

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BÁSICAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NEUROCIÊNCIAS

EFEITOS COGNITIVOS E MOTORES DO EXERCÍCIO ACROBÁTICO EM
RATOS SUBMETIDOS A HIPOPERFUSÃO ENCEFÁLICA CRÔNICA,
CONSIDERANDO O PAPEL DO DIMORFISMO SEXUAL

ANA PAULA RODRIGUES MARTINI

PORTO ALEGRE

2022

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BÁSICAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NEUROCIÊNCIAS

EFEITOS COGNITIVOS E MOTORES DO EXERCÍCIO ACROBÁTICO EM
RATOS SUBMETIDOS A HIPOPERFUSÃO ENCEFÁLICA CRÔNICA,
CONSIDERANDO O PAPEL DO DIMORFISMO SEXUAL

Orientador: Prof. Dr. Carlos Alexandre Netto

Tese apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Neurociências da
Universidade Federal do Rio Grande
do Sul como requisito parcial para
obtenção do título de Doutora em
Neurociências.

PORTO ALEGRE

2022

AGRADECIMENTOS

. À coordenação e aos professores do Programa de Pós-Graduação em Neurociências, agradeço por proporcionarem um ensino de excelência contribuindo de forma ampla na aquisição de habilidades e expertises dos discentes.

. Ao meu orientador, inicialmente por ter acreditado no meu potencial e na minha pesquisa, por ter sido um facilitador para todas as etapas deste trabalho, especialmente durante a pandemia de COVID-19, por ter acolhido minhas dúvidas e contratemplos, e finalmente por ter se dedicado intensivamente junto a mim na produção intelectual e finalização deste conteúdo. Agradeço não somente os momentos de aprendizagem técnica, mas também todas as palavras de sabedoria nos momentos oportunos que me trouxeram calma e tranquilidade. Isto foi essencial nesta trajetória!

. Aos colegas e amigos do laboratório 35, pois uma pesquisa se faz por meio do esforço coletivo, e certamente o auxílio da equipe foi fundamental em todas as etapas. Especialmente à minha amiga Juliana, com quem sempre pude contar dentro e fora de laboratório; À minha amiga Lívia, pelo seu lindo coração e por estar sempre presente dividindo experimentos e lanches; Aos amigos Thales e Eduarda, agradeço as conversas, risadas e todo o empenho e dedicação nos experimentos. Esta tese também é fruto do esforço de vocês!

. Ao laboratório da professora Carla Dalmaz e aos colegas com quem tive a oportunidade de estreitar laços e também colaboraram para esta tese, especialmente à Nati, que tão gentilmente me repassou inúmeros conhecimentos de forma tão paciente, uma verdadeira inspiração de ser humano e profissional.

. Ao laboratório da professora Lenir Orlandi, que me recebeu sem ressalvas e forneceu todo suporte para a finalização dos experimentos, e no qual tive a felicidade de trabalhar ao lado de amigos!

. Aos demais colegas e amigos do PPG em Neurociências, com quem dividi momentos de conhecimento e diversão no projeto Sinapticando e nos cursos de verão de Neurociências.

. À minha família, que forneceu uma base e valores sólidos e mesmo de longe sempre deram apoio e incentivo para continuar perseverando em meus objetivos. Gratidão!

. Ao Fábio pelo companheirismo, cumplicidade e paciência. Faltam palavras para descrever a minha gratidão por todo apoio que recebi nos momentos de dificuldades. Essa experiência fortaleceu nossos laços. Obrigada por ser meu par!

. À minha mãe Josélia Rodrigues Martini (in memoriam), que partiu cedo mas deixou o seu legado impresso em minha alma! “O estudo é a nossa maior riqueza” já dizia a pedagoga de formação. Graças à ela, o estudo nunca faltou e por isso dedico à ela todas as minhas conquistas acadêmicas. Obrigada por me ensinar a viver intensamente e dar à vida o seu devido valor!

. À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal Nível Superior – Brasil (CAPES) pela bolsa concedida no período e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (Cnpq) por fomentar a pesquisa.

Dedicatória

À minha mãe Josélia Rodrigues Martini, que sempre apoiou e incentivou todas as minhas decisões profissionais e embalou os meus sonhos com amor incondicional.

“Ninguém ignora tudo. Ninguém sabe tudo. Todos nós sabemos alguma coisa. Todos nós ignoramos alguma coisa. Por isso aprendemos sempre.”

Paulo Freire

SUMÁRIO

APRESENTAÇÃO	1
LISTA DE ABREVIATURAS	3
LISTA DE FIGURAS	4
RESUMO	6
ABSTRACT	8
PARTE I	9
1. INTRODUÇÃO	10
1.1 Um panorama sobre a Demência	10
1.2 Demência Vascular	10
1.3 Modelo Experimental de Demência Vascular	14
1.4 Fisiopatologia da Hipoperfusão Encefálica Crônica	18
1.5 Neuroproteção mediada pelo Exercício Físico	20
1.6 Exercício Acrobático	22
1.7 Dimorfismo Sexual e Lesão Encefálica	24
2. JUSTIFICATIVA	26
3. HIPÓTESE	26
4. OBJETIVOS	27
4.1 Objetivo geral	27
4.2 Objetivos Específicos	27
PARTE II	29
CAPÍTULO 1	30
CAPÍTULO 2	77
CAPÍTULO 3	96
PARTE III	141
5. DISCUSSÃO	142
6. CONCLUSÃO	152
7. LIMITAÇÕES	154
8. PERSPECTIVAS	154
9. REFERÊNCIAS	155

APRESENTAÇÃO

Esta tese está estruturalmente organizada e fundamentada nos itens a seguir:

PARTE I:

1. Consta a introdução, contendo o referencial teórico necessário para a compreensão e embasamento da proposta científica.
2. Consta a justificativa do estudo, bem como a relevância científica do tema abordado.
3. Consta a hipótese levantada nesta pesquisa, explanando os principais resultados esperados.
4. Constam os objetivos, aspectos norteadores centrais do trabalho que serão desenvolvidos ao longo dos capítulos 1, 2 e 3.

PARTE II:

CAPÍTULO 1: Artigo publicado no periódico Behavioural Brain Research – “Effects of acrobatic training on spatial memory and astrocytic scar in CA1 subfield of hippocampus after chronic cerebral hypoperfusion in male and female rats”.

CAPÍTULO 2: Short communication a ser submetida ao periódico Behavioural Brain Research – “Behavioral and histological effects of acrobatic training on motricity in male and female rats submitted to chronic cerebral hypoperfusion”.

CAPÍTULO 3: Artigo a ser submetido ao periódico Molecular Neurobiology – “Preventive acrobatic training has sex-specific benefits on hyppocampal

neuroinflammation, oxidative stress, astrocytic proliferation and memory impairments during the acute phase of chronic cerebral hypoperfusion”.

PARTE III:

Consta a discussão geral, abrangendo a interpretação dos resultados obtidos nos artigos 1, 2 e 3.

Constam as conclusões gerais da tese.

Constam as limitações relacionadas à produção deste trabalho.

Constam as perspectivas.

Constam as referências utilizadas na escrita da introdução e discussão desta tese.

LISTA DE ABREVIATURAS

2VO – *two vessel occlusion* - modelo de oclusão de dois vasos

ATP - Adenosina Trifosfato

AVC- Acidente Vascular Cerebral

BCL-2 – linfoma de células B 2

BDNF - Fator Neurotrófico Derivado do Encéfalo

CA1 – área 1 do Corno de Amon no hipocampo

CA3 - área 3 do Corno de Amon no hipocampo

CAT – Catalase

DA - Doença de Alzheimer

DCF - 2'-7'-diclorofluoresceína

DV - Demência Vascular

EROs - Espécies Reativas de Oxigênio

FSE – Fluxo sanguíneo encefálico

GFAP - Proteína Ácida Fibrilar Glial

GPx - Glutathione Peroxidase

HEC - Hipoperfusão Encefálica Crônica

TNF- α - Fator de Necrose Tumoral alfa

IL-1 β – interleucina 1 Beta

MAP2 - proteína associada a microtúbulo-2

NEUN - Proteína Nuclear Neuronal

PARP - Poli (ADP-ribose) polimerase

PSD95 - Proteína de Densidade Pós-Sináptica 95

SOD - Superóxido dismutase

TBARS - Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico

LISTA DE FIGURAS

PARTE I

Figura 1. Lesões vasculares que levam ao comprometimento cognitivo vascular e seus efeitos no encéfalo.	12
Figura 2. Fisiopatologia do dano aos vasos sanguíneos na DV.....	13
Figura 3. Representação esquemática do Polígono de Willis.....	15
Figura 4. Alterações bioquímicas e mecanismos induzidos pela HEC.	17
Figura 5. Representação esquemática das fases correspondentes da HEC.....	19
Figura 6. Imagens de ressonância magnética em ratos mostrando alterações no fluxo sanguíneo encefálico (FSE) do córtex parietal (CP), estriado (ES) e cerebelo (CB) após a oclusão da artéria carótida comum direita (OACCD) e oclusão da artéria carótida comum esquerda (OACCE) e imagens cinzas ponderadas em T2.	20
Figura 7. Efeitos do exercício em modelo animal de 2VO.	21
Figura 8. Exemplos de circuitos elevados empregados na modalidade acrobática. A, tarefa da corda; B, tarefa com obstáculos; C, tarefa de cordas paralelas; D, tarefa da ponte de cordas; E, tarefa da ponte de arame.	23

PARTE II

CAPÍTULO 1

Figure 1. Experimental Design.....	36
Figure 2. The acrobatic training circuit. (A) Circuit in the first and second weeks; (B) Circuit in the third and fourth weeks; (C) Rat on the rope; (D) Rat in the grid and (E) Rat on the rope bridge. Performance during acrobatic training in the first (F), second (G), third (H) and the fourth week (I)	44
Figure 3. Morris Water Maze performance during 6 days of training (A) and Area under the learning curve (B).....	47
Figure 4. Representative images of Probe trial navigation (A). Distance traveled in the target quadrant (B).....	49
Figure 5. Representative images of Hematoxylin Eosin-stained coronal brain sections at -3.3 mm of bregma (A). Volume of brain ventricles (B).	51
Figure 6. Representative image of NeuN optical density in the CA1 subfield of hippocampus. (A). NeuN Optical density (B).	52
Figure 7. Representative images of astrocytes count (A). Astrocyte count (B).	53
Figure 8. Representative image of Sholl's concentric circles method (A). Length of astrocytic primary processes (B).	54
Figure 9. Representative images of hippocampus flow cytometry. Side scatter (SSC) and Forward scatter (FSC) of the assessed cell population (A). Unstained sample used as negative control for autofluorescence (B). Stained sample with both Mitotracker green	

(MTG) and red (MTR) used for analysis of mitochondrial mass and potential (C). Mitochondrial mass and potential (D).	55
--	----

CAPÍTULO 2

Figure 1. Experimental Design (A).	86
Figure 2. Ladder Walking Test. (A) Forelimbs Step Quality. (B) Hindlimbs Step Quality. (C) Hindlimbs number of errors. (D) Hindlimbs severity of errors.	87
Figure 3. Cerebral structures volume. (A) Cortex. (B) Striatum.	88
Figure 4. Count of neurons in motor cortex (A) and striatum (B).	89

CAPÍTULO 3

Figure 1. Experimental design (A) and acrobatic training circuit (B, C and D).	110
Figure 2. Protein quantification by western blot three days after 2VO and representative images of protein bands (A). Ratio of AKT phosphorylated by AKT (B). COX IV (C). GFAP (D). Cleaved caspase-3 (E). PARP (F).....	111
Figure 3. Analysis of oxidative stress three days after 2VO. Catalase (A). Glutathione Peroxidase (B). Superoxide Dismutase (C). DCF (D).....	112
Figure 4. Representative images of GFAP and IL-1 β immunofluorescence (A). GFAP optical density in CA1 area (B).	114
Figure 5. Representative images of GFAP and IL-1 β immunofluorescence in CA3 area (A). GFAP optical density (B).	115
Figure 6. Representative images of NeuN and cleaved caspase-3 immunofluorescence in CA1 area (A). NeuN optical density (B).	116
Figure 7. Representative images of NeuN and cleaved caspase-3 immunofluorescence in CA3 area (A). NeuN optical density (B).	117
Figure 8. Morphological analysis of astrocytes seven days after 2VO. Astrocytes count in CA1 area (A) and CA3 area (D). Number of astrocyte primary processes in CA1 area (B) and CA3 area (E). Length of astrocytic primary processes in CA1 area (C) and CA3 area (F). Representative image of Sholl's concentric circles method (G).	119
Figure 9. Results of object recognition test. Training (A). Index 90 minutes (B). Index 24 hours (C).....	122
Figure 10. Morris Water Maze performance during 6 days of training (A). Area under the learning curve (B).	123

PARTE III

Figura 9. Representação esquemática dos resultados encontrados nos experimentos deste Tese. A e B) Efeitos do protocolo de treinamento acrobático tardio na memória, aprendizagem e desempenho motor C) Efeitos do protocolo de treinamento acrobático precoce na cognição.....	144
---	-----

LISTA DE TABELAS

PARTE II - CAPÍTULO 1

Table 1. Results of Object Recognition test and Probe test performed 24 hours after the last day of training in the Morris Water Maze. 45

Table 2. Correlation between learning and memory parameters of the Water Maze and morphological analyses. 56

PARTE II - CAPÍTULO 2

Table 1. Score of Beam Balance test. 86

PARTE II - CAPÍTULO 3

Table 1. Results of Open Field test and Probe test performed in the Morris Water Maze. 120

RESUMO

A demência vascular causa prejuízos de memória, aprendizagem e motricidade e esta condição pode ser reproduzida experimentalmente pelo modelo de oclusão de dois vasos (2VO). A prática de exercícios físicos beneficia o encéfalo, contribuindo para a neuroproteção por meio de vias celulares e moleculares distintas. A experiência motora complexa proporcionada pelo treinamento acrobático pode influenciar o desempenho funcional, implicando a melhora de cognição e motricidade que é acompanhada pela preservação tecidual. As diferenças entre os sexos são reconhecidas em respostas bioquímicas e comportamentais e também na neuroproteção relacionada às doenças que acometem o encéfalo. Desta forma, a identificação destes mecanismos pode auxiliar a estabelecer potenciais alvos terapêuticos. Esta Tese teve como objetivo investigar os efeitos cognitivos e motores do exercício acrobático no modelo murino de hipoperfusão encefálica crônica, considerando o dimorfismo sexual. No protocolo de treinamento acrobático realizado precocemente, os animais foram submetidos à 2VO após o período de treinamento acrobático. As amostras foram coletadas três e sete dias após a hipoperfusão para a quantificação de proteínas relacionadas à apoptose, mensuração do estresse oxidativo e produção de lâminas imunomarcadas com anti-GFAP, anti-IL-1B, anti-NeuN e anti-caspase 3 clivada. Parte dos animais seguiu para as avaliações no campo aberto, reconhecimento de objetos e labirinto aquático de Morris. Nas fases aguda e subaguda, o treinamento acrobático preveniu a morte neuronal na região CA1 do hipocampo, provavelmente devido à maior ação antioxidante na remoção das EROs, especialmente nas fêmeas. Além disso, o treinamento acrobático precoce preveniu a inflamação local e o remodelamento neurotóxico dos astrócitos após a hipoperfusão, principalmente nos machos, implicando em prevenção do déficit cognitivo de memória e aprendizagem. O protocolo tardio de treinamento iniciou 45 dias após a 2VO e os animais realizaram o teste de reconhecimento de objetos, o labirinto aquático de Morris, o campo aberto, o beam balance test e a escada horizontal. Os hipocampos foram coletados para análise do potencial mitocondrial, conteúdo de DCF e NeuN por citometria de fluxo. O volume do hipocampo, ventrículos, corpo caloso, córtex e estriado foram avaliados pela coloração de H&E e o método de Cavalieri. Além disso, foi realizada a imunomarcagem de anti-GFAP e anti-NeuN na região CA1 a fim de analisar a densitometria óptica, contagem de células e a análise pelos círculos de Sholl nos astrócitos. A coloração de cresil de violeta foi aplicada nas lâminas contendo o córtex motor e o estriado, a fim de realizar a contagem das células. Os danos cognitivos foram revertidos pelo treinamento acrobático principalmente nas fêmeas, que apresentaram melhor retenção da memória. Provavelmente pelo aumento do potencial mitocondrial que promoveu a sobrevivência neuronal no hipocampo e pela melhor remodelação dos astrócitos em comparação com os machos. Além disso, foi encontrado um déficit na qualidade do passo das patas anteriores, no entanto o treinamento acrobático protegeu os neurônios do córtex e estriado, principalmente nas fêmeas, levando ao melhor desempenho funcional nos testes motores. Os resultados sugerem que o treinamento acrobático, tanto precoce como tardio, possui efeito neuroprotetor na cognição e motricidade após a 2VO, beneficiando principalmente as fêmeas, por meio de mecanismos distintos: ativação de vias de sobrevivência neuronal e a remodelamento dos astrócitos. Finalmente, esses achados podem contribuir com estudos futuros e auxiliar a identificação de alvos terapêuticos relacionados à reabilitação clínica de pacientes com demência vascular.

Palavras-chave: Modelo de Oclusão de dois vasos (2VO), Memória, Motricidade, Neuroproteção, Dimorfismo Sexual

ABSTRACT

Vascular dementia causes memory, learning and motricity impairments and this may be reproduced by the two-vessel occlusion (2VO) model. The physical exercises benefits the brain through distinct cellular and molecular pathways. The complex motor experience provided by acrobatic training influences functional performance, cognition and motricity. Differences between genders are recognized in biochemical and behavioral responses and also in brain diseases, and these mechanisms can establish therapeutic targets. This thesis aimed to investigate the cognitive and motor effects of acrobatic training in the murine model of chronic cerebral hypoperfusion, considering sexual dimorphism. In the acrobatic training protocol performed early, the animals were submitted to 2VO after the acrobatic training period. Samples were collected three and seven days after hypoperfusion for the protein quantification, measurement of oxidative stress and immunostaining with anti-GFAP, anti-IL-1B, anti-NeuN and anti-cleaved caspase 3. Animals performed open field, object recognition and Morris water maze. In the acute and subacute phases, acrobatic training prevented neuronal death in the CA1 area, due to antioxidant defenses, especially in females. In addition, acrobatic training influences inflammation and neurotoxic astrocytes remodeling, mainly in males, preventing deficits in learning. The late training protocol started 45 days after the 2VO and the animals performed the object recognition test, the Morris water maze, the open field, the beam balance test and the horizontal ladder walk. Mitochondrial potential, DCF and NeuN were evaluated by flow cytometry. The volume of the hippocampus, ventricles, corpus callosum, cortex and striatum were evaluated by Cavalieri's method. In addition, immunostaining of anti-GFAP and anti-NeuN was performed in the CA1 area to analyze optical densitometry, cell count and Sholl circles in astrocytes. Cresyl violet staining was used in motor cortex and striatum to cell counts. Cognitive damage was reversed by acrobatic training, mainly in females that showed better memory retention. Probably due to mitochondrial potential promoting neuronal survival in the hippocampus and the better astrocytes remodeling. A quality of the step impairment was found, however the acrobatic training protected the motor cortex and striatum neurons, mainly in females, leading to better functional performance. The results suggest that early or late acrobatic training has a neuroprotective effect on the cognition and motricity after 2VO, and females were more benefited, through different mechanisms: activation of neuronal survival pathways and astrocyte remodeling. Finally, these findings may contribute to future studies and help identify therapeutic targets related to the clinical rehabilitation of patients with vascular dementia.

Keywords: Two Vessel Occlusion Model (2VO), Memory, Motricity, Neuroprotection, Sexual Dimorphism.

PARTE I

1. INTRODUÇÃO

1.1 Um panorama sobre a Demência

A demência é uma condição neurodegenerativa grave e pode ser categorizada em alguns subtipos por diferentes causas patogênicas (Pendlebury and Rothwell, 2009). Os subtipos mais comuns são a doença de Alzheimer (DA), a demência vascular (DV), a demência de corpos de Lewy, a demência associada à doença de Parkinson e a demência frontotemporal (Villarejo Galende et al., 2021). Os prejuízos causados pela demência causam a incapacidade e a dependência entre idosos em todo o mundo, afetando a memória, a cognição, o comportamento e conseqüentemente, interferindo na capacidade de realizar atividades diárias (World Health Organization, 2017). Aproximadamente 5% da população idosa mundial foi diagnosticada com demência em 2015, e as estimativas para 2050 são de que até 135 milhões de pessoas sejam afetadas (World Health Organization, 2015). A cada três segundos um novo caso de demência é diagnosticado, correspondendo a 9,9 milhões de novos casos por ano (World Health Organization, 2017).

Apesar da maior prevalência de riscos vasculares em homens, as mulheres são mais frequentemente diagnosticadas com demência, o que em parte pode ser explicado pela maior expectativa de vida das mulheres e também por diferenças sexuais que influenciam nos mecanismos biológicos (Nichols et al., 2022). Além disso, o aumento dos casos de demência são estimados principalmente nas regiões menos desenvolvidas e em desenvolvimento do mundo, países de baixa e média renda, sendo o Brasil enquadrado nesta perspectiva (Kalaria et al., 2008).

Até 40% da prevalência de demência pode ser evitável por meio de intervenções direcionadas a fatores de risco modificáveis como: a baixa escolaridade, a hipertensão, o tabagismo, a obesidade na meia-idade, a depressão, o sedentarismo, a diabetes, o isolamento social, o consumo excessivo de álcool e a poluição do ar (Livingston et al., 2020). Conhecer as taxas de demência e estudar o tratamento dos sintomas auxiliam os sistemas de saúde a se prepararem para o aumento esperado do uso de serviços e também a desenvolver estratégias de prevenção e promoção de saúde (Phelan et al., 2012).

1.2 Demência Vascular

A demência vascular (DV) é responsável por cerca de 20% dos casos de demência e ocorre por uma série de distúrbios cerebrovasculares que implicam em comprometimento cognitivo (Bir et al., 2021). A ocorrência aumenta de acordo com o envelhecimento, dobrando aproximadamente a cada 5,3 anos (Jorm and Jolley, 1998; Yang et al., 2017). Desta forma, a DV caracteriza a segunda causa mais comum de demência, ficando atrás apenas da DA (Gorelick et al., 2011). À medida que a população envelhece, a prevalência da DV aumenta exponencialmente acometendo um a cada três homens e uma a cada duas em mulheres com 65 anos (Mijajlović et al., 2017). A mortalidade é maior na DV que na DA, em grande parte devido a causas cardiovasculares e cerebrovasculares, com sobrevida média de 3-5 anos (Kua et al., 2014). A DV pode se desenvolver em cerca de 15 a 30% dos indivíduos três meses após um acidente vascular cerebral (AVC) (Pendlebury and Rothwell, 2009). Os fatores de risco relacionados ao desenvolvimento da DV incluem os já conhecidos, principalmente o envelhecimento e fatores vasculares (Wiesmann et al., 2013) tais como hipertensão, diabetes, hiperlipidemia, tabagismo, fibrilação atrial e hiperhomocistinemia (Sahathevan et al., 2012).

As alterações vasculares que causam comprometimento cognitivo são diversas e incluem as condições sistêmicas que afetam a perfusão encefálica global (Iadecola, 2013). A natureza da patologia vascular é heterogênea podendo ocorrer a obstrução de pequenos e/ou grandes vasos acarretando infartos corticais e subcorticais ou microinfartos na substância branca e cinzenta contribuindo para as mais diversas alterações no tecido (Thal et al., 2012). Os microinfartos e microsangramentos também são preditores de disfunção cognitiva, (Smith et al., 2012) sendo que os microsangramentos corticais são frequentemente associadas à angiopatia amiloide (De Reuck, 2012). Já a diminuição da perfusão encefálica global, como as causadas por doenças cardíacas, estenose ou oclusão de alto grau das artérias carótidas está associada à isquemia crônica que conseqüentemente leva ao comprometimento cognitivo independentemente das lesões encefálicas (Balestrini et al., 2013; Marshall, 2012). A doença de pequenos vasos, leucoaraiose e infartos lacunares são as lesões vasculares mais prevalentes associadas ao comprometimento cognitivo, e as complicações relacionadas incluem as placas ateroscleróticas em pequenos vasos, deposição de substância hialina na parede vascular (lipoalinoze) e alterações fibróticas que levam ao enrijecimento microvascular (arteriolosclerose) (Thal et al., 2012) (Figura 1).

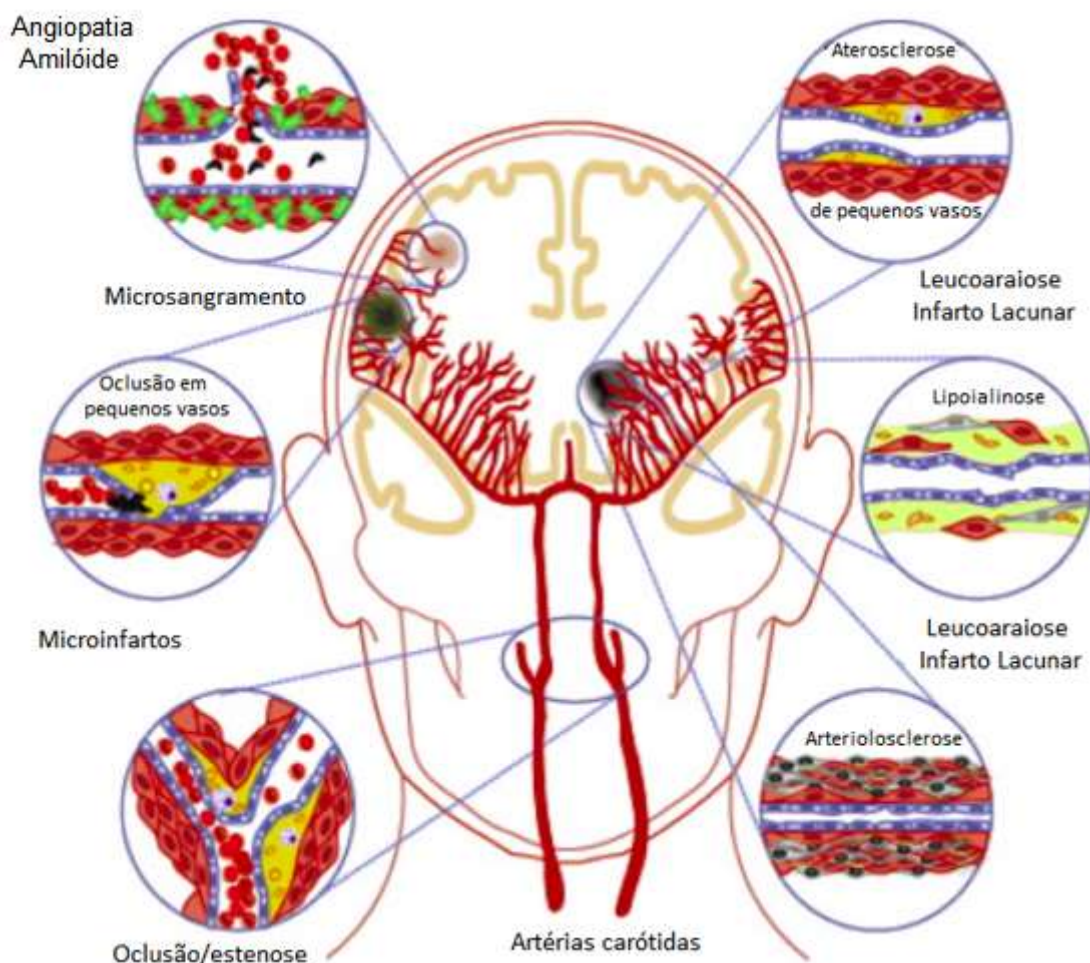


Figura 1. Lesões vasculares que levam ao comprometimento cognitivo vascular e seus efeitos no encéfalo. Adaptado de IADECOLA, 2013.

Em suma, a demência por múltiplos infartos resulta da doença aterosclerótica em grandes artérias, como as carótidas, associada a eventos tromboembólicos generalizados, principalmente em áreas corticais. Já, os infartos localizados em uma área funcionalmente crítica causam déficits neuropsicológicos isolados, de início abrupto, devido aos insultos isquêmicos em áreas responsáveis por habilidades cognitivas específicas (Jiwa et al., 2010).

A atrofia observada nas regiões encefálicas pode ocorrer tanto no hipocampo quanto de forma generalizada e está fortemente relacionada com a extensão da patologia vascular (Fein et al., 2000). O dano da substância branca resultante dessas lesões consiste em vacuolização, desmielinização, perda axonal e infartos lacunares (Iadecola, 2013). As alterações clínicas na DV são variáveis e dependentes dos circuitos neurais afetados, podendo influenciar principalmente a memória, a linguagem e o controle motor (O'Brien and Thomas, 2015). O aumento do comprometimento na substância branca correlaciona-

se com a evolução do comprometimento cognitivo (Maillard et al., 2012), e as novas lacunas causam um declínio mais acentuado, principalmente na velocidade motora e nas funções executivas (Jokinen et al., 2011). A DV pode apresentar uma variedade de manifestações clínicas, incluindo sinais e sintomas sensorio-motores ou puramente motores ou sensoriais, hemiparesia atáxica (comprometimento de um dos lados do corpo) ou comprometimento da marcha, disartria (distúrbio da articulação da fala), lentificação cognitiva disexecutiva (que geram diferentes manifestações comportamentais) e depressão, o que leva a um grande desafio diagnóstico (Kalaria, 2016).

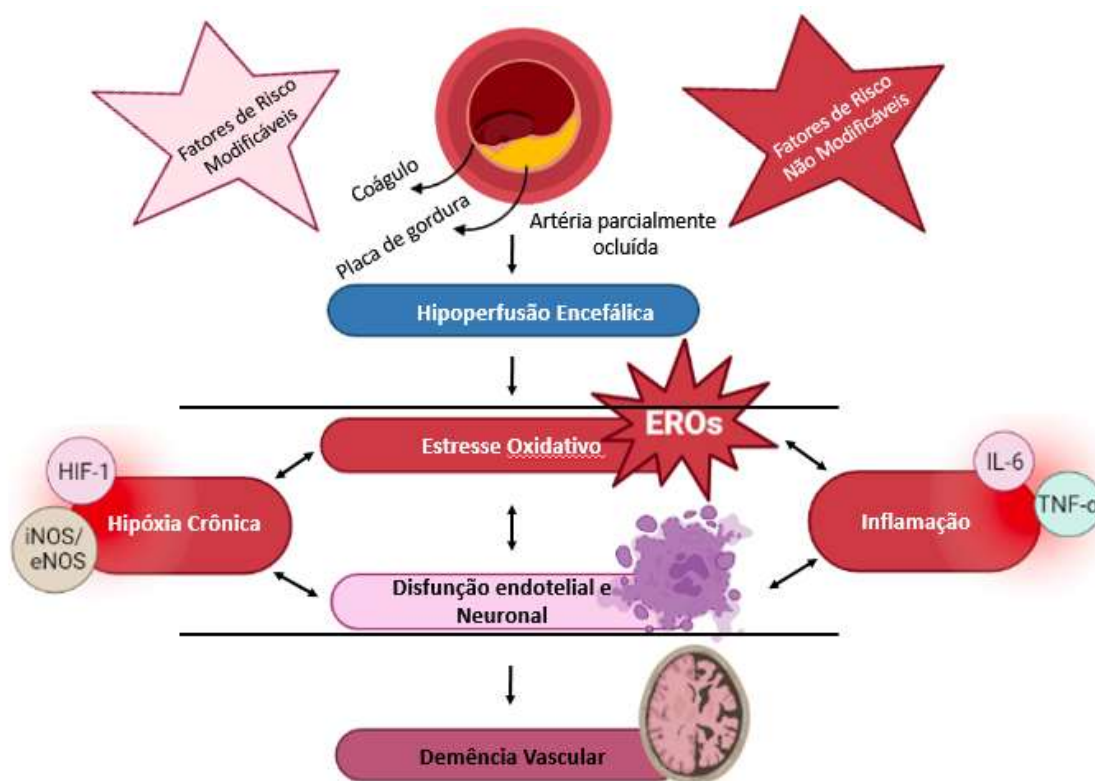


Figura 2. Fisiopatologia do dano aos vasos sanguíneos na DV. EROs: espécies reativas de oxigênio; HIF-1: fator induzível por hipoxia 1; iNOS: óxido nítrico sintase isoforma induzível; eNOS: óxido nítrico sintase endotelial; IL-6: Intereucina 6; TNF- α : fator de necrose tumoral alfa. Adaptada de BIR et al., 2021.

As características clínicas da DV que inicia após um acidente vascular cerebral dependem de alguns fatores a saber, o mecanismo do insulto isquêmico, o grau de perda de tecido bem como o impacto na conectividade das vias neurais (Iadecola, 2013; Korczyn et al., 2012). A hipoperfusão encefálica desencadeada por causas vasculares leva à liberação de espécies reativas de oxigênio (EROs) e ao aumento da inflamação local

contribuindo para a disfunção endotelial e neuronal. Essa disfunção gera um aumento na produção de citocinas pró e anti-inflamatórias, acentuando o ciclo da inflamação e favorecendo, a longo prazo, a fisiopatologia do dano vascular da DV (Figura 2) (Bir et al., 2021). Quando a quantidade de radicais livres aumenta, as funções endoteliais que são importantes para a manutenção da homeostase podem ser prejudicadas (Aytac et al., 2006). As EROs inibem a vasodilatação dependente do endotélio e produzem lesões discretas do endotélio e do músculo liso vascular nas arteríolas encefálicas (Wei et al., 1985).

1.3 Modelo Experimental de Demência Vascular

Os modelos experimentais de oclusão de vasos são realizados em animais com o fim de mimetizar as patologias cerebrovasculares e estudar a fisiologia e metabolismo do encéfalo, uma vez que a organização do sistema cerebrovascular dos mamíferos são semelhantes em muitos aspectos (Farkas and Luiten, 2001). Devido à grande necessidade de suprimento e à falta de reservas energéticas, o cérebro requer um fluxo contínuo e regulado de sangue (Iadecola, 2004). O encéfalo recebe o suprimento sanguíneo arterial pela artéria basilar, originada a partir das artérias vertebrais, e pelas artérias carótidas internas, que se comunicam formando o Polígono de Willis (Figura 3), fornecendo possíveis atalhos entre a circulação encefálica lateral e anteroposterior (Farkas and Luiten, 2001). Considerando a importância vital do fornecimento de sangue para a integridade estrutural e funcional do encéfalo, não surpreende que as alterações nos vasos sanguíneos cerebrais tenham um impacto profundo na função cognitiva (Ogoh, 2017).

As artérias cerebrais anterior e média provém das artérias carótidas internas e são responsáveis por transportar 80% do sangue que atinge os hemisférios encefálicos (Farkas and Luiten, 2001). A perda da função cardíaca pode gerar a falência global da perfusão encefálica levando a um estado de hipoperfusão grave, o que pode ocasionar um dano isquêmico severo nos neurônios do hipocampo e na substância branca profunda (Jiwa et al., 2010). Um dos modelos experimentais amplamente utilizado para simular a hipoperfusão encefálica crônica (HEC) é o modelo de oclusão das artérias carótidas comuns, também conhecido como 2VO (*two-vessel occlusion*) (Farkas et al., 2007, 2004; Jiwa et al., 2010). Neste modelo, a oclusão do vaso é permanente e duradoura, levando à hipoperfusão encefálica global sem delineamento de um núcleo isquêmico nem de uma

zona de penumbra, sendo o dano ao tecido nervoso menos severo do que aquele no modelo de isquemia transitória (Farkas et al., 2007).

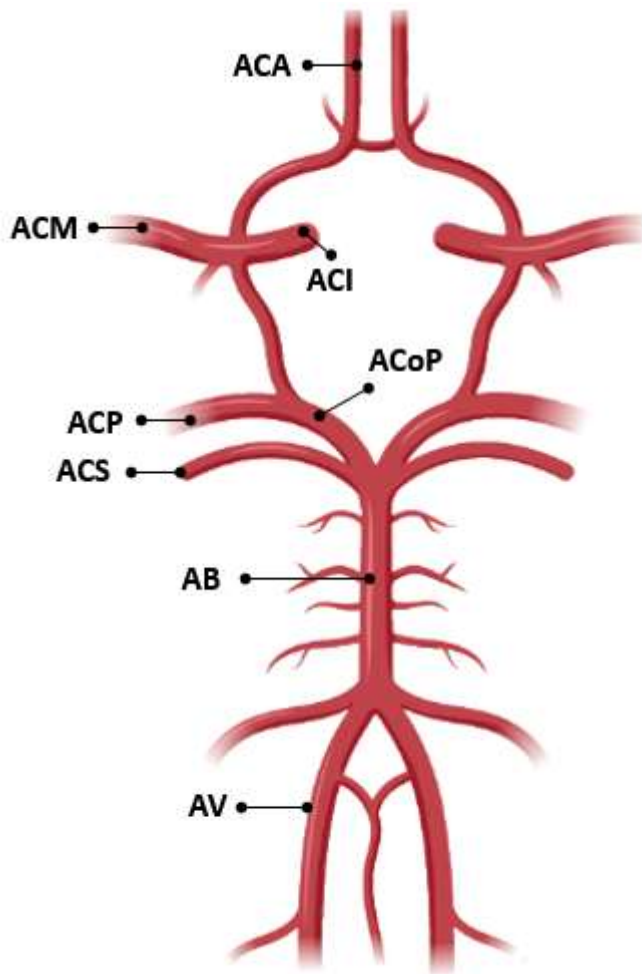


Figura 3. Representação esquemática do Polígono de Willis. Abreviações: ACA, Artéria Cerebral Anterior; ACM, Artéria Cerebral Média; ACI, Artéria Carótida Interna; ACP, Artéria Cerebral Posterior; ACoP, Artéria Posterior Comunicante; ACS, Artéria Cerebelar Superior; AB, Artéria Basilar; AV, Artéria Vertebral. Adaptado de FARKAS e LUITEN, 2001.

As alterações cognitivas resultam principalmente dos prejuízos na substância branca e da perda de neurônios piramidais no hipocampo (Farkas et al., 2004), uma associação frequentemente observada em estados de envelhecimento e demência em humanos (Farkas et al., 2007). A lesão no hipocampo é caracterizada pelo aumento da densidade de astrócitos e perda de neurônios na área CA1 (Cechetti et al., 2012a; Farkas et al., 2004; Institoris et al., 2007). Além disso, a inflamação induzida pela hipoperfusão pode se estender por cerca de um mês e é um fenômeno importante que acompanha a

lesão da substância branca (Wang et al., 2009), podendo exacerbar a desmielinização (Masumura et al., 2001). Os eventos inflamatórios em consequência da isquemia incluem recrutamento de leucócitos periféricos, ativação de células gliais residentes, como a micróglia e astrócitos, e regulação de mediadores inflamatórios, como TNF- α e interleucina-1 β (IL-1 β) (Wang et al., 2007).

Após a isquemia, os astrócitos no encéfalo são ativados resultando em aumento da expressão da proteína glial fibrilar ácida (GFAP) e na chamada “gliose reativa”, caracterizada por alterações estruturais e funcionais específicas (Pekny and Nilsson, 2005). Além das células inflamatórias tradicionais, os astrócitos também expressam diferentes tipos de mediadores inflamatórios (Sofroniew, 2014). Essas substâncias podem ser deletérias ao neurônio, promovendo a degradação e rompimento da barreira hematoencefálica, o que poderia induzir o dano encefálico secundário gerando inflamação crônica (Liu et al., 2005). Os danos na aprendizagem e memória já podem ser evidenciados precocemente na fase subaguda após a cirurgia de 2VO por meio do desempenho no labirinto aquático de Morris (Pappas et al., 1996).

O estresse oxidativo é definido como o desequilíbrio entre agentes oxidantes e antioxidantes em favor dos oxidantes que potencialmente levam a danos nos tecidos (Pizzino et al., 2017). A geração de EROs por células inflamatórias ocorre através de vários mecanismos (Wang et al., 2007). O tecido encefálico é sensível ao dano oxidativo causado pela 2VO, como o aumento das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) e também de tióis celulares totais no hipocampo (Cechetti et al., 2012b). Além disso, no período mais agudo, ocorre a peroxidação lipídica com o aumento dos níveis de malondialdeído e redução dos níveis de glutatona e superóxido dismutase (Aytac et al., 2006). A diminuição dos níveis de glutatona observados após a HEC contribuem para a morte neuronal (Pappas et al., 1996) e os eventos oxidativos podem estar relacionados com o prejuízo de memória observado cronicamente (Cechetti et al., 2012b).

Apesar da vasta evidência sobre a morte neuronal em decorrência do modelo de 2VO em ratos, os mecanismos intracelulares e bioquímicos causadores desse fenômeno ainda estão em estudo (Farkas et al., 2007). Sabe-se que a HEC induz apoptose através da ativação da via intrínseca caracterizada por alterações na expressão de membros da família Bcl-2, ativação de caspase e proteólise de PARP no período agudo (Stanojlović et al., 2014a).

A disfunção mitocondrial pode ser o principal evento implicado no envelhecimento, uma vez que as mitocôndrias fornecem energia para processos metabólicos básicos e sua deterioração com a idade prejudica o metabolismo e leva ao declínio da função celular (Aliev et al., 2010). Além disso, as mitocôndrias também são bastante vulneráveis ao dano do estresse oxidativo (Zhu et al., 2006). A isquemia causa disfunção mitocondrial e inibição da síntese proteica, levando aos danos no parênquima encefálico, ruptura da barreira hematoencefálica e comprometimento cognitivo (Liu and Zhang, 2012). Na HEC ocorre déficits energéticos refletidos por mudanças de metabólitos de energia (Plaschke et al., 2005), bem como a diminuição da atividade de enzimas relacionadas ao ATP (Ueda et al., 2000), principalmente por que as mitocôndrias foram danificadas devido à redução do fluxo sanguíneo encefálico (FSE) (Benkhalifa et al., 2014). As alterações implicadas na disfunção mitocondrial desempenha um papel vital no dano neuronal e no comprometimento cognitivo da HEC (Du et al., 2017); um quadro está apresentado na Figura 4.

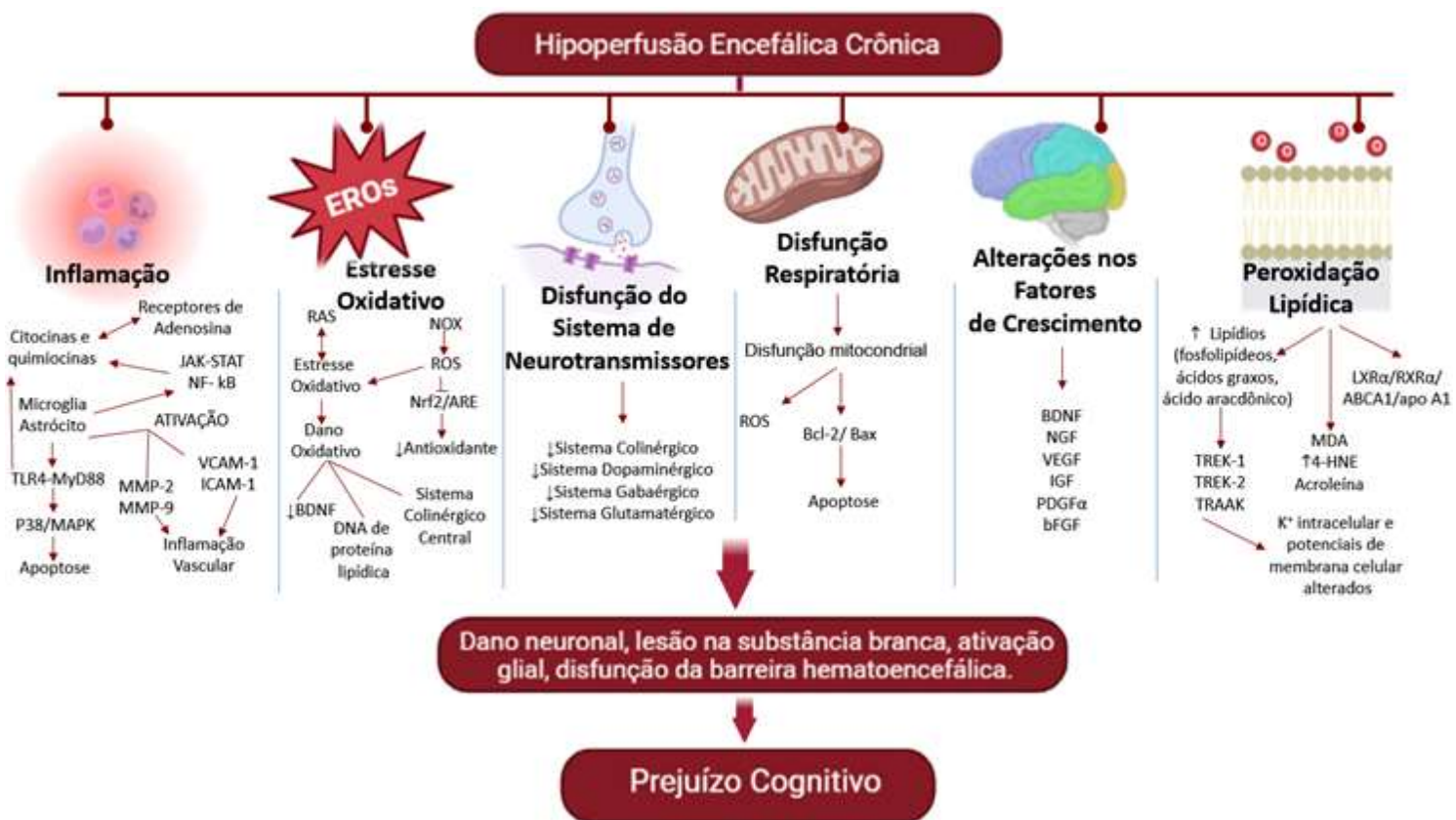


Figura 4. Alterações bioquímicas e mecanismos induzidos pela HEC. Legenda: TLR4-MYD88 = via de sinalização pro-inflamatória; P38/MAPK = proteína quinase

ativada por mitógeno; JAK-STAT = Janus quinase-transdutores de sinal e ativadores de transcrição (via de sinalização de citocinas); NF-Kb = factor nuclear kappa B; MMP-2 = matriz metaloproteinase 2; MMP-9 = matriz metaloproteinase 9; VCAM-1 = proteína de adesão celular vascular 1; ICAM-1 = molécula de adesão intercelular 1; ROS = espécies reativas de oxigênio; Nrf2/ARE fator 2 relacionado ao eritróide nuclear 2 + elemento de resposta antioxidante (via de sinalização vascular e endotelial); BDNF = fator neurotrófico derivado do encéfalo; NGF = fator de crescimento do nervo; VEGF = fator de crescimento endotelial vascular; IGF = fator de crescimento semelhante à insulina; PDGF α = fator de crescimento derivados de plaquetas; bFGF = fator de crescimento fibroblástico básico; Bcl2-BAX = proteínas pró-apoptóticas; TREK-1, TREK-2 e TRAAK = canais de K⁺; MDA = malondialdeído; 4-HNE = 4-hidroxi-2-nonenal; ABCA1 = transportador de cassete de ligação de ATP A1; apo A1 = apolipoproteína A-1. Adaptado de DU et al., 2017.

O modelo convencional de 2VO promove uma redução abrupta de sangue de aproximadamente 33-58% e 52% em áreas corticais e hipocampo, respectivamente (Otori et al., 2003; Tsuchiya et al., 1992), com uma taxa elevada de mortalidade aos animais de até 50% (Institoris et al., 2007). Desta forma, a utilização do modelo de 2VO modificado, no qual a oclusão das carótidas comuns direita e esquerda é realizada com o intervalo de uma semana, surge como uma alternativa, aumentando para mais de 90% a sobrevivência dos animais e reproduzindo os danos cognitivos de forma similar ao protocolo convencional (Anastacio et al., 2014; Cechetti et al., 2012b, 2012c, 2010; Jing et al., 2015). O fluxo sanguíneo é reduzido imediatamente no córtex parietal, no estriado e no cerebelo após a oclusão da artéria carótida comum direita, permanecendo assim até duas semanas após a 2VO (Jing et al., 2015). Ainda, é possível observar dano neuronal na região CA1 do hipocampo e no córtex cerebral de ratos três meses após a hipoperfusão encefálica acompanhado de danos cognitivos (Qu et al., 2014). A morte neuronal e a astrogliose reativa também se evidencia no córtex parietal e hipocampo na fase crônica após 2VO modificada, bem como o prejuízo na memória e aprendizagem demonstrado pelo desempenho no labirinto aquático de Morris (Anastácio et al., 2014; Cechetti et al., 2012a; Jing et al., 2015).

1.4 Fisiopatologia da Hipoperfusão Encefálica Crônica

Os estudos mostram que a redução do FSE é frequentemente observada em pacientes com prejuízo cognitivo leve (Kume et al., 2011), bem como na DV e na DA, indicando uma associação entre o prejuízo na circulação encefálica e deterioração cognitiva (Gao et al., 2013). Além disso, a diminuição do FSE causada pela hipoperfusão encefálica crônica (HEC) está associada ao declínio cognitivo no envelhecimento e contribui para o aparecimento de deficiências cognitivas clínicas e a progressão da demência (Farkas et al., 2007).

Na 2VO clássica, as alterações correspondentes ao FSE podem ser classificadas em três fases considerando o estado metabólico e homeostático do tecido (Figura 5), sendo a primeira caracterizada como fase aguda, que ocorre a partir do início da oclusão e dura de 2 a 3 dias (Farkas et al., 2007). Neste momento, o FSE é reduzido rapidamente e permanece baixo favorecendo as condições hipóxicas-isquêmicas no tecido, ocorrendo a redução dos níveis de glicose (Otori et al., 2003) e depleções súbitas de ATP e fosfocreatina (Plaschke, 2005) bem como a redução da atividade das enzimas ATPase (Shang et al., 2005). A fase crônica pode durar aproximadamente de 8 semanas a 3 meses, a redução do FSE acompanha hipoglicemia crônica e moderada (oliguemia) e se assemelha à condição de hipoperfusão no envelhecimento e demência em humanos. Na fase final, ocorre o reestabelecimento do FSE e a hipoperfusão cessa gradualmente (Farkas et al., 2007).



Figura 5. Representação esquemática das fases correspondentes da HEC. Abreviações: FSC, Fluxo sanguíneo Cerebral; 2VO, Oclusão de dois vasos. Adaptado de FARKAS et al., 2007.

Na situação de hipoperfusão causada por 2VO modificada, o FSE é reduzido rapidamente e após 2 semanas se inicia um quadro de recuperação gradual (Jing et al., 2015), que se reestabelece totalmente aos 6 meses após a última oclusão, se mostrando indistinguível dos níveis controle (Choy et al., 2006) (Figura 6). Além disso, existe uma relação entre alteração do FSE e a adaptação das artérias vertebrais, indicando que a HEC promove um mecanismo vascular compensatório e as artérias vertebrais se dilatam com o passar do tempo para manter um FSE adequado no encéfalo, porém essa compensação não consegue prevenir a morte neuronal e o comprometimento cognitivo (Jing et al., 2015).

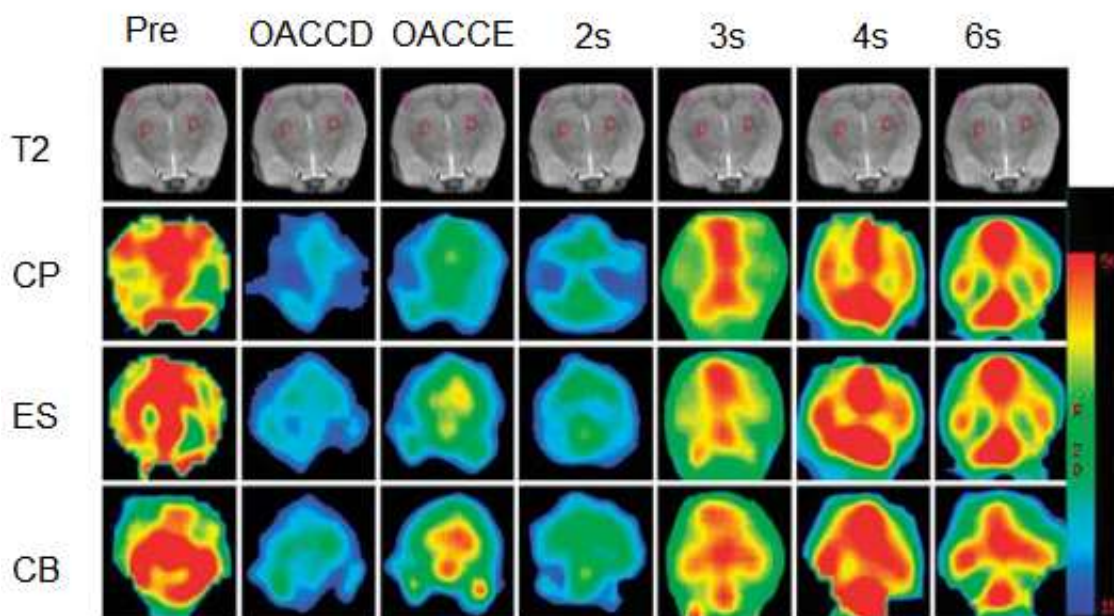


Figura 6. Imagens de ressonância magnética em ratos mostrando alterações no fluxo sanguíneo encefálico (FSE) do córtex parietal (CP), estriado (ES) e cerebelo (CB) após a oclusão da artéria carótida comum direita (OACCD) e oclusão da artéria carótida comum esquerda (OACCE) e imagens cinzas ponderadas em T2. Adaptado de JING et al., 2015.

1.5 Neuroproteção mediada pelo Exercício Físico

O exercício é qualquer tipo de atividade física planejada, estruturada e repetitiva feita com o objetivo de melhorar ou manter a aptidão física (CASPERSEN et al., 1985). A prática de exercícios pode trazer benefícios para a saúde, como o aumento da

expectativa de vida e redução da mortalidade (Wen et al., 2011), a redução do risco cardiovascular (Anderson et al., 2016), a melhora da cognição (Zheng et al., 2016), a redução de quedas em pessoas idosas (El-Khoury et al., 2013) e a melhora da depressão em humanos (Josefsson et al., 2014). Nos modelos animais, já foram observadas as alterações moleculares e bioquímicas que o exercício proporciona na regulação do aprendizado, neurogênese e angiogênese por meio dos fatores neurotróficos (Cotman et al., 2007). O aumento da expressão do fator neurotrófico derivado do encéfalo (BDNF) no hipocampo foi evidenciado após curtos ou longos períodos de exercício (Griffin et al., 2009; O'Callaghan et al., 2009). O exercício voluntário é capaz de induzir a expressão de genes envolvidos na plasticidade sináptica, bem como genes associados ao sistema glutamatérgico (Ding et al., 2011; Molteni et al., 2002; Vaynman et al., 2003; Wang et al., 2014). Já, o exercício forçado em esteira pode influenciar a metilação do DNA do hipocampo (Elsner et al., 2013) e a acetilação de histonas, além de melhorar a função da memória e reduzir os marcadores pró-inflamatórios (Lovatel et al., 2013).

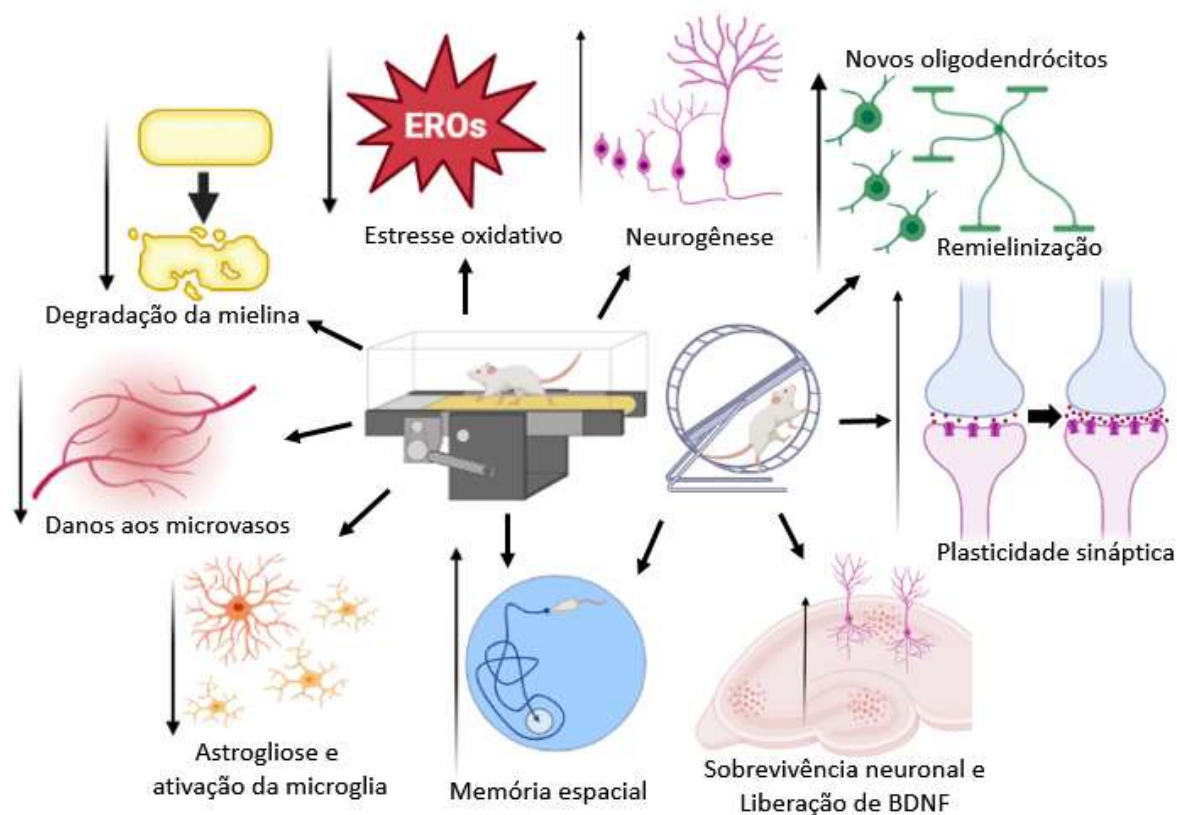


Figura 7. Efeitos do exercício em modelo animal de 2VO. Imagem ilustrativa autoral.

Os efeitos do exercício em esteira em modelo animal de HEC são muito relatados, diversos protocolos são elencados e os benefícios incluem a reversão do déficit cognitivo de memória espacial por meio de vários mecanismos, como a regulação do dano oxidativo e da resposta antioxidante no hipocampo (Cechetti et al., 2012b) e o aumento de células progenitoras neurais e neurônios maduros na zona subgranular do giro dentado (Choi et al., 2016). Além disso, o exercício promove o aumento da expressão de MBP no córtex motor e corpo caloso sugerindo redução da degradação da mielina induzida pela hipoperfusão e a prevenção dos danos aos microvasos na região CA1 do hipocampo (Lee et al., 2019, 2017) entre outros. Em outras regiões, como o cerebelo, o exercício em esteira promove a atenuação da reatividade astrocitária e da ativação de células microgliais (Lee et al., 2018a) após a 2VO. Já o exercício voluntário ou forçado na roda de correr pode promover aumento da plasticidade sináptica em córtex pré-frontal (Dong et al., 2018) e no hipocampo (Lin et al., 2015a), a modulação do fenótipo microglial, o aumento da formação de oligodendrócitos e a remielinização do corpo caloso (Jiang et al., 2017), a sobrevivência neuronal na região CA1 do hipocampo, o aumento da expressão de BDNF nas regiões hipocámpais CA1, CA2/3 e giro dentado (Lin et al., 2015b), além de promover a transição no fenótipo de astrócitos reativos e induzir mudanças morfológicas nos cílios primários beneficiando a neuroplasticidade após a 2VO (Cao et al., 2022; Jiang et al., 2021) (Figura 7).

1.6 Exercício Acrobático

O exercício acrobático é uma modalidade que requer aprendizagem de uma variedade de movimentos coordenados e especializados entre os membros e o corpo do animal (Jones et al., 1999). Os primeiros relatos sobre a utilização do exercício acrobático aplicado na neuroproteção datam de 1990, quando Black e colaboradores estudaram a plasticidade do cerebelo de ratos adultos após um protocolo acrobático. Esta proposta requer a repetição de tarefas dentro de um circuito (Figura 8) que tem o objetivo de desafiar a coordenação e incentivar a resolução de problemas (Lambert et al., 2005).

Durante a primeira década, a maior parte dos estudos visavam descobrir os efeitos neuroplásticos especificamente no cerebelo de animais saudáveis, com isso, foi observado um aumento do número de sinapses, aumento no volume da camada molecular, promoção

de angiogênese e maior ocorrência de sinapses com as fibras paralelas (Anderson et al., 1996, 1994; Black et al., 1990; Isaacs et al., 1992; Kleim et al., 1997, 1998). Após estas descobertas, algumas pesquisas induzindo lesões corticais foram conduzidas a fim de descobrir o potencial do paradigma acrobático como tratamento, os resultados sugerem aumento da plasticidade sináptica, aumento do volume cortical e dendrítico e aumento no número de mitocôndrias após a aplicação do protocolo (Chu and Jones, 2000; Jones et al., 1999; Sakata and Jones, 2003).

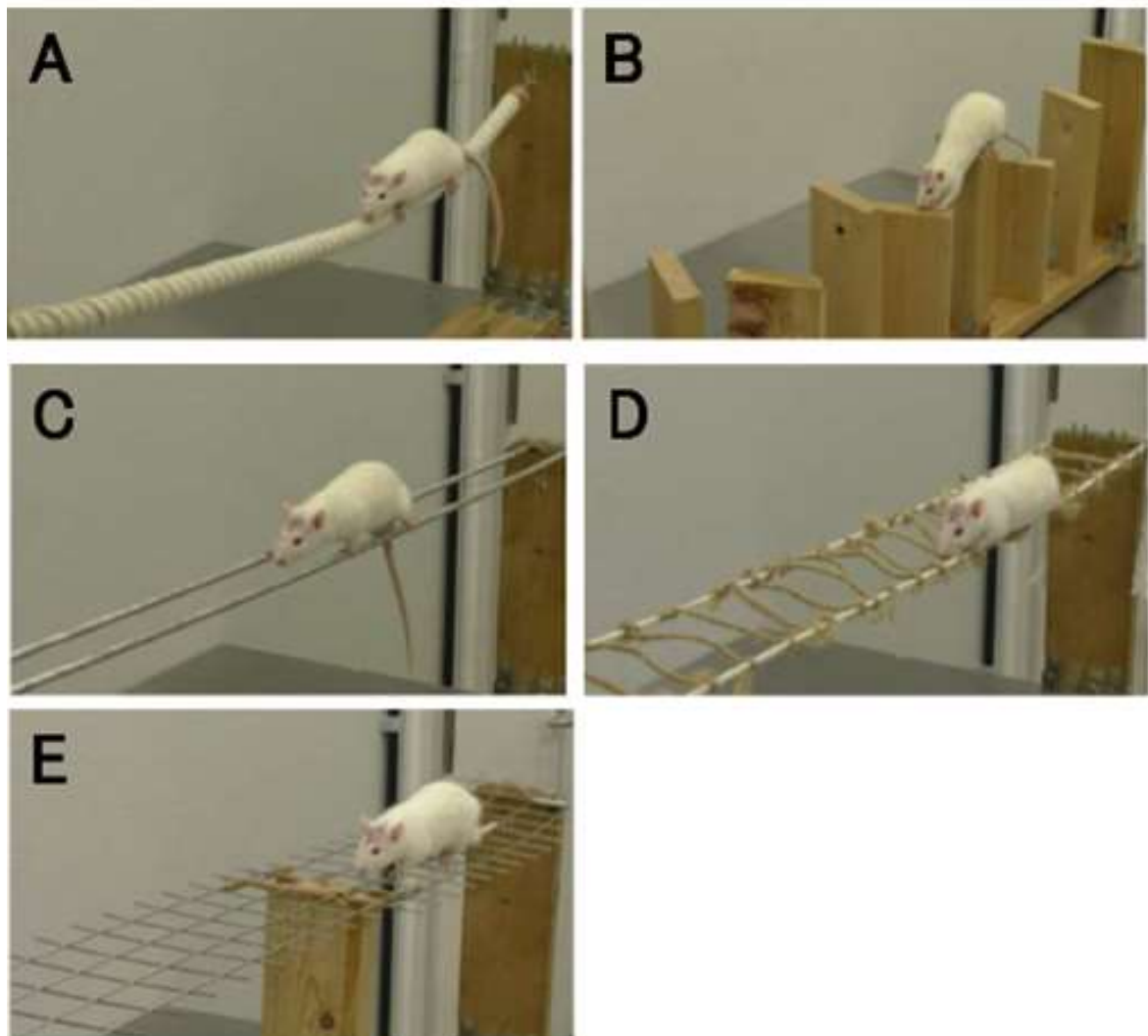


Figura 8. Exemplos de circuitos elevados empregados na modalidade acrobática. A, tarefa da corda; B, tarefa com obstáculos; C, tarefa de cordas paralelas; D, tarefa da ponte de cordas; E, tarefa da ponte de arame. Imagem adaptada de TAMAKOSHI et al., 2017 .

Evidências apontam que o exercício acrobático é capaz de influenciar os níveis de BDNF, a expressão de MAP2 (proteína associada a microtúbulo-2), PSD95 (proteína de densidade pós-sináptica 95) e influenciar a expressão das subunidades GluR1-4 do receptor AMPA no córtex motor, sugerindo neuroplasticidade estrutural e sináptica no cérebro em modelo experimental de hemorragia intracerebral (Tamakoshi et al., 2017, 2016, 2014). Além disso, o treinamento acrobático pode induzir aumento da expressão de sinaptofisina no córtex motor e estriado, uma proteína localizada nas vesículas sinápticas que auxilia na quantificação de sinapses (Garcia et al., 2012). Existem poucos relatos sobre o potencial do exercício acrobático voltados para o estudo da memória, porém sabe-se que ocorre um aumento na atividade da enzima óxido nítrico sintase do tipo NADPH-diaforase, que combinado ao desempenho satisfatório no labirinto aquático de Morris pode sugerir plasticidade no hipocampo de camundongos saudáveis (Torres et al., 2006). Da mesma forma, já foi relatado o efeito benéfico do exercício acrobático em modelo animal de hipóxia isquemia neonatal, evidenciando a recuperação da memória de curto prazo avaliada no teste de reconhecimento de objetos (de Almeida et al., 2021). Além disso, no mesmo modelo de lesão, o treinamento acrobático reverteu a hiperatividade e a ansiedade, causou melhora da locomoção e diminuição da atrofia encefálica (Confortim et al., 2019).

Em suma, a experiência motora complexa proporcionada pelo treinamento acrobático influencia a melhora do desempenho funcional (Tamakoshi et al., 2016) e causa modificações plásticas no cerebelo, córtex e estriado, implicando no processo de aprendizagem motora (Anderson et al., 1994; Black et al., 1990; Kleim et al., 1998, 1996; Salame et al., 2016). Já foi visto que o aprendizado motor acrobático envolve uma remodelação rápida dos terminais axônicos no córtex pré frontal e cerebelar, sendo possível verificar o surgimento de espinhos dendríticos do tipo fino, cogumelo e achatado, relacionados com a aquisição e consolidação de novas informações (González-Tapia et al., 2016, 2015). Apesar de todos os relatos sobre os benefícios do treinamento acrobático, inclusive em modelo animal de lesão encefálica isquêmica e hemorrágica, não existe até o momento nenhum estudo abordando os efeitos desse paradigma na memória e motricidade em modelo animal de 2VO.

1.7 Dimorfismo Sexual e Lesão Encefálica

As diferenças sexuais entre os indivíduos podem modular as respostas moleculares e celulares na maioria dos tecidos, incluindo o encéfalo em condições normais ou patológicas (Spychala et al., 2017). Os hormônios gonadais influenciam o desenvolvimento do organismo, principalmente na fase fetal e perinatal, estabelecendo uma diferenciação de caracteres entre os gêneros não apenas estrutural mas que também traz alterações das respostas fisiológicas, bioquímicas e comportamentais (Gerardin et al., 2006). Muitos aspectos do funcionamento encefálico normal e patológico exibem diferenças entre os sexos tão importantes quanto pouco compreendidas (Wizemann and Pardue, 2001). A necessidade de estudar a o dimorfismo sexual nas pesquisas experimentais é pertinente, uma vez que ainda há poucos trabalhos na literatura investigando a influência do sexo a nível neurobiológico (National Institute of Mental Health, 2011).

Uma revisão recente revelou que as ratas fêmeas têm maiores déficits de memória que os machos após a indução da lesão por hipóxia isquemia neonatal, e que a morte celular nas fêmeas depende principalmente da ativação das caspases, enquanto os machos são mais suscetíveis ao estresse oxidativo (Netto et al., 2017). Apesar dos ratos machos demonstrarem melhor desempenho no aprendizado espacial, as fêmeas superam os machos na tarefa contextual de condicionamento do medo (Keeley et al., 2015). As diferenças entre os sexos também são reconhecidas não apenas nas respostas cognitivas e emocionais relevantes para a aprendizagem e memória mas também na linguagem, medo e ansiedade (McCarthy et al., 2012)..

No modelo de 2VO, foi recentemente evidenciado que as fêmeas possuem maior ativação de uma via dependente de caspase que leva à neurodegeneração enquanto que os machos são mais afetados por vias apoptóticas adicionais (Stanojlović et al., 2014a). Estudos pré-clínicos em modelo de isquemia reportam que as fêmeas têm menos perda neuronal, maior potencial de reparação astrocitária e vasculatura mais estável; e essas propriedades estão altamente relacionadas aos efeitos neuroprotetores dos hormônios femininos (Tang et al., 2022). Além dos neurônios, os astrócitos (Chisholm and Sohrabji, 2016; Morrison and Filosa, 2019) e também a vasculatura respondem de forma específica quanto ao sexo na isquemia (Freitas-Andrade et al., 2020; Memon and McCullough, 2018).

Estudos com roedores e humanos fornecem evidências sobre os efeitos da atividade física voluntária entre os sexos, modulando a plasticidade cerebral, incluindo a

promoção de respostas neurodegenerativas, adaptativas e protetoras (Rosenfeld, 2017). Assim, identificar os agentes de proteção que trazem benefícios específicos do sexo pode levar a uma melhor compreensão das potenciais terapias (McCarthy et al., 2012).

2. JUSTIFICATIVA

Esta pesquisa se justifica considerando: (1) o aumento da ocorrência das demências de forma global, (2) os relatos da literatura sobre a neuroproteção e plasticidade experimental mediada pelo treinamento acrobático, (3) a semelhança do treinamento acrobático em refletir os desafios cognitivos e motores aplicados na reabilitação clínica dos pacientes com demência (4) os dados prévios relacionados aos prejuízos comportamentais e cognitivos resultantes do modelo de 2VO em roedores, e ainda (5) devido à carência de estudos que considerem os efeitos do treinamento acrobático e o dimorfismo sexual na condição de hipoperfusão encefálica crônica. Não foi relatado até o momento, um protocolo de intervenção utilizando o treinamento acrobático no estudo da memória, aprendizagem e performance motora em modelo animal de 2VO que considere o papel do dimorfismo sexual.

3. HIPÓTESE

A hipótese de trabalho prediz que o treinamento acrobático será capaz de promover neuroproteção, tanto em caráter preventivo quanto no tratamento de animais submetidos ao modelo de 2VO. Ainda, esta neuroproteção estará relacionada à sobrevivência neuronal e à ramificação astrocitária induzida pela e pelo exercício em paralelo, influenciando a plasticidade nas estruturas encefálicas estudadas. Adicionalmente, prevemos que os animais submetidos à 2VO terão danos cognitivos e motores que serão atenuados pelo treinamento acrobático, e que este evento esteja relacionado com a atividade da via de morte celular, por apoptose ou pela produção de espécies reativas de oxigênio, bem como pela inflamação, liberação de citocinas e viabilidade mitocondrial. Ainda, esperamos que a proteção e a plasticidade encefálica referidas possam se apresentar de forma distinta entre os sexos.

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo geral

Investigar os efeitos de um protocolo de treinamento acrobático sobre o dano cognitivo e motor em ratos machos e fêmeas submetidos à lesão por hipoperfusão encefálica crônica.

4.2 Objetivos Específicos

No primeiro artigo, os objetivos específicos consistiram em investigar os efeitos do treinamento acrobático no tratamento do déficit cognitivo em ratos machos e fêmeas após a lesão por hipoperfusão encefálica crônica sobre os seguintes parâmetros:

- ❖ O dano tecidual por meio da avaliação histológica de volume de estruturas encefálicas e contagem de neurônios na região CA1 do hipocampo pela avaliação com imunofluorescência.
- ❖ A astrogliose reativa na região CA1 do hipocampo, pela avaliação com imunofluorescência e análise dos círculos de Sholl.
- ❖ A função mitocondrial por meio da avaliação com citometria de fluxo.
- ❖ O dano cognitivo e memória, por meio da avaliação comportamental utilizando o labirinto aquático de Morris e o teste de reconhecimento de objetos.

No segundo artigo, os objetivos específicos consistiram em investigar os efeitos da lesão por hipoperfusão encefálica crônica na motricidade e desempenho funcional, e o efeito do treinamento acrobático ratos machos e fêmeas sobre os seguintes parâmetros:

- ❖ O dano tecidual por meio da avaliação histológica de volume de estruturas encefálicas e contagem de neurônios em córtex e estriado.

- ❖ A atividade locomotora ampla, por meio da avaliação comportamental utilizando o teste de campo aberto.
- ❖ O dano motor, por meio da avaliação comportamental utilizando o teste *Beam Balance* e a caminhada na escada horizontal.

No terceiro artigo, os objetivos específicos consistiram em investigar os efeitos do treinamento acrobático na prevenção do déficit cognitivo em ratos machos e fêmeas após a lesão por hipoperfusão encefálica crônica sobre os seguintes parâmetros:

- ❖ O equilíbrio redox na fase aguda por meio da mensuração do estresse oxidativo, geração de espécies reativas de oxigênio e atividade de enzimas antioxidantes no hipocampo dorsal.
- ❖ A morte celular por apoptose na fase aguda e subaguda na região CA1 e CA3 do hipocampo por meio da avaliação com imunofluorescência e quantificação de proteínas do hipocampo dorsal por eletroforese.
- ❖ A inflamação e astrogliose reativa na região CA1 e CA3 do hipocampo, pela avaliação com imunofluorescência e análise dos círculos de Sholl.
- ❖ O dano cognitivo e memória, por meio da avaliação comportamental utilizando o labirinto aquático de Morris e o teste de reconhecimento de objetos.

PARTE II

CAPÍTULO 1

O Capítulo 1 é constituído por artigo científico publicado, conforme referência abaixo, que no texto completo da tese defendida ocupa o intervalo compreendido entre as páginas 31 – 76.

Effects of acrobatic training on spatial memory and astrocytic scar in CA1 subfield of hippocampus after chronic cerebral hypoperfusion in male and female rats

Ana Paula Rodrigues Martini, Eduarda Hoeper, Thales Avila Pedroso, Andrey Vinicios Soares Carvalho, Felipe Kawa Odorcyk, Rafael Bandeira Fabres, Natividade de Sá Couto Pereira, Carlos Alexandre Netto

Artigo publicado no periódico Behavioural Brain Research (2022); 430: 113935.

DOI 10.1016/j.bbr.2022.113935

CAPÍTULO 2

O texto completo do capítulo 2, que na tese defendida ocupa o intervalo de páginas compreendido entre as páginas 78 – 95, foi suprimido por tratar-se de manuscrito em preparação para publicação em periódico científico. Neste trabalho objetivou-se estudar os danos causados pelo modelo de 2VO (oclusão de dois vasos) e a influência do treinamento acrobático na motricidade, desempenho funcional, e por fim, realizou-se a análise histológica em estruturas encefálicas relacionadas ao comportamento motor de ratos machos e fêmeas.

O trabalho foi intitulado “Behavioral and histological effects of acrobatic training on motricity in male and female rats submitted to chronic cerebral hypoperfusion” e foi desenvolvido pelos autores a seguir:

Ana Paula Rodrigues Martini ^{a,e}, Eduarda Hoepfer ^{b,c}, Débora Piassarollo Dos Santos ^d, Tatiana Norman ^d, Adriana Souza dos Santos ^{a,e}, Lenir Orlandi Pereira ^{a,e}, Carlos Alexandre Netto ^{a,b,e}

CAPÍTULO 3

O texto completo do capítulo 3, que na tese defendida ocupa o intervalo de páginas compreendido entre as páginas 97 – 140, foi suprimido por tratar-se de manuscrito em preparação para publicação em periódico científico. Neste trabalho objetivou-se estudar o efeito preventivo do treinamento acrobático sobre o comprometimento cognitivo em ratos machos e fêmeas após a indução do modelo de 2VO (oclusão de dois vasos). Foram realizadas análises de memória espacial, análises morfológicas no hipocampo, estresse oxidativo em amostra de hipocampo e quantificação de proteínas relacionadas à morte celular no hipocampo.

O trabalho foi intitulado “Preventive acrobatic training has sex-specific benefits on hippocampal neuroinflammation, oxidative stress, astrocytic proliferation and memory impairments during the acute phase of chronic cerebral hypoperfusion” e foi desenvolvido pelos autores a seguir:

Ana Paula Rodrigues Martini ^{a,b}, Livia Machado Schlemmer ^{b,c}, Eduarda Hoepfer ^{a,b}, Joelma Alves Lucio ^{b,c} Padilha, Carine Lampert ^{b,d}, Rafael Bandeira Fabres ^b, Natividade de Sá Couto Pereira ^{a,b}, Carla Dalmaz, ^{a,b} Carlos Alexandre Netto ^{a,b,c}

PARTE III

5. DISCUSSÃO

Atualmente, há cerca de 50 milhões de pessoas diagnosticadas com demência ao redor do mundo (Wu et al., 2017), e esse número deve crescer para aproximadamente 140 milhões até 2050 (International Alzheimer's Disease, 2020). Nesse cenário, a demência vascular (DV) é responsável por 20% de todos os casos, sendo a segunda mais frequente entre as demências (Bir et al., 2021). O prejuízo cognitivo na DV é resultado de lesão vascular localizada ou da doença cumulativa de pequenos vasos (Bir et al., 2021). Devido à heterogeneidade dos mecanismos fisiopatológicos na DV, sua patogênese envolve alterações vasculares diversas que levam a condições sistêmicas que afetam a perfusão encefálica global (Iadecola, 2013). Experimentalmente, os danos causados pela hipoperfusão encefálica crônica são reproduzidos em modelo murino pela oclusão permanente das artérias carótidas comuns (oclusão dos 2 vasos, 2VO) (Farkas et al., 2007, 2004; Jiwa et al., 2010); modelo que foi recentemente adaptado em nosso laboratório a fim de reduzir a mortalidade dos animais sem prejuízo da lesão neural e dos déficits funcionais (Anastácio et al., 2014; Cechetti et al., 2012b, 2010; Martini et al., 2022).

O treinamento físico é uma abordagem não farmacológica promissora na prevenção das demências (Erickson et al., 2020; Winblad et al., 2016) e na promoção da saúde cognitiva em idosos com demências (Borges-Machado et al., 2021). O paradigma do exercício acrobático surgiu na literatura experimental a partir dos anos 90; um dos estudos pioneiros descreveu essa modalidade como uma associação entre a aprendizagem visuomotora complexa com atividade motora sutil (Black et al., 1990) em circuito com tarefas e obstáculos que proporcionam desafios cognitivos e motores que dependem da resolução de problemas e da coordenação (Lambert et al., 2005). É reconhecida a capacidade do treinamento acrobático em promover neuroplasticidade em várias regiões do encéfalo, observado tanto na estrutura das sinapses (Anderson et al., 1996; Black et al., 1990; González-Tapia et al., 2016, 2015; Kleim et al., 1998) quanto na reatividade dos astrócitos (Anderson et al., 1994; Kleim et al., 2007), implicando diretamente na melhora funcional dos animais saudáveis, e também após lesões vasculares encefálicas (Confortim et al., 2019; de Almeida et al., 2021; Tamakoshi et al., 2016).

As estatísticas sobre a demência indicam que o sexo feminino é mais frequentemente acometido, o que pode ser reflexo tanto do aumento da expectativa de vida como das diferenças biológicas entre os sexos (Nichols et al., 2022). Considerando que as

diferenças entre os sexos podem modular os mecanismos celulares e moleculares em todos os tecidos, incluindo o cérebro em condições normais ou patológicas (Siegel et al., 2010; Spsychala et al., 2017), também é possível que o dimorfismo sexual influencie o comportamento e o desfecho das intervenções terapêuticas (Netto et al., 2017). Desta forma, é de fundamental importância investigar medidas terapêuticas que auxiliem na prevenção ou atenuação dos danos relacionados ao desenvolvimento da doença, bem como o tratamento eficaz dos sintomas pertinentes à melhora dos desfechos clínicos, elucidando possíveis alvos terapêuticos e o potencial neuroprotetor e neuroplástico do treinamento acrobático considerando o dimorfismo sexual.

Na presente Tese, os principais achados sobre o efeito do treinamento acrobático como abordagem terapêutica para os prejuízos causados pela hipoperfusão encefálica crônica em ratos machos e fêmeas incluem: (a) a reversão do comprometimento da aprendizagem e da memória espacial causado pelo 2VO, principalmente nas fêmeas, e atenuação do comprometimento da memória de curto prazo; (b) a prevenção da morte neuronal na região CA1 do hipocampo causada pela 2VO, principalmente em machos, sem redução do volume hipocampal em machos e fêmeas, e sem eficácia sobre o dano ao corpo caloso; (c) a prevenção do efeito de reatividade astrocitária neurotóxica relacionada ao número e comprimento dos processos primários causado pela 2VO, especialmente nas fêmeas na região CA1 do hipocampo; (d) a melhora do potencial mitocondrial em machos e fêmeas sem influenciar os níveis de espécies reativas de oxigênio em machos no hipocampo (**Figura 9-A**); (e) ausência de efeito sobre a atividade motora ampla pelo treinamento acrobático ou pela 2VO, (f) prejuízos em movimentos finos observados em animais após a 2VO, (g) promoção das habilidades de equilíbrio e coordenação, principalmente nas fêmeas, pelo treinamento acrobático e por fim, (h) prevenção da morte celular em córtex e estriado, principalmente nas fêmeas, pelo treinamento acrobático (**Figura 9-B**).

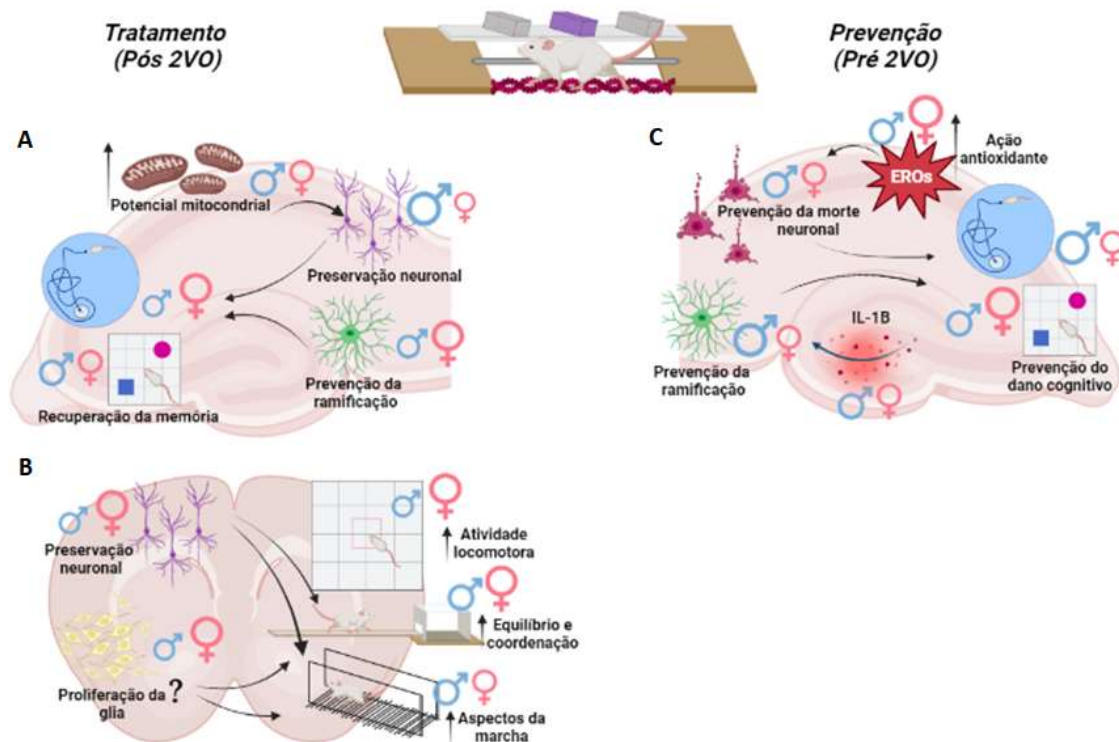


Figura 9. Representação esquemática dos resultados encontrados nos experimentos deste Tese. A e B) Efeitos do protocolo de treinamento acrobático tardio na memória, aprendizagem e desempenho motor C) Efeitos do protocolo de treinamento acrobático precoce na cognição. (Imagem ilustrativa autoral).

Visto de outra forma, o efeito preventivo do treinamento acrobático realizado antes da hipoperfusão encefálica crônica em ratos machos e fêmeas indicam o seguinte: (a) no período agudo, três dias após o 2VO, as fêmeas treinadas apresentaram maior atividade antioxidante e redução do dano oxidativo causado pelas EROs; (b) ao passo que também mostraram maior viabilidade celular conforme a expressão de PARP; e (c) o treinamento acrobático induziu a expressão de GFAP, indicando uma reatividade astrocitária; (d) no período subagudo, sete dias após 2VO, houve aumento de GFAP e IL-1 β acompanhado de morte neuronal por apoptose nas regiões CA1 e CA3 do hipocampo prevenida parcialmente pelo treinamento acrobático, particularmente na área CA3; (e) houve proliferação astrocitária em CA1 e CA3 causada pela 2VO e induzida pelo treinamento acrobático em paralelo, principalmente em machos, No entanto, os animais após a 2VO apresentaram astrócitos mais longos e ramificados, enquanto o treinamento acrobático impediu a ramificação na região CA1 em fêmeas; (f) finalmente na fase crônica, cerca de 45 dias após a 2VO, a memória de longo prazo e a memória espacial foram prejudicados pela 2VO, e o treinamento acrobático evitou parcialmente esses déficits, especialmente na aprendizagem espacial e no reconhecimento de objetos (**Figura 9-C**). Os resultados

acima citados estão integrados na **figura 9**. Os painéis **A, B e C** apresentam um resumo dos principais resultados do primeiro, segundo e terceiro artigos, respectivamente.

5.1 Efeitos do treinamento acrobático na prevenção da morte neuronal em diferentes estágios da hipoperfusão encefálica crônica

A morte neuronal provocada pelo modelo de 2VO clássico é bem descrita (Farkas et al., 2007) e isso também é demonstrado no modelo modificado utilizado nesta Tese (Anastácio et al., 2014; Cechetti et al., 2012a, 2010; Martini et al., 2022), corroborando com os nossos achados. As evidências consideram que a morte neuronal tem início imediato, sendo possível observar no estágio agudo três dias após o insulto isquêmico em regiões corticais, demonstrado pelo aumento da fragmentação do DNA associada à marcação de células em degeneração (Stanojlović et al., 2014b). Já no hipocampo, a reação dos neurônios à lesão por hipoperfusão em machos e fêmeas foi inicialmente constatada aos sete dias após a 2VO (Stanojlović et al., 2014a) e esse fato está relacionado com a redução da expressão da proteína anti-apoptótica Bcl-2, aumento da proteína pró-apoptótica Bax, a ativação de caspase e a proteólise de PARP que fazem parte da via intrínseca de apoptose (Stanojlović et al., 2014a), corroborando com nossos achados que indicam perda neuronal nas regiões CA1 e CA3 nesta fase da hipoperfusão, relacionada com a clivagem da caspase 3, tanto em machos quanto em fêmeas. Apesar das adaptações hemodinâmicas e da irrigação colateral emergente (Jing et al., 2015), a neurodegeneração persiste com o passar do tempo após a 2VO (Anastácio et al., 2014; Cechetti et al., 2012a; Farkas et al., 2007, 2006; Institoris et al., 2007), conforme também foi possível aqui observar. Provavelmente, a morte neuronal é uma das razões que levam ao declínio cognitivo encontrado em animais neste período, uma vez que a memória espacial avaliada no labirinto aquático de Morris e a memória não espacial acessada na tarefa de reconhecimento de objetos depende da integridade hipocampal (Cohen et al., 2013; Moser et al., 2008).

Apesar da extensiva perda de neurônios piramidais na região CA1 na fase crônica, principalmente em fêmeas, não foi possível observar redução no volume do hipocampo, ventrículos, córtex e estriado neste trabalho, o que concorda com achados prévios sobre a avaliação do volume das estruturas na fase crônica da hipoperfusão (Cechetti et al., 2012a, 2010). No entanto, o corpo caloso sofreu redução do volume em razão da hipoperfusão em ambos os sexos e esse dano não foi prevenido pelo treinamento

acrobático. A degeneração da substância branca é um achado frequente na literatura relacionada aos efeitos deletérios da hipoperfusão (Farkas et al., 2004; Wakita et al., 2002), geralmente estudada em estruturas como o corpo caloso, a cápsula interna e o trato óptico (Farkas et al., 2007, 2004). A perda de mielina, os danos nos axônios e o aumento de axônios desmielinizados no corpo caloso já foi relatado em ratos após a indução do 2VO (Niu et al., 2020). Neste trabalho também foi observada a degeneração dos neurônios do córtex motor e do estriado na fase crônica principalmente em fêmeas após 2VO, sem implicar no volume dessas estruturas encefálicas. Isso pode ser explicado pela redução drástica do fluxo sanguíneo no córtex e estriado após a primeira oclusão, levando à degeneração neuronal observada entre 2 a 6 semanas após o evento (Jing et al., 2015). No entanto, o treinamento acrobático realizado após a lesão também causou impacto na prevenção da degeneração desses neurônios.

Neste estudo, o treinamento acrobático realizado antes da lesão por hipoperfusão preveniu a morte neuronal na região CA1 e CA3 do hipocampo em machos e fêmeas, verificada aos 7 dias após a oclusão das carótidas comuns, apesar de não evitar a apoptose caracterizada pela clivagem da caspase 3. Outras modalidades de treinamento iniciados precocemente, uma semana após a hipoperfusão, como o treinamento involuntário utilizando eletroestimulação funcional, o treinamento voluntário e treinamento forçado em roda de correr também apresentaram efeitos na preservação dos neurônios da região CA1 do hipocampo (Lin et al., 2015a) e no córtex pré-frontal após a 2VO (Dong et al., 2018). O treinamento em esteira realizado antes da oclusão das carótidas comuns também possui efeito na prevenção da morte neuronal por apoptose no cerebelo, indicando que o efeito do exercício na preservação neuronal se estende para outras regiões do encéfalo relacionadas a aprendizagem motora (Lee et al., 2018b). Além disso, encontramos que o treinamento acrobático preventivo aumenta a expressão de PARP no hipocampo dorsal, especialmente em fêmeas; este é um efeito específico do sexo que sugere aumento da viabilidade celular, uma vez que a PARP repara danos no DNA adicionando polímeros poli (ADP ribose) em resposta aos estresses celulares (Chaitanya et al., 2010).

A preservação neuronal na fase aguda também pode estar relacionada à ação antioxidante das enzimas catalase e glutathione peroxidase influenciada pelo treinamento acrobático, auxiliando a remoção das espécies reativas de oxigênio formadas em razão da 2VO, especialmente para as fêmeas. O sistema antioxidante inclui a ação de enzimas como a SOD, CAT e GPx que atuam na metabolização das EROs que promovem os danos oxidativos no organismo (He et al., 2017). Evidências mostram que o modelo de

2VO induz a produção de NADPH oxidase, enzima responsável por uma grande quantidade de EROs, levando ao aumento do estresse oxidativo e morte neuronal no hipocampo (Choi et al., 2014), no entanto, o exercício aeróbico em esteira iniciado precocemente três dias após a 2VO reduz a expressão do gene NADPH oxidase, prevenindo o aumento do estresse oxidativo (Leardini-Tristão et al., 2017). Na fase crônica também são observadas alterações relacionadas ao estresse oxidativo três meses após o 2VO demonstrado pelo aumento do conteúdo celular de tióis e ácido tiobarbitúrico no hipocampo, no entanto o dano oxidativo foi prevenido por três protocolos distintos de exercício em esteira iniciados no período precoce à hipoperfusão, implicando em melhora do dano cognitivo causado pelo aumento da lipoperoxidação (Cechetti et al., 2012b). Nossos achados corroboram com a literatura sobre o efeito protetor do exercício na prevenção do desequilíbrio oxidativo, no entanto, o aumento da atividade no sistema antioxidante em fêmeas treinadas em resposta ao aumento da produção de DCF representa um efeito sexo-específico, sugerindo que o treinamento acrobático beneficiou as fêmeas contra danos presumivelmente relacionados ao estresse oxidativo.

Os resultados ora apresentados sugerem que o tratamento tardio por meio do treinamento acrobático em animais submetidos à hipoperfusão também preservou os neurônios da região CA1 do hipocampo da degeneração na fase crônica, especialmente os machos, e esse efeito pode estar relacionado ao aumento do potencial mitocondrial promovido pelo treinamento. O metabolismo neuronal utiliza a energia produzida pelas mitocôndrias em diversos processos como neurogênese, diferenciação neural, remodelação dendrítica e liberação de neurotransmissores (Cheng et al., 2010). A biogênese mitocondrial está relacionada com a redução da lesão isquêmica e a preservação neuronal (Valerio et al., 2011), bem como a redução de EROs derivadas das mitocôndrias (Onyango et al., 2010). Apesar de relatos sobre os efeitos antioxidantes do exercício em esteira e do enriquecimento ambiental na redução dos níveis de TBARS, tióis e DCF em ratos machos após 3 meses de hipoperfusão (Cechetti et al., 2012c, 2012b), no presente estudo o treinamento acrobático não influenciou o conteúdo de DCF no hipocampo dos ratos machos, sugerindo uma relação com o déficit de memória espacial observado no probe trial do labirinto aquático de Morris. Conforme os achados, foi visto que o treinamento acrobático parece auxiliar a manutenção do equilíbrio entre agentes oxidantes e antioxidantes, especialmente nas fêmeas no período agudo após a hipoperfusão e, com isso, proporciona maior viabilidade mitocondrial a longo prazo.

5.2 *Efeitos do treinamento acrobático sobre a reatividade astrocitária nos diferentes estágios da hipoperfusão encefálica crônica*

A hipoperfusão e o treinamento acrobático são estímulos distintos que promoveram a modulação da reatividade dos astrócitos no hipocampo de duas maneiras, a saber: (a) aumentando a proliferação e (b) aumentando o número de processos primários e o comprimento destes. A astrogliose reativa não é uma resposta de “tudo ou nada” e pode ser caracterizada por hipertrofia ou proliferação celular com formação de cicatriz e rearranjo tecidual permanente (Sofroniew, 2014). Recentemente, dois fenótipos de astrócitos reativos foram definidos: o subtipo neurotóxico A1, que exacerba o dano inflamatório, e o subtipo A2 que está associado à neuroproteção (Liddel et al., 2017). Há evidências de que, de 2 a 3 meses após a hipoperfusão, roedores apresentaram astrócitos ativados principalmente para o fenótipo neurotóxico, porém o exercício físico precoce mostrou potencial para regular a polarização dos astrócitos para o fenótipo neuroprotetor (Cao et al., 2022; Jiang et al., 2021). Isto corrobora com nossos achados sobre a reatividade dos astrócitos expressada na fase aguda deste experimento, na qual animais hipoperfundidos treinados apresentaram aumento do conteúdo proteico de GFAP no hipocampo.

Já na fase subaguda, os animais treinados precocemente à hipoperfusão apresentaram proliferação dos astrócitos, especialmente os machos na região CA1, enquanto na região CA3 a proliferação ocorreu para ambos os sexos igualmente. Também observamos aumento da ramificação, caracterizada pela quantidade e comprimento dos processos primários em ratos hipoperfundidos, principalmente nas fêmeas sedentárias, sugerindo que o treinamento acrobático preveniu a ramificação dos astrócitos em ambas regiões do hipocampo. Os astrócitos podem reagir a estímulos por meio de mudanças em sua morfologia e modificação funcional, apresentando plasticidade (Santin et al., 2011). O exercício físico pode influenciar os astrócitos em aspectos como: tamanho, expressão de aquaporina-4, número de transportadores (Loprinzi, 2019), bem como número de novos astrócitos, aumento da captação de glutamato e liberação de fatores tróficos (Maugeri et al., 2021). As alterações nos astrócitos induzidas pelo exercício podem ser um mecanismo chave para melhorar as funções cognitivas e executivas (Li et al., 2021; Maugeri et al., 2021), desempenhando um papel importante na neuroplasticidade e auxiliando na neuroreabilitação (Lundquist et al., 2019).

Na região CA3, os animais hipoperfundidos sedentários apresentaram aumento do número de processos primários, especialmente em fêmeas, que foi prevenida pelo treinamento acrobático. Isto sugere que as regiões do hipocampo podem ser distintamente influenciadas pelo estímulo, apoiando a hipótese de que os astrócitos são remodelados de maneira dependente do exercício e da região cerebral estudada (Lundquist et al., 2019). Assim, sugerimos que a proliferação e a ramificação podem ter sido moduladas tanto de forma neuroprotetora como neurotóxica, sendo desencadeada pelo estímulo. Essa hipótese encontra suporte no fato dos animais hipoperfundidos sedentários apresentarem aumento de IL-1 β na região CA1 e CA3 em comparação aos animais treinados, indicando um processo inflamatório que pode estar sinalizando a reatividade astrocitária. Uma variedade de moléculas extracelulares pode induzir ou modular a ativação de astrócitos, como as citocinas pró-inflamatórias IL-1 β e TNF- α (Sofroniew, 2014). Há relatos anteriores de que níveis de TNF- α e IL-1 β aumentados na fase aguda, 1 e 3 dias após a hipoperfusão, podem estar relacionados ao início de processos patológicos que levam ao comprometimento da memória (Hei et al., 2018; Moghaddasi et al., 2017).

Na fase crônica da hipoperfusão evidenciamos maior proliferação astrocitária na região CA1 em fêmeas hipoperfundidas e astrócitos com maior número e comprimento de processos primários principalmente em machos, sugerindo aumento da ramificação e formação de cicatriz resultante da isquemia crônica instalada após o 2VO. A função da formação cicatricial no tecido neural ainda está em estudo, no entanto, dependendo das circunstâncias, pode levar a efeitos deletérios contribuindo com mecanismos patológicos no sistema nervoso central (Sofroniew, 2009). Foi observado que após três meses de hipoperfusão em ratos machos, os astrócitos apresentam processos hipertróficos, interdigitados e muitas vezes sobrepostos formando uma microcicatriz em torno de neurônios ectópicos migrados do estrato piramidal, provavelmente atuando na fagocitose de neurônios em degeneração da região CA1 do hipocampo (Lana et al., 2014). Esse processo também ocorre na região CA3 em ratos envelhecidos, com a finalidade de remover detritos neuronais derivados da inflamação e apoptose, variando de acordo com a gravidade da neurodegeneração (Lana et al., 2016).

No presente estudo, as correlações evidenciaram que quanto maior o tempo no quadrante alvo ou na zona da plataforma, maior a preservação neuronal e menor a ramificação dos astrócitos. Com isso, sugerimos que a ramificação pronunciada nos machos na fase crônica da hipoperfusão pode produzir uma cicatriz glial menos

organizada na região CA1 do hipocampo, influenciando o desempenho de recuperação de memória espacial durante o teste no Water Maze.

5.3 *Efeitos do treinamento acrobático sobre o comportamento motor e cognitivo após hipoperfusão encefálica crônica*

Os resultados deste estudo mostram que a indução do modelo de 2VO causou prejuízo de memória espacial e de memória de reconhecimento em ratos machos e fêmeas, conforme esperado (Cechetti et al., 2012a; Choi et al., 2016; Dong et al., 2018; Langdon et al., 2014, 2013; Lin et al., 2015a). O dano no aprendizado espacial foi parcialmente prevenido pelo treinamento acrobático realizado previamente à lesão por hipoperfusão, principalmente em machos. Até o momento existem poucos relatos sobre o efeito do exercício prévio à hipoperfusão, no entanto, alguns estudos relatam prevenção do déficit de aprendizagem atribuídos ao modelo de 2VO em protocolos de treinamento aeróbico iniciados precocemente (Cao et al., 2022; Cechetti et al., 2012b; Jiang et al., 2021, 2017). De acordo com outro estudo, um protocolo de reabilitação cognitiva utilizando exercício voluntário associado à tarefa de cruzar um labirinto é capaz de atenuar os comprometimentos da memória espacial causada pelo 2VO e prevenir alterações na região CA1 de hipocampo em machos, mas não em fêmeas, infelizmente não foram comparados no mesmo estudo (Langdon et al., 2014, 2013). No presente estudo, as fêmeas apresentam um aumento de EROs na fase aguda, o que pode ter contribuído para a sinalização da inflamação e reação astrocitária neurotóxica adicional explicando o melhor desempenho dos machos na tarefa de aprendizagem, uma vez que o prejuízo no desempenho na tarefa de labirinto aquático após 2VO já foi anteriormente relacionado a um aumento de radicais livres (Cechetti et al., 2012c, 2012b). O déficit de aprendizado espacial foi prevenido, como demonstrado na análise da área sob a curva de aquisição durante o treinamento de seis dias, no entanto a retenção da memória permaneceu prejudicada, uma vez que no dia do probe os animais treinados não tiveram melhor desempenho do que os sedentários.

O protocolo de treinamento acrobático aplicado na fase crônica também foi eficaz no tratamento do prejuízo da aprendizagem e memória espacial, especialmente para as fêmeas ao avaliar os parâmetros do probe, a saber: tempo e distância no quadrante alvo, tempo na plataforma e número de cruzamentos pela área da plataforma. Há evidências sobre os benefícios do exercício físico no tratamento do declínio cognitivo e de memória

causados pela hipoperfusão, contudo tais relatos não comparam machos e fêmeas (Cechetti et al., 2012b; Choi et al., 2016). Por outro lado, um estudo mostrou que a retenção de memória é melhor em fêmeas quando comparadas aos machos tratados com enriquecimento ambiental pós-natal em modelo de hipóxia-isquemia neonatal, indicando um efeito específico do sexo (Duran-Carabali et al., 2019). É possível que o desempenho insuficiente dos machos na tarefa de memória no presente estudo possa ser atribuído ao aumento das ramificações dos astrócitos na fase crônica após 2VO, indicando um efeito neurotóxico no hipocampo. Outros relatos mostram que esse padrão de reatividade se repete em modelo de hipóxia-isquemia neonatal (Fabres et al., 2022) e hemorragia intracerebral (Mestriner et al., 2011).

O treinamento acrobático realizado previamente também foi capaz de prevenir o prejuízo da memória de reconhecimento causado pela 2VO, especialmente nas fêmeas. Após a hipoperfusão, os animais demonstram comprometimento da memória de reconhecimento de curto e longo prazo e muitas modalidades de exercício iniciadas antes da lesão ou de forma precoce podem prevenir tais déficits (Dong et al., 2018; Jiang et al., 2021, 2017; Lin et al., 2015a), incluindo o próprio treinamento acrobático no modelo de hipóxia isquemia neonatal (de Almeida et al., 2021). Nossos resultados sugerem que isso pode ser devido ao aumento da viabilidade celular na fase aguda demonstrada pela expressão da PARP e a eficiência da função antioxidante. Por outro lado, quando os animais foram avaliados na fase crônica, o treinamento acrobático foi capaz de prevenir o déficit de memória de curto prazo apenas, uma hipótese para explicar esse fato seria a ausência de componentes aeróbicos o suficientes no protocolo para promover neurogênese tanto quanto o exercício em esteira (Choi et al., 2016) e à força insuficiente do traço de memória produzido pelo estímulo nas condições experimentais utilizadas neste período da hipoperfusão (Ennaceur and Meliani, 1992).

O prejuízo funcional na motricidade dos animais após a 2VO é pouco estudado. Inicialmente foi relatado um comprometimento persistente do desempenho da marcha sem danos sensório-motores significativos, caracterizando a marcha como incerta e hesitante avaliada quando os ratos se movimentavam em uma ponte de madeira suspensa entre duas plataformas (Sarti et al., 2002). Essas características também foram observadas durante o treinamento acrobático, o que parece estar de alguma forma relacionando a cronicidade do evento isquêmico à destreza na execução do circuito, porém ao final do protocolo, as fêmeas treinadas conseguiram reverter esse déficit. Quando avaliada de forma ampla, a atividade locomotora das fêmeas é maior que a dos machos, o que pode

ser visto no próprio treinamento acrobático e no teste de campo aberto, sendo que no último não foi possível identificar alterações de motricidade ampla em animais após a hipoperfusão. O aumento da locomoção espontânea em fêmeas foi observado anteriormente em modelo de hipóxia-isquemia neonatal (Arteni et al., 2010), corroborando nossos achados. No entanto, neste estudo foi observado déficit motor nos animais após 2VO em movimentos de colocação das patas anteriores no teste de caminhada em escada horizontal, que pode ser explicado pela dificuldade dos ratos durante a marcha após o período crônico de 2VO apresentando as características citadas acima. Prejuízos motores avaliados na escada horizontal já foram observados em ratos machos em modelo de hipóxia isquemia neonatal, mostrando que os efeitos deletérios da isquemia promovem um maior número de erros durante a tarefa (Confortim et al., 2019).

Por outro lado, o treinamento acrobático parece melhorar as habilidades de marcha, melhorando o desempenho das patas posteriores dos animais treinados e promovendo menos erros na tarefa, corroborando com outros estudos que utilizaram o treinamento acrobático em outros modelos de lesão vascular central (Confortim et al., 2019; Tamakoshi et al., 2014). Além disso, o treinamento acrobático preveniu déficits de equilíbrio e coordenação durante a tarefa de *Beam Balance*, especialmente para fêmeas. Corroborando com as evidências que indicam que o treinamento acrobático promove recuperação das habilidades motoras grossas, equilíbrio e coordenação avaliadas em uma barra estreita ou larga em animais após lesão hemorrágica intracerebral, provavelmente promovida pelo treinamento de habilidades motoras (Tamakoshi et al., 2014). As melhoras de equilíbrio e coordenação promovidas pelo treinamento acrobático também foram observadas em ratos machos e fêmeas em modelo de exposição pós-natal ao álcool (Klintsova et al., 1998). Evidências sugerem que o treinamento acrobático realizado por 4 semanas em dias alternados promove aumento da expressão de proteína-2 associada a microtúbulos e de proteínas relacionadas à plasticidade sináptica no córtex motor, no estriado e na camada granular cerebelar (Salame et al., 2016). Nossos achados indicam que os efeitos positivos do treinamento acrobático em animais na fase crônica da hipoperfusão estão relacionados à preservação de neurônios em área essenciais para o controle motor, como o estriado e o córtex motor.

6. CONCLUSÃO

Demonstramos que o treinamento acrobático, precoce ou tardio, preveniu os déficits

de memória espacial e de reconhecimento de objetos causados pelo 2VO, principalmente em fêmeas, um efeito específico do sexo possivelmente associado à preservação neuronal e melhor resposta astrocitária. Os mecanismos envolvidos na melhora destes desfechos foram observados na fase aguda, subaguda e crônica da hipoperfusão. Na fase aguda e subaguda, a preservação neuronal na região CA1 do hipocampo parece estar relacionada com a eficiência da ação antioxidante das enzimas catalase e glutathione peroxidase na remoção das EROs, especialmente nas fêmeas. Também ocorreu o fenômeno da ramificação dos astrócitos após a hipoperfusão, provavelmente induzido pela liberação de IL-1 β e aumento da inflamação na região CA1 do hipocampo, o que foi prevenido pelo treinamento acrobático precoce, principalmente nas fêmeas.

Na fase crônica, o treinamento acrobático tardio promoveu sobrevivência neuronal provavelmente relacionada ao melhor potencial mitocondrial em ambos os sexos. Também houve prevenção dos déficits de aprendizagem espacial em machos, embora os machos apresentem maior produção de EROs e maior e mais desorganizada ramificação astrocitária em relação às fêmeas, implicando no melhor desempenho cognitivo das fêmeas. Nesta fase também foi demonstrado que as alterações motoras após 2VO são leves e não são evidentes em testes de atividade motora ampla, contudo prejuízos sutis relacionados à motricidade foram observados em avaliações refinadas da colocação dos membros durante a marcha na escada horizontal. Este prejuízo foi atenuado pelo treinamento acrobático, provavelmente pela prevenção da morte neuronal em regiões associadas à motricidade no córtex e no estriado. Desta forma, apresentamos neste trabalho evidências de que o treinamento acrobático é uma abordagem terapêutica eficaz no tratamento dos efeitos deletérios causados pela hipoperfusão encefálica crônica e traz benefícios específicos para ratos machos e fêmeas por meio de diferentes vias moleculares e celulares. O estudo dessas características pode contribuir na identificação de possíveis alvos terapêuticos, e futuramente, auxiliar na reabilitação clínica de pacientes com demência vascular.

7. LIMITAÇÕES

Este trabalho de doutoramento incluiu uma agenda extensa de procedimentos experimentais tendo em vista o delineamento do estudo. Desta forma, além do tratamento proposto, estavam previstas uma série de análises comportamentais, estudos bioquímicos e histológicos, e por essa razão, foi pensado para ser executado em equipe. O cumprimento do cronograma original e a finalização deste trabalho foram prejudicados em muitos aspectos devido à pandemia de Coronavírus. Em virtude desta excepcionalidade que transtornou o cotidiano de trabalho, em março de 2020 este projeto foi redesenhado, inicialmente em função das limitações de espaço físico e de recursos humanos disponíveis, em consonância com as medidas de precaução necessariamente adotadas na época pelo Departamento de Bioquímica vinculado ao ICBS-UFRGS. Em certos momentos, foi necessário interromper a pesquisa para auxiliar a finalização emergencial de outros estudos em andamento no laboratório. Outros percalços envolvidos incluem a disponibilidade de reagentes e materiais e a própria prorrogação dos benefícios concedidos à pesquisa que não contemplaram suficientemente o tempo para o retorno das atividades. Apesar dos contratempos e dificuldades, houve um esforço coletivo para a conclusão do estudo inicialmente proposto, hoje materializado nesta Tese de Doutorado.

8. PERSPECTIVAS

- 1) Analisar aspectos motores relacionados ao protocolo de prevenção pelo tratamento acrobático em ratos machos e fêmeas após a hipoperfusão encefálica crônica.
- 2) Realizar estudos bioquímicos e histológicos da fase crônica do protocolo de prevenção pelo tratamento acrobático em ratos machos e fêmeas após a hipoperfusão encefálica crônica.
- 3) Aprofundar o estudo da ramificação dos astrócitos.
- 4) Acrescentar análises sobre o ciclo estral das fêmeas e verificar sua possível interferência nos resultados.

9. REFERÊNCIAS

- Aliev, G., Palacios, H.H., Gasimov, E., Obrenovich, M.E., Morales, L., Leszek, J., Bragin, V., Herrera, A.S., Gokhman, D., 2010. Oxidative stress induced mitochondrial failure and vascular hypoperfusion as a key initiator for the development of alzheimer disease. *Pharmaceuticals* 3, 158–187.
<https://doi.org/10.3390/ph3010158>
- Anastácio, J.R., Netto, C. a., Castro, C.C., Sanches, E.F., Ferreira, D.C., Noschang, C., Krolow, R., Dalmaç, C., Pagnussat, A., 2014. Resveratrol treatment has neuroprotective effects and prevents cognitive impairment after chronic cerebral hypoperfusion. *Neurological Research* 36, 627–633.
<https://doi.org/10.1179/1743132813Y.0000000293>
- Anastacio, J.R., Netto, C.A., Castro, C.C., Sanches, E.F., Ferreira, D.C., Noschang, C., Krolow, R., Dalmaç, C., Pagnussat, A., 2014. Resveratrol treatment has neuroprotective effects and prevents cognitive impairment after chronic cerebral hypoperfusion. *NEUROLOGICAL RESEARCH* 36, 627–633.
<https://doi.org/10.1179/1743132813Y.0000000293>
- Anderson, B.J., Alcantara, A.A., Greenough, W.T., 1996. Motor-Skill Learning: Changes in Synaptic Organization of the Rat Cerebellar Cortex. *Neurobiology of Learning and Memory* 66, 221–229. <https://doi.org/10.1006/nlme.1996.0062>
- Anderson, B.J., Li, X., Alcantara, A.A., Isaacs, K.R., Black, J.E., Greenough, W.T., 1994. Glial hypertrophy is associated with synaptogenesis following motor-skill learning, but not with angiogenesis following exercise. *Glia* 11, 73–80.
<https://doi.org/10.1002/glia.440110110>
- Anderson, L., Thompson David, R., Oldridge, N., Zwisler, A.-D., Rees, K., Martin, N., Taylor Rod, S., 2016. Exercise-based cardiac rehabilitation for coronary heart disease. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD001800.pub3>
- Arteni, N.S., Pereira, L.O., Rodrigues, A.L., Lavinsky, D., Achaval, M.E., Netto, C.A., 2010. Lateralized and sex-dependent behavioral and morphological effects of unilateral neonatal cerebral hypoxia-ischemia in the rat. *Behavioural brain research* 210, 92–98. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2010.02.015>

- Aytac, E., Oktay Seymen, H., Uzun, H., Dikmen, G., Altug, T., 2006. Effects of iloprost on visual evoked potentials and brain tissue oxidative stress after bilateral common carotid artery occlusion. *Prostaglandins Leukotrienes and Essential Fatty Acids* 74, 373–378. <https://doi.org/10.1016/j.plefa.2006.03.006>
- Balestrini, S., Perozzi, C., Altamura, C., Vernieri, F., Luzzi, S., Bartolini, M., Provinciali, L., Silvestrini, M., 2013. Severe carotid stenosis and impaired cerebral hemodynamics can influence cognitive deterioration. *Neurology* 80, 2145–2150. <https://doi.org/10.1212/WNL.0b013e318295d71a>
- Benkhalifa, M., Ferreira, Y.J., Chahine, H., Louanjli, N., Miron, P., Merviel, P., Copin, H., 2014. Mitochondria: Participation to infertility as source of energy and cause of senescence. *International Journal of Biochemistry and Cell Biology* 55, 60–64. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2014.08.011>
- Bir, S.C., Khan, M.W., Javalkar, V., Toledo, E.G., Kelley, R.E., 2021. Emerging Concepts in Vascular Dementia: A Review. *Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases* 30, 105864. <https://doi.org/10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2021.105864>
- Black, J.E., Isaacs, K.R., Anderson, B.J., Alcantara, A.A., Greenough, W.T., 1990. Learning causes synaptogenesis, whereas motor activity causes angiogenesis, in cerebellar cortex of adult rats. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 87, 5568–5572. <https://doi.org/10.1073/pnas.87.14.5568>
- Borges-Machado, F., Silva, N., Farinatti, P., Poton, R., Ribeiro, Ó., Carvalho, J., 2021. Effectiveness of Multicomponent Exercise Interventions in Older Adults with Dementia: A Meta-Analysis. *Gerontologist* 61, E449–E462. <https://doi.org/10.1093/geront/gnaa091>
- Cao, W., Lin, J., Xiang, W., Liu, J., Wang, B., Liao, W., Jiang, T., 2022. Physical Exercise-Induced Astrocytic Neuroprotection and Cognitive Improvement Through Primary Cilia and Mitogen-Activated Protein Kinases Pathway in Rats With Chronic Cerebral Hypoperfusion. *Frontiers in Aging Neuroscience* 14, 1–13. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2022.866336>
- CASPERSEN, C.J., POWELL, K.E., GREGORY M. CHRISTENSON, 1985. Physical Activity, Exercise, and Physical Fitness: Definitions and Distinctions for Health-Related Research. *Public Health Rep* 2, 126–31.

- Cechetti, F., Pagnussat, A.S., Worm, P. V., Elsner, V.R., Ben, J., da Costa, M.S., Mestriner, R., Weis, S.N., Netto, C.A., 2012a. Chronic brain hypoperfusion causes early glial activation and neuronal death, and subsequent long-term memory impairment. *Brain Research Bulletin* 87, 109–116. <https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2011.10.006>
- Cechetti, F., Worm, P.V., Elsner, V.R., Bertoldi, K., Sanches, E., Ben, J., Siqueira, I.R., Netto, C.A., 2012b. Forced treadmill exercise prevents oxidative stress and memory deficits following chronic cerebral hypoperfusion in the rat. *Neurobiology of Learning and Memory* 97, 90–96. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2011.09.008>
- Cechetti, F., Worm, P.V., Lovatel, G., Moysés, F., Siqueira, I.R., Netto, C.A., 2012c. Environmental enrichment prevents behavioral deficits and oxidative stress caused by chronic cerebral hypoperfusion in the rat. *Life Sciences* 91, 29–36. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2012.05.013>
- Cechetti, F., Worm, P. V., Pereira, L.O., Siqueira, I.R., Netto, C.A., 2010. The modified 2VO ischemia protocol causes cognitive impairment similar to that induced by the standard method, but with a better survival rate. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*. <https://doi.org/10.1590/S0100-879X2010007500124>
- Chaitanya, G.V., Alexander, J.S., Babu, P.P., 2010. PARP-1 cleavage fragments: Signatures of cell-death proteases in neurodegeneration. *Cell Communication and Signaling* 8, 1–11. <https://doi.org/10.1186/1478-811X-8-31>
- Cheng, A., Hou, Y., Mattson, M.P., 2010. Mitochondria and neuroplasticity. *ASN Neuro* 2, 243–256. <https://doi.org/10.1042/AN20100019>
- Chisholm, N.C., Sohrabji, F., 2016. Astrocytic response to cerebral ischemia is influenced by sex differences and impaired by aging. *Neurobiol Dis.* 85, 245–253. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2015.03.028>
- Choi, D.-H., Lee, K.-H., Lee, J., 2016. Effect of exercise-induced neurogenesis on cognitive function deficit in a rat model of vascular dementia. *Molecular Medicine Reports* 13, 2981–2990. <https://doi.org/10.3892/mmr.2016.4891>
- Choi, D.H., Lee, K.H., Kim, J.H., Seo, J.H., Kim, H.Y., Shin, C.Y., Han, J.S., Han, S.H., Kim, Y.S., Lee, J., 2014. NADPH oxidase 1, a novel molecular source of ROS in hippocampal neuronal death in vascular dementia. *Antioxidants and Redox*

Signaling 21, 533–550. <https://doi.org/10.1089/ars.2012.5129>

Choy, M., Ganesan, V., Thomas, D.L., Thornton, J.S., Proctor, E., King, M.D., van der Weerd, L., Gadian, D.G., Lythgoe, M.F., 2006. The Chronic Vascular and Haemodynamic Response after Permanent Bilateral Common Carotid Occlusion in Newborn and Adult Rats. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism* 26, 1066–1075. <https://doi.org/10.1038/sj.jcbfm.9600259>

Chu, C.J., Jones, T.A., 2000. Experience-Dependent Structural Plasticity in Cortex Heterotopic to Focal Sensorimotor Cortical Damage. *Experimental Neurology* 166, 403–414. <https://doi.org/https://doi.org/10.1006/exnr.2000.7509>

Cohen, S.J., Munchow, A.H., Rios, L.M., Zhang, G., Ásgeirsdóttir, H.N., Stackman, R.W., 2013. The rodent hippocampus is essential for non-spatial object memory. *Current biology : CB* 23, 1685. <https://doi.org/10.1016/J.CUB.2013.07.002>

Confortim, H.D., Deniz, B.F., de Almeida, W., Miguel, P.M., Bronauth, L., Vieira, M.C., de Oliveira, B.C., Pereira, L.O., 2019. Neonatal hypoxia-ischemia caused mild motor dysfunction, recovered by acrobatic training, without affecting morphological structures involved in motor control in rats. *Brain Research* 1707, 27–44. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2018.11.021>

Cotman, C.W., Berchtold, N.C., Christie, L.A., 2007. Exercise builds brain health: key roles of growth factor cascades and inflammation. *Trends in Neurosciences* 30, 464–472. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2007.06.011>

de Almeida, W., Confortim, H.D., Deniz, B.F., Miguel, P.M., Vieira, M.C., Bronauth, L., dos Santos, A.S., Bertoldi, K., Siqueira, I.R., Pereira, L.O., 2021. Acrobatic exercise recovers object recognition memory impairment in hypoxic-ischemic rats. *International Journal of Developmental Neuroscience* 81, 60–70. <https://doi.org/10.1002/JDN.10075>

De Reuck, J.L., 2012. Histopathological stainings and definitions of vascular disruptions in the elderly brain. *Experimental Gerontology* 47, 834–837. <https://doi.org/10.1016/j.exger.2012.03.012>

Ding, Q., Ying, Z., Gómez-Pinilla, F., 2011. Exercise influences hippocampal plasticity by modulating brain-derived neurotrophic factor processing. *Neuroscience* 192, 773–780. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2011.06.032>

- Dong, J., Zhao, J., Lin, Y., Liang, H., He, X., Zheng, X., Sui, M., Zhuang, Z., Yan, T., 2018. Exercise improves recognition memory and synaptic plasticity in the prefrontal cortex for rats modelling vascular dementia. *Neurological research* 40, 68–77. <https://doi.org/10.1080/01616412.2017.1398389>
- Du, S.-Q.Q., Wang, X.-R.R., Xiao, L.-Y.Y., Tu, J.-F.F., Zhu, W., He, T., Liu, C.-Z.Z., 2017. Molecular Mechanisms of Vascular Dementia: What Can Be Learned from Animal Models of Chronic Cerebral Hypoperfusion? *Molecular Neurobiology* 54, 3670–3682. <https://doi.org/10.1007/s12035-016-9915-1>
- Duran-Carabali, L.E., Arcego, D.M., Sanches, E.F., Odorcyk, F.K., Marques, M.R., Tosta, A., Reichert, L., Carvalho, A.S., Dalmaz, C., Netto, C.A., 2019. Preventive and therapeutic effects of environmental enrichment in Wistar rats submitted to neonatal hypoxia-ischemia. *Behavioural brain research* 359, 485–497. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2018.11.036>
- El-Khoury, F., Cassou, B., Charles, M.-A., Dargent-Molina, P., 2013. The effect of fall prevention exercise programmes on fall induced injuries in community dwelling older adults: systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials. *BMJ* 347.
- Elsner, V.R., Lovatel, G.A., Moysés, F., Bertoldi, K., Spindler, C., Cechinel, L.R., Muotri, A.R., Siqueira, I.R., 2013. Exercise induces age-dependent changes on epigenetic parameters in rat hippocampus: A preliminary study. *Experimental Gerontology* 48, 136–139. <https://doi.org/10.1016/j.exger.2012.11.011>
- Ennaceur, A., Meliani, K., 1992. A new one-trial test for neurobiological studies of memory in rats. III. Spatial vs. non-spatial working memory. *Behavioural Brain Research* 51, 83–92. [https://doi.org/10.1016/S0166-4328\(05\)80315-8](https://doi.org/10.1016/S0166-4328(05)80315-8)
- Erickson, K., Hillman, C., Stillman, C., Ballard, R., Bloodgood, B., Conroy, D., Macko, R., Marquez, D., Petruzzello, S., Powell, K., 2020. Physical Activity, Cognition, and Brain Outcomes: A Review of the 2018 Physical Activity Guidelines. *Med Sci Sports Exerc.* 51, 1242–1251. <https://doi.org/10.1249/MSS.0000000000001936>.Physical
- Farkas, E., Donka, G., de Vos, R.A.I., Mihály, A., Bari, F., Luiten, P.G.M., 2004. Experimental cerebral hypoperfusion induces white matter injury and microglial

- activation in the rat brain. *Acta Neuropathologica* 108, 57–64.
<https://doi.org/10.1007/s00401-004-0864-9>
- Farkas, E., Instítóris, Á., Domoki, F., Mihály, A., Bari, F., 2006. The effect of pre- and posttreatment with diazoxide on the early phase of chronic cerebral hypoperfusion in the rat. *Brain Research* 1087, 168–174.
<https://doi.org/10.1016/j.brainres.2006.02.134>
- Farkas, E., Luiten, P.G., 2001. Cerebral microvascular pathology in aging and Alzheimer's disease, *Progress in Neurobiology*. [https://doi.org/10.1016/S0301-0082\(00\)00068-X](https://doi.org/10.1016/S0301-0082(00)00068-X)
- Farkas, E., Luiten, P.G.M., Bari, F., 2007. Permanent, bilateral common carotid artery occlusion in the rat: A model for chronic cerebral hypoperfusion-related neurodegenerative diseases. *Brain Research Reviews* 54, 162–180.
<https://doi.org/10.1016/j.brainresrev.2007.01.003>
- Fein, G., Di Sclafani, V., Tanabe, J., Cardenas, V., Weiner, M.W., Jagust, W.J., Reed, B.R., Norman, D., Schuff, N., Kusdra, L., Greenfield, T., Chui, H., 2000. Hippocampal and cortical atrophy predict dementia in subcortical ischemic vascular disease. *Neurology* 55, 1626–35.
- Freitas-Andrade, M., Raman-Nair, J., Lacoste, B., 2020. Structural and Functional Remodeling of the Brain Vasculature Following Stroke. *Frontiers in Physiology* 11. <https://doi.org/10.3389/fphys.2020.00948>
- Gao, Y.-Z., Zhang, J.-J., Liu, H., Wu, G.-Y., Xiong, L., Shu, M., 2013. Regional cerebral blood flow and cerebrovascular reactivity in Alzheimer's disease and vascular dementia assessed by arterial spinlabeling magnetic resonance imaging. *Current neurovascular research* 10, 49–53.
- Garcia, P.C., Real, C.C., Ferreira, A.F.B., Alouche, S.R., Britto, L.R.G., Pires, R.S., 2012. Different protocols of physical exercise produce different effects on synaptic and structural proteins in motor areas of the rat brain. *Brain Research* 1456, 36–48.
<https://doi.org/10.1016/j.brainres.2012.03.059>
- Geneva: World Health Organization, 2015. The epidemiology and impact of dementia: current state and future trends. Document WHO/MSD/MER/15.3.
https://doi.org/http://www.who.int/mental_health/neurology/dementia/thematic_bri

- Gerardin, D., Bernardi, M., Moreira, E., Pereira, O., 2006. Neuroendocrine and reproductive aspects of adult male rats exposed neonatally to an antiestrogen. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 83, 618–623. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2006.03.026>
- González-Tapia, D., Martínez-Torres, N.I., Hernández-González, M., Guevara, M.A., González-Burgos, I., 2016. Plastic changes to dendritic spines on layer V pyramidal neurons are involved in the rectifying role of the prefrontal cortex during the fast period of motor learning. *Behavioural Brain Research* 298, Part, 261–267. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.bbr.2015.11.013>
- González-Tapia, D., Velázquez-Zamora, D.A., Olvera-Cortés, M.E., González-Burgos, I., 2015. The motor learning induces plastic changes in dendritic spines of Purkinje cells from the neocerebellar cortex of the rat. *Restorative Neurology and Neuroscience* 33, 639–645. <https://doi.org/10.3233/RNN-140462>
- Gorelick, P.B., Scuteri, A., Black, S.E., DeCarli, C., Greenberg, S.M., Iadecola, C., Launer, L.J., Laurent, S., Lopez, O.L., Nyenhuis, D., Petersen, R.C., Schneider, J.A., Tzourio, C., Arnett, D.K., Bennett, D.A., Chui, H.C., Higashida, R.T., Lindquist, R., Nilsson, P.M., Roman, G.C., Sellke, F.W., Seshadri, S., American Heart Association Stroke Council, Council on Epidemiology and Prevention, Council on Cardiovascular Nursing, Council on Cardiovascular Radiology and Intervention, and Council on Cardiovascular Surgery and Anesthesia, 2011. Vascular Contributions to Cognitive Impairment and Dementia: A Statement for Healthcare Professionals From the American Heart Association/American Stroke Association. *Stroke* 42, 2672–2713. <https://doi.org/10.1161/STR.0b013e3182299496>
- Griffin, É.W., Bechara, R.G., Birch, A.M., Kelly, Á.M., 2009. Exercise enhances hippocampal-dependent learning in the rat: Evidence for a BDNF-related mechanism. *Hippocampus* 19, 973–980. <https://doi.org/10.1002/hipo.20631>
- He, L., He, T., Farrar, S., Ji, L., Liu, T., Ma, X., 2017. Antioxidants Maintain Cellular Redox Homeostasis by Elimination of Reactive Oxygen Species. *Cellular Physiology and Biochemistry* 44, 532–553. <https://doi.org/10.1159/000485089>

- Hei, Y., Chen, R., Yi, X., Long, Q., Gao, D., Liu, W., 2018. HMGB1 Neutralization Attenuates Hippocampal Neuronal Death and Cognitive Impairment in Rats with Chronic Cerebral Hypoperfusion via Suppressing Inflammatory Responses and Oxidative Stress. *Neuroscience* 383, 150–159.
<https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2018.05.010>
- Iadecola, C., 2013. The Pathobiology of Vascular Dementia. *Neuron* 80, 844–866.
<https://doi.org/10.1016/j.neuron.2013.10.008>
- Iadecola, C., 2004. Neurovascular regulation in the normal brain and in Alzheimer's disease. *Nature reviews. Neuroscience* 5, 347–360.
<https://doi.org/10.1038/nrn1387>
- Instititoris, A., Farkas, E., Berczi, S., Sule, Z., Bari, F., 2007. Effects of cyclooxygenase (COX) inhibition on memory impairment and hippocampal damage in the early period of cerebral hypoperfusion in rats. *European Journal of Pharmacology* 574, 29–38. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2007.07.019>
- International Alzheimer's Disease, 2020. Dementia statistics [WWW Document]. URL <https://www.alzint.org/about/dementia-facts-figures/dementia-statistics/> (accessed 11.5.22).
- Isaacs, K.R., Anderson, B.J., Alcantara, a a, Black, J.E., Greenough, W.T., 1992. Exercise and the brain: angiogenesis in the adult rat cerebellum after vigorous physical activity and motor skill learning. *J Cereb Blood Flow Metab.* 12, 110–9.
<https://doi.org/10.1038/jcbfm.1992.14>
- Jiang, T., Luo, J., Pan, X., Zheng, H., Yang, H., Zhang, L., Hu, X., 2021. Physical exercise modulates the astrocytes polarization , promotes myelin debris clearance and remyelination in chronic cerebral hypoperfusion rats. *Life Sciences* 278, 119526. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2021.119526>
- Jiang, T., Zhang, L., Pan, X., Zheng, H., Chen, X., Li, L., Luo, J., Hu, X., 2017. Physical Exercise Improves Cognitive Function Together with Microglia Phenotype Modulation and Remyelination in Chronic Cerebral Hypoperfusion. *Frontiers in Cellular Neuroscience* 11, 1–14.
<https://doi.org/10.3389/fncel.2017.00404>
- Jing, Z., Shi, C., Zhu, L., Xiang, Y., Chen, P., Xiong, Z., Li, W., Ruan, Y., Huang, L.,

2015. Chronic cerebral hypoperfusion induces vascular plasticity and hemodynamics but also neuronal degeneration and cognitive impairment. *Journal of cerebral blood flow and metabolism : official journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism* 35, 1249–59. <https://doi.org/10.1038/jcbfm.2015.55>
- Jiwa, N.S., Garrard, P., Hainsworth, A.H., 2010. Experimental models of vascular dementia and vascular cognitive impairment: A systematic review. *Journal of Neurochemistry* 115, 814–828. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2010.06958.x>
- Jokinen, H., Gouw, A.A., Madureira, S., Ylikoski, R., Van Straaten, E.C.W., Van Der Flier, W.M., Barkhof, F., Scheltens, P., Fazekas, F., Schmidt, R., Verdelho, A., Ferro, J.M., Pantoni, L., Inzitari, D., Erkinjuntti, T., 2011. Incident lacunes influence cognitive decline: The LADIS study. *Neurology* 76, 1872–1878. <https://doi.org/10.1212/WNL.0b013e31821d752f>
- Jones, T.A., Chu, C.J., Grande, L.A., Gregory, A.D., 1999. Motor skills training enhances lesion-induced structural plasticity in the motor cortex of adult rats. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 19, 10153–63.
- Jorm, A.F., Jolley, D., 1998. The incidence of dementia: a meta-analysis. *Neurology* 51, 728–33.
- Josefsson, T., Lindwall, M., Archer, T., 2014. Physical exercise intervention in depressive disorders: Meta-analysis and systematic review. *Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports* 24, 259–272. <https://doi.org/10.1111/sms.12050>
- Kalaria, R.N., 2016. Neuropathological diagnosis of vascular cognitive impairment and vascular dementia with implications for Alzheimer's disease. *Acta Neuropathologica* 131, 659–685. <https://doi.org/10.1007/s00401-016-1571-z>
- Kalaria, R.N., Maestre, G.E., Arizaga, R., Friedland, R.P., Galasko, D., Hall, K., Luchsinger, J.A., Ogunniyi, A., Perry, E.K., Potocnik, F., Prince, M., Stewart, R., Wimo, A., Zhang, Z.X., Antuono, P., 2008. Alzheimer's disease and vascular dementia in developing countries: prevalence, management, and risk factors. *The Lancet Neurology* 7, 812–826. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(08\)70169-8](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(08)70169-8)
- Keeley, R.J., Bye, C., Trow, J., McDonald, R.J., 2015. Strain and sex differences in

brain and behaviour of adult rats: Learning and memory, anxiety and volumetric estimates. *Behavioural Brain Research* 288, 118–131.

<https://doi.org/10.1016/j.bbr.2014.10.039>

Kleim, J. a, Vij, K., Ballard, D.H., Greenough, W.T., 1997. Learning-dependent synaptic modifications in the cerebellar cortex of the adult rat persist for at least four weeks. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 17, 717–721.

Kleim, J.A., Lussnig, E., Schwarz, E.R., Comery, T.A., Greenough, W.T., 1996. Synaptogenesis and Fos expression in the motor cortex of the adult rat after motor skill learning. *The Journal of Neuroscience* 16, 4529–4535.

<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.16-14-04529.1996>

Kleim, J.A., Markham, J.A., Vij, K., Freese, J.L., Ballard, D.H., Greenough, W.T., 2007. Motor learning induces astrocytic hypertrophy in the cerebellar cortex. *Behavioural Brain Research* 178, 244–249.

<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.bbr.2006.12.022>

Kleim, J.A., Swain, R.A., Armstrong, K.A., Napper, R.M.A., Jones, T.A., Greenough, W.T., 1998. Selective Synaptic Plasticity within the Cerebellar Cortex Following Complex Motor Skill Learning. *Neurobiology of Learning and Memory* 69, 274–289. <https://doi.org/https://doi.org/10.1006/nlme.1998.3827>

Klintsova, A.Y., Cowell, R.M., Swain, R.A., Napper, R.M.A., Goodlett, C.R., Greenough, W.T., 1998. Therapeutic effects of complex motor training on motor performance deficits induced by neonatal binge-like alcohol exposure in rats: I. Behavioral results. *Brain Research* 800, 48–61.

[https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0006-8993\(98\)00495-8](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0006-8993(98)00495-8)

Korczyn, A.D., Vakhapova, V., Grinberg, L.T., 2012. Vascular dementia. *Journal of the Neurological Sciences* 322, 2–10. <https://doi.org/10.1016/j.jns.2012.03.027>

Kua, E.H., Ho, E., Tan, H.H., Tsoi, C., Thng, C., Mahendran, R., 2014. The natural history of dementia. *Psychogeriatrics* 14, 196–201.

<https://doi.org/10.1111/psyg.12053>

Kume, K., Hanyu, H., Sato, T., Hirao, K., Shimizu, S., Kanetaka, H., Sakurai, H., Iwamoto, T., 2011. Vascular risk factors are associated with faster decline of

- Alzheimer disease: a longitudinal SPECT study. *Journal of Neurology* 258, 1295–1303. <https://doi.org/10.1007/s00415-011-5927-y>
- Lambert, T.J., Fernandez, S.M., Frick, K.M., 2005. Different types of environmental enrichment have discrepant effects on spatial memory and synaptophysin levels in female mice. *Neurobiology of Learning and Memory* 83, 206–216. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.nlm.2004.12.001>
- Lana, D., Iovino, L., Nosi, D., Wenk, G.L., Giovannini, G., 2016. The neuron-astrocyte-microglia triad involvement in neuroinflammation mechanisms in the CA3 hippocampus of memory-impaired aged rats. *Experimental Gerontology* 83, 71–88. <https://doi.org/10.1016/j.exger.2016.07.011>
- Lana, D., Melani, A., Pugliese, A.M., Cipriani, S., Nosi, D., Pedata, F., Giovannini, M.G., 2014. The neuron-astrocyte-microglia triad in a rat model of chronic cerebral hypoperfusion : protective effect of dipyridamole 6, 1–17. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2014.00322>
- Langdon, K.D., Granter-Button, S., Harley, C.W., Moody-Corbett, F., Peeling, J., Corbett, D., 2014. A cognitive rehabilitation paradigm effective in male rats lacks efficacy in female rats. *JOURNAL OF CEREBRAL BLOOD FLOW AND METABOLISM* 34, 1673–1680. <https://doi.org/10.1038/jcbfm.2014.132>
- Langdon, K.D., Granter-Button, S., Harley, C.W., Moody-Corbett, F., Peeling, J., Corbett, D., 2013. Cognitive rehabilitation reduces cognitive impairment and normalizes hippocampal CA1 architecture in a rat model of vascular dementia. *JOURNAL OF CEREBRAL BLOOD FLOW AND METABOLISM* 33, 872–879. <https://doi.org/10.1038/jcbfm.2013.21>
- Leardini-Tristão, M., Borges, J.P., Freitas, F., Rangel, R., Daliry, A., Tibiriçá, E., Estado, V., 2017. The impact of early aerobic exercise on brain microvascular alterations induced by cerebral hypoperfusion. *Brain Research* 1657, 43–51. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2016.11.030>
- Lee, J.-M., Baek, S.-S., Kim, T.-W., Park, H.-S., Park, S.-S., Park, J.-M., Kim, Y.-J., Lee, H.-S., Shin, M.-S., 2019. Preischemic treadmill exercise improves short-term memory by inhibiting hypoperfusion-induced disruption of blood-brain barrier after bilateral common carotid arteries occlusion. *Journal of exercise rehabilitation*

- 15, 370–376. <https://doi.org/10.12965/jer.1938274.137>
- Lee, J.-M., Kim, C.-J., Park, J.-M., Song, M.K., Kim, Y.-J., 2018a. Effect of treadmill exercise on spatial navigation impairment associated with cerebellar Purkinje cell loss following chronic cerebral hypoperfusion. *Molecular medicine reports* 17, 8121–8128. <https://doi.org/10.3892/mmr.2018.8893>
- Lee, J.-M., Kim, C.-J., Park, J.-M., Song, M.K., Kim, Y.-J., 2018b. Effect of treadmill exercise on spatial navigation impairment associated with cerebellar Purkinje cell loss following chronic cerebral hypoperfusion. *Molecular medicine reports* 17, 8121–8128. <https://doi.org/10.3892/mmr.2018.8893>
- Lee, J.-M., Park, J.-M., Song, M.K., Oh, Y.J., Kim, C.-J., Kim, Y.-J., 2017. The ameliorative effects of exercise on cognitive impairment and white matter injury from blood-brain barrier disruption induced by chronic cerebral hypoperfusion in adolescent rats. *Neuroscience letters* 638, 83–89. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2016.12.018>
- Li, F., Geng, X., Yun, H.J., Haddad, Y., Chen, Y., Ding, Y., 2021. Neuroplastic effect of exercise through astrocytes activation and cellular crosstalk. *Aging and Disease* 12, 1644–1657. <https://doi.org/10.14336/AD.2021.0325>
- Liddelow, S.A., Guttenplan, K.A., Clarke, L.E., Bennett, F.C., Bohlen, C.J., Schirmer, L., Bennett, M.L., Münch, A.E., Chung, W.S., Peterson, T.C., Wilton, D.K., Frouin, A., Napier, B.A., Panicker, N., Kumar, M., Buckwalter, M.S., Rowitch, D.H., Dawson, V.L., Dawson, T.M., Stevens, B., Barres, B.A., 2017. Neurotoxic reactive astrocytes are induced by activated microglia. *Nature* 541, 481–487. <https://doi.org/10.1038/nature21029>
- Lin, Y., Dong, J., Yan, T., He, X., Zheng, X., Liang, H., Sui, M., 2015a. Involuntary, forced and voluntary exercises are equally capable of inducing hippocampal plasticity and the recovery of cognitive function after stroke. *Neurological research* 37, 893–901. <https://doi.org/10.1179/1743132815Y.0000000074>
- Lin, Y., Lu, X.X., Dong, J., He, X., Yan, T., Liang, H., Sui, M., Zheng, X., Liu, H., Zhao, J., Lu, X.X., 2015b. Involuntary, Forced and Voluntary Exercises Equally Attenuate Neurocognitive Deficits in Vascular Dementia by the BDNF-pCREB Mediated Pathway. *Neurochemical research* 40, 1839–1848.

<https://doi.org/10.1007/s11064-015-1673-3>

- Liu, H., Zhang, J., 2012. Cerebral hypoperfusion and cognitive impairment: The pathogenic role of vascular oxidative stress. *International Journal of Neuroscience* 122, 494–499. <https://doi.org/10.3109/00207454.2012.686543>
- Liu, R., Wen, Y., Perez, E., Wang, X., Day, A.L., Simpkins, J.W., Yang, S.H., 2005. 17 β -Estradiol attenuates blood-brain barrier disruption induced by cerebral ischemia-reperfusion injury in female rats. *Brain Research* 1060, 55–61. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2005.08.048>
- Livingston, G., Huntley, J., Sommerlad, A., Ames, D., Ballard, C., Banerjee, S., Brayne, C., Burns, A., Cohen-Mansfield, J., Cooper, C., Costafreda, S.G., Dias, A., Fox, N., Gitlin, L.N., Howard, R., Kales, H.C., Kivimäki, M., Larson, E.B., Ogunniyi, A., Orgeta, V., Ritchie, K., Rockwood, K., Sampson, E.L., Samus, Q., Schneider, L.S., Selbæk, G., Teri, L., Mukadam, N., 2020. Dementia prevention, intervention, and care: 2020 report of the Lancet Commission. *The Lancet* 396, 413–446. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30367-6](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30367-6)
- Loprinzi, P.D., 2019. the Role of Astrocytes on the Effects of Exercise on Episodic Memory Function. *Physiology International* 106, 21–28. <https://doi.org/10.1556/2060.106.2019.04>
- Lovatel, G.A., Elsner, V.R., Bertoldi, K., Vanzella, C., Moysés, F.D.S., Vizuete, A., Spindler, C., Cechinel, L.R., Netto, C.A., Muotri, A.R., Siqueira, I.R., 2013. Treadmill exercise induces age-related changes in aversive memory, neuroinflammatory and epigenetic processes in the rat hippocampus. *Neurobiology of learning and memory* 101, 94–102. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2013.01.007>
- Lundquist, A.J., Parizher, J., Petzinger, G.M., Jakowec, M.W., 2019. Exercise induces region - specific remodeling of astrocyte morphology and reactive astrocyte gene expression patterns in male mice 1081–1094. <https://doi.org/10.1002/jnr.24430>
- Maillard, P., Carmichael, O., Fletcher, E., Reed, B., Mungas, D., DeCarli, C., 2012. Coevolution of white matter hyperintensities and cognition in the elderly. *Neurology* 79, 442–448. <https://doi.org/10.1212/WNL.0b013e3182617136>
- Marshall, R.S., 2012. Effects of altered cerebral hemodynamics on cognitive function. *Journal of Alzheimer's disease : JAD* 32, 633–42. <https://doi.org/10.3233/JAD->

2012-120949

- Martini, A.P.R., Hoepfer, E., Pedroso, T.A., Carvalho, A.V.S., Odorczyk, F.K., Fabres, R.B., Pereira, N. de S.C., Netto, C.A., 2022. Effects of acrobatic training on spatial memory and astrocytic scar in CA1 subfield of hippocampus after chronic cerebral hypoperfusion in male and female rats. *Behavioural Brain Research* 430, 113935. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2022.113935>
- Masumura, M., Hata, R., Nagai, Y., Sawada, T., 2001. Oligodendroglial cell death with DNA fragmentation in the white matter under chronic cerebral hypoperfusion: Comparison between normotensive and spontaneously hypertensive rats. *Neuroscience Research* 39, 401–412. [https://doi.org/10.1016/S0168-0102\(01\)00195-X](https://doi.org/10.1016/S0168-0102(01)00195-X)
- Maugeri, G., Agata, V.D., Magr, B., Roggio, F., Castorina, A., Ravalli, S., Rosa, M. Di, Musumeci, G., 2021. Neuroprotective Effects of Physical Activity via the Adaptation of Astrocytes 1–13.
- McCarthy, M.M., Arnold, A.P., Ball, G.F., Blaustein, J.D., De Vries, G.J., 2012. Sex Differences in the Brain: The Not So Inconvenient Truth. *Journal of Neuroscience* 32.
- Memon, A., McCullough, L.D., 2018. Cerebral circulation in men and women. *Advances in Experimental Medicine and Biology* 1065, 279–290. https://doi.org/10.1007/978-3-319-77932-4_18
- Mijajlović, M.D., Pavlović, A., Brainin, M., Heiss, W.D., Quinn, T.J., Ihle-Hansen, H.B., Hermann, D.M., Assayag, E. Ben, Richard, E., Thiel, A., Kliper, E., Shin, Y. Il, Kim, Y.H., Choi, S.H., Jung, S., Lee, Y.B., Sinanović, O., Levine, D.A., Schlesinger, I., Mead, G., Milošević, V., Leys, D., Hagberg, G., Ursin, M.H., Teuschl, Y., Prokopenko, S., Mozheyko, E., Bezdenezhnykh, A., Matz, K., Aleksić, V., Muresanu, D.F., Korczyn, A.D., Bornstein, N.M., 2017. Post-stroke dementia - a comprehensive review. *BMC Medicine* 15, 1–12. <https://doi.org/10.1186/s12916-017-0779-7>
- Moghaddasi, M., Taati, M., Asadian, P., Khalatbary, A.R., Asaei, R., Pajouhi, N., 2017. The effects of two-stage carotid occlusion on spatial memory and pro-inflammatory markers in the hippocampus of rats. *Journal of Physiological*

Sciences 67, 415–423. <https://doi.org/10.1007/s12576-016-0474-z>

Molteni, R., Ying, Z., Gomez-Pinilla, F., Gómez-Pinilla, F., Go Â Mez-Pinilla, F., 2002. Differential effects of acute and chronic exercise on plasticity-related genes in the rat hippocampus revealed by microarray. *The European journal of neuroscience* 16, 1107–16. <https://doi.org/10.1046/j.1460-9568.2002.02158.x>

Morrison, H.W., Filosa, J.A., 2019. Stroke and the neurovascular unit: Glial cells, sex differences, and hypertension. *American Journal of Physiology - Cell Physiology* 316, C325–C339. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.00333.2018>

Moser, E.I., Kropff, E., Moser, M.B., 2008. Place Cells, Grid Cells, and the Brain's Spatial Representation System. *Annu Rev Neurosci* 31, 69–89. <https://doi.org/10.1146/ANNUREV.NEURO.31.061307.090723>

National Institute of Mental Health, 2011. Sex Differences in Brain, Behavior, Mental Health and Mental Disorders [WWW Document]. Bethesda, Maryland. URL <https://www.nimh.nih.gov/research-priorities/scientific-meetings/2011/sex-differences-in-brain-behavior-mental-health-and-mental-disorders/index.shtml> (accessed 8.16.17).

Netto, C.A., Sanches, E., Odorczyk, F.K., Duran-Carabali, L.E., Weis, S.N., 2017. Sex-dependent consequences of neonatal brain hypoxia-ischemia in the rat. *Journal of Neuroscience Research* 95, 409–421. <https://doi.org/10.1002/jnr.23828>

Nichols, E., Steinmetz, J.D., Vollset, S.E., Fukutaki, K., Chalek, J., Abd-Allah, F., Abdoli, A., Abualhasan, A., Abu-Gharbieh, E., Akram, T.T., Al Hamad, H., Alahdab, F., Alanezi, F.M., Alipour, V., Almustanyir, S., Amu, H., Ansari, I., Arabloo, J., Ashraf, T., Astell-Burt, T., Ayano, G., Ayuso-Mateos, J.L., Baig, A.A., Barnett, A., Barrow, A., Baune, B.T., Béjot, Y., Bezabhe, W.M.M., Bezabih, Y.M., Bhagavathula, A.S., Bhaskar, S., Bhattacharyya, K., Bijani, A., Biswas, A., Bolla, S.R., Bloor, A., Brayne, C., Brenner, H., Burkart, K., Burns, R.A., Cámara, L.A., Cao, C., Carvalho, F., Castro-de-Araujo, L.F.S., Catalá-López, F., Cerin, E., Chavan, P.P., Cherbuin, N., Chu, D.T., Costa, V.M., Couto, R.A.S., Dadrás, O., Dai, X., Dandona, L., Dandona, R., De la Cruz-Góngora, V., Dhamnetiya, D., Dias da Silva, D., Diaz, D., Douiri, A., Edvardsson, D., Ekholuenetale, M., El Sayed, I., El-Jaafary, S.I., Eskandari, K., Eskandarieh, S., Esmaeilnejad, S., Fares, J., Faro,

A., Farooque, U., Feigin, V.L., Feng, X., Fereshtehnejad, S.M., Fernandes, E., Ferrara, P., Filip, I., Fillit, H., Fischer, F., Gaidhane, S., Galluzzo, L., Ghashghaee, A., Ghith, N., Gialluisi, A., Gilani, S.A., Glavan, I.R., Gnedovskaya, E. V., Golechha, M., Gupta, R., Gupta, V.B., Gupta, V.K., Haider, M.R., Hall, B.J., Hamidi, S., Hanif, A., Hankey, G.J., Haque, S., Hartono, R.K., Hasaballah, A.I., Hasan, M.T., Hassan, A., Hay, S.I., Hayat, K., Hegazy, M.I., Heidari, G., Heidari-Soureshjani, R., Herteliu, C., Househ, M., Hussain, R., Hwang, B.F., Iacoviello, L., Iavicoli, I., Ilesanmi, O.S., Ilic, I.M., Ilic, M.D., Irvani, S.S.N., Iso, H., Iwagami, M., Jabbarinejad, R., Jacob, L., Jain, V., Jayapal, S.K., Jayawardena, R., Jha, R.P., Jonas, J.B., Joseph, N., Kalani, R., Kandel, A., Kandel, H., Karch, A., Kasa, A.S., Kassie, G.M., Keshavarz, P., Khan, M.A., Khatib, M.N., Khoja, T.A.M., Khubchandani, J., Kim, M.S., Kim, Y.J., Kisa, A., Kisa, S., Kivimäki, M., Koroshetz, W.J., Koyanagi, A., Kumar, G.A., Kumar, M., Lak, H.M., Leonardi, M., Li, B., Lim, S.S., Liu, X., Liu, Y., Logroscino, G., Lorkowski, S., Lucchetti, G., Lutzky Saute, R., Magnani, F.G., Malik, A.A., Massano, J., Mehndiratta, M.M., Menezes, R.G., Meretoja, A., Mohajer, B., Mohamed Ibrahim, N., Mohammad, Y., Mohammed, A., Mokdad, A.H., Mondello, S., Moni, M.A.A., Moniruzzaman, M., Mossie, T.B., Nagel, G., Naveed, M., Nayak, V.C., Neupane Kandel, S., Nguyen, T.H., Oancea, B., Otstavnov, N., Otstavnov, S.S., Owolabi, M.O., Panda-Jonas, S., Pashazadeh Kan, F., Pasovic, M., Patel, U.K., Pathak, M., Peres, M.F.P., Perianayagam, A., Peterson, C.B., Phillips, M.R., Pinheiro, M., Piradov, M.A., Pond, C.D., Potashman, M.H., Potttoo, F.H., Prada, S.I., Radfar, A., Raggi, A., Rahim, F., Rahman, M., Ram, P., Ranasinghe, P., Rawaf, D.L., Rawaf, S., Rezaei, N., Rezapour, A., Robinson, S.R., Romoli, M., Roshandel, G., Sahathevan, R., Sahebkar, A., Sahraian, M.A., Sathian, B., Sattin, D., Sawhney, M., Saylan, M., Schiavolin, S., Seylani, A., Sha, F., Shaikh, M.A., Shaji, K.S., Shannawaz, M., Shetty, J.K., Shigematsu, M., Shin, J. Il, Shiri, R., Silva, D.A.S., Silva, J.P., Silva, R., Singh, J.A., Skryabin, V.Y., Skryabina, A.A., Smith, A.E., Soshnikov, S., Spurlock, E.E., Stein, D.J., Sun, J., Tabarés-Seisdedos, R., Thakur, B., Timalina, B., Tovani-Palone, M.R., Tran, B.X., Tsegaye, G.W., Valadan Tahbaz, S., Valdez, P.R., Venketasubramanian, N., Vlassov, V., Vu, G.T., Vu, L.G., Wang, Y.P., Wimo, A., Winkler, A.S., Yadav, L., Yahyazadeh Jabbari, S.H., Yamagishi, K., Yang, L., Yano, Y., Yonemoto, N., Yu, C., Yunusa, I., Zadey, S., Zastrozhin, M.S., Zastrozhina, A., Zhang, Z.J., Murray, C.J.L., Vos, T., 2022.

- Estimation of the global prevalence of dementia in 2019 and forecasted prevalence in 2050: an analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. *The Lancet Public Health* 7, e105–e125. [https://doi.org/10.1016/S2468-2667\(21\)00249-8](https://doi.org/10.1016/S2468-2667(21)00249-8)
- Niu, H., Wang, M., Chen, X., Zhang, Li, Li, Y., Zhang, Lan, Li, Lin, Zhang, L, Zhang, L, Li, L, 2020. Epimedium flavonoids improve cognitive impairment and white matter lesions induced by chronic cerebral hypoperfusion through inhibiting the Lingo-1/Fyn/ROCK pathway and activating the BDNF/NGF/PI3K pathway in rats. *Brain research* 1743. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.brainres.2020.146902>
- O'Brien, J.T., Thomas, A., 2015. Vascular dementia. *The Lancet* 386, 1698–1706. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(15\)00463-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(15)00463-8)
- O'Callaghan, R.M., Griffin, É.W., Kelly, Á.M., 2009. Long-term treadmill exposure protects against age-related neurodegenerative change in the rat hippocampus. *Hippocampus* 19, 1019–1029. <https://doi.org/10.1002/hipo.20591>
- Ogoh, S., 2017. Relationship between cognitive function and regulation of cerebral blood flow. *Journal of Physiological Sciences* 67, 345–351. <https://doi.org/10.1007/s12576-017-0525-0>
- Onyango, I.G., Lu, J., Rodova, M., Lezi, E., Crafter, A.B., Swerdlow, R.H., 2010. Regulation of neuron mitochondrial biogenesis and relevance to brain health. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Basis of Disease* 1802, 228–234. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2009.07.014>
- Otori, T., Katsumata, T., Muramatsu, H., Kashiwagi, F., Katayama, Y., Terashi, A., 2003. Long-term measurement of cerebral blood flow and metabolism in a rat chronic hypoperfusion model. *Clinical and experimental pharmacology & physiology* 30, 266–72.
- Pappas, B.A., de la Torre, J.C., Davidson, C.M., Keyes, M.T., Fortin, T., 1996. Chronic reduction of cerebral blood flow in the adult rat: late-emerging CA1 cell loss and memory dysfunction. *Brain Research* 708, 50–58. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(95\)01267-2](https://doi.org/10.1016/0006-8993(95)01267-2)
- Pekny, M., Nilsson, M., 2005. Astrocyte activation and reactive gliosis. *Glia* 50, 427–434. <https://doi.org/10.1002/glia.20207>

- Pendlebury, S.T., Rothwell, P.M., 2009. Prevalence, incidence, and factors associated with pre-stroke and post-stroke dementia: a systematic review and meta-analysis. *The Lancet Neurology* 8, 1006–1018. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(09\)70236-4](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(09)70236-4)
- Phelan, E.A., Borson, S., Grothaus, L., Balch, S., Larson, E.B., 2012. Association of incident dementia with hospitalizations. *Jama* 307, 165–172. <https://doi.org/10.1001/jama.2011.1964>
- Pizzino, G., Irrera, N., Cucinotta, M., Pallio, G., Mannino, F., Arcoraci, V., Squadrito, F., Altavilla, D., Bitto, A., 2017. Oxidative Stress: Harms and Benefits for Human Health. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2017. <https://doi.org/10.1155/2017/8416763>
- Plaschke, K., 2005. Aspects of ageing in chronic cerebral oligoemia. Mechanisms of degeneration and compensation in rat models. *Journal of Neural Transmission* 112, 393–413. <https://doi.org/10.1007/s00702-004-0191-2>
- Plaschke, K., Sommer, C., Schroeck, H., Matejic, D., Kiessling, M., Martin, E., Weigand, M.A., Bardenheuer, H.J., 2005. A mouse model of cerebral oligemia: Relation to brain histopathology, cerebral blood flow, and energy state. *Experimental Brain Research* 162, 324–331. <https://doi.org/10.1007/s00221-004-2177-6>
- Qu, J., Zhou, Q., Du, Y., Zhang, W., Bai, M., Zhang, Z., Xi, Y., Li, Z., Miao, J., 2014. Rutin protects against cognitive deficits and brain damage in rats with chronic cerebral hypoperfusion. *British journal of pharmacology* 171, 3702–15. <https://doi.org/10.1111/bph.12725>
- Rosenfeld, C.S., 2017. Sex-dependent differences in voluntary physical activity. *Journal of Neuroscience Research*. <https://doi.org/10.1002/jnr.23896>
- Sahathevan, R., Brodtmann, A., Donnan, G.A., 2012. Dementia, Stroke, and Vascular Risk Factors; a Review. *International Journal of Stroke* 7, 61–73. <https://doi.org/10.1111/j.1747-4949.2011.00731.x>
- Sakata, J.T., Jones, T.A., 2003. Synaptic mitochondrial changes in the motor cortex following unilateral cortical lesions and motor skills training in adult male rats. *Neuroscience Letters* 337, 159–162. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0304->

- Salame, S., Garcia, P.C., Real, C.C., Borborema, J., Mota-Ortiz, S.R., Britto, L.R.G., Pires, R.S., 2016. Distinct neuroplasticity processes are induced by different periods of acrobatic exercise training. *Behavioural Brain Research* 308, 64–74. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.bbr.2016.04.029>
- Santin, K., da Rocha, R.F., Cechetti, F., Quincozes-Santos, A., de Souza, D.F., Nardin, P., Rodrigues, L., Leite, M.C., Moreira, J.C.F., Salbego, C.G., Gonçalves, C.A., 2011. Moderate exercise training and chronic caloric restriction modulate redox status in rat hippocampus. *Brain research* 1421, 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2011.08.003>
- Sarti, C., Pantoni, L., Bartolini, L., Inzitari, D., 2002. Persistent impairment of gait performances and working memory after bilateral common carotid artery occlusion in the adult Wistar rat. *Behav Brain Res* 136, 13–20. [https://doi.org/doi:10.1016/s0166-4328\(02\)00090-6](https://doi.org/doi:10.1016/s0166-4328(02)00090-6).
- Shang, Y., Cheng, J., Qi, J., Miao, H., 2005. Scutellaria flavonoid reduced memory dysfunction and neuronal injury caused by permanent global ischemia in rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 82, 67–73. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2005.06.018>
- Siegel, C., Turtzo, C., McCullough, L.D., 2010. Sex differences in cerebral ischemia: Possible molecular mechanisms. *Journal of Neuroscience Research* 88, 2765–2774. <https://doi.org/10.1002/jnr.22406>
- Smith, E.E., Schneider, J.A., Wardlaw, J.M., Greenberg, S.M., 2012. Cerebral microinfarcts: The invisible lesions. *The Lancet Neurology* 11, 272–282. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(11\)70307-6](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(11)70307-6)
- Sofroniew, M. V, 2014. Astrogliosis. *Cold Spring Harbor perspectives in biology* 7. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a020420>
- Sofroniew, M. V, 2009. Molecular dissection of reactive astrogliosis and glial scar formation. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2009.08.002>
- Spychala, M.S., Honarpisheh, P., McCullough, L.D., 2017. Sex differences in neuroinflammation and neuroprotection in ischemic stroke. *Journal of*

Neuroscience Research. <https://doi.org/10.1002/jnr.23962>

Stanojlović, M., Guševać, I., Grković, I., Mitrović, N., Horvat, A., Drakulić, D., 2014a.

Time-related sex differences in cerebral hypoperfusion-induced brain injury.

Archives of Biological Sciences 66, 1673–1680.

<https://doi.org/10.2298/ABS1404673S>

Stanojlović, M., Horvat, A., Guševać, I., Grković, I., Mitrović, N., Buzadžić, I.,

Drakulić, D., 2014b. Time course of cerebral hypoperfusion-induced

neurodegenerative changes in the cortex of male and female rats. Folia Biologica

(Czech Republic) 60, 123–132.

Tamakoshi, K., Ishida, A., Takamatsu, Y., Hamakawa, M., Nakashima, H., Shimada,

H., Ishida, K., 2014. Motor skills training promotes motor functional recovery and

induces synaptogenesis in the motor cortex and striatum after intracerebral

hemorrhage in rats. Behavioural Brain Research 260, 34–43.

<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.bbr.2013.11.034>

Tamakoshi, K., Ishida, K., Kawanaka, K., Takamatsu, Y., Tamaki, H., 2017. Motor

Skills Training Enhances α -Amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic Acid

Receptor Subunit mRNA Expression in the Ipsilateral Sensorimotor Cortex and

Striatum of Rats Following Intracerebral Hemorrhage. Journal of Stroke and

Cerebrovascular Diseases.

<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2017.05.005>

Tamakoshi, K., Kawanaka, K., Onishi, H., Takamatsu, Y., Ishida, K., 2016. Motor

Skills Training Improves Sensorimotor Dysfunction and Increases Microtubule-

Associated Protein 2 mRNA Expression in Rats with Intracerebral Hemorrhage.

Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases 25, 2071–2077.

<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2016.05.007>

Tang, T., Hu, L., Liu, Y., Fu, X., Li, J., Yan, F., Cao, S., Chen, G., 2022. Sex-

Associated Differences in Neurovascular Dysfunction During Ischemic Stroke.

Frontiers in Molecular Neuroscience 15, 1–15.

<https://doi.org/10.3389/fnmol.2022.860959>

Thal, D.R., Grinberg, L.T., Attems, J., 2012. Vascular dementia: Different forms of

vessel disorders contribute to the development of dementia in the elderly brain.

Experimental Gerontology 47, 816–824.

<https://doi.org/10.1016/j.exger.2012.05.023>

Torres, J.B., Assunção, J., Farias, J.A., Kahwage, R., Lins, N., Passos, A., Quinteiros, A., Trévia, N., Diniz, C.W.P., 2006. NADPH-diaphorase histochemical changes in the hippocampus, cerebellum and striatum are correlated with different modalities of exercise and watermaze performances. *Experimental Brain Research* 175, 292–304. <https://doi.org/10.1007/s00221-006-0549-9>

Tsuchiya, M., Sako, K., Yura, S., Yonemasu, Y., 1992. Cerebral blood flow and histopathological changes following permanent bilateral carotid artery ligation in Wistar rats. *Experimental Brain Research* 89, 87–92. <https://doi.org/10.1007/BF00229004>

Ueda, M., Muramatsu, H., Kamiya, T., Muramatsu, A., Mori, T., Terashi, A., Katayama, Y., 2000. Pyruvate dehydrogenase activity and energy metabolite levels following bilateral common carotid artery occlusion in rat brain. *Life Sciences* 67, 821–826. [https://doi.org/10.1016/S0024-3205\(00\)00676-7](https://doi.org/10.1016/S0024-3205(00)00676-7)

Valerio, A., Bertolotti, P., Delbarba, A., Perego, C., Dossena, M., Ragni, M., Spano, P., Carruba, M.O., De Simoni, M.G., Nisoli, E., 2011. Glycogen synthase kinase-3 inhibition reduces ischemic cerebral damage, restores impaired mitochondrial biogenesis and prevents ROS production. *Journal of Neurochemistry* 116, 1148–1159. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2011.07171.x>

Vaynman, S., Ying, Z., Gomez-Pinilla, A.F., Gomez-Pinilla, F., 2003. Interplay between brain-derived neurotrophic factor and signal transduction modulators in the regulation of the effects of exercise on synaptic-plasticity. *Neuroscience* 122, 647–657. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2003.08.001>

Villarejo Galende, A., Eimil Ortiz, M., Llamas Velasco, S., Llanero Luque, M., López de Silanes de Miguel, C., Prieto Jurczynska, C., 2021. Report by the Spanish Foundation of the Brain on the social impact of Alzheimer disease and other types of dementia. *Neurología (English Edition)* 36, 39–49. <https://doi.org/10.1016/j.nrleng.2017.10.004>

Wakita, H., Tomimoto, H., Akiguchi, I., Matsuo, A., Lin, J.X., Ihara, M., McGeer, P.L., 2002. Axonal damage and demyelination in the white matter after chronic cerebral

- hypoperfusion in the rat. *Brain Research* 924, 63–70.
[https://doi.org/10.1016/S0006-8993\(01\)03223-1](https://doi.org/10.1016/S0006-8993(01)03223-1)
- Wang, J., Zhang, H.Y., Tang, X.C., 2009. Huperzine A improves chronic inflammation and cognitive decline in rats with cerebral hypoperfusion. *Journal of Neuroscience Research* 88, NA-NA. <https://doi.org/10.1002/jnr.22237>
- Wang, Q., Tang, X.N., Yenari, M.A., 2007. The inflammatory response in stroke. *Journal of Neuroimmunology* 184, 53–68.
<https://doi.org/10.1016/j.jneuroim.2006.11.014>
- Wang, X., Zhang, M., Yang, S.D., Li, W.B., Ren, S.Q., Zhang, J., Zhang, F., 2014. Pre-ischemic treadmill training alleviates brain damage via GLT-1-mediated signal pathway after ischemic stroke in rats. *Neuroscience* 274, 393–402.
<https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2014.05.053>
- Wei, E.P., Christman, C.W., Kontos, H.A., Povlishock, J.T., 1985. Effects of oxygen radicals on cerebral arterioles. *American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology* 17. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.1985.248.2.h157>
- Wen, C.P., Wai, J.P.M., Tsai, M.K., Yang, Y.C., Cheng, T.Y.D., Lee, M.-C., Chan, H.T., Tsao, C.K., Tsai, S.P., Wu, X., 2011. Minimum amount of physical activity for reduced mortality and extended life expectancy: a prospective cohort study. *Lancet* 378, 1244–53. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(11\)60749-6](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(11)60749-6)
- Wiesmann, M., Kiliaan, A.J., Claassen, J.A., 2013. Vascular Aspects of Cognitive Impairment and Dementia. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism* 33, 1696–1706. <https://doi.org/10.1038/jcbfm.2013.159>
- Winblad, B., Amouyel, P., Andrieu, S., Ballard, C., Brayne, C., Brodaty, H., Cedazo-Minguez, A., Dubois, B., Edvardsson, D., Feldman, H., Fratiglioni, L., Frisoni, G.B., Gauthier, S., Georges, J., Graff, C., Iqbal, K., Jessen, F., Johansson, G., Jönsson, L., Kivipelto, M., Knapp, M., Mangialasche, F., Melis, R., Nordberg, A., Rikkert, M.O., Qiu, C., Sakmar, T.P., Scheltens, P., Schneider, L.S., Sperling, R., Tjernberg, L.O., Waldemar, G., Wimo, A., Zetterberg, H., 2016. Defeating Alzheimer's disease and other dementias: A priority for European science and society. *The Lancet Neurology* 15, 455–532. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(16\)00062-4](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(16)00062-4)

- Wizemann, T., Pardue, M., 2001. Exploring the Biological Contributions to Human Health: Does Sex Matter? Washington, DC: Board on Health Sciences Policy, ... 17–19.
- World Health Organization, 2017. Global action plan on the public health response to dementia 2017 - 2025. Geneva: World Health Organization 52.
- Wu, Y.T., Beiser, A.S., Breteler, M.M.B., Fratiglioni, L., Helmer, C., Hendrie, H.C., Honda, H., Ikram, M.A., Langa, K.M., Lobo, A., Matthews, F.E., Ohara, T., Pérès, K., Qiu, C., Seshadri, S., Sjölund, B.M., Skoog, I., Brayne, C., 2017. The changing prevalence and incidence of dementia over time-current evidence. *Nature Reviews Neurology* 13, 327–339. <https://doi.org/10.1038/nrneurol.2017.63>
- Yang, T., Sun, Y., Lu, Z., K. Leak, R., Zhang, F., 2017. The impact of cerebrovascular aging on vascular cognitive impairment and dementia. *Ageing Res Rev* 34, 15–29. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2016.09.007>
- Zheng, G., Xia, R., Zhou, W., Tao, J., Chen, L., 2016. Aerobic exercise ameliorates cognitive function in older adults with mild cognitive impairment: a systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials. *British journal of sports medicine* bjsports-2015-095699. <https://doi.org/10.1136/bjsports-2015-095699>
- Zhu, X., Perry, G., Moreira, P.I., Aliev, G., Cash, A.D., Hirai, K., Smith, M.A., 2006. Mitochondrial abnormalities and oxidative imbalance in Alzheimer disease. *Journal of Alzheimer's Disease* 9, 147–153. <https://doi.org/10.3233/JAD-2006-9207>