

Exercício físico promove neuroproteção estrutural e funcional em ratos com isquemia cerebral

Physical exercise promotes neuroprotection structural and functional in rats with cerebral ischemia

Laila Cristina Moreira Damázio¹, Raphael Teixeira Rocha Melo², Maira de Castro Lima³, Vanessa Guedes Pereira⁴, Rosy Iara Maciel de Azambuja Ribeiro⁵, Natália Ribeiro Alves⁶, Betânia Souza Monteiro⁷, Antônio José Natali⁸, Ricardo Junqueira Del Carlo⁹, Izabel Regina dos Santos Costa Maldonado¹⁰

RESUMO

Objetivo. O presente estudo investigou o desempenho motor e o volume de infarto cerebral em ratos sedentários ou que praticaram exercício físico antes e após a isquemia cerebral, promovida por oclusão transitória da artéria cerebral média (OACM). **Método.** Quarenta e oito ratos Wistar, foram randomizados em dois grupos, um submetido à OACM e o outro apresentando ausência da isquemia. Ambos os grupos foram subdivididos em AI (n=6): animais que realizaram exercício físico prévio a OACM; DI (n=6): animais que realizaram exercício físico após a OACM; ADI (n=6): animais que realizaram exercício físico antes e após a OACM e SI (n=6): animais que não realizaram exercício. O treinamento físico na esteira foi realizado por 6 semanas (30 min/dia), 5 dias na semana. **Resultados.** Os resultados demonstraram perda de peso nos animais SI após o procedimento de OACM (81 dias) e no final do experimento no grupo ADI (p<0,0001). Os animais dos grupos AI e ADI apresentaram menor frequência de erros no teste passo em falso e barras paralelas aos 76 dias. **Conclusão.** Ao final do experimento o grupo ADI apresentou melhor desempenho motor nos testes funcionais e menor volume de infarto cerebral.

Unitermos. Exercício Físico, Isquemia Cerebral, Habilidades Motoras, Infarto Cerebral

Citação. Damázio LCM, Melo RTR, Lima MC, Pereira VG, Ribeiro RIMA, Alves NR, Monteiro BS, Natali AJ, Del Carlo RJ, Maldonado IRSC. Exercício físico promove neuroproteção estrutural e funcional em ratos com isquemia cerebral.

1. Fisioterapeuta, Doutora pelo Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Estrutural, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, Brasil.

2. Biólogo, Mestre pelo Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Estrutural, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, Brasil.

3. Fisioterapeuta, Doutora, Professora do Grupo de Atuação Docente de Morfologia, Universidade Federal de São João Del Rei - CCO, Divinópolis-MG, Brasil.

4. Médica Veterinária, Mestre pelo Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, Brasil.

5. Bióloga, Doutora, Professora do Grupo de Atuação Docente de Morfologia, Universidade Federal de São João Del Rei - CCO, Divinópolis-MG, Brasil.

6. Bióloga, Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Saúde, Universidade Federal de São João del-Rei-CCO, Divinópolis-MG, Brasil.

7. Médica Veterinária, Doutora pelo Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, Brasil.

8. Educador Físico, Professor e Pesquisador do Departamento de Educação Física, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, Brasil.

9. Médico Veterinário, Professor e Pesquisador do Departamento de Veterinária, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, Brasil.

10. Bióloga, Professora, Pesquisadora e Orientadora no Programa de Pós-graduação em Biologia Celular e Estrutural, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, Brasil.

ABSTRACT

Objective. The present study investigated the engine performance and of volume of cerebral infarction in sedentary rats or who practiced physical exercise before and after cerebral ischemia, promoted by transitory middle cerebral artery occlusion (MCAO). **Method.** Forty-eight rats were randomized into two groups, one subjected to MCAO and the other on the absence of ischemia. Both groups were subdivided into AI (n=6): animals that did exercise prior to MCAO; DI (n=6): animals that did exercise after MCAO; ADI (n=6): animals that did exercise before and after MCAO and SI (n=6): animals that did not exercise. Physical training was performed on the mat for 6 weeks (30min/day), 5 days a week. **Results.** The results showed weight loss in animals of group SI after the MCAO procedure (81 days) and at the end of the experiment the of ADI group (p<0.0001). The animals in groups AI and ADI showed lower frequency of errors in the test misstep and parallel bars in 76 days. **Conclusion.** At the end of the experiment the ADI group showed better motor performance in functional tests and reduced volume of cerebral infarction.

Keywords. Exercise, Cerebral Ischemia, Motor Skills, Cerebral Infarction

Citation. Damázio LCM, Melo RTR, Lima MC, Pereira VG, Ribeiro RIMA, Alves NR, Monteiro BS, Natali AJ, Del Carlo RJ, Maldonado IRSC. Physical exercise promotes neuroprotection structural and functional in rats with cerebral ischemia.

Trabalho realizado no Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Estrutural da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, Brasil.

Endereço para correspondência:

Izabel Regina Santos Costa Maldonado
R. Liberdade, 360 – Bairro Inconfidência
CEP 36570-000, Viçosa-MG, Brasil
E-mail: irscosta@ufv.br

Original

Recebido em: 16/03/15

Aceito em: 11/11/15

Conflito de interesses: não

INTRODUÇÃO

A isquemia cerebral é importante causa de mortalidade e morbidade¹. Na lesão estão caracterizadas duas áreas, uma central, com morte neuronal, e outra denominada de penumbra, com irrigação parcial e células ainda viáveis². Geralmente após a isquemia cerebral em ratos ocorre disfunção motora, sensorial e cognitiva³ e, conseqüentemente, a reabilitação física parece ser uma estratégia clínica para recuperação dos portadores⁴.

Existem algumas terapias que objetivam a reabilitação de animais com isquemia cerebral, dentre elas, destaca-se a prática de exercícios físicos, que tem sido utilizada como mecanismo de neuroproteção⁵⁻⁷ pois, promove a integração de vários impulsos neuronais cerebrais, permitindo mudanças plásticas que beneficiam as estruturas encefálicas comprometidas pela lesão⁸⁻¹¹.

O programa de exercício físico interfere de diferentes formas no cérebro dos ratos portadores de isquemia cerebral¹², e quanto mais cedo é iniciada a reabilitação, maior será a neuroproteção^{6,13}. O exercício físico de intensidade moderada diminui a apoptose celular, aumenta a presença de fatores neurotróficos^{14,15}, promove a biogênese mitocondrial¹⁶ e a angiogênese¹⁷.

O exercício físico realizado previamente à isquemia cerebral também promove neuroproteção do cérebro do rato^{7,18} e, dentre os mecanismos neuroprotetores estão a diminuição da reação inflamatória e do edema cerebral⁶, além de promover aumento da síntese do fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) e do fator de crescimento neuronal (NGF)^{19,20}. A expressão desses fatores neurotróficos é importante no processo de proliferação, maturação e sobrevivência das células neuronais²¹.

O presente estudo investigou o desempenho motor e o volume de infarto cerebral em ratos sedentários ou que praticaram exercício físico antes e após a isquemia cerebral, promovida por oclusão transitória da artéria cerebral média.

MÉTODO

Amostra

Cinquenta ratos Wistar, machos, provenientes do biotério central da Universidade Federal de Viçosa, com peso médio de 138,7±2,18g, 30 dias, que foram mantidos em gaiolas, com acesso livre a água e ração, em

fotoperíodo de 12 horas, temperatura ambiente entre 21 e 22°C e umidade relativa do ar de 60-70%. Os animais foram pesados no início do experimento (30 dias), imediatamente antes (76 dias) e após (81 dias) o procedimento cirúrgico e ao final do experimento (126 dias). Todos os procedimentos realizados foram aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal de Viçosa (protocolo 32/2011).

Procedimento

Vinte e quatro animais foram submetidos à isquemia por oclusão transitória da artéria cerebral média (OACM) e distribuídos (Tabela 1) nos seguintes subgrupos: AI (n=6): realizaram exercício na esteira (*Insight Instrumentos*[®], Ribeirão Preto-SP) previamente à realização da isquemia; DI (n=6): realizaram exercício na esteira após a isquemia; ADI (n=6): realizaram exercício antes e após a isquemia e SI (n=6): não realizaram exercício. Outros vinte e quatro animais (controle) foram submetidos ao acesso cirúrgico, mas não à OACM, e foram distribuídos (Tabela 1) nos seguintes subgrupos: AC (n=6): treinados antes da cirurgia; DC (n=6): treinados após a cirurgia; ADC (n=6): treinados antes e após a cirurgia e SC (n=6): não treinados na esteira.

Treinamento Físico

Os animais exercitados antes do procedimento cirúrgico foram adaptados ao exercício em esteira, por cinco dias, na velocidade de 10-12m/min, durante 12 min/dia antes dos procedimentos cirúrgicos.

Após o período de adaptação, os ratos pertencentes aos grupos exercitados previamente à cirurgia (AI, AC, ADI, ADC) foram submetidos ao exercício na esteira.

Tabela 1. Distribuição dos quarenta e oito ratos segundo os grupos experimentais.

Grupos Experimentais	Exercício Prévio	Exercício Posterior	Exercício prévio e posterior	Sedentário
Animais submetidos à isquemia cerebral	AI (n=6)	DI (n=6)	ADI (n=6)	SI (n=6)
Animais operados, mas sem isquemia cerebral	AC (n=6)	DC (n=6)	ADC (n=6)	SC (n=6)

ra, sem inclinação, por seis semanas, cinco dias por semana, durante 30min/dia²², na velocidade de 15m/min^{5,7}. A velocidade do exercício foi gradualmente aumentada, sendo que no primeiro dia correram com 10m/min, no segundo 12m/min e do terceiro dia em diante correram com velocidade de 15m/min^{5,7}.

Os ratos alocados nos grupos que exercitaram após a cirurgia (DI, DC, ADI, ADC) também foram submetidos a três dias de avaliação neurológica após a isquemia e a falsa cirurgia e em seguida realizaram um período de adaptação aos exercícios físicos de quatro dias. Dessa forma, o treinamento iniciou sete dias após o procedimento cirúrgico. O exercício físico após a OACM (DI e ADI) dos animais do grupo controle (DC e ADC) durou seis semanas e os ratos correram por 30 min/dia, na esteira sem inclinação, durante cinco dias por semana²², com velocidade entre 8 a 12m/min^{6,10}. A velocidade do exercício foi gradualmente aumentada, sendo que no primeiro dia os ratos correram com 8 m/min., no segundo 10 m/min. e do terceiro dia em diante correram 12m/min^{6,10,16}. Os quarenta e oito ratos que conseguiram se exercitar no período de adaptação por 2 minutos na velocidade de 8, 11 e 12m/min foram incluídos no estudo e prosseguiram na pesquisa.

A metodologia de exercícios e a cronologia dos exames realizados no experimento estão resumidamente descritas na Figura 1.

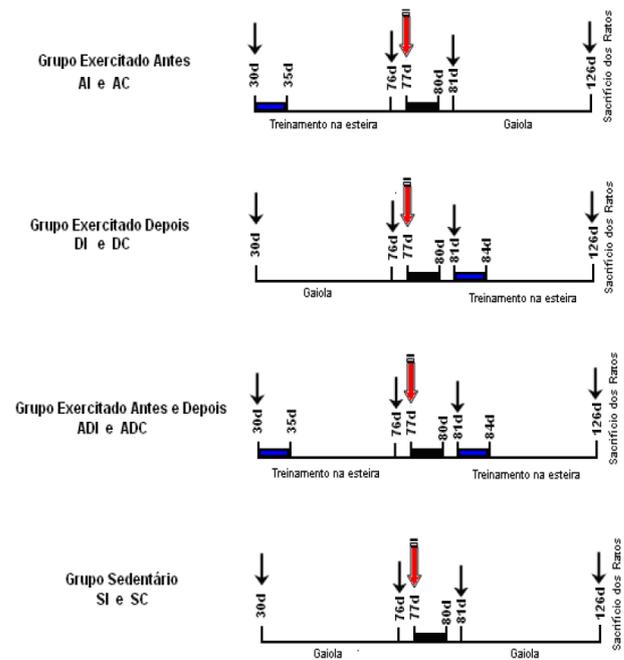
Oclusão da artéria cerebral média

Os animais receberam analgesia pré-emptiva com fentanil (0,3mg/Kg/IM), foram sedados com Diazepam (2,5mg/Kg resp., i.p.) e anestesiados com Isoflurano em circuito anestésico com oxigênio 100%. Foi realizada antimicrobianoprofilaxia com enrofloxacina (10mg/Kg) por via intramuscular.

Após a anestesia, foi administrada por via intraperitoneal atropina diluída em solução salina a 2% (0,1mL por animal) para a prevenção de arritmias cardíacas e hipersecreção brônquica secundária à estimulação mecânica do nervo vago durante a operação.

O procedimento cirúrgico utilizado para a realização da oclusão transitória da artéria cerebral média (ACM)²³. Após tricotomia e antisepsia da região cervical ventral, foi realizada incisão sagital mediana de aproxi-

Figura 1. Representação dos procedimentos realizados nos grupos: exercitado antes (AI e AC), exercitado depois (DI e DC), exercitado antes e depois (ADI e ADC) e grupo sedentário (SI e SC). Dia da OACM (AI, DI, ADI e SI) ou do procedimento cirúrgico no grupo controle (AC, DC, ADC e SC): (). Dias das avaliações funcionais utilizando o teste passo em falso e barras paralelas: (). Período de avaliação neurológica e observação dos animais para confirmação da isquemia cerebral no grupo OACM e acompanhamento do grupo controle: (). Os grupos (AI, AC, DI, DC, ADI e ADC) submetidos ao treinamento físico na esteira passaram por um período de adaptação: ().



madamente 3cm de comprimento. Os tecidos foram divididos até a exposição da bifurcação da artéria carótida comum (ACC) esquerda. O ramo pterigopalatino da artéria carótida interna (ACI) foi clampeado em sua origem. A artéria carótida externa (ACE) foi ligada com fio Vicryl n.0 em sua porção distal da bifurcação da ACC. Após a ACC e a ACI terem sido clampeadas, a ACE foi seccionada para passagem do fio de oclusão (monoflamentado para oclusão de silicone, 5-0 de diâmetro e 0,12m de comprimento, Docol®). O fio foi introduzido através da ACE esquerda no interior da ACI até a origem da ACM, aproximadamente 20-21mm de distância em relação à bifurcação da ACC. Para permitir a passagem do fio de oclusão, o clipe da ACI foi removido. Para determinar o comprimento, os fios foram previamente marcados em 18, 20 e 22mm no seu comprimento. A introdução de 20mm do fio de oclusão associada à discreta resistência à passagem do fio indicou o local da origem da ACM. A

incisão cirúrgica foi fechada, mantendo o fio de oclusão e o clipe da ACC.

O fio e o clipe permaneceram por 60 minutos⁶, quando o animal foi novamente anestesiado, o fio foi retirado e a porção da ACE proximal à bifurcação da ACC (por onde foi introduzido o fio de oclusão) foi ligada. Foi realizada aproximação dos tecidos e dermorrafia com náilon 3-0.

Após a cirurgia, os animais foram mantidos em recuperação por duas horas sob luz quente para a manutenção da temperatura corporal entre 36-38°C, com água e comida. O fundo da gaiola foi coberto com papel absorvente por até 12 horas e em seguida os animais foram transferidos para caixas forradas com maravalha. Para reposição de líquido corporal foi injetado diariamente 10 mL de solução salina intraperitoneal durante os três primeiros dias de observação²⁴.

Escala de avaliação neurológica

Foi utilizada a escala para o modelo de OACM em ratos²⁵, que possui escores de 0 a 4, sendo que quanto maior o escore, pior é o déficit neurológico. No primeiro dia após a cirurgia, os animais que apresentaram escore quatro foram incluídos no experimento e utilizados nos subgrupos AI (exercício antes da OACM); DI (exercício após OACM); ADI (exercício antes e depois da OACM) e SI (sedentário e OACM).

Avaliação funcional

Os animais foram avaliados com dois diferentes testes motores (teste passo em falso e teste das barras paralelas), aplicados aos 30, 76, 81 e 126 dias. Três avaliadores foram treinados antes da aplicação dos testes, que foi realizada de forma cega. A média dos erros cometidos pelos ratos, nos dois testes funcionais neurológicos, foi calculada posteriormente.

Para realização do teste passo em falso, foi utilizada uma placa (estrutura) gradeada de 100 x 50cm, com intervalo de grade de 3 x 3cm (9cm²). A duração do teste foi de três minutos, sendo o erro considerado quando a pata do animal passava por entre a grade²⁶.

Para realização do teste das barras paralelas foram utilizadas duas plataformas de madeira unidas por barras paralelas de metal (115cm), com um estímulo aversivo

(choque de baixa intensidade) nas extremidades das barras, forçando o animal a caminhar sobre estas. O teste teve a duração de cinco minutos e foi considerado erro quando o animal colocou as duas patas na mesma barra ou quando a pata passou entre as duas barras ou por fora²⁶.

Coloração e mensuração do volume de infarto

Depois de 126 dias, todos os animais foram anestesiados com injeção intraperitoneal de Ketamina 1% (30mg/Kg) e xilazina (4mg/Kg). Na seqüência, foram perfundidos transcardiacamente com solução salina heparinizada (0,9% de NaCl contendo 5000UI de heparina/L) por 5 minutos, seguidos da perfusão com solução a 4% de paraformaldeído, por mais 5 minutos. Em seguida, os cérebros foram removidos e fatiados em secções de 1 mm no plano coronal. As secções foram coradas com solução de 2% de trifeniltetrazólio de cloreto-2,3,5 (TTC; Vetec; Brazil), a 37°C, por 30 minutos, para determinar a viabilidade do tecido cerebral²⁷. O volume de infarto foi calculado em imagens de todas as secções dos cérebros, digitalizadas por um scanner de mesa (HP *scanjet* M1120MFP resolução de 300dpi) e, as áreas de infarto foram calculadas utilizando o programa *Image J software* (*Image-Pro Plus*, versão 4,5, *Windows* 98). O volume de infarto foi calculado pela soma de todas as áreas de infarto cerebral nas secções de cada animal. Para diminuir o erro introduzido pelo edema do tecido cerebral, foi utilizado o método indireto para cálculo do volume de infarto, que foi considerado igual à área do hemisfério contralateral, subtraindo a área não infartada do hemisfério ipsilateral. A porcentagem foi obtida pela divisão do volume de infarto pela área do hemisfério contralateral multiplicado por 100%²⁸.

Análise estatística

As análises das médias entre os diferentes grupos foram realizadas pelo teste *One-Way ANOVA*, seguido do *Post-hoc de Tukey*, considerando o nível de significância de $p < 0,05$. Os resultados foram expressos em média ± erro padrão da média (SEM). As variáveis analisadas foram o peso corporal, desempenho funcional e volume de infarto cerebral.

RESULTADOS

Análise do peso corporal

Todos os animais (48 ratos) ganharam peso corporal durante o período experimental, verificando-se aumento das médias de peso corporal entre o início e o final do experimento ($p < 0,0001$). Antes do procedimento cirúrgico e da OACM, aos 76 dias, não foi observada diferença entre os pesos corporal de todos os animais. Após a indução da isquemia cerebral (81 dias) o grupo SI apresentou diminuição do peso corporal ($p < 0,0001$).

Testes funcionais

Os dados dos testes funcionais realizados com 30 dias, não identificaram diferença entre os grupos em relação aos testes passo em falso e barras paralelas. Os animais com 76 dias, exercitados antes da isquemia cerebral, demonstraram frequência de erros menor no teste passo em falso ($p < 0,0001$) e nas barras paralelas ($p < 0,0001$) em comparação com os ratos sedentários (Figura 2). Os animais do grupo controle, que exercitaram antes da cirurgia também apresentaram frequência de erros menor nos testes funcionais em comparação com os animais do grupo sedentário ($p < 0,0001$).

Com 81 dias os testes funcionais demonstraram diferenças, os grupos com isquemia apresentaram maior frequência de erros em relação aos grupos controle, tanto no teste passo em falso, quanto nas barras paralelas

($p < 0,05$). Os ratos do grupo AI demonstraram redução na frequência de erros cometidos no teste passo em falso ($p < 0,05$), em comparação com o grupo SI. No teste das barras paralelas, os ratos do grupo ADI demonstraram menor frequência de erros quando comparados aos outros grupos com isquemia cerebral ($p < 0,0001$). Os animais do grupo controle que se exercitaram antes do procedimento cirúrgico, apresentaram melhor desempenho no teste passo em falso ($p = 0,0014$) e nas barras paralelas ($p = 0,0011$) em comparação com os outros animais do grupo controle.

No final do experimento, também foram identificadas diferenças entre os grupos quanto à frequência de erros nos testes funcionais ($p < 0,0001$). O grupo SI apresentou mais erros no teste passo em falso ($p < 0,0001$) e nas barras paralelas ($p < 0,0001$), quando comparado aos animais dos outros grupos com isquemia cerebral. Os animais do grupo ADI apresentaram melhor desempenho nos dois testes funcionais (Figura 3). Os animais do grupo controle exercitados antes do procedimento cirúrgico, também apresentaram menor frequência de erros no teste passo em falso ($p < 0,0001$). Os animais do grupo exercitados apenas depois do procedimento cirúrgico cometeram mais erros nos dois testes funcionais ($p < 0,0001$).

Medida do Volume de Infarto Cerebral

As análises das fatias dos cérebros dos ratos dos grupos controle não demonstraram área de infarto no hemisfério cerebral esquerdo. As imagens das fatias coronais dos cérebros dos ratos com isquemia cerebral demonstraram uma diminuição das áreas dos hemisférios cerebrais esquerdos correspondentes à região de infarto.

Os grupos AI e ADI demonstraram menores áreas corticais de infarto no hemisfério cerebral esquerdo quando comparado aos grupos SI e DI ($p < 0,0001$). Ao comparar o volume de infarto cerebral entre os grupos SI e DI e o grupo AI com o ADI, não foi possível identificar diferenças entre eles (Figura 4).

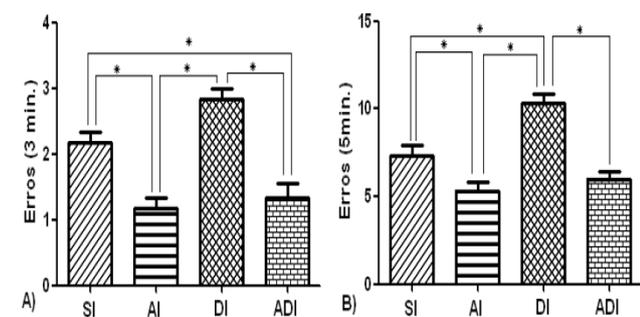
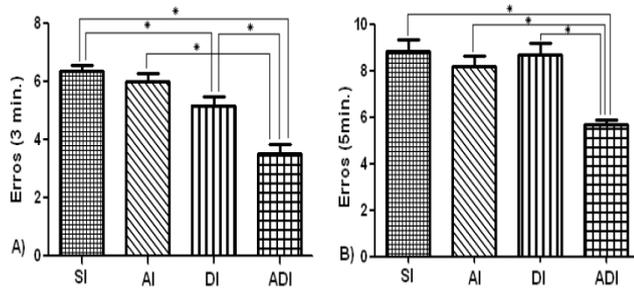


Figura 2. Frequência de erros cometidos nos testes funcionais pelos animais com 76 dias. O grupo SI - sedentário com isquemia cerebral, AI - Exercitou antes da isquemia cerebral, DI - Exercitou após a isquemia cerebral e ADI - Exercitou antes e após a isquemia cerebral. No teste passo em falso (A) durante três minutos e no teste das barras paralelas (B) durante cinco minutos de observação. Os animais dos grupos AI ($n=6$) e ADI ($n=6$) demonstraram menor frequência de erros no teste passo em falso ($p < 0,0001$) e nas barras paralelas ($p < 0,0001$) em comparação com os animais do grupo sedentário. Médias ± Erro padrão; * $p < 0,0001$.

DISCUSSÃO

A isquemia cerebral causa comprometimento motor que prejudica o desempenho funcional dos ratos, e isso foi observado nos animais submetidos ao procedimento de OACM do presente estudo. Esses animais

Figura 3. Frequência de erros cometidos nos testes funcionais pelos animais com 126 dias. O grupo SI - sedentário com isquemia cerebral, AI - Exercitou antes da isquemia cerebral, DI - Exercitou após a isquemia cerebral e ADI - Exercitou antes e após a isquemia cerebral. No teste passo em falso (A) durante três minutos e no teste das barras paralelas (B) durante cinco minutos de observação. Os animais do grupo ADI (n=6) cometeram menor frequência de erros no teste passo em falso ($p<0,0001$) e nas barras paralelas ($p<0,0001$) quando comparado aos animais dos grupos com isquemia cerebral ($p<0,0001$). Médias±Erro padrão; * $p<0,0001$.



apresentaram diminuição significativa do peso corporal, o qual não ultrapassou 30% do seu peso antes do procedimento cirúrgico e, que pode estar relacionada à dificuldade de movimentação, mastigação e a capacidade de segurar o alimento com as patas dianteiras.

O presente estudo demonstrou que um programa de exercício físico realizado antes e depois de um evento isquêmico pode promover melhor desempenho motor e diminuição do volume de infarto cerebral nos ratos com lesão cerebral. O exercício físico regular tem sido utilizado na reabilitação de ratos com isquemia cerebral apontando benefícios funcionais e estruturais no cérebro de animais treinados⁴.

Os dados do presente estudo constataram que os animais do grupo que exercitou apenas depois do evento isquêmico não apresentaram melhor desempenho motor no final do experimento e não foram beneficiados com uma região menor de infarto cerebral. Isso pode estar relacionado com o início tardio dos exercícios físicos (no sétimo dia pós-operatório), pois estudos que iniciaram os exercícios 24 horas após a isquemia cerebral demonstraram menor volume de infarto cerebral quando comparado ao grupo sedentário^{6,10,16}. Após 24 horas da isquemia cerebral a área de infarto aproxima-se de um estado de maturação onde a capacidade de alteração histopatológica permanece diminuída e a recuperação da área de penumbra permanece reduzida²⁹. A velocidade do exercício

físico empregada nesse estudo foi aumentada progressivamente até atingir uma velocidade ideal de 12m/min, na tentativa de minimizar o impacto do exercício físico na lesão cerebral. O presente estudo não utilizou velocidade excessiva após o evento isquêmico, pois o mesmo poderia promover aumento da excitotoxicidade na área de penumbra determinando aumento do volume de infarto cerebral²⁹.

Os resultados atestaram que os animais do grupo controle, exercitados antes da cirurgia, foram beneficiados com o programa de exercício físico, pois apresentaram melhor desempenho nos testes funcionais durante todo o experimento. No grupo com isquemia cerebral, a prática de exercício físico antes da isquemia cerebral promoveu efeitos neuroprotetores no cérebro dos animais treinados e isso foi evidenciado pela diminuição significativa do volume de infarto cerebral nos animais treinados nesta circunstância. A prática de exercício físico após o evento isquêmico, no grupo que exercitou antes e depois, também beneficiou o tecido neuronal permitindo o reaprendizado motor e consequentemente o melhor desempenho motor desses animais nos testes funcionais do presente estudo. O exercício físico estimula a reorganização cortical¹⁹ das áreas de planejamento motor que foram lesadas³⁰, com o estímulo da sinaptogênese, neurogênese, regeneração axonal e consequente recuperação da área de penumbra na lesão isquêmica^{4,9,10,11}.

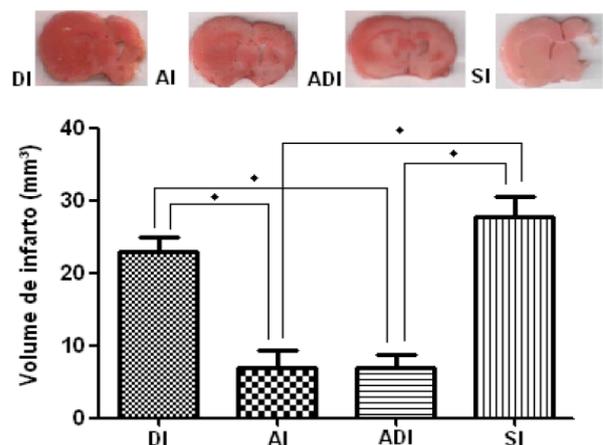


Figura 4. Imagens representativas de seções do hemisfério cerebral direito e esquerdo, 2.20 mm do Paxinos e Watson [44], coradas por TTC, de ratos dos grupos DI, AI, ADI e SI. Barra=1mm. Representação gráfica do volume de infarto cerebral dos grupos submetidos a OACM. Média±Erro padrão; * $p<0,0001$.

Os animais com isquemia cerebral que não praticaram exercício físico apresentaram região de infarto cerebral maior quando comparado aos animais treinados apenas antes e depois. Estes resultados são semelhantes aos encontrados em outros estudos⁵⁻⁷ onde foi demonstrado que o exercício físico promove reabilitação física e recuperação das áreas cerebrais acometidas na isquemia cerebral^{6,10}. A realização do exercício físico previamente à indução da isquemia cerebral promove redução do infarto cerebral por desenvolver neurotolerância endógena à lesão isquêmica⁵. Diversos mecanismos são descritos como fatores de neuroproteção no cérebro de ratos com isquemia cerebral, como: aumento de densidade microvascular⁷, diminuição de proteínas indutoras de apoptose¹⁸, aumento do fator neurotrófico derivado do cérebro²¹ e do fator de crescimento neuronal^{19,20}.

Com isso, o presente estudo demonstra o efeito neuroprotetor, preventivo e melhora da recuperação motora com a prática de exercícios físicos antes e após a isquemia cerebral. Esses dados podem ser extrapolados para os humanos demonstrando a necessidade da prática de exercícios físicos na prevenção de grandes lesões cerebrais, além da necessidade de reabilitação após essa injúria, sendo que, os indivíduos que praticam exercícios antes e após a isquemia cerebral são mais beneficiados com a reorganização neuronal.

CONCLUSÃO

O estudo demonstrou que a realização de um programa de exercício físico antes do evento isquêmico diminui o volume de infarto cerebral beneficiando o processo de reaprendizado motor que foi intensificado pelo programa de exercício físico após a isquemia cerebral. Os animais que exercitaram antes e depois da isquemia cerebral apresentaram melhor desempenho motor nos testes funcionais.

REFERÊNCIAS

1. Boden-Albala B, Sacco RL. The stroke prone individual. *Rev Soc Cardiol Estado de São Paulo* 1999;4:501-8.
2. Strong K, Mathers C, Bonita R. Preventing stroke: saving lives around the world. *Lancet Neurol* 2007;6:182-7. [http://dx.doi.org/10.1016/S1474-4422\(07\)70031-5](http://dx.doi.org/10.1016/S1474-4422(07)70031-5)
3. Kim MW, Bang MS, Han TR, Ko YJ, Yoon BW, Kim JH, et al. Exercise increased BDNF and trkB in the contralateral hemisphere of the ischemic rat brain. *Brain Res* 2005;1052:16-21. <http://dx.doi.org/10.1016/j.brainres.2005.05.070>
4. Phoughman M, Button SG, Chernenko G, Attwood Z, Tucker BA, Mearrow KM, et al. Exercise intensity influences the temporal profile of growth factors involved in neuronal plasticity following focal ischemia. *Brain Res* 2007;1150:207-16. <http://dx.doi.org/10.1016/j.brainres.2007.02.065>
5. Ding Y, Li J, Luan X, Ding YH, Lai Q, Rafols JA, et al. Exercise pre-conditioning reduces brain damage in ischemic rats that may be associated with regional angiogenesis and cellular overexpression of neurotrophin. *Neuroscience* 2004;124:583-91. <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuroscience.2003.12.029>
6. Zhang P, Zhang Q, Pu H, Wu Y, Bai Y, Vosler PS, et al. Very early-initiated physical rehabilitation protects against ischemic brain injury. *Front Biosci* 2012;4:2476-89. <http://dx.doi.org/10.2741/559>
7. Ding YH, Ding YC, Li J, Bessert DA, Rafols JA. Exercise pre-conditioning strengthens brain microvascular integrity in a rat stroke model. *Neurol Res* 2006;28:184-9. <http://dx.doi.org/10.1179/016164106X98053>
8. Ding Y, Li J, Clark J, Diaz FG, Rafols JA. Synaptic plasticity in thalamic nuclei enhanced by motor skill training in rat with transient middle cerebral artery occlusion. *Neurol Res* 2003;25:189-94. <http://dx.doi.org/10.1179/016164103101201184>
9. Nudo RJ. Postinfarct cortical plasticity and behavioral recovery. *Stroke* 2007;38(Suppl 2):840-5. <http://dx.doi.org/10.1161/01.STR.0000247943.12887.d2>
10. Zhang Q, Wu Y, Sha H, Zhang P, Jia J, Hu Y, et al. Early exercise affects mitochondrial transcription factors expression after cerebral ischemia in rats. *Int J Mol Sci* 2012;13:1670-9. <http://dx.doi.org/10.3390/ijms13021670>
11. Yang YR, Chang HC, Wang PS, Wang RY. Motor performance improved by exercises in cerebral ischemic rats. *J Mot Behav* 2012;44:97-103. <http://dx.doi.org/10.1080/00222895.2012.654524>
12. Chung JY, Kim MW, Bang MS, Kim M. The effect of exercise on trkA in the contralateral hemisphere of the ischemic rat brain. *Brain Res* 2010;1353:187-93. <http://dx.doi.org/10.1016/j.brainres.2010.06.057>
13. Seo HG, Kim DY, Park HW, Lee SU, Park SH. Early motor balance and coordination training increased synaptophysin in subcortical regions of the ischemic rat brain. *J Korean Med Sci* 2010;25:1638-45. <http://dx.doi.org/10.3346/jkms.2010.25.11.1638>
14. Chae CH, Kim HT. Forced, moderate-intensity treadmill exercise suppresses apoptosis by increasing the level of NGF and stimulating phosphatidylinositol 3-kinase signaling in the hippocampus of induced aging rats. *Neurochem Int* 2009;55:208-13. <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuint.2009.02.024>
15. Bergami M, Santi S, Formaggio E, Cagnoli C, Verderio C, Blum R, et al. Uptake and recycling of pro-BDNF for transmitter-induced secretion by cortical astrocytes. *J Cell Biol* 2008;183:213-21. <http://dx.doi.org/10.1083/jcb.200806137>
16. Zhang Q, Wu Y, Zhang P, Sha H, Jia J, Hu Y, et al. Exercise induces mitochondrial biogenesis after brain ischemia in rats. *Neuroscience* 2012;205:10-7. <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuroscience.2011.12.053>
17. Chung JY, Kim MW, Bang, Kim M. Increased expression of neurotrophin 4 following focal cerebral ischemia in adult rat brain with treadmill exercise. *PloS One* 2013;8:524-61. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0052461>
18. Liebelt B, Papapetrou P, Ali A, Guo M, Ji X, Peng C, et al. Exercise pre-conditioning reduces neuronal apoptosis in stroke by up-regulating heat shock protein-70 (heat shock protein-72) and extracellular-signal-regulated-Kinase 1/2. *Neuroscience* 2010;166:1091-100. <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuroscience.2009.12.067>
19. Neepser SA, Gomez P, Choi J, Cotman CW. Physical activity increases mRNA for brain-derived neurotrophic factor and nerve growth factor in rat brain. *Brain Res* 1996;726:49-56. [http://dx.doi.org/10.1016/0006-8993\(96\)00273-9](http://dx.doi.org/10.1016/0006-8993(96)00273-9)

20. Gomez P, Dao L, So V. Physical exercise induces FGF-2 and its mRNA in the hippocampus. *Brain Res* 1997;764:1-8. [http://dx.doi.org/10.1016/S0006-8993\(97\)00375-2](http://dx.doi.org/10.1016/S0006-8993(97)00375-2)
21. Ploughman M, Granter-Button S, Chernenko G, Tucker BA, Mearow KM, 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* 2005;136:991-1001. <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuroscience.2005.08.037>
22. Zhang F, Jia J, Wu Y, Hu Y, Wang Y. The effect of treadmill training pre-exercise on glutamate receptor expression in rats after cerebral ischemia. *Int J Mol Sci* 2010;11:2658-69. <http://dx.doi.org/10.3390/ijms11072658>
23. Longa EZ, Weinstein PR, Carlson S, Cummins R. Reversible middle cerebral-artery occlusion without craniectomy in rats. *Stroke* 1989;20:84-91. <http://dx.doi.org/10.1161/01.STR.20.1.84>
24. Menzies SA, Hoff JT, Betz AL. Middle cerebral artery occlusion in rats: a neurological and pathological evaluation of a reproducible model. *Neurosurgery* 1992;31:100-6.
25. Ding YC, Zhou YD, Lai Q, Li J, Park H, Diaz FG. Impaired motor activity and motor learning function in rat with middle cerebral artery occlusion. *Behav Brain Res* 2002;132:29-36. [http://dx.doi.org/10.1016/S01664328\(01\)00405-3](http://dx.doi.org/10.1016/S01664328(01)00405-3)
26. Yang Y, Shuaib A, Li Q. Quantification of infarct size on focal cerebral ischemia model of rats using a simple and economical method. *J Neurosci Methods* 1998;84:9-16. [http://dx.doi.org/10.1016/S0165-0270\(98\)00067-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0165-0270(98)00067-3)
27. Swanson RA, Morton MT, Tsao-Wu G, Savalos RA, Davidson C, Sharp FR. A semiautomated method for measuring brain infarct volume. *J Cereb Blood Flow Metab* 1990;10:290-3. <http://dx.doi.org/10.1038/jcbfm.1990.47>
28. Humm JL, Kozlowski DA, James DC, Gotts JE, Schallert T. Use-dependent exacerbation of brain damage occurs during an early post-lesion vulnerable period. *Brain Res* 1998;783:286-92. [http://dx.doi.org/10.1016/S0006-8993\(97\)01356-5](http://dx.doi.org/10.1016/S0006-8993(97)01356-5)
29. Scremin OU. Cerebral Vascular System. In: Paxinos G. *The Rat Nervous System*. San Diego: Academic Press, 1995, 1167-202p.
30. Jueptner M, Stephan K, Frith C, Brooks D, Frackowiak R, Passingham R. Anatomy of motor learning. I. Frontal cortex and attention to action. *J Neurophysiol* 1997;77:1313-24.