *et. al.*, 1999).

Dentre os modelos crônicos de epilepsia, o modelo da pilocarpina tem sido amplamente usado em função da facilidade técnica e, principalmente, pela semelhança fisiopatológica com a epilepsia do lobo temporal.

### 1.4.1 Modelo Experimental De Epilepsia Induzida Por Pilocarpina

A administração sistêmica de pilocarpina (um agonista colinérgico muscarínico), em ratos e camundongos, numa dose de 350 a 380 mg/kg, desencadeia seletivamente, uma sequência de alterações comportamentais e eletrencefalográficas. Estas alterações evoluem progressivamente para crises generalizadas atingindo o estado de mal epiléptico, que por sua vez, produz alterações patológicas cerebrais difusas (TURSKI *et al.*, 1984).

As alterações comportamentais produzidas pela administração intraperitoneal (I.P.) de PILO, são dependentes da dose e do tempo. Imediatamente após a injeção de doses subconvulsivantes de PILO (100 e 200 mg/kg), os animais ficam imóveis, com suas patas recolhidas e as orelhas voltadas para trás e coladas ao corpo. Este período precede à segunda fase na qual predominam automatismos faciais. Em seguida (aproximadamente 2 horas), os animais recuperam os padrões normais de comportamento pré-droga.

Na dose de 350 a 380 mg/kg, estas atividades motoras são mais intensas e persistem aproximadamente por 30 minutos após a injeção. Os animais, a seguir, apresentam crises tônico-clônicas generalizadas. Tais crises ocorrem a cada 2-8 minutos e evoluem para o estado de mal epiléptico (50-60 minutos após a injeção de pilocarpina), perdurando em média 10 h entrando no estado de mal epiléptico, ou *status epilepticus* (SE). As primeiras 24 horas após a injeção da PILO caracterizam o **período agudo** de modelo. Em seguida os animais recuperam gradativamente suas condições pré-droga, sem crises e sem alterações comportamentais aparentes, caracterizando o **período silencioso** do modelo. Este período pode durar de 4 a 44 dias (média de  $14 \pm 3.0$  dias). Após este período, todos os animais sobreviventes passam a exibir crises epiléticas espontâneas e recorrentes que caracterizam o **período crônico**. Durante este período, os animais apresentam de 2 a 15 episódios críticos por mês (média de 2 a 3 crises por semana).

## 1.5 Parvalbumina

A parvalbumina (PV) é uma proteína ligante de cálcio e um importante modulador do dinamismo de cálcio intracelular em neurônios (BAIMBRIDGE *et al.*, 1992). Neurônios de diferentes regiões do cérebro contêm PV tanto no soma, quanto nos neuritos, mas seu papel fisiológico em neurônios cerebrais permanece pouco claro (KOSAKA *et al.*, 1993). A PV está associada à proteção, tamponamento de cálcio e sistemas enzimáticos (CAILLARD *et al.*, 2000) e a sua expressão têm um efeito protetor a lesões (SLOVITER, 1989; FERRER *et al.*, 1994).

Segundo Caillard *et al.*, (2000) a parvalbumina pode funcionar como uma proteção para canais lentos de cálcio, afetando a amplitude e o tempo de curso da transição de cálcio nos terminais após um potencial de ação. Essas alterações podem, conseqüentemente, regular a plasticidade sináptica de curto prazo.

Existe a hipótese de que as proteínas ligantes de cálcio são componentes necessários para a manutenção da homeostase do cálcio, evitando a ocorrência de morte nas células onde se encontram presentes (SLOVITER, 1989; FERRER *et al.*, 1994). A ausência da homeostase do cálcio neuronal pode ser a causa de muitas doenças degenerativas encontradas em ratos idosos (KELLY *et al.*, 2006).

Recentemente, Arida *et al.*, (2004) demonstraram uma grande marcação de proteína PV no giro dentado (fibras e soma) de animais submetidos à atividade voluntária e forçada durante 10 dias consecutivos. Alguns autores têm sugerido que a expressão de proteínas que se ligam ao íon cálcio, como a PV, poderia ter um efeito protetor e de aumento de resistência à lesão excitotóxica que ocorreria na presença de crises epiléticas (SLOVITER, 1989; FERRER *et al.*, 1994). Outro estudo mostrou um aumento da marcação de PV na formação hipocampal em ratos com epilepsia submetidos ao exercício físico voluntário (ARIDA *et al.*, 2007). Estes resultados sugerem que a proliferação celular induzida pelo exercício físico pode ter um papel significativo no processo normal e neuroprotetor no cérebro.

## 1.6 Justificativa

A expressão de proteínas que se ligam ao íon cálcio, como a PV, tem sido usada para visualizar mudanças fisiológicas e patológicas no SNC. Elas proporcionam uma marcação sensível e efetiva de células hipocâmpais (CELIO, 1990). Estudos em modelos experimentais de epilepsia mostram uma diminuição na expressão da PV (ARIDA *et al.*, 2004). Tendo em vista que o exercício físico é capaz de modificar a expressão dessa proteína em animais adultos (ARIDA *et al.*, 2004) assim como os efeitos benéficos do exercício físico em modelos experimentais de epilepsia, torna-se importante verificar se o exercício físico em animais idosos com epilepsia provoca alterações na plasticidade neuronal que possam reverter esse processo.

## **2 OBJETIVO**

Verificar as possíveis alterações da expressão da Parvalbumina na formação hipocampal de ratos idosos com epilepsia submetidos a um programa de exercício físico aeróbio em esteira rolante.

## 3 MATERIAIS E MÉTODOS

### 3.1 Animais

Foram utilizados para este estudo 20 ratos albinos da raça Wistar, machos, com idade de 18 meses provenientes do biotério central da Universidade de Mogi das Cruzes (UMC). Os animais ficaram alojados em grupo de 5 ratos, em gaiolas apropriadas, onde tiveram livre acesso à água e comida. As condições do biotério obedeceram a um ciclo claro-escuro de 12 horas (claro: 07:00-19:00), sendo a temperatura ambiente mantida constante entre 21 e 22 °C. Os animais foram divididos em 4 grupos: -controle, -exercício, -epilepsia e -epilepsia exercício (N=5). O protocolo experimental obteve aprovação da Comissão de Ética em Manipulação e Experimentação Animal (CEMEA) da UMC.

### 3.2 Programa De Treinamento Físico

O programa de treinamento físico foi realizado em esteira rolante. Para as divisões dos grupos dos animais, uma escala de desempenho na esteira de 1 a 5, classificada por Dishman *et al.*, (1988) foi realizada; no estágio 1. o animal se recusa a correr; 2. corrida sem constância (corre e para ou corre em direção errada); 3. corrida regular; 4. corrida boa (ocasionalmente corre na parte de trás da esteira); 5. corrida excelente (corre permanentemente na parte da frente da esteira). Os animais com uma classificação igual ou superior a 3 foram incluídos no grupo de treinamento físico. Este procedimento é usado para excluir possíveis níveis diferentes de estresse entre os animais. Os animais foram familiarizados com a esteira rolante por três dias durante 10 min/dia. O programa de treinamento aeróbio consistiu de 10 sessões em esteira rolante, 7 vezes por semana com intensidade do exercício (60%  $VO_2$  máx) de acordo com parâmetros prévios utilizados em estudo anterior (Arida *et al.*, 1999). Cada sessão de treinamento iniciou-se com um aquecimento de 5 min a 8-10 m/min. O tempo e a velocidade de corrida foram aumentados gradativamente durante os dias subseqüentes até atingirem a velocidade de 18 metros por minuto.

### 3.3 Preparação Do Tecido

Os animais foram anestesiados com Tionembutal 2,5% 40mg/kg (i.p.) e submetidos à perfusão transcardíaca com tampão fosfato salina (PBS pH 7,4) contendo heparina. A seguir, essa solução foi substituída por paraformaldeído 4% em PBS. Os cérebros foram removidos imediatamente e deixados por 4 horas na solução fixadora de paraformaldeído 4% e depois foram colocados em uma solução sacarose 30% em PBS a 4°C. Após 48 horas, esses cérebros foram cortados num vibrátomo (LEICA) em fatias de 50 µm.

### 3.4 Imunohistoquímica

Para o processo imunohistoquímico, as fatias foram embebidas em solução de peróxido de hidrogênio 0,1% por 30 minutos, para o bloqueio da atividade das peroxidases endógenas do tecido, que seriam responsáveis por uma marcação inespecífica. A seguir, as fatias foram lavadas em Tris HCL e TRITON X-100 10%, objetivando-se a permeabilização celular. Em seguida, as fatias foram incubadas em solução de soro albumina 0,1% durante 90 minutos à temperatura ambiente, a fim de evitar reações inespecíficas. Posteriormente, os cortes foram incubados em solução contendo o anticorpo primário anti-Parvalbumina na diluição adequada à temperatura de 4°C ao longo da noite. A seguir, as fatias foram colocadas na solução contendo o anticorpo secundário biotilado, na diluição de 1:200, por um período de 90 minutos à temperatura ambiente, permitindo a ligação do anticorpo secundário ao primário. Posteriormente as fatias foram colocadas em uma solução do kit ABC por 90 minutos e depois foram reveladas com diaminobenzidina (DAB) 0,06% em Tris-HCl 0,05M pH 7,4 e peróxido de hidrogênio 1µl/ml. O DAB é um substrato cromógeno da enzima peroxidase, que confere ao sítio onde se encontra uma cor castanho-amarelada ao sofrer a ação dessa enzima, permitindo a visualização da imunomarcação. Por fim as fatias foram montadas, desidratadas, diafenizadas e cobertas com lamínulas, usando-se Entellam (MERCK).

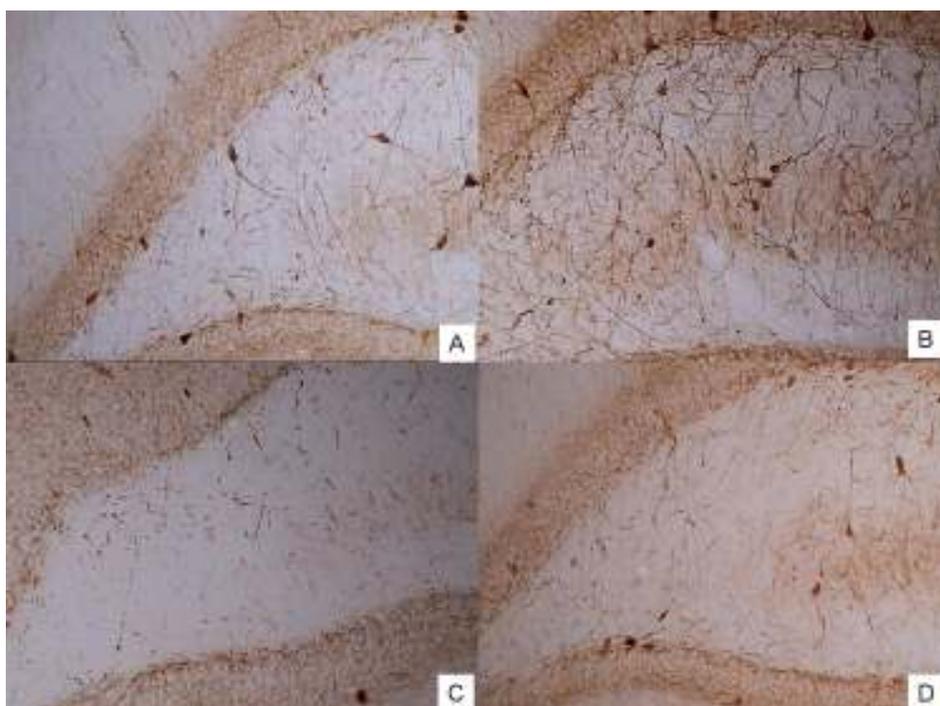
### 3.5 Análise Dos Dados

Após esses procedimentos, foi realizada nas lâminas uma análise qualitativa e quantitativa em microscópio óptico e captura das imagens. A análise quantitativa foi realizada para as fibras do hilo do giro denteado usando um programa de imagem (image tool-UTHSCSA). Este programa proporciona calcular a densidade de fibras nas áreas estabelecidas através da porcentagem de fibras, utilizando um contraste numa escala de cinza, que é regulada manualmente por quem está avaliando as imagens; em cima dessa regulação que o software executa os cálculos necessários. Utilizou-se ampliação de 200x em CA1, CA3 e giro denteado, e 400x para o hilo do giro denteado. Para cada parâmetro da análise estatística, foi usado o teste *One Way ANOVA* (análise de variância) seguido do teste de *Student-Newman-Keuls* utilizando o programa estatístico Sigma stat (v.7.1).

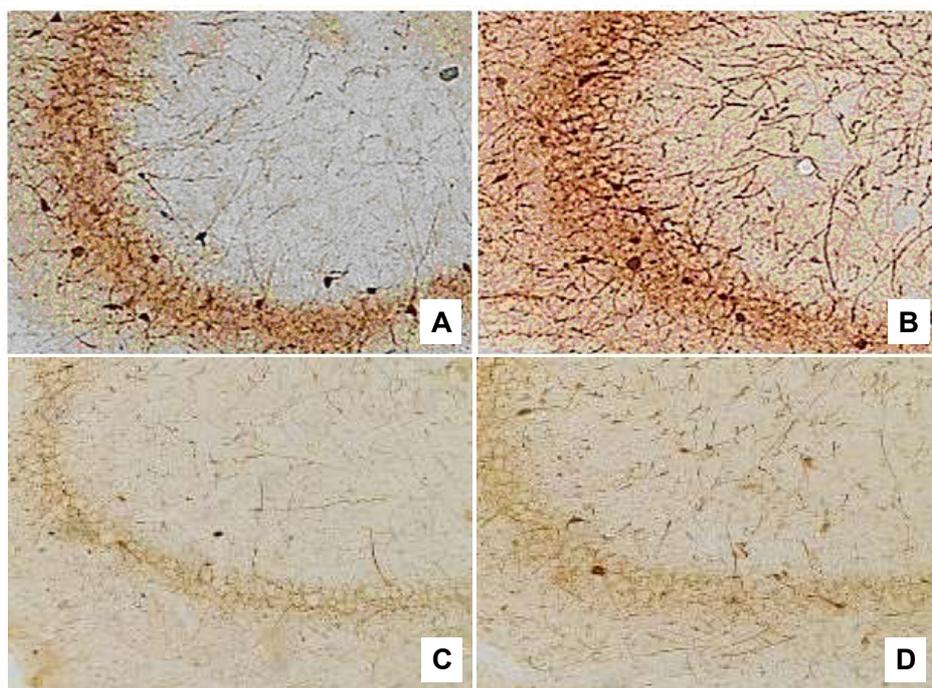
## 4 RESULTADOS

### 4.1 Análise Qualitativa

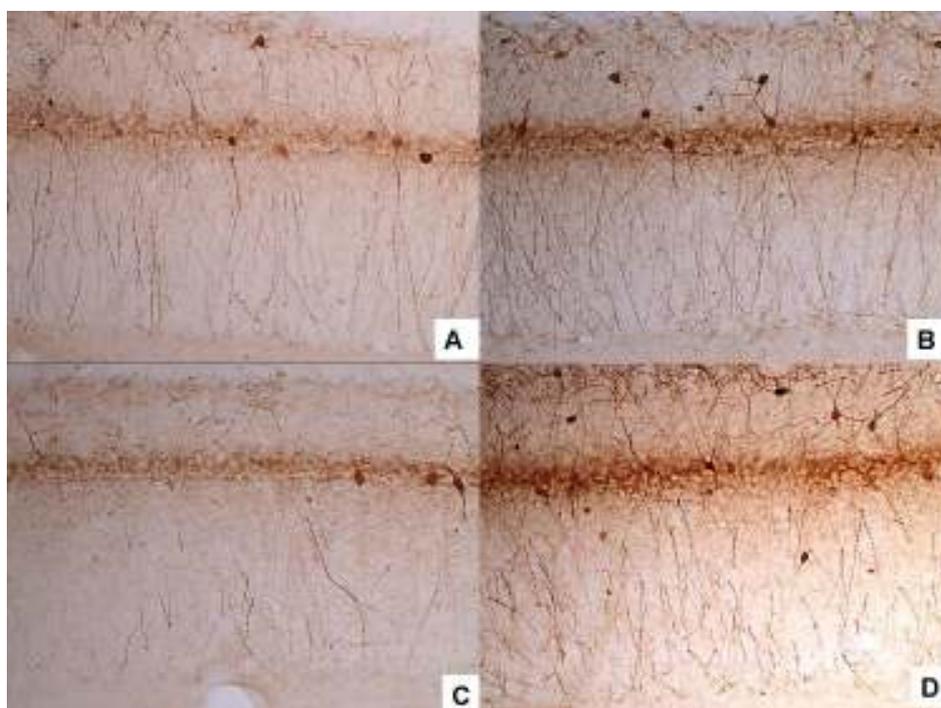
Na análise qualitativa da expressão da parvalbumina na formação hipocampal, foi observado um aumento da expressão de células imunorreativas a parvalbumina nas regiões de CA1, CA3 e no hilo do giro denteado (figura 2, 3 e 4) do grupo exercício (figuras 2B, 3B e 4B) e do grupo epilepsia exercício (figuras 2D, 3D e 4D) quando comparadas com os grupos controle (figuras 2A, 3A e 4A) e epilepsia (figuras 2C, 3C e 4C) respectivamente.



**Figura 2.** Fotomicrografias de células imunorreativas a parvalbumina e fibras na região do hilo do giro denteado. Grupo Controle (A), Grupo exercício (B), Grupo Epilepsia (C) Grupo Epilepsia Exercício (D). Aumento de 400 X em A, B, C e D.



**Figura 3.** Fotomicrografias de células imunorreativas a parvalbumina e fibras na região de CA3. Grupo Controle (a), Grupo Exercício (b), Grupo Epilepsia (c) Grupo Epilepsia Exercício (d). Aumento de 200 X em A, B, C e D



**Figura 4.** Fotomicrografias de células imunorreativas a parvalbumina e fibras na região de CA1. Grupo Controle (A), Grupo Exercício (B), Grupo Epilepsia (C) grupo Epilepsia e Exercício (D). Aumento de 200 X em A, B, C e D.

## 4.2 Análise Quantitativa

A tabela 1 apresenta os valores em porcentagem de fibras encontrados para as regiões do hilo, CA1 e CA3 da região hipocampal nos diferentes grupos experimentais:

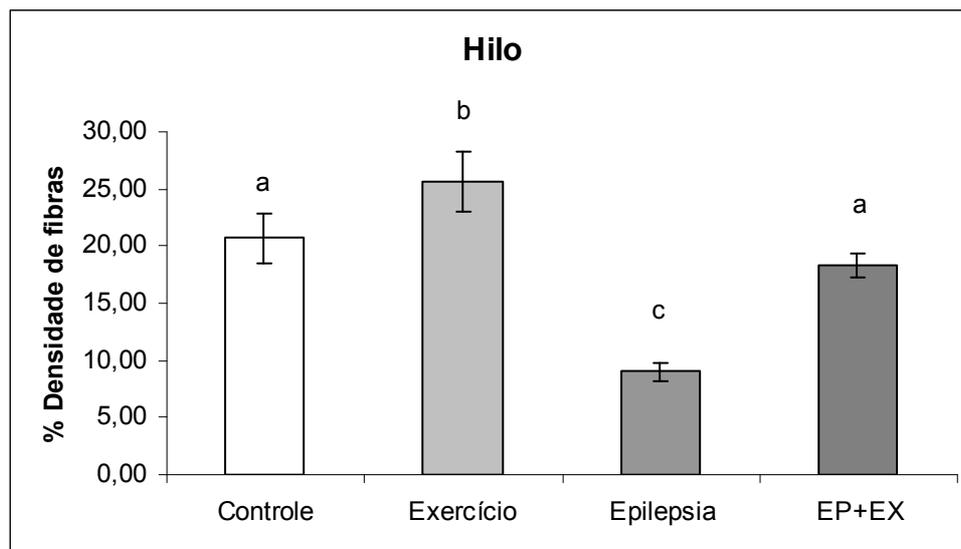
**Tabela 1:** Tabela de dados da média e desvio padrão (Média  $\pm$  DP) da porcentagem da densidade de fibras do Hilo, CA1 e CA3 dos grupos: Controle; Exercício; Epilepsia e Exercício + Epilepsia. ( $P < 0,001$ )

	Hilo	CA1	CA3
	% Densidade de Fibras		
<b>Controle</b>	20,69 <sup>a</sup> $\pm$ 2,21	9,80 <sup>a</sup> $\pm$ 0,37	11,77 <sup>a</sup> $\pm$ 0,83
<b>Exercício</b>	25,65 <sup>b</sup> $\pm$ 2,59	13,19 <sup>b</sup> $\pm$ 0,80	15,34 <sup>b</sup> $\pm$ 0,80
<b>Epilepsia</b>	9,04 <sup>c</sup> $\pm$ 0,80	5,21 <sup>c</sup> $\pm$ 0,96	5,71 <sup>c</sup> $\pm$ 0,57
<b>Exercício+Epilepsia</b>	18,34 <sup>a</sup> $\pm$ 1,07	8,70 <sup>a</sup> $\pm$ 1,03	10,60 <sup>a</sup> $\pm$ 1,20

<sup>abc</sup> Letras diferentes significam diferença estatística entre os grupos.

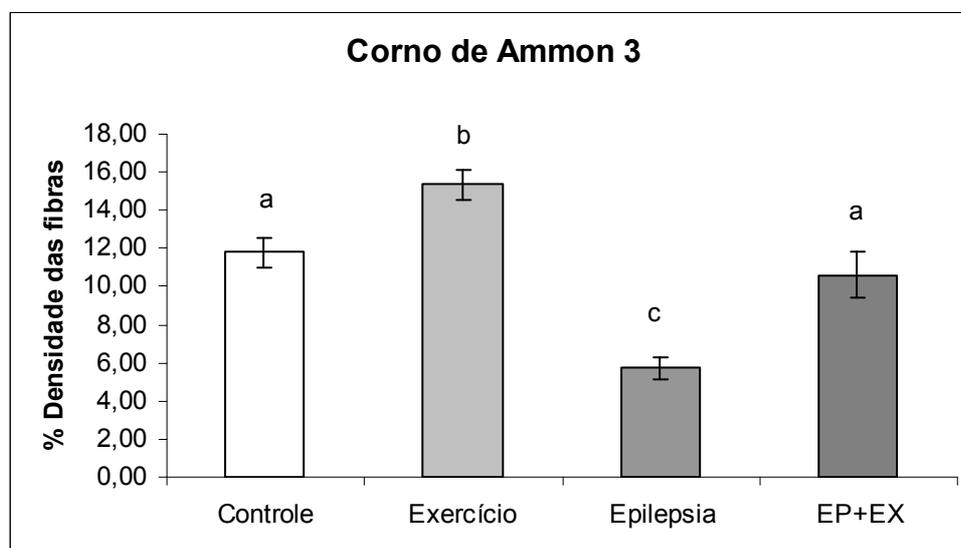
O grupo exercício apresentou uma marcação de fibras de células PV-positivas significativamente maiores na região do hilo do giro denteado quando comparado ao controle ( $P < 0,001$ ), o grupo epilepsia ( $P < 0,001$ ) e grupo exercício + epilepsia ( $P < 0,001$ ). O grupo epilepsia apresentou uma diminuição significativa em relação ao grupo controle ( $P < 0,001$ ) e exercício + epilepsia ( $P < 0,001$ ). (Figura 5)

O mesmo padrão foi observado quando analisadas as estruturas de CA1 e CA3 da região hipocampal. Nas regiões CA1 e CA3, o grupo exercício apresentou aumento estatisticamente significativo da expressão de fibras de células PV-positivas em relação aos grupos controle ( $P < 0,001$ ), epilepsia ( $P < 0,001$ ) e exercício + epilepsia ( $P < 0,001$ ). O grupo exercício + epilepsia apresentou um aumento da expressão de fibras de células PV-positivas nas regiões CA1 e CA3 quando comparado com o grupo epilepsia ( $P < 0,001$ ) (Figuras 6 e 7).



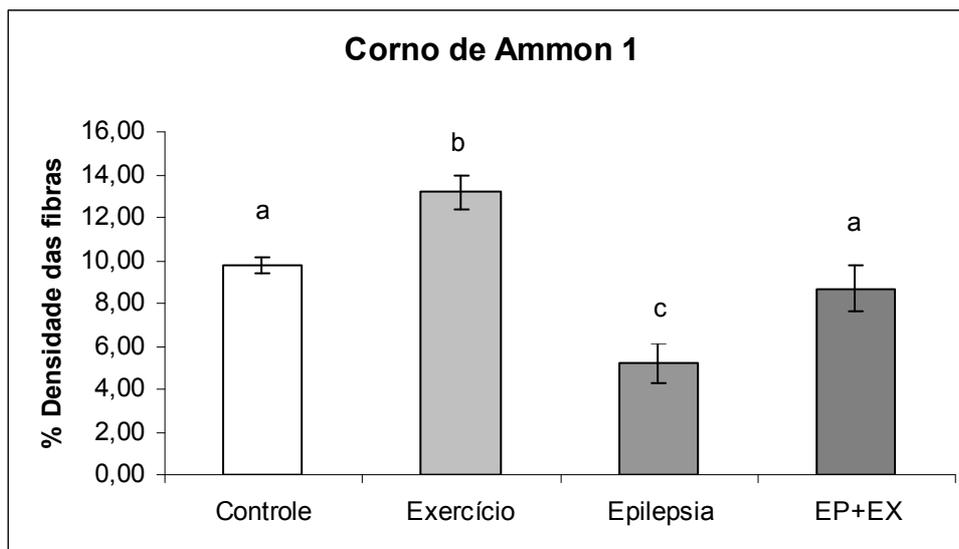
**Figura 5.** Comparação da densidade de fibras de células PV-positivas na região do hilo do giro denteado dos grupos: controle, exercício, epilepsia e epilepsia exercício.

<sup>abc</sup> Letras diferentes significam diferença estatística entre os grupos.

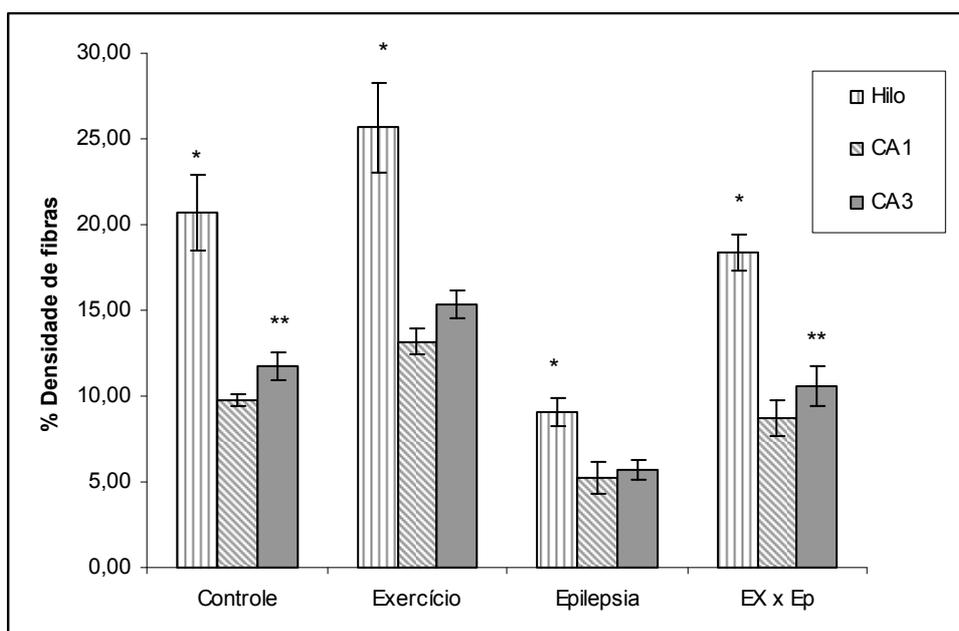


**Figura 6.** Comparação da densidade de fibras de células PV-positivas na região CA3 dos grupos: controle, exercício, epilepsia e epilepsia exercício.

<sup>abc</sup> Letras diferentes significam diferença estatística entre os grupos.



**Figura 7.** Comparação da densidade de fibras de células PV-positivas na região CA1 dos grupos: controle, exercício, epilepsia e epilepsia exercício.  
<sup>abc</sup> Letras diferentes significam diferença estatística entre os grupos.



**Figura 8.** Comparação da densidade de fibras de células PV-positivas entre as regiões do hilo, CA1 e CA3 dos grupos: controle, exercício, epilepsia e epilepsia exercício. \* \*\* Diferenças estatística entre as regiões.

## 5 DISCUSSÃO

Poucas evidências têm sido observadas na relação do exercício físico em animais idosos com epilepsia. Neste sentido, este estudo verificou o efeito do exercício físico forçado sob as alterações morfológicas na formação hipocampal de ratos idosos com epilepsia, utilizando a PV como marcador neuronal. Os resultados mostraram que o exercício físico pode influenciar a expressão hipocampal de PV nos animais com epilepsia submetidos a 10 dias de exercício forçado. Os animais com epilepsia treinados apresentaram maior expressão de células e fibras imunorreativas a PV quando comparados com os respectivos animais com epilepsia não treinados.

O exercício físico em esteira tem sido relacionado com o aumento da proliferação celular no giro denteado (Kim *et al.*, 2002; BURGHARDT *et al.*, 2004). Na zona subgranular encontram-se células progenitoras mitoticamente ativas, sendo estas capazes de gerar novos neurônios durante a fase adulta (LOIS; ALVAREZ-BUYLLA, 1994; GOULD *et al.*, 1999; ERIKSON *et al.*, 1998). A proliferação de novas células no giro denteado é conhecida por representar um papel de destaque no processo de aprendizagem (LEMAIRE *et al.*, 2000).

Nos últimos anos, inúmeros estudos têm demonstrado que este processo de neurogênese pode sofrer influência de uma grande variedade de estímulos. Em animais adultos, a proliferação celular no giro dentado é maior em ratos submetidos ao exercício físico quando comparado aos animais controle (VAN PRAAG *et al.*, 1999; OLSON *et al.*, 2006). Estes resultados sugerem que a proliferação celular induzida pelo exercício físico pode ter um papel significativo no processo normal e neuroprotetor no cérebro. Por exemplo, NEUSTADT *et al.* (2004) mostrou que animais submetidos ao exercício físico voluntário em roda apresentaram um aumento de células na região do giro denteado e em diversas partes do hipocampo. Em um estudo prévio, observamos um aumento da plasticidade neuronal, pelo aumento na marcação de fibras no hilo do giro denteado em animais submetidos a exercício voluntário em roda e exercício forçado em esteira (ARIDA *et al.*, 2004).

Alguns fatores são conhecidos por inibir a taxa de produção de novas células no giro denteado. O estresse induzido pelo exercício de alta intensidade assim como

o envelhecimento são conhecidos por diminuir drasticamente essa taxa (KUHN, 1996; BORER, *et al.*, 1992). Jacobs *et al.*, (2000) relataram que a diminuição da neurogênese pode ser induzida pelo estresse. Alguns estudos associam o estresse pré-natal com a redução da neurogênese da região hipocampal durante a fase adulta em ratos e macacos (LEMAIRE *et al.*, 2000; COE *et al.*, 2003). O hipocampo além de tradicionalmente estar relacionado a processos cognitivos, possui também um envolvimento com a resposta ao estresse (LATHE, 2001). Ele é ativado por diferentes estressores (LOPEZ *et al.*, 1999) e participa do processamento de informações sobre eventos ameaçadores. A exposição significativa ao estresse induz remodelamento dendrítico em células piramidais hipocampais e diminuição da neurogênese no giro denteado do hipocampo de animais de laboratório (MAGARINÕS *et al.*, 1997). Desta forma, é importante que o exercício físico seja realizado em intensidade adequada, isto é, intensidade baixa ou moderada (KIM *et al.*, 2002). Portanto, alterações plásticas cerebrais provocadas pelo exercício em esteira podem estar moduladas pela intensidade e duração do exercício (KIM *et al.*, 2002). A intensidade do exercício utilizada em nosso estudo parece ser adequada para animais idosos, pois foi observado um aumento da expressão de PV nos animais com e sem epilepsia treinados.

Uma outra hipótese para explicar o aumento da plasticidade neuronal induzida pelo exercício físico está relacionada à liberação de neurotrofinas. Muitos estudos têm mostrado que o exercício físico afeta a liberação de neurotrofinas em animais adultos após atividade voluntária em roda, corrida e ambiente enriquecido (NEEPER *et al.*, 1995; GOMEZ-PINILLA *et al.*, 1997; CAO *et al.*, 2008; VAN PRAAG *et al.*, 2005). Estas neurotrofinas podem ser responsáveis pelo aumento da expressão de fibras imunorreativas a PV nos animais treinados deste trabalho.

Este estudo demonstra que o exercício físico aeróbio em esteira gera alterações na marcação de fibras e células que expressam parvalbumina nas regiões de CA1, CA3 e hilo do giro denteado em animais idosos com epilepsia, sugerindo que a PV pode ser um marcador útil para o estudo de mudanças relacionadas ao exercício físico.

Embora nossos resultados não permitam identificar se o aumento na expressão de PV ocorre em novos neurônios ou em preexistentes, estes

achados sugerem que respostas plásticas no cérebro ocorram em função de um programa de exercício físico moderado em esteira.

## **6 CONCLUSÃO**

Em conclusão, os resultados obtidos neste trabalho demonstraram que um programa de exercício físico foi capaz de promover aumento da expressão de células e fibras imunorreativas a PV na formação hipocampal de ratos idosos com epilepsia.

## REFERÊNCIAS

- ARIDA, R. M., SCORZA, F. A., ALBUQUERQUE, M., CYSNEIROS, R. M., OLIVEIRA, R. J., CAVALHEIRO, E. A., Evaluation of physical exercise habits in Brazilian patients with epilepsy. **Epilepsy & Behavior**, v. 4, p. 507-510, 2003.
- ARIDA, R. M., SCORZA, C. A., SCORZA, F. A., DA SILVA, S. G., NAFFAH-MAZZACORATTI, M. G., CAVALHEIRO, E. A., Effects of different types of physical exercise on the staining of parvalbumin-positive neurons in the hippocampal formation of rats with epilepsy. **Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry**, 2007.
- ARIDA, R. M., SCORZA, F. A., SILVA, A. E., SCORZA, S. A., CAVALHEIRO, E. A., Differential effects of spontaneous versus forced exercise in rats on the staining of parvalbumin-positive neurons in the hippocampal formation. **Neuroscience Letters**, v. 364, p. 135-138, 2004.
- ARIDA, R. M., SCORZA, F. A., SANTOS, N. F., PERES, C. A., CAVALHEIRO, E. A., Effect of physical exercise on seizure occurrence in a model of temporal lobe epilepsy in rats. **Epilepsy Research**, v. 37, p. 45-52, 1999.
- ARIDA, R. M., VIEIRA, A. J., CAVALHEIRO, E. A., Effect of physical exercise on kindling development. **Epilepsy Research**, v. 30, p. 127-132, 1998.
- BAIMBRIDGE, K. G., CELIO, M. R., ROGERS, J. H., Calcium-Binding proteins in the nervous system. **Trends Neurosci**, v. 15, p. 303-308, 1992.
- BASCH, E. M., CRUZ, M. E., TAPIA, D., CRUZ, A., Prevalence of epilepsy in a migrant population near Quito, Ecuador. **Neuroepidemiology**, v. 16, p. 94-98, 1997.
- BENBADIS, S. R., Epileptic seizures and syndromes. **Neurol clin**, v. 19, p. 251-70, 2001.
- BJORHOLT P. G, NAKKEN K. O, ROHME K., HANSEN H., Leisure time habits and physical fitness in adults with epilepsy. **Epilepsia**, v. 31, n. 1, p. 83-7, 1990.
- BOATELL, L. L., LINDEFORS, N., BALLARIN, M., ERNFORS, P., MAHY, N., PERSSON, H., Activation of basal forebrain cholinergic neurons differentially regulates brain-derived neurotrophic factor mRNA expression in different projection areas. **Neurosci Lett**, v. 136, n. 2, p. 203-208, 1992.
- BURGHARDT, P. R., FULK, L. J., HAND, G. A., WILSON, M. A., The effects of chronic treadmill and wheel running on behavior in rats. **Brain Research**, v. 19, p. 84-96, 2004.
- CAILLARD, O., MORENO, H., SCHWALLER, B., LLANO, I., CELIO, M. R., MARTY, A., Role of the calcium-binding protein parvalbumin in short-term synaptic plasticity. **PNAS**, v. 97, n. 24, p. 13372-13377, 2000.

CAO, X., HUANG, S., RUAN, D., Enriched environment restores impaired hippocampal long-term potentiation and water maze performance induced by developmental lead exposure in rats. **DEV. Psychobiol**, v. 50, n. 3, p. 307-313, 2008.

CELIO, M. R., Calbindin D-28k and parvalbumin in the rat nervous system. **Neuroscience**, v. 35, n. 2, p. 375-475, 1990.

CHANG, B. S., LOWENSTEIN, D. H., Mechanisms of disease EPILEPSY. **The New England Journal of Medicine**, v. 13, p. 345-349, 2003.

COE, C. L., KRAMER, M., CZECH, B., GOULD, E., REEVES, A. J., KIRSCHBAUM, C., Prenatal stress diminishes neurogenesis in the dentate gyrus of juvenile rhesus monkeys. **Biol Psychiatry**, v. 54, n. 10, p. 1025-1034, 2003.

COLCOMBE, S. J., KRAMER, A. F., MCAULEY, E., ERICKSON, K. I., SCALF, P., Neurocognitive aging and cardiovascular fitness: recent findings and future directions. **J Mol Neurosci**. v. 24, n. 1, p. 9-14, 2004.

CORDOVA, F., Epilepsy and Sport. **Aut. Fam. Physician**, v. 22, p. 558-562, 1993.

DAVIES, P. J. M., WRIGHT, E. A., A New Method for Measuring Cranial Cavity Volume and its Application to the Assessment of Cerebral Atrophy of autopsy. **Neuropath and Applied Neurobiology**, v. 3, p. 341-353, 1977.

DEFELIPE, J., Chandelier cells and epilepsy. **Brain**, v. 122, p. 1807-1822, 1999.

DISHMAN, R. K., ARMSTRONG, R. B., DELP, M. D., GRAHAM, R. E., and DUNN, A. L., Open-field behavior is not related to treadmill performance in exercising rats, **Physiol. Behav**, v. 43, p. 541-546, 1988.

DRAPEAU, E., MAYO, W., AUROUSSEAU, C., MOAL, M., PIAZZA, P. V., ABROUS, D. N., Spatial memory performances of aged rats in the water maze predict levels of hippocampal neurogenesis. **PNAS**, v. 100, n. 24, p. 14385-14390, 2003.

DRÖBRÖSSY, M. D., DUNNET, S. B., Motor training effects on recovery of function after striatal lesions and striatal grafts. **Exp. Neurol**, v. 184, p. 274-284, 2003.

ERIKSSON, P. S., Neurogenesis in the adult human hippocampus. **Nature Med**, v. 4, p. 1313-1317, 1998.

FERRER, I., OLIVER, B., RUSSI, A., CASAS, R., RIVERA, R., Parvalbumin and calbindin-D28k immunocytochemistry in human neocortical epileptic foci. **J Neurol Sci**, v. 123, p. 18-25, 1994.

FISHER, R. S., BOAS, W. V. E., BLUME, W., ELGER, C., GENTON, P., LEE, P., ENGEL, J. Jr., Epileptic Seizures and Epilepsy: Definitions Proposed by the International League against Epilepsy (ILAE) and the International Bureau of Epilepsy (IBE). **Epilepsia**, v. 46, n. 4, 2005.

FOLKINS, C. H., SIME, W. E., Physical fitness training and mental health. **Am Psychol**, v. 36, n. 4, p. 379-389, 1981.

FORDYCE, D. E., WEHNER, J. M. Physical activity enhances spatial learning performance with an associated alteration in hippocampal protein kinase c activity in C57BL/6 and DBA/2 mice. **Brain Res**, v. 619, p. 111-119, 1993.

FOSTER, T. C., Biological markers of age-related memory deficits: treatment of senescent physiology. **CNS Drugs**, v. 20, n. 2, p. 153-66, 2006.

FRENCH, J. A., WILLIANSO, P. D., THADANI, V. M., DARCEY, T. M., MATTSON R. H., SPENCER, S. S., Characteristics of medial temporal lobe epilepsy: I. Results of history and physical examination. **Ann Neurol**, v. 34, n. 6, p. 774-780, 1993.

FRIEDLAND, R. P., FRITSCH, T., SMYTH, K. A., KOSS, E., LERNER, A. J., CHEN, C. H., Patients with Alzheimer's disease have reduced activities in mid life compared with healthy control-group members. **Proc Natl Acad Sci USA**, v. 98, p. 3440-3445, 2001.

GALL, C. M., Seizure-induced changes in neurotrophin expression: implications for epilepsy. **Exp Neurol**, v. 124, n. 1, p. 150-166, 1993.

GEINISMAN, Y., MORRELLT, L. T., MORRELLT, F., Loss of perforated synapses in the dentate gyrus: Morphological substrate of memory deficit in aged rats. **Neurobiology**, v. 83, p. 3027-3031, 1986.

GOMEZ-PINILLA, F., SO, V., KESSLAK, J. P. Spatial learning and physical activity contribute to the induction of fibroblast growth factor, neural substrates for increased cognition associated with exercise. **Neuroscience**, v. 85, p. 53-61. 1998.

GOTZE, W., KUBICKI, S. T., MUNTER, M., TEICHMANN, J., - Effect of physical exercise on seizure threshold. **Dis. Nerv. Syst**, v. 28, p. 664-667, 1967.

GOULD, E., BEYLIN, A., TANAPAT, P., REEVES, A., SHORS, T. J., Learning enhances adult neurogenesis in the hippocampal formation. **Nat Neurosci**, v. 2, n. 3, p. 260-265, 1999.

HAUSER, W. A., KURLAND, L. T., The epidemiology of epilepsy in Rochester, Minnesota, 1935 though 1937. **Epilepsia**, v. 16, p. 1-66, 1975.

HIMEDA, T., MIZUNO, K., KATO, H., ARAKI, T., Effects of age on immunohistochemical changes in the mouse hippocampus. **Mechanisms of Ageing and Development**, v. 126, p. 673-677, 2005.

HOUSER, C. R., GABA neurons in seizure disorders: a review of immunocytochemical studies. **Neurochem res**, v. 16, p. 295-308, 1991.

ILAE - Proposal for revised clinical and electroencephalographic classification of epileptic seizures. From the Commission on Classification and Terminology of the International League Against Epilepsy. **Epilepsia**, v. 22, n. 4, p. 489-501, 1981.

JACOBS, B. L., PRAAG, H., GAGE, F. H., Adult brain neurogenesis and psychiatry: a novel theory of depression. **Mol Psychiatry**, v. 5, n. 3, p. 262-269, 2000.

JALAVA, M., SILLANPAA, M., Physical activity, health-related fitness, and health experience in adults with childhood-onset epilepsy, a controlled study. **Epilepsia**, v. 38, p. 424-429, 1997.

JONES, T. A., CHU, C.J., GRANDE, L.A., GREGORY, A.D., Motor skills training enhances lesion-induced structural plasticity in the motor cortex of adult rats. **J Neurosci**, v. 15, n. 19, p. 10153-10163, 1999.

KELLY, K. M., NADON, N. L., MORRISON, J. H., THIBAUT, O., BARNES, C. A., BLALOCK, E. M., The neurobiology of aging. **Epilepsy Research**, v. 68, p. 5–20, 2006.

KIM, S. H., KIM, H. B., JANG, M. H., LIM, B. V., KIM, Y. J., KIM, Y. P., KIM, S. S., KIM, E. H., KIM, C. J., Treadmill exercise increases cell proliferation without altering of apoptosis in dentate gyrus of Sprague-Dawley rats. **Life Sci**, v. 71, n. 11, p. 1331-1340, 2002.

KOSAKA, T., KOSAKA, K., NAKAYAMA, T., HUNZIKER, W., HEIZMANN, C. W., Axons and axon terminals of cerebellar purkinje cells and basket cells have higher levels of parvalbumin immunoreactivity than somata and dendrites: quantitative analysis by immunogold labeling. **Brain Res**, v. 93, p. 483-491, 1993.

KRAMER, A. F., HAHN, S., COHEN, N. J., BANICH, M. T., MCAULEY, E., HARRISON, C. R., CHASON, J., VAKIL, E., BARDELL, L., BOILEAU, R. A., COLCOMBE, A., Ageing, fitness and neurocognitive function. **Nature**, v. 40, p. 418-419, 1999.

KUIJER, A., Epilepsy and exercise, electroencephalographical and biochemical studies. In: Wada, J. A., Penry, J. K., ed. - **Advances in Epileptology: The 10th Epilepsy International Symposium**, v. 10, p. 543-544, 1980.

LATHE, R., Hormone and Hippocampus. **J. Endocrinol**, v. 169, p. 205-231, 2001.

LAUTERBORN, J. C., ISACKSON, P. J., GALL, C. M., Seizure-induced increases in NGF mRNA exhibit different time courses across forebrain regions and are biphasic in hippocampus. **Exp Neurol**, v. 125, n. 1, p. 22-40, 1994.

LEMAIRE, V., KOEHL, M., LEMOAL, M. D. N., Abrous, Prenatal stress produces learning deficits associated with an inhibition of Neurogenesis in the hippocampus, **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, v. 97, p. 11032–11037, 2000.

LOIS, C., ALVAREZ-BUYLLA, A., Long distance neuronal migration in the adult mammalian brain. **Science**, v. 264, p. 1145-1148, 1994.

LOPEZ, J. F., AKIL, H., WATSON, S. J., Role of biological and psychological factors in early development and their impact on adult life-neural circuits mediating stress. **Biol Psychiat**, v. 46, p. 1461-71, 1999.

MAGARINÓS, A. M., VERDUGO, J. M., MCEWEN, B. S. Chronic stress alters synaptic terminal structure in hippocampus. **Proc Natl Acad Sci**, v. 94, p. 14002-14008, 1997.

MARTINSEN, E. W., MEDHUS, A., SANDVIK, L., Effects of aerobic exercise on depression: a controlled study. **Br Med J**, v. 13, p. 291-292, 1985.

MC NAMARA, J. O., Cellular and molecular basis of epilepsy. **J. Neurosci**, v. 14, p. 3413-3425, 1994.

MIKKONEN, M., SOININEN, H., ALAFUZOF, I., MIETTINEN, R., Hippocampal plasticity in Alzheimer's disease. **Rev. Neurosci**, v. 12, p. 311-325, 2001.

NAKKEN, K. O., Physical exercise in outpatients with epilepsy. **Epilepsia**, v. 31, p. 88-94, 1990.

NEEPER, S. A., GOMEZ-PINILLA, F., CHOI, J., COTMAN, C., Exercise and brain neurotrophins. **Nature**, v. 373, n. 6510, p. 109-110, 1995.

NEUSTADT, A. A. R., ALEJANDRE, H., GARCIA, C., IVY, A. S., CHEN, M. J., hippocampal Brain-Derived Neurotrophic Factor Expression Following Treatment with Reboxetine, Citalopram, and Physical Exercise. **Neuropsychopharmacology**, v. 29, p. 2189-2199, 2004

OGUNYEMI, A. O., GOMEZ, M. R., KLASS, D. W., Seizure induced by exercise. **Neurology**, v. 38, p. 633-634, 1988.

OLIVEIRA, R. J., FURTADO, A. C., Envelhecimento, sistema Nervoso e o exercício Físico. **Educación Física y Deportes**, v. 4, n. 15, p. 8-99, 1999, disponível em <http://www.efdeportes.com>, revista digital, acesso em 21 de Julho de 2008

OLSON, A. K., EADIE, B. D., ERNST, C., CHRISTIE, B. R., Environment Enrichment and Voluntary Exercise Massively Increase Neurogenesis in the Adult Hippocampus via Dissociable Pathways. **Hippocampus**, v. 16, p. 250-260, 2006.

RICHARD, J. J., The neuropathology of alzheimers disease. Investigated by transplantation of mouse trisomy 16 hippocampal tissues. **Tins**, v. 14, n. 8, p. 334-338, 1991.

SLOVITER, R. S., Calcium-binding protein (calbindin-D28k) and parvalbumin immunocytochemistry: localization in the rat hippocampus with specific reference to the selective vulnerability of hippocampal neurons to seizure activity. **J Comp Neurol**, v. 280, p. 183-196, 1989.

SMITH, A. D., ZIGMOND, M. J., Can the brain be protected through exercise? Lessons from an animal model of parkinsonism. **Experimental Neurology**, v. 184, p. 31-39, 2003.

STEWART, R., RICHARDS, M., BRAYNE, C., MANN, A., Vascular risk and cognitive impairment in an older, British, African-Caribbean population. **J AM Geriatr Soc**, v. 49, n. 3, p. 263-269, 2001.

TRELLES, L., El envejecimiento del sistema nervioso: Aspectos estructurais y bioquimicos. **Rev . Neuropsiquiatr**. v. 49, n. 4, p. 192-202, 1986.

TROJAN, S., POKORNY, J., Theoretical Aspects of Neuroplasticity. **Physiological Research**, v. 48, p. 87-97, 1999.

UYSAL, N., TUGYAN, K., KAYATEKIN, B. W., ACIKGOZ, O., BAGRIYANIK, H. A., GONENC, S., OZDEMIR, D., AKSU, I., TOPCU, A., SEMIN, I., The effects of regular aerobic exercise in adolescent period on hippocampal neuron density, apoptosis and spetial memory. **Neuroscience Letters**, v. 383, p. 241-245, 2005.

VAN LINSCHOTEN, R., BACKX, F. J. G., MULDER, O. G. M., MEINARDI, H., Epilepsy and Sports. **Sport med**, v. 10, p. 9-19, 1990.

VAN PRAAG, H., CHRISTIE, B. R., SEJNOWSKI, T. J., GAGE, F. H., Running enhances neurogenesis, learning, and long-term potentiation in mice. **Neurobiology**, v. 96, p. 13427-13431, 1999.

VAN PRAAG, H., SHUBERT, T., ZHAO, C., GAGE, F.H., Exercise enhances learning and hippocampal neurogenesis in aged mice. **The Journal of Neuroscience**, v. 25, p. 8680-8665, 2005.

VAYNMAN, S., GOMES-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.

VISSING, J., ANDRSEN, M., DIEMER, N. H., Exercise-induced changes in local cerebral glucose utilization in the rat. **J. cereb. Blood flow metab**, v. 16, p. 729-736, 1996.

WALCZAK, T. S., Neocortical temporal lobe epilepsy: characterizing the syndrome. **Epilepsia**, v. 36, n. 7, p. 633-635, 1995.

WIESER, H. G., Epilepsy surgery (Review) **Baillieres clin neurol**, v. 5, p. 849-875, 1996.

WILLIAMS, V. L., ROTH, D. L., RUIZ, L. L., Barriers to exercise in adults with epilepsy. **Poster presented at the annual meeting of the American Psychological Association**, San Francisco, 1991.

# Livros Grátis

( <http://www.livrosgratis.com.br> )

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)  
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)  
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)  
[Baixar livros de Matemática](#)  
[Baixar livros de Medicina](#)  
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)  
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)  
[Baixar livros de Meteorologia](#)  
[Baixar Monografias e TCC](#)  
[Baixar livros Multidisciplinar](#)  
[Baixar livros de Música](#)  
[Baixar livros de Psicologia](#)  
[Baixar livros de Química](#)  
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)  
[Baixar livros de Serviço Social](#)  
[Baixar livros de Sociologia](#)  
[Baixar livros de Teologia](#)  
[Baixar livros de Trabalho](#)  
[Baixar livros de Turismo](#)