

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

FACULDADE DE MEDICINA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA: CIÊNCIAS  
CIRÚRGICAS

**ALTERAÇÕES METABÓLICAS NO LÍQUOR DE PACIENTES  
COM TRAUMATISMO CRANIOENCEFÁLICO GRAVE**

RAFAEL MODKOVSKI

ORIENTADOR PROF. DR. MARCO ANTÔNIO STEFANI

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

PORTO ALEGRE

2013

RAFAEL MODKOVSKI

ALTERAÇÕES METABÓLICAS NO LÍQUOR DE PACIENTES COM  
TRAUMATISMO CRANIOENCEFÁLICO GRAVE

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Medicina: Ciências Cirúrgicas da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como requisito para obtenção de título de Mestre.

Orientador Prof. Dr. Marco Antônio Stefani

PORTO ALEGRE

2013

### CIP - Catalogação na Publicação

Modkovski, Rafael

ALTERAÇÕES METABÓLICAS NO LÍQUOR DE PACIENTES COM  
TRAUMATISMO CRANIOENCEFÁLICO GRAVE / Rafael

Modkovski. -- 2013.

102 f.

Orientador: Marco Antônio Stefani.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do  
Rio Grande do Sul, Faculdade de Medicina, Programa  
de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Cirúrgicas,  
Porto Alegre, BR-RS, 2013.

1. Traumatismo cranioencefálico. 2. Metabolismo  
cerebral. 3. Fatores Neurotróficos. 4. Lactato. 5.  
Líquido cefalorraquidiano. I. Stefani, Marco Antônio,  
orient. II. Título.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço ao Prof. Marco Antônio Stefani  
pela inestimável ajuda na orientação deste trabalho.

Agradecimentos especiais ao  
Departamento de Bioquímica da UFRGS, principalmente ao Dr.  
Diogo Onofre de Souza, ao Dr. Jean Pierre Oses e ao Dr. Luis  
Valmor Portela pela participação fundamental neste projeto.

Aos colegas e amigos da Ineuro pelo  
apoio constante.

Agradecimentos adicionais a todos os  
colegas e profissionais que contribuíram para este trabalho.

Dedico este trabalho aos meus pais Gabriel  
e Araci pelo estímulo e suporte desde o princípio  
dessa jornada.

Aos meus irmãos Daniel e Guilherme.

*“The saddest aspect of life right now is that science gathers knowledge faster than society gathers wisdom.”*

Isaac Asimov

## LISTA DE ABREVIATURAS

ANLS	<i>Astrocyte-Neuron Lactate Shuttle</i>
ATP	Adenosina Trifosfato
BDNF	<i>Brain-derived Neurotrophic Factor</i>
BHE	Barreira Hematoencefálica
BHL	Barreira Hematoliquórica
ECG	Escala de Coma de Glasgow
EUA	Estados Unidos da América
FSC	Fluxo Sanguíneo Cerebral
GDNF	<i>Glial Cell-derived Neurotrophic Factor</i>
GFL	<i>GDNF Family Ligands</i>
GJ	<i>Gap Junctions</i>
GluR2	<i>Glutamate Receptor 2</i>
GLUT1	<i>Glucose Transporter 1</i>
ICAM-1	Molécula de Adesão Intercelular Endotelial
IGF-1	<i>Insulin-like Growth Factor 1</i>
MAPK	Proteína-quinase Ativada por Mitógenos
MCT	<i>Monocarboxylate Transporter</i>
MMP	Metaloproteinase de Matriz
NGF	<i>Nerve Growth Factor</i>
NT-3	Neurotrofina 3
NT-4	Neurotrofina 4
PC	Plexo Coriódio
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase
PIC	Pressão Intracraniana
RNA <sub>m</sub>	RNA Mensageiro
ROS	<i>Reactive Oxygen Species</i>
SNC	Sistema Nervoso Central
TBI	<i>Traumatic Brain Injury</i>
TCE	Traumatismo Cranioencefálico
TGF- $\beta$	<i>Transforming Growth Factor Beta</i>
TNF	Fator de Necrose Tumoral
TrK	Receptores Tirosina-quinase
VEGF	Fator de Crescimento do Endotélio Vascular

# SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	<b>8</b>
<b>2. REVISÃO DA LITERATURA</b> .....	<b>11</b>
2.1. CLASSIFICAÇÃO .....	11
2.2. FISIOPATOLOGIA DO TCE.....	12
2.2.1. Lesões Primárias.....	12
2.2.2. Hipertensão intracraniana .....	12
2.2.3. Lesão Cerebral Secundária .....	13
2.2.4. Barreira Hematoliquórica.....	17
2.2.5. Disfunção da barreira hematoencefálica .....	22
2.2.6. Astroglíose .....	24
2.3. NEUROENERGÉTICA .....	25
2.3.1. O Lactato .....	28
2.3.2. O Papel Dos Astrócitos .....	29
2.4. FATORES NEUROTRÓFICOS.....	31
2.4.1. BDNF .....	32
2.4.2. GDNF .....	34
<b>3. REFERÊNCIAS</b> .....	<b>36</b>
<b>4. OBJETIVOS</b> .....	<b>53</b>
<b>5. ARTIGO</b> .....	<b>54</b>
5.1. ARTIGO EM PORTUGUÊS .....	54
5.2. ARTIGO TRADUZIDO PARA O INGLÊS .....	74
<b>6. ANEXOS</b> .....	<b>93</b>
6.1 ANEXOS DO ARTIGO EM PORTUGUÊS .....	93
6.1.1. Tabela 1.....	93
6.1.2. Figuras do artigo em português .....	94
6.1.3. Legendas do artigo em português .....	97
6.2 ANEXOS DO ARTIGO EM INGLÊS.....	98
6.2.1. Table 1.....	98
6.2.2. Figuras do artigo em inglês.....	99
6.2.3. Legendas do artigo em inglês .....	102



## 1. INTRODUÇÃO

O traumatismo cranioencefálico (TCE) é a principal causa de morte e incapacidade entre crianças e adultos jovens nos Estados Unidos da América (EUA). Aproximadamente 1,7 milhões de pessoas sofrem TCE anualmente, contabilizando cerca de 50.000 mortes anuais (Langlois, Rutland-Brown e Wald, 2006). A taxa de incidência na Europa é de aproximadamente 243 casos para cada 100.000 habitantes por ano (Tagliaferri *et al.*, 2006). No Brasil, a ocorrência anual de mortes relacionadas ao TCE é de aproximadamente 57 mil. A incidência de TCE é de aproximadamente 200/100.000 habitantes, sendo que a mortalidade pré-hospitalar aproxima-se dos 10% (DATASUS, 2011).

As morbidades secundárias também representam um importante problema social. O TCE tanto na sua forma moderada quanto grave pode resultar em déficits cognitivos, alterações de humor e comportamento em longo prazo (Halldorsson *et al.*, 2012). Estima-se que 2% de toda população dos EUA sofre de algum tipo de morbidade secundária ao TCE, representando um gasto anual de 60 bilhões de dólares entre custos diretos e indiretos (Thurman *et al.*, 1999).

A Fundação do Traumatismo Cerebral (*Brain Trauma Foundation*) desenvolveu os primeiros protocolos internacionais de atendimento ao TCE, o que representou um marco na utilização da medicina baseada em evidências no manejo desses pacientes (Bullock *et al.*, 1996). Após atualizações em 2000 e 2007, os protocolos foram adotados pelo Comitê de Neurotrauma da Organização Mundial de Saúde (OMS).

A lesão decorrente do TCE pode ser caracterizada como primária ou secundária (Werner e Engelhard, 2007). A lesão primária é aquela decorrente da ação direta das forças envolvida no momento do traumatismo, causando impacto e deformações teciduais e resultando em contusões, hematomas ou lesões difusas. A lesão cerebral secundária é aquela que acontece posteriormente, em decorrência de alterações do fluxo cerebral, reações inflamatórias e alterações bioquímicas (Maas, Stocchetti e Bullock, 2008).

Algumas das principais preocupações no manejo do paciente, durante a fase crítica que sucede o trauma, são a identificação e a monitorização das causas de lesões secundárias (Bullock *et al.*, 1996). Uma revisão sistemática demonstrou forte

evidência que uma pontuação baixa na escala de coma de Glasgow (ECG), baixo valor no escore motor da mesma, presença de desvio de linha média na TC de crânio e presença de hematoma subdural, constituem preditores de mau prognóstico em seis meses após o trauma (Husson *et al.*, 2010). As dificuldades impostas pelo quadro comatoso, decorrente diretamente do traumatismo cerebral ou devido à necessidade de sedação no manejo clínico, motivam a pesquisa de outros mecanismos de monitorização direta ou indireta do quadro neurológico. Os marcadores bioquímicos envolvidos na lesão cerebral têm sido exaustivamente avaliados, na procura de meios práticos de controlar a evolução clínica do paciente (Hergenroeder *et al.*, 2008). Um melhor entendimento dos eventos fisiopatológicos que ocorrem no sistema nervoso central (SNC) do paciente com TCE grave é necessário para criar substrato para esses avanços.

Os fatores neurotróficos constituem um conjunto de moléculas envolvidas em diversas etapas da modulação e proteção neuronal, sendo, portanto, importantes no cenário do TCE (Dawbarn e Allen, 2003). O fator neurotrófico derivado do cérebro ou BDNF (*Brain-derived neurotrophic factor*) e o fator neurotrófico derivado das células gliais ou GDNF (*Glial cell-derived neurotrophic factor*) são dois exemplos dessas proteínas que tem recebido muita atenção pelos pesquisadores nos últimos anos (Allen e Dawbarn, 2006).

O estudo da fisiologia energética e moduladora neuronal é o principal objetivo de muitos pesquisadores, considerando a gama de questões que ainda requerem esclarecimento (Dienel, 2012). Esta importância aumenta se considerarmos a relação dessas questões fisiológicas com os eventos patológicos que acontecem em diversas patologias neurológicas, inclusive na lesão traumática cerebral. O lactato, nesse sentido, tem sido protagonista de diversas pesquisas sobre o metabolismo energético do SNC (Dienel, 2012; Pellerin e Magistretti, 2012). O seu papel como recurso suplementar ou, em algumas condições, até mesmo preferencial no metabolismo neuronal, tem sido revelado progressivamente à medida que novos achados são publicados (Wyss *et al.*, 2011).

O melhor entendimento funcional do SNC, incluindo suas adaptações às condições patológicas que ocorrem durante o TCE, é prioritário para a busca de novas diretrizes para o seu tratamento. A compreensão do metabolismo energético celular do SNC e de seus mecanismos regulatórios é de extrema importância para o aperfeiçoamento do manejo clínico desses pacientes.

As funções fisiológicas do líquido cefalorraquidiano incluem: suporte físico flutuante para o cérebro, transporte intracerebral de biomoléculas, remoção de metabólitos, regulação da pressão intracraniana, entre outras (Pellerin *et al.*, 2007). O meio liquórico reflete as alterações metabólicas dos astrócitos e do plexo coriódico (Johanson, Stopa, Mcmillan, *et al.*, 2011). Diversas pesquisas avaliaram a presença de marcadores bioquímicos no líquido de pacientes traumatizados (Bohmer *et al.*, 2011; Johanson, Stopa, Baird, *et al.*, 2011).

A presente dissertação, dessa maneira, propõe-se a estudar o comportamento dos substratos energéticos neuronais, como também, dos fatores neurotróficos GDNF e BDNF no líquido de pacientes na fase aguda do TCE grave.

## 2. REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1. CLASSIFICAÇÃO

O TCE é uma doença extremamente heterogênea, pois os pacientes apresentam lesões de diferentes etiologias, localizações anatômicas e apresentações clínicas. A evolução de cada paciente também pode variar de acordo com a idade, duração da lesão, comorbidades, genética e outros fatores (Maas, Stocchetti e Bullock, 2008).

A classificação do TCE é realizada, rotineiramente, conforme a gravidade da apresentação clínica, tomando-se por base a escala de coma de Glasgow (ECG). Dessa maneira, classificam-se os casos em leves, moderados ou graves. A ECG é utilizada mundialmente por médicos e outros profissionais da saúde desde a sua introdução (Teasdale e Jennett, 1974; Jennett, 1997). Sua elaboração foi motivada pela falta de padronização para o relato do nível de consciência dos pacientes e pelas conseqüentes dificuldades na comunicação de informações clínicas entre os diferentes profissionais (Segatore e Way, 1992). A escala consiste no somatório de pontuação que avalia três parâmetros: abertura ocular, melhor resposta verbal e melhor resposta motora. O escore varia de 3 a 15 pontos, com valores abaixo de 8 correspondendo a quadros comatosos que requerem cuidados clínicos emergenciais (Teasdale e Jennett, 1974). O TCE é classificado conforme a pontuação ECG: de 13 a 15 é considerado TCE leve, de 9 a 12 é considerado TCE moderado, e de 3 a 8 são os casos de TCE grave.

Essa escala, infelizmente, não abrange todo o espectro da alteração do nível de consciência e, também, não avalia parâmetros como respiração, reflexos de tronco e localização anatômica da lesão (Segatore e Way, 1992; Balestreri *et al.*, 2004). Ela constitui, entretanto, um método simples e prático, permitindo uma rápida avaliação do quadro neurológico e o direcionamento das medidas terapêuticas.

## 2.2. FISIOPATOLOGIA DO TCE

O processo patológico do TCE pode ser dividido em: lesão primária - causada por contusão direta ou indireta, resultante de forças de tensão ou avulsão do tecido cerebral, hematomas e isquemia; e lesão secundária - caracterizada pelo processo inflamatório, alterações metabólicas e lesão difusa (Werner e Engelhard, 2007).

### 2.2.1. Lesões Primárias

O tecido cerebral pode ser lesionado diretamente por forças traumáticas, como um ferimento de arma de fogo ou um ferimento contuso que provoque fratura do crânio. Muitas lesões, entretanto, podem ser causadas por forças indiretas de aceleração, desaceleração e rotação. As forças de aceleração linear são responsáveis pelas lesões superficiais, enquanto os movimentos de rotação explicam as lesões mais profundas (McClean, 1995).

A tensão nos tecidos cerebrais induzida pelas forças de aceleração lineares e rotacionais criam gradientes espaço-temporais no cérebro (Werner e Engelhard, 2007). As propriedades visco elásticas cerebrais resultam em um fraco suporte estrutural, o que deixa esses tecidos mais suscetíveis às forças inerciais e gradientes de pressão que outros órgãos. A substância cinzenta mais próxima da superfície é a mais afetada pelas forças lineares, resultando em contusões corticais e hemorragia. A substância branca, mais profunda, fica sujeita às forças rotacionais, causando o que se chama de lesão axonal difusa (Zink, Szmydynger-Chodobska e Chodobski, 2010).

### 2.2.2 Hipertensão intracraniana

Depois que as primeiras forças de lesão provocaram seus efeitos, algumas forças biomecânicas secundárias tornam-se importantes para a fisiopatologia da lesão cerebral. Na caixa craniana rígida, a relação de pressão e volume intracraniano é de suma importância. Na medida em que o volume dos componentes intracranianos aumenta, a pressão intracraniana aumenta, seguindo o princípio de Monro-Kellie (Smith, 2008). Este aumento é mínimo no princípio, em decorrência da autorregulação do fluxo sanguíneo cerebral, e da redistribuição do líquido cefalorraquidiano. Porém, após certo limite, esses mecanismos compensatórios perdem sua capacidade de atuação, resultando em marcada elevação da pressão intracraniana (PIC). Tecido cerebral, edema e hemorragia, são fatores que aumentam o volume intracraniano, podendo provocar descompensação da pressão intracraniana (Zink, Szmydynger-Chodobska e Chodobski, 2010). A hipoxemia resultante da diminuição de fluxo sanguíneo cerebral que ocorre nas situações de PIC elevada é um dos principais processos patológicos nas lesões secundárias no cérebro (Smith, 2008).

### 2.2.3. Lesão Cerebral Secundária

#### 2.2.3.1. Edema

O aumento da permeabilidade endotelial, secundária à disfunção da barreira hematoencefálica (BHE), resulta na entrada nos tecidos cerebrais de um exsudato rico em proteínas, causando um desequilíbrio no balanço das forças hidrostáticas e osmóticas envolvidas na homeostasia do cérebro. Isto resulta no acúmulo de fluidos no espaço extracelular (Unterberg *et al.*, 2004). O aumento do volume cerebral pode ser crítico no balanço das pressões compartimentais intracranianas, reduzindo a pressão de perfusão e agravando a lesão hipóxico-isquêmica (Marmarou *et al.*, 2006).

### 2.2.3.2. Inflamação no TCE

O TCE é um processo complexo que provoca respostas imunes sistêmicas e locais. A lesão primária rompe a BHE e lesiona os neurônios. Inicia-se uma cadeia de reações inflamatórias, incluindo a produção de quimiocinas e a ativação de células inflamatórias. Após o TCE, ocorre uma liberação em massa de neurotransmissores excitatórios, principalmente o glutamato (Robertson *et al.*, 2001; Bramlett e Dietrich, 2004). Essas moléculas interagem com neurônios e astrócitos, causando aumento do fluxo intracelular de  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Na}^+$  e  $\text{K}^+$ . Isto provoca a ativação de processos catabólicos, o que resulta na disfunção da barreira hematoencefálica (Werner e Engelhard, 2007). A passagem dessas moléculas inflamatórias pela BHE comprometida atrai células imunes periféricas para o local do trauma. Essa passagem bidirecional de moléculas inflamatórias pela BHE pode, também, proporcionar uma resposta imune sistêmica (Das, Mohapatra e Mohapatra, 2012).

A resposta inflamatória no TCE se estabelece em poucas horas, podendo persistir por várias semanas (Morganti-Kossmann *et al.*, 2007). Modelos experimentais demonstraram o influxo de neutrófilos periféricos concomitante com o aumento da permeabilidade da BHE (Ghajar, 2000; Holmin e Mathiesen, 2000). Essa migração de leucócitos é mediada pelo aumento na expressão da molécula de adesão intercelular endotelial (ICAM-1) (Balabanov *et al.*, 2001; Chen *et al.*, 2008). Após a infiltração, os leucócitos liberam citocinas pró-inflamatórias, proteases citotóxicas e oxidantes, provocando a ativação da micróglia local (Aihara *et al.*, 1995). Quimiocinas, citocinas e moléculas de adesão são liberadas, recrutando outras células inflamatórias periféricas, o que perpetua a ativação das células nervosas e resulta no aumento da permeabilidade da BHE (Lucas, Rothwell e Gibson, 2006). A quebra da BHE também torna o cérebro vulnerável à ação das citocinas sistêmicas (Lucas, Rothwell e Gibson, 2006). Nesse cenário, foram relatadas alterações nas citocinas sistêmicas e intratecais: IL-1, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, fator de necrose tumoral (TNF) e fator de transformação do crescimento (TGF- $\beta$ ) (Lenzlinger *et al.*, 2001; Morganti-Kossmann *et al.*, 2007). A ativação pós-traumática do sistema do complemento também foi demonstrada (Stahel *et al.*, 2001).

A permeabilidade da BHE permite a passagem de moléculas e células inflamatórias, iniciando uma cascata de respostas locais e sistêmicas. Os eventos patológicos mais importantes são a astrogliose reativa, a ativação da micróglia, a

infiltração de células imunes no SNC e a neurodegeneração (Faden, 2002; Cernak *et al.*, 2004).

A lesão traumática do SNC, dessa maneira, causa a reatividade da micróglia local que se transforma em macrófagos migratórios. Neste estado, a micróglia produz citocinas e fatores tróficos que podem exercer efeitos protetores ou tóxicos nas células vizinhas (Cernak *et al.*, 2005). O desfecho patológico desses eventos é a lesão axonal difusa, caracterizada por degeneração da substância branca cerebral (Adams *et al.*, 1989; Gennarelli *et al.*, 1989).

A ativação da micróglia resulta, também, na formação de espécies de oxigênio reativas (ROS) (Pun, Lu e Mochhala, 2009). Estas moléculas são responsáveis pela ocorrência de: dano oxidativo, modificações nas junções celulares e ativação da matriz de metaloproteinases, resultando na alteração da permeabilidade da BHE (Ravindran *et al.*, 2011).

O sistema imune periférico pode reagir secundariamente à lesão do TCE. O vazamento de moléculas pró-inflamatórias (citocinas, derivados do ácido araquidônico, proteínas do sistema de coagulação, fatores do complemento e mediadores hormonais) pela BHE comprometida, na circulação, pode gerar uma Síndrome da Resposta inflamatória sistêmica (SIRS) (Keel e Trentz, 2005).

#### 2.2.3.3. Morte celular

A lesão parenquimatosa e vascular no TCE rapidamente cria uma área de necrose, que pode ser exacerbada pela diminuição do suprimento metabólico e excitotoxicidade dos neurotransmissores liberados (Zink, Szmydynger-Chodobska e Chodobski, 2010).

O processo de morte celular induzido pelo TCE tem múltiplos mecanismos independentes e sobrepostos (Zhang *et al.*, 2002). Portanto, a inibição de apenas um desses aspectos não é suficiente para proteger os neurônios (Stoica e Faden, 2010). O TCE provoca a formação de tecido de cicatrização pelas células mitóticas (astróglia e micróglia) e indução de sinalizadores de apoptose pelos neurônios (Clark *et al.*, 1999; Hoane, Kaplan e Ellis, 2006; Uzan *et al.*, 2006). Esse fenômeno pode resultar na ocorrência de perda neuronal tardia e formação de tecido cicatricial glial,



constituindo importante fator de morbidade e um potencial campo de pesquisas terapêuticas.

#### 2.2.3.4. Neurocitocinas e Neuroquimiocinas

Nos anos 80, cientistas observaram que o cérebro, sistema endócrino e sistema imune funcionam juntos para manter a homeostasia (Kordon e Bihoreau, 1989). Na década de 90, foi descoberto que a IL-1 $\beta$  era sintetizada no cérebro em condições patológicas e que outras citocinas eram transportadas até o SNC pela corrente sanguínea e pelo LCR (Ban, Haour e Lenstra, 1992; Ban *et al.*, 1993).

Neurônios, astrócitos, micróglia e oligodendrócitos podem produzir mediadores inflamatórios. A expressão de receptores de citocinas por todo SNC sugere que elas contribuam para fisiologia normal, como demonstrado pelo envolvimento da IL-1 na regulação do sono, alimentação e memória (Pollmächer *et al.*, 2002). A maioria dos mediadores inflamatórios tem relativamente pouca ação no SNC intacto, sendo expressos em níveis muito baixos ou indetectáveis. Entretanto, são induzidos rapidamente em resposta à lesão tecidual (Zink, Szmydynger-Chodobska e Chodobski, 2010). Citocinas pró-inflamatórias e outros mediadores exercem efeito essencial na inflamação do SNC através da indução de quimiocinas e moléculas de adesão, recrutamento de células imunes e ativação de células imunes e gliais (Rothwell e Luheshi, 2000). Estudos experimentais sugerem que as citocinas exerçam um papel importante na resposta sistêmica ao trauma cerebral. Entre aquelas produzidas após o TCE, estão o TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-6, IL-8, IL-4 e IL-18 (Dipiro *et al.*, 1995).

O fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) foi associado com a ativação da micróglia e com o início do processo inflamatório (Ghirnikar, Lee e Eng, 1998). Ele é um dos mediadores centrais da inflamação tecidual. Foram descritos dois diferentes caminhos de sinalização mediados pelo TNF- $\alpha$  que podem explicar a ocorrência de efeitos deletérios e protetivos nos neurônios pela sua ativação (Lucas, Rothwell e Gibson, 2006).

Após a lesão traumática do SNC, a IL-1 é rapidamente liberada pela micróglia reativa. Suas ações são diversas, incluindo a indução de fatores de

crescimento, redução da liberação de glutamato, exacerbação de efeitos gabaérgicos, modulação de respostas neuronais ao NMDA e a glicina, e aumento da ativação de enzimas sintetizadoras de óxido nítrico (Rothwell e Luheshi, 2000).

A IL-6 tem sido associada com astrocitose reativa, lesão neuronal e infiltração de células periféricas (Taupin *et al.*, 1993; Ghirnikar, Lee e Eng, 1998). Ela é um pirógeno endógeno que exerce múltiplos efeitos, os quais são, ao mesmo tempo, benéficos e destrutivos as células do SNC. Seu mecanismo de sinalização utiliza um receptor específico (IL-6R) que resulta em ativação gênica (Van Wagoner e Benveniste, 1999).

Os mecanismos que controlam a expressão das diferentes citocinas são geralmente relacionáveis. TNF- $\alpha$  estimula a expressão de IL-1 e IL-6. IL-1 pode induzir tanto IL-6 quanto TNF- $\alpha$ . Assim, após um traumatismo a liberação inicial de citocinas leva à infiltração de células e outros medidores inflamatórios no local da lesão, levando à sinalização secundária de citocinas (Lucas, Rothwell e Gibson, 2006).

As quimiocinas são citocinas quimiotáticas que desempenham um papel fundamental na migração de leucócitos, inclusive no SNC (Rostène, Kitabgi e Parsadaniantz, 2007). Em condições inflamatórias ou neurodegenerativas, as moléculas de quimiocinas são sintetizadas pela micróglia ativada ou pelos astrócitos, atraindo monócitos ao local do trauma (Ransohoff, 2009). As neuroquimiocinas também podem estar relacionadas com outras funções como neuromodulação e neurotransmissão, estabelecendo uma rede de comunicação intercelular (Rostène *et al.*, 2011). Entre as diferentes quimiocinas, o papel da CCL20 foi descrito recentemente. Ela induz a quimiotaxia de células dendríticas, células T e células B (Schutyser, Struyf e Van Damme, 2003).

#### 2.2.4. Barreira Hematoliquórica

A alteração da barreira hematoliquórica (BHL), representada principalmente pelo epitélio do plexo corióide (PC), tem sido alvo de recentes pesquisas no cenário do traumatismo cerebral (Johanson, Stopa, Baird, *et al.*, 2011). O desequilíbrio

funcional do PC pode afetar drasticamente a composição do LCR, provocando diversos efeitos secundários no SNC (Emerich *et al.*, 2005). A alteração do PC foi descrita até mesmo nos traumatismos cranianos fechados (Kaur *et al.*, 1996). Experimentos demonstraram que o terceiro ventrículo é suscetível às lesões frontais, enquanto os ventrículos laterais sofrem mais com as lesões temporais (Maxwell *et al.*, 1992).

O LCR constitui um intermediário entre o PC e o SNC, sendo usado para distribuição de nutrientes e remoção de catabólitos do parênquima cerebral (Emerich *et al.*, 2005). Estrategicamente localizado, o PC fornece moléculas tróficas para os nichos neurogênicos próximos na zona subventricular (Johanson, Stopa, Baird, *et al.*, 2011). A lesão física causada pelo TCE pode afetar três funções principais do epitélio do plexo coriódio: a função de barreira epitelial, a dinâmica da produção líquórica e as atividades homeostáticas envolvendo transporte molecular para manutenção da composição bioquímica do LCR (Johanson, Stopa, Mcmillan, *et al.*, 2011).

A alteração do fluxo líquórico, causada pela liberação de detritos ou pela alteração da absorção líquórica nas granulações aracnóideas, pode representar outro importante fator de desequilíbrio da PIC (Johanson, Stopa, Baird, *et al.*, 2011).

#### 2.2.4.1. Impermeabilidade da Barreira Hematoliquórica

As junções das células epiteliais do PC em seus polos apicais (*zonulae ocludens*) e a membrana basolateral, que confina o fluido intersticial coroidal, constituem a principal barreira do PC (Smith, Johanson e Keep, 2004). Essas junções são um pouco mais permeáveis que as da BHE (Thomas e Segal, 1998). Dessa maneira, uma lenta difusão de proteínas plasmáticas para o LCR acontece naturalmente. Mesmo assim, ocorre uma filtração de macromoléculas que mantém uma concentração de proteínas no LCR menor que 1% em comparação ao plasma. A BHL também impede a difusão de agentes hidrossolúveis do plasma para o LCR (Johanson e Woodbury, 1978).

O influxo de macromoléculas no LCR pode, assim, afetar o equilíbrio osmótico estabelecido pelo PC, e, provocar a drenagem de líquidos intersticiais para os ventrículos, resultando em ventriculomegalia (Krishnamurthy *et al.*, 2009).

O trânsito aumentado de leucócitos pelo PC também afeta a cicatrização tecidual. Neutrófilos encontram-se aumentados nos vasos do PC em 4 horas após o trauma e, sequencialmente, penetram a BHL (Chodobski *et al.*, 2003). Uma vez no LCR, eles são carregados pelo fluxo liquórico até o local da lesão, onde secretam VEGF na matriz extracelular promovendo a reparação estrutural dos tecidos. Isso, porém, pode agravar o edema através da estimulação de angiogênese e do aumento da permeabilidade microvascular (Johanson, Stopa, Mcmillan, *et al.*, 2011).

#### 2.2.4.2. Modulação da produção e absorção liquórica

A produção liquórica diária média no homem é de 500 ml (Pollay, 2010). Essa produção está evidentemente diminuída logo após o TCE. Porém, pode aumentar tardiamente.

O epitélio do PC dispõe de uma rede de transportadores ativos que reabsorvem catabólitos e produtos de degradação de eritrócitos, como também neurotrofinas e citocinas que aumentam no LCR do SNC traumatizado (Pollay, 2010). A limpeza não seletiva por fluxo, que ocorre nos sítios de drenagem aracnóide, constitui outra via além da reabsorção ativa, realizada pelos transportadores de membrana do epitélio do PC (Spector, 2010; Zhang *et al.*, 2010).

Observou-se a ruptura da membrana apical do PC em modelos experimentais de TCE por mecanismo fechado. Este comprometimento estrutural provoca uma alteração na formação liquórica promovendo uma extrusão de solutos e aumento de fluido no LCR (Damkier, Brown e Praetorius, 2010). Alguns desses experimentos mostraram, também, o reestabelecimento do epitélio coroidal em até duas semanas após a lesão (Kaur *et al.*, 1996).

No TCE grave se verifica o efeito de retenção de líquidos pelas estruturas do SNC, provocando o aumento da pressão intracraniana (Johanson, Stopa, Mcmillan, *et al.*, 2011). Alguns mecanismos contrabalançam esse aumento. Passivamente, ocorre o efeito de compartimentos com diminuição do fluxo sanguíneo cerebral

(FSC) e, também, o deslocamento do volume líquórico. Essa diminuição do FSC afeta a capacidade de produção líquórica do PC. Ativamente, ocorre a liberação de peptídeos reguladores de fluido no LCR. Como exemplo, podemos citar o peptídeo natriurético atrial (PNA) que promove redução da formação do LCR e aumento das células escuras no PC, as quais geralmente se relacionam com a diminuição da produção de LCR (Preston *et al.*, 2003).

#### 2.2.4.3. Liberação de fatores de crescimento e neurotrofinas pelo Plexo Coriário.

Vários mecanismos de suporte neuropeptidérgico ocorrem na resposta homeostática ao trauma. Primeiramente, verifica-se a expressão reativa de fatores neurotróficos pelas células parenquimatosas e vasculares na região da lesão. O RNA mensageiro (RNAm) para NGF está aumentado em 5 vezes no córtex cerebral, apenas um dia após a contusão cerebral (Dekosky *et al.*, 1994). A transcrição para os neuropeptídios IGF-1 e colecistoquinina também aumenta cerca de 10 vezes nas áreas junto à lesão cortical (Sandberg Nordqvist *et al.*, 1996).

Secundariamente, ocorre a secreção de peptídeos pelo PC e subsequente distribuição através do LCR para a região traumatizada (Walter *et al.*, 1999; Chiaretti, Antonelli, Genovese, Fernandez, *et al.*, 2008). Esta função neuroendócrina do LCR envolve a entrega de peptídeos por convecção para modular a neurogênese e facilitar a recuperação celular (Kozlowski, 1986). O epitélio do PC promove, adicionalmente, um aumento da secreção de IGF-II e IGFBP-2 para o LCR após a ocorrência de traumatismo cortical (Walter *et al.*, 1999).

O NGF na região do hipocampo aumenta rapidamente e demonstra uma resposta bifásica após o TCE (Dekosky *et al.*, 2004). Dessa maneira, ele aumenta nas primeiras 7 horas, porém, diminui após o sétimo dia. Tardiamente, ele apresenta um segundo aumento após o décimo quarto dia, conforme modelos experimentais de trauma. Chiaretti demonstrou o aumento do NGF no LCR em crianças com TCE (Chiaretti, Antonelli, Genovese, Pezzotti, *et al.*, 2008). A regulação positiva do NGF no hipocampo e o aumento do NGF no LCR ajudam na recuperação da memória espacial (Dixon *et al.*, 1997).

Estudos avaliando o uso terapêutico de neuropeptídios através do LCR demonstram diversos resultados favoráveis aos efeitos neuroregenerativos e melhora da cognição após a lesão (S100B, FGF2, NGF) (Johanson, Stopa, Baird, *et al.*, 2011).

O GDNF demonstrou efeitos neuroprotetores contra a isquemia cerebral (Lee *et al.*, 2010). Quando administrado no líquido através de bomba osmótica em um modelo de impacto cortical em ratos, o GDNF também apresentou efeitos protetores neuronais (Kim *et al.*, 2001). Outra neurotrofina, a BDNF, embora não neurogênica, é neuroprotetora na isquemia e hipertermia quando infundida no LCR (Sharma e Johanson, 2007).

#### 2.2.4.4. Limpeza dos detritos do Líquido Cefalorraquidiano

Subsequentemente ao TCE, o fluido extracelular se torna contaminado por células sanguíneas, citocinas e produtos de degradação celular. Os macrófagos, principalmente os ligados com o epitélio do PC, digerem os eritrócitos que extravasaram para o líquido (Emerich *et al.*, 2005).

As moléculas tóxicas são eliminadas pela ação de enzimas dentro do epitélio do PC. Evidencia-se uma abundância de vesículas, corpos de inclusão e lisossomos (Johanson, Stopa, Mcmillan, *et al.*, 2011).

Há uma migração transepitelial de monócitos e macrófagos para o LCR, onde eles se diferenciam em células de Kolmer (epiplexo) com ação macrofágica (Maxwell *et al.*, 1992). Estas células se aderem ao glicocálice da membrana apical, desempenhando função fagocítica e, dessa maneira, apresentam antígenos e promovem a limpeza de contaminantes plasmáticos presentes no líquido (Johanson, Stopa, Baird, *et al.*, 2011). Essa ativação pode persistir por até quatro semanas (Kaur *et al.*, 1996).

Diversos transportadores de solutos da membrana apical do PC promovem a limpeza do LCR de ânions orgânicos, fragmentos de peptídeos, prostaglandinas, leucotrienos e nucleosídeos, os quais são difundidos através do epêndima para os ventrículos. Ocorre, também, a translocação de solutos pela membrana lateral para o interstício e, posteriormente, para circulação venosa (Spector, 2010).

Adicionalmente, o fluxo liquórico pelas granulações aracnóides promove drenagem para o sistema linfático e para circulação venosa (Grzybowski *et al.*, 2006).

### 2.2.5. Disfunção da barreira hematoencefálica

A BHE é definida, basicamente, como sendo a interface regulatória entre a circulação periférica e o SNC (Chodobski, Zink e Szmydynger-Chodobska, 2011). Ela foi primeiramente observada por Paul Ehrlich em 1885. Anatomicamente, ela é constituída pelo endotélio microvascular, juntamente com astrócitos, pericitos, micróglia, neurônios e matriz extracelular. O complexo formado por essas estruturas constitui a chamada unidade neurovascular (Hawkins e Davis, 2005).

A BHE é essencial na manutenção do ambiente ideal para o funcionamento dos neurônios e da glia. Ela regula a composição dos fluidos cerebrais, controlando o acesso iônico seletivo, nutrientes e polipeptídios no parênquima cerebral (Chodobski, Zink e Szmydynger-Chodobska, 2011). Ela está envolvida, também, na remoção de metabólitos potencialmente tóxicos do parênquima cerebral e na prevenção da entrada de constituintes plasmáticos neurotóxicos no sistema nervoso central. Os principais componentes dessa barreira são as junções que conectam as células endoteliais cerebrovasculares formando as paredes dos microvasos cerebrais (Chodobski, Zink e Szmydynger-Chodobska, 2011). Astrócitos cujos prolongamentos estejam associados com as células endoteliais são cruciais para manter a integridade da barreira. Além disso, eles podem desempenhar um papel regulatório na permeabilidade, no transporte e na interação das células endoteliais com as células do sistema imune (Abbott, Ronnback e Hansson, 2006).

A quebra da barreira hematoencefálica após o TCE foi evidenciada em análises de estudos clínicos em modelos animais, podendo durar de dias até semanas após a lesão inicial (Korn *et al.*, 2005; Strbian *et al.*, 2008; Tomkins *et al.*, 2008). Tal disfunção ocorre de maneira bifásica - a permeabilidade da barreira atinge um grau máximo em poucas horas após a lesão, declinando subsequentemente. A segunda fase é tardia. Ela inicia entre 3 e 7 dias de evolução,

constituindo, provavelmente, uma resposta homeostática do cérebro ao traumatismo (Başkaya *et al.*, 1997). Na maioria dos pacientes, a permeabilidade da BHE retorna ao normal após alguns dias ou algumas semanas (Lenzlinger *et al.*, 2002; Kirchhoff *et al.*, 2006).

A disfunção da BHE pode ocorrer diretamente pela laceração do endotélio dos vasos cerebrais provocada pelas forças mecânicas envolvidas na lesão (Rodríguez-Baeza *et al.*, 2003). A isquemia resultante enfraquece os tecidos cerebrais e vasculares adjacentes, podendo aumentar a suscetibilidade as alterações da barreira. Outros fatores agressores secundários incluem: vasoespasmos, falha na regulação da circulação cerebral, alterações na secreção do óxido nítrico e coagulopatia (Lee *et al.*, 1997; Cherian, Hlatky e Robertson, 2004; Nekludov *et al.*, 2007; Rangel-Castilla *et al.*, 2008).

A resposta cerebral ao traumatismo pode agravar ainda mais a disfunção da BHE em decorrência de disfunção astrocitária, alterações metabólicas e inflamatórias (Das, Mohapatra e Mohapatra, 2012). A fase tardia dessa disfunção tem sido considerada uma potencial janela terapêutica (Chodobski, Zink e Szmydynger-Chodobska, 2011).

O estudo das alterações moleculares que ocorrem nesse cenário é objetivo de diversas pesquisas. A estimulação do fator de crescimento do endotélio vascular (VEGF) demonstrou, por exemplo, uma reatividade celular aumentada com uma elevação da atividade migratória dos pericitos e proliferação dos vasos sanguíneos (Nag, Takahashi e Kilty, 1997; Dore-Duffy *et al.*, 2000).

A BHE é essencial na manutenção do ambiente ideal para o funcionamento dos neurônios e da glia. Ela regula a composição dos fluidos cerebrais, controlando o acesso iônico seletivo, nutrientes e polipeptídios no parênquima cerebral (Chodobski, Zink e Szmydynger-Chodobska, 2011). Ela está envolvida, também, na remoção de metabólitos potencialmente tóxicos do parênquima cerebral e na prevenção da entrada de constituintes plasmáticos neurotóxicos no sistema nervoso central. Os principais componentes anatômicos dessa barreira são as junções que conectam as células endoteliais cerebrovasculares formando as paredes dos microvasos cerebrais (Chodobski, Zink e Szmydynger-Chodobska, 2011). Astrócitos cujos prolongamentos estejam associados com as células endoteliais são cruciais para manter a integridade da barreira. Além disso, eles podem desempenhar um



papel regulatório na permeabilidade, no transporte e na interação das células endoteliais com as células do sistema imune.

### 2.2.6. Astrogliose

O cérebro pode gerar uma resposta imune em decorrência de diversos insultos como infecção, trauma e detritos celulares (Morganti-Kossmann *et al.*, 2007). Na maioria das vezes, trata-se de processo benigno com intuito de proteger o cérebro de diferentes ameaças. Em alguns casos, entretanto, a persistência do insulto ou o desequilíbrio da resposta inflamatória podem provocar uma evolução para um processo inflamatório crônico, afetando negativamente a função e a viabilidade neuronais (Lucas, Rothwell e Gibson, 2006).

Embora as células microgliais sejam geralmente consideradas as principais células imunes cerebrais, deve-se observar que os astrócitos são imunocompetentes e também agem na regulação da resposta inflamatória (Lucas, Rothwell e Gibson, 2006). A resposta inflamatória celular pode resultar na sua ativação – um processo conhecido como astrogliose, caracterizado pela expressão gênica alterada, hipertrofia e proliferação celulares (Ridet *et al.*, 1997). Nessa condição, eles podem liberar uma série de mediadores imunes, como as citocinas, quimiocinas e os fatores de crescimento (Farina, Aloisi e Meinl, 2007). Adicionalmente, eles podem liberar ROS, provocando a formação de uma cicatriz glial que impede a regeneração axonal e o hipercrecimento dendrítico (Sofroniew, 2005).

Os astrócitos reativos desempenham um papel fundamental no reparo do SNC. Eles promovem a supressão das células microgliais ativadas, contendo a neuroinflamação (Vincent, Tilders e Van Dam, 1997). Eles restringem, dessa maneira, a propagação e a perpetuação da neuroinflamação. Promovem, então, o reparo da barreira hematoencefálica, limitando o edema cerebral e preservando a viabilidade neuronal (Sofroniew, 2005).

### 2.3. NEUROENERGÉTICA

Embora o cérebro represente apenas 2% do peso corporal, ele é responsável pelo consumo de aproximadamente 25% da glicose corporal (Pellerin *et al.*, 2007). Este elevado gasto energético é explicado pela intensidade dos processos necessários para manutenção dos gradientes iônicos responsáveis pela transmissão dos potenciais de ação (Sokoloff, 1999). Dessa maneira, há uma exigência de uma complexa regulação dos substratos energéticos dentro do SNC.

Camillo Golgi, em 1886, descreveu a posição estratégica que os astrócitos exercem entre os vasos sanguíneos e neurônios (Nedergaard, Ransom e Goldman, 2003). Dessa descoberta, nasceu o conceito de acoplamento metabólico neuroglial. Os astrócitos absorvem glicose, que pode ser armazenada como glicogênio ou metabolizada em lactato, um substrato metabólico que pode ser transportado para os neurônios para servir de combustível (Pellerin *et al.*, 2007). Os astrócitos também podem regular o suprimento neuronal de glicose através da modulação do fluxo sanguíneo pela vasodilatação e vasoconstrição da circulação (Attwell *et al.*, 2010). Os mecanismos de funcionamento desse transporte de substratos energéticos entre os astrócitos e os neurônios ainda é tema de debate.

A oxidação da glicose pelo cérebro é quase exclusivamente direcionada as demandas energéticas da transmissão sináptica (Poo, 2001). O aumento da atividade neuronal resulta em uma maior utilização de glicose nas áreas ativadas (Bélanger, Allaman e Magistretti, 2011). Pelo fato que poucas reservas energéticas são armazenadas no SNC, essas atividades são extremamente dependentes do suprimento arterial de glicose. Os astrócitos desempenham um papel essencial na regulação desse suprimento. Eles possuem moléculas transportadoras de glicose em suas extremidades em contato com os vasos sanguíneos (Bélanger, Allaman e Magistretti, 2011).

A energia consumida pelo cérebro serve, principalmente, para restaurar o potencial de repouso das membranas dos neurônios (Attwell e Laughlin, 2001). A divisão dos processos metabólicos, entre diferentes tipos celulares e compartimentos subcelulares com ações glicolíticas ou oxidativas, está bem estabelecida. Esta segregação permite uma compartimentalização funcional e ajuda

a entender melhor os mecanismos que coordenam a ativação e suprimento energéticos neuronais.

Diferentes modelos de interação energética foram propostos para o SNC. O modelo chamado de transportador de lactato do astrócito para o neurônio (*Astrocyte-Neuron Lactate Shuttle* ou ANLS) pressupõe que a atividade aumentada nas sinapses glutamatérgicas estimule a entrada celular de glutamato. Este seria transportado juntamente com  $\text{Na}^+$  para o interior dos astrócitos. A recuperação do gradiente de  $\text{Na}^+$  pela bomba  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPase consome ATP, cujos níveis seriam restaurados por um aumento da absorção de glicose plasmática e, também, pela glicólise nos astrócitos. Este processo levaria a uma rápida produção de lactato, o qual seria transportado para os neurônios, suprimindo seus requerimentos energéticos (Pellerin e Magistretti, 1994). Foi demonstrado, também, que a liberação de  $\text{K}^+$  durante a neurotransmissão induz a glicólise e a exportação de lactato (Bittner *et al.*, 2011; Choi *et al.*, 2012).

Outro possível destino para a glicose nos astrócitos é sua transformação em glicogênio, a principal reserva de energia no SNC (Brown, Tekkok e Ransom, 2003). Os grânulos de glicogênio são armazenados exclusivamente nos astrócitos, servindo como reserva de rápida mobilização em condições de redução da glicose plasmática (Brown, Tekkok e Ransom, 2003). O glicogênio e o lactato também estão relacionados em condições não patológicas como os mecanismos de aprendizado e memória (Suzuki *et al.*, 2011).

Os corpos cetônicos, em condições de baixa concentração relativa de glicose, representam outro possível substrato energético para os neurônios. Isto ocorre, por exemplo, em situações de jejum ou dieta cetônica (Maalouf, Rho e Mattson, 2009). Os astrócitos também possuem capacidade de sintetizar essas moléculas (Guzman e Blazquez, 2004).

Dessa maneira, os astrócitos são equipados com receptores e transportadores que permitem, principalmente, a captação e a metabolização da glicose plasmática, como também, a utilização de outros substratos energéticos, conforme as demandas energéticas existentes.

Outra característica dos astrócitos é a formação de uma extensa rede de comunicação intercelular através de canais de junções comunicantes (*gap junctions* ou GJ). Esses canais são fracamente seletivos, permitindo a troca citoplasmática direta de uma variedade de pequenas moléculas (incluindo íons, mensageiros

celulares, neurotransmissores, como o glutamato, e metabólicos energéticos, como a glicose e lactato) (Giaume *et al.*, 2010). Eles formam, dessa maneira, grandes complexos multicelulares que chegam a alcançar o tamanho de alguns milímetros em algumas regiões do SNC (Ball *et al.*, 2007).

A diferença do gradiente de concentração de glicose em diferentes pontos da rede astrogliar, decorrente da atividade neuronal, também pode promover uma difusão passiva (Rouach *et al.*, 2008). A geração de ondas metabólicas através das redes astrogliais ocorre possivelmente em condições fisiológicas e patológicas, contribuindo para o acoplamento neurometabólico multicelular.

Porém, nem sempre os astrócitos apresentam tal conexão funcional. Esse fato pode ser determinado por graus variados de expressão de conexinas (proteínas que formam as GJ) ou por diferentes regulagens das junções celulares (Houades *et al.*, 2006). A seletividade dos canais de junção comunicantes controla a extensão da rede de difusão astrogliar, sendo regulada por uma variedade de moléculas endógenas como íons, peptídeos e neurotransmissores (Rouach *et al.*, 2008).

A organização estrutural das redes astrogliais apresenta, assim, diferentes compartimentos estruturais e funcionais, dependendo de sua localização, o que pode influenciar na sua interação com as demais redes neuronais (Houades *et al.*, 2006).

Em condições fisiológicas, dessa maneira, as redes astrocíticas mediadas por canais GJ desempenham papel fundamental no acúmulo de K<sup>+</sup> e glutamato, como também, no transporte de substratos energéticos dos vasos sanguíneos para neurônios distantes. Alterações da permeabilidade das junções comunicantes sabidamente exacerbam o descontrole do K<sup>+</sup> e glutamato em condições patológicas tal como a isquemia ou epilepsia (Farahani *et al.*, 2005; Coulter e Eid, 2012). Estudos com modelos animais de epilepsia, por exemplo, demonstraram que a rede astrogliar permanece funcionando durante esta condição patológica, permitindo o trânsito energético pelos canais GJ e sustentando a atividade neuronal epileptiforme (Rouach *et al.*, 2008). É razoável supor, então, que uma condição semelhante ocorra no cérebro traumatizado.

### 2.3.1. O Lactato

Estudos com modelos animais *in vivo* demonstram que durante a ativação cerebral, há um aumento na entrada de glicose, aumento do consumo desta e aumento na produção de lactato na área ativada (Wyss *et al.*, 2011). Sugeriu-se a ideia de uma cooperação metabólica entre os diferentes tipos celulares no cérebro, com os neurônios assumindo uma postura glicolítica e os astrócitos mais oxidativos durante a ativação cerebral (Pellerin *et al.*, 2007). O Lactato não pode mais ser considerado apenas um produto final do metabolismo, mas sim, um substrato complementar e eficaz sintetizado localmente para suplementar a necessidade energética neuronal (Sampol *et al.*, 2013).

Além de substrato energético, o lactato pode desempenhar um papel regulador da circulação sanguínea cerebral, facilitando a vasodilatação e o aumento do fluxo (Mintun *et al.*, 2004; Gordon *et al.*, 2008). Este mecanismo envolve a inibição do transportador de prostaglandina, aumentando a concentração extracelular de PGE2 liberada pelos astrócitos, a qual potencializa a vasodilatação (Gordon *et al.*, 2008).

O aumento glicolítico, que ocorre durante a ativação cerebral, resulta da entrada de glutamato, proveniente da liberação sináptica juntamente com Na<sup>+</sup>, nos astrócitos (Magistretti e Pellerin, 1999; Pellerin e Magistretti, 2004). O glutamato é, então, convertido em glutamina e, o excesso de NA<sup>+</sup> é liberado no espaço extracelular. Estes processos dependem de ATP (Erecińska e Silver, 1994). A restauração do potencial energético depende criticamente da glicólise, a qual está ligada à modulação do fluxo sanguíneo através do lactato (Mintun *et al.*, 2001; Mintun *et al.*, 2004).

O Lactato, também, demonstrou ter capacidade de preservar a função neuronal em modelos experimentais de excitotoxicidade, recuperação pós-hipóxia, isquemia cerebral e privação de energia. O que salienta a importância de sua produção pelos astrócitos para a função e viabilidade neuronais (Cater, Benham e Sundstrom, 2001; Schurr *et al.*, 2001).

### 2.3.2. O Papel Dos Astrócitos

Os astrócitos desempenham um papel fundamental no acoplamento da atividade neuronal e na utilização cerebral de glicose através do mecanismo ANLS (Pellerin *et al.*, 2007). Resumidamente, após a liberação sináptica de glutamato, este é absorvido pelos astrócitos onde estimula a glicólise anaeróbica e captação de glicose da circulação através da GLUT1, um transportador de glicose expressado especificamente pelas células da glia e endotélio capilar do cérebro (Simpson, Carruthers e Vannucci, 2007). O lactato produzido em decorrência da glicólise é liberado no espaço extracelular e, então, absorvido pelos neurônios através dos transportadores de monocarboxilato (MCT). Dentro dos neurônios, o lactato pode ser usado como substrato energético através da sua conversão em piruvato pela ação da lactato desidrogenase e subsequente oxidação no ciclo mitocondrial (Pellerin, 2003).

O armazenamento de glicose na forma de glicogênio, pelos astrócitos, constitui a única reserva deste no SNC (Brown e Ransom, 2007). Estas reservas podem ser rapidamente mobilizadas em resposta a atividade neuronal (Brown, Tekkok e Ransom, 2003). As moléculas resultantes da quebra do glicogênio alimentam os ciclos glicolíticos do astrócitos, liberando lactato no espaço extracelular (Brown e Ransom, 2007).

Os astrócitos também podem metabolizar ácidos graxos ou leucina para produzir corpos cetônicos, os quais podem ser prontamente utilizados pelos neurônios como substrato energético (Guzman e Blazquez, 2004).

Os conjuntos celulares astrocíticos se estendem por amplas regiões, formando complexos altamente organizados que são interconectados em sincícios funcionais através de abundantes junções de conexão (Nedergaard, Ransom e Goldman, 2003; Rouach, Koulakoff e Giaume, 2004). Esses processos astrocíticos envolvem as sinapses e expressam uma gama de receptores para neurotransmissores, citocinas, fatores de crescimento, transportadores e canais iônicos (Verkhratsky e Steinhäuser, 2000; Gadea e López-Colomé, 2001). Além disso, os astrócitos projetam terminações especializadas que estão em íntimo contato com os vasos sanguíneos intraparenquimatosos (Iadecola e Nedergaard,

2007). Estas características permitem que estas células desempenhem um papel importante na homeostasia cerebral.

Os astrócitos podem responder aos neurotransmissores com aumentos transitórios de seu  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular, o qual se dispersa pelo sincício astrocítico em um efeito tipo “onda” (Wang *et al.*, 2006). Tais sinais podem desencadear a liberação de moléculas neuroativas pelos astrócitos (ou gliotransmissores) tais como o glutamato e ATP, modulando a atividade sináptica e a excitabilidade neuronal.

A síntese do glutamato é responsabilidade dos astrócitos, pois são o único tipo de célula neural que expressa a piruvato carboxilase - enzima necessária para sintetizar o glutamato a partir da glicose (Shank *et al.*, 1985). Os astrócitos promovem a redução e a reciclagem do glutamato sináptico, prevenindo a sua excitotoxicidade e o dano neuronal decorrente de tal condição (Rothstein *et al.*, 1996). Eles também promovem o retorno do glutamato para os neurônios, impedindo a depleção de seus depósitos pré-sinápticos. Essa transferência se dá pelo ciclo glutamato-glutamina (Mckenna, 2007).

A atividade neuronal e a propagação de potenciais resultante causa um substancial acúmulo de  $\text{K}^+$  no espaço extracelular. Os astrócitos possuem canais de  $\text{K}^+$ , que devido ao potencial de repouso fortemente negativo, promovem a entrada celular desse íon, impedindo os efeitos deletérios do seu acúmulo. As comunicações do sincício astrocítico, por sua vez, promovem a dispersão desse potássio para áreas de menor atividade (Kofuji e Newman, 2004).

Outra função astrocítica é a manutenção do pH no microambiente cerebral (Deitmer, 2002). Vários processos neuronais dependem de um pH adequado, tais como a transmissão sináptica, metabolismo energético, comunicações celulares, excitabilidade neuronal, condução de membrana. As células gliais apresentam uma alta expressão de anidrase carbônica que converte  $\text{CO}_2$  em  $\text{H}^+$  e  $\text{HCO}_3^-$  (Agnati *et al.*, 1995). Esta ação pode contribuir com a troca iônica de  $\text{Na}^+$ , e, com o efluxo de lactato conforme alguns modelos propostos (Deitmer, 2000).

O estresse oxidativo é resultado de um desequilíbrio entre a produção de espécies reativas de oxigênio e os processos antioxidantes. Acontece em uma série de processos patológicos como nas doenças neurodegenerativas, traumatismo cerebral e isquemia (Slemmer *et al.*, 2008). Essa vulnerabilidade pode ser explicada pelo alto grau de metabolismo oxidativo encontrado no cérebro e sua baixa capacidade antioxidante (Dringen, 2000). Os astrócitos contribuem de forma

significativa nesse processo, pois possuem um nível mais elevado de moléculas antioxidantes e uma maior atividade de enzimas eliminadoras de ROS (Desagher, Glowinski e Premont, 1996).

## 2.4. FATORES NEUOTRÓFICOS

Os fatores neurotróficos regulam muitos aspectos críticos do SNC, tais como o crescimento e desenvolvimento neuronal, e a plasticidade sináptica (Allen e Dawbarn, 2006). Esse grupo de fatores engloba as neurotrofinas, neurocinas e o fator neurotrófico derivado de células gliais (GDNF) (Sariola e Saarma, 2003). Nos mamíferos, são observados quatro membros principais da família das neurotrofinas – o NGF (*nerve growth factor* ou fator de crescimento de nervos), BDNF (Brain-derived neurotrophic factor ou fator de crescimento derivado do cérebro), NT-3 (neurotrofina 3) e NT-4 (neurotrofina 4). Todos esses fatores são sintetizados como precursores e processados intracelularmente pela furina e convertases de hormônios, ou, extracelularmente, pela plasmina e pelas metaloproteinases (MMP). O BDNF está armazenado em vesículas nas vias secretórias, sendo processado e secretado conforme a necessidade (Allen e Dawbarn, 2006). As neurotrofinas agem através de dois tipos diferentes de receptores – o receptor de neurotrofinas p75 e a família de receptores tirosina-quinase (Trk). Todas as neurotrofinas se ligam com afinidade similar ao p75, mas cada uma se liga com intensidades específicas a diferentes receptores Trk (Kaplan e Miller, 2000).

Existem três diferentes receptores Trk. O TrkA se liga ao NGF, o TrkB se liga ao BDNF e NT-4, e o TrkC ao NT-3 (Dawbarn e Allen, 2003). Esses receptores, quando fosforilados pela ação das neurotrofinas, atuam através de moléculas sinalizadoras que regulam o crescimento e sobrevivência celular através de diferentes vias.

É evidente que as neurotrofinas desempenham um papel vital na manutenção e desenvolvimento dos sistemas neuronais ao longo da vida. Além disso, o BDNF tem sido implicado na plasticidade sináptica e mecanismos de memória (Allen e Dawbarn, 2006).



Existem evidências consideráveis que a ativação dos fatores neurotróficos possa reduzir o dano neuronal e melhorar o desfecho funcional em modelos experimentais de TCE e lesão medular (Rabchevsky *et al.*, 1999; Longhi *et al.*, 2004).

#### 2.4.1. BDNF

O BDNF é uma neurotrofina vastamente expressa no SNC (Skup, 1994). Ele age através de receptores tirosina-quinase específicos, modulando a sobrevivência neuronal, sua diferenciação e a plasticidade sináptica. Estas ações são reguladas por múltiplos mecanismos de transdução de sinal intracelular, como o fosfoinositídeo-3-quinase e a proteína quinase ativada por mitógenos (MAPK) (Bramham e Messaoudi, 2005). Na pré-sinapse, o BDNF potencializa a liberação de glutamato e causa sua liberação direta através da mobilização de  $Ca^{2+}$  de suas reservas. As ações pós-sinápticas incluem mudanças na fosforilação dos receptores de glutamato, alterações locais na síntese de proteínas e mudanças na expressão gênica (Carvalho *et al.*, 2008). Robinet e Pellerin exploraram o papel do BDNF no contexto das adaptações neuroenergéticas necessárias às mudanças decorrentes da plasticidade neuronal (Robinet e Pellerin, 2010).

O papel dos monocarboxilatos, principalmente o lactato, como substratos adicionais de energia para os neurônios tem recebido crescente atenção (Pellerin, 2003). A descoberta de transportadores específicos para os monocarboxilatos no SNC tem revelado diversas proteínas como a MCT2 (*monocarboxilate transporter 2*), a qual demonstrou uma expressão predominante nos neurônios (Pierre, Magistretti e Pellerin, 2002). O MCT2 pertence a uma família de carreadores de prótons envolvidos no transporte de lactato, piruvato e corpos cetônicos (Garcia *et al.*, 1994). A sua imunorreatividade foi extensamente verificada em diferentes regiões do SNC, como o córtex, hipocampo e cerebelo (Bergersen, Rafiki e Ottersen, 2002; Pierre, Magistretti e Pellerin, 2002). Ele é expresso nos axônios e dendritos, mas também pode estar presente nas sinapses glutaminérgicas e elementos pós-sinápticos (Pierre, Magistretti e Pellerin, 2002; Pierre *et al.*, 2009).

Estudos mostraram que a expressão do MCT2 pode ser estimulada por noradrenalina, insulina e IGF-1 através de um mecanismo translacional (Chenal e Pellerin, 2007; Chenal, Pierre e Pellerin, 2008).

Robinet e Pellerin estudaram como o BDNF regula a expressão do MCT2 em culturas de neurônios e como são as vias desta sinalização. A análise *Western blot* de culturas neuronais estimuladas por BDNF demonstrou que concentrações de 100 ng/mL de BDNF promoveram o aumento máximo da expressão do MCT2 (Robinet e Pellerin, 2010). Este mesmo estudo indicou que tal aumento já está presente após a primeira hora de estimulação com BDNF, permanecendo constante depois de 24 horas, sendo comparável aos estudos prévios descrevendo uma ação similar pela noradrenalina. O BDNF induziu, adicionalmente, a fosforilação de diversos outros receptores (Bramham e Messaoudi, 2005).

O efeito do BDNF na expressão de RNAm (RNA mensageiro) para MCT2 foi avaliado através de teste PCR quantitativo via transcriptase-reversa no RNA total de neurônios corticais de camundongos tratados com BDNF 100mg/mL até 24 horas. Não houve aumento nos níveis de RNAm MCT2, porém, os níveis de RNAm NPY (um peptídeo regulado por transcrição) aumentaram significativamente após 12 e 24 horas (Bramham e Messaoudi, 2005).

A regulação da expressão de MCT2 se deu pela ativação de três vias de sinalização distintas (Hay e Sonenberg, 2004). Dessa maneira, uma ativação concomitante destas vias foi necessária para o aumento da expressão de MCT2. Esse fato sugere que estes transportadores representam um alvo comum para estes sinais, apresentando um importante papel na modulação sináptica.

Recentemente, o BDNF tem sido associado com a transmissão sináptica e plasticidade neuronal em diferentes regiões do SNC (Bramham e Messaoudi, 2005). Ele é um dos principais moduladores reativos da síntese de proteínas dendríticas e da ativação de componentes translacionais específicos nos neurônios (Steward e Schuman, 2003).

A MCT2 interage com diversas proteínas pós-sinápticas, como, por exemplo, determinando a localização do GluR2 (receptor para glutamato 2) nas células e regulando sua expressão (Maekawa *et al.*, 2009). Dessa maneira, o aumento da expressão da proteína MCT2 pelo BDNF possivelmente seja parte de um mecanismo coordenado de síntese local para várias proteínas pós-sinápticas envolvidas na regulação glutamatérgica (Robinet e Pellerin, 2010).

O Lactato recebeu muita atenção recentemente como substrato energético. Foi demonstrado como sendo um substrato oxidativo preferencial para neurônios *in vitro* e *in vivo* (Mckenna *et al.*, 1994; Serres *et al.*, 2005; Hyder *et al.*, 2006). Ele é capaz de sustentar o *turnover* de vesículas sinápticas e a transmissão sináptica, mas também permite o estabelecimento de potenciação a longo-prazo (Izumi, Katsuki e Zorumski, 1997; Yang *et al.*, 2003; Morgenthaler *et al.*, 2006; Rouach *et al.*, 2008).

Como o papel primário da MCT2 é a suplementação de substratos alternativos para os neurônios, as mudanças na expressão da MCT2 podem facilitar a utilização desses substratos (Robinet e Pellerin, 2010). A observação que MCT2 pode ser regulado positivamente pelo BDNF é consistente com a possibilidade de acoplamento entre a utilização de lactato e a plasticidade sináptica (Vaynman *et al.*, 2006; Robinet e Pellerin, 2010). Uma das finalidades para essa alteração da expressão de MCT2 pode ser o aumento da reserva de lactato local, potencializando as sinapses a atingirem maiores demandas energéticas conforme a sua ativação (Robinet e Pellerin, 2010).

#### 2.4.2. GDNF

Descoberto originalmente em linhagens de células gliais, o fator neurotrófico derivado de células gliais ou GDNF é expresso tanto nos neurônios, quanto na glia do SNC (Schaar *et al.*, 1993; Miyazaki *et al.*, 2001; Batchelor *et al.*, 2002). O GDNF é um dos ligantes da família de proteínas GDNF (GFL), integrando a superfamília do fator de crescimento transformador beta (TGF- $\beta$ ) (Bespalov e Saarma, 2007). É uma molécula dimérica que atua através dos receptores tirosina-quinase RET (Durbec *et al.*, 1996).

Diversos estudos demonstraram a associação do GDNF com atividades neuroprotetoras. Revelou-se um potente fator de sobrevivência para neurônios motores em desenvolvimento durante o período de morte celular programada (Oppenheim *et al.*, 1995; Houenou *et al.*, 1996; Arce *et al.*, 1998). Ele também recupera os neurônios motores após a axonotomia dos nervos periféricos ou avulsão

das raízes ventrais (Henderson *et al.*, 1994; Li *et al.*, 1995). Testes em modelos animais de axotomia tratados com GDNF no período agudo da lesão revelaram uma diminuição significativa da retração dos axônios. Experimentos *in vitro* sugerem que o GDNF promove a sobrevivência de neurônios supraespinhais lesionados (Junger e Varon, 1997). Ele protege, também, neurônios hipocampais e corticais, além de induzir o crescimento dendrítico (Kim *et al.*, 2001; Culpier e Ibanez, 2004; Minnich *et al.*, 2010). Estes estudos demonstram que o GDNF age tanto como fator neuroprotetor, quanto como agente regenerativo dos axônios.

O potencial clínico do tratamento com GDNF entregue por adenovírus foi demonstrado primeiramente por Choi-Lundberg *et al.* em 1997, utilizando um modelo experimental de doença de Parkinson (Choi-Lundberg *et al.*, 1997). Desde então, tal aplicação foi testada, também, em modelos de lesão da medula espinhal e acidente vascular cerebral (Wang *et al.*, 2002; Tai *et al.*, 2003).

### 3. REFERÊNCIAS

ABBOTT, N. J.; RONNBACK, L.; HANSSON, E. Astrocyte-endothelial interactions at the blood-brain barrier. **Nat Rev Neurosci**, v. 7, n. 1, p. 41-53, Jan 2006. ISSN 1471-003X (Print)1471-003x. < <http://dx.doi.org/10.1038/nrn1824> >.

ADAMS, J. H. et al. Diffuse axonal injury in head injury: definition, diagnosis and grading. **Histopathology**, v. 15, n. 1, p. 49-59, Jul 1989. ISSN 0309-0167. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2767623> >.

AGNATI, L. F. et al. On the cellular localization and distribution of carbonic anhydrase II immunoreactivity in the rat brain. **Brain Res**, v. 676, n. 1, p. 10-24, Apr 3 1995. ISSN 0006-8993 (Print)0006-8993. < <http://dx.doi.org/> >.

AIHARA, N. et al. Altered immunoeexpression of microglia and macrophages after mild head injury. **J Neurotrauma**, v. 12, n. 1, p. 53-63, Feb 1995. ISSN 0897-7151. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7783232> >.

ALLEN, S. J.; DAWBARN, D. Clinical relevance of the neurotrophins and their receptors. **Clin Sci (Lond)**, v. 110, n. 2, p. 175-91, Feb 2006. ISSN 0143-5221 (Print)0143-5221. < <http://dx.doi.org/10.1042/cs20050161> >.

ARCE, V. et al. Synergistic effects of schwann- and muscle-derived factors on motoneuron survival involve GDNF and cardiotrophin-1 (CT-1). **J Neurosci**, v. 18, n. 4, p. 1440-8, Feb 15 1998. ISSN 0270-6474 (Print)0270-6474. < <http://dx.doi.org/> >.

ATTWELL, D. et al. Glial and neuronal control of brain blood flow. **Nature**, v. 468, n. 7321, p. 232-43, Nov 2010. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21068832> >.

ATTWELL, D.; LAUGHLIN, S. B. An energy budget for signaling in the grey matter of the brain. **J Cereb Blood Flow Metab**, v. 21, n. 10, p. 1133-45, Oct 2001. ISSN 0271-678X. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11598490> >.

BALABANOV, R. et al. Endothelial cell activation following moderate traumatic brain injury. **Neurol Res**, v. 23, n. 2-3, p. 175-82, 2001 Mar-Apr 2001. ISSN 0161-6412. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11320596> >.

BALESTRERI, M. et al. Predictive value of Glasgow Coma Scale after brain trauma: change in trend over the past ten years. **J Neurol Neurosurg Psychiatry**, v. 75, n. 1, p. 161-2, Jan 2004. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14707332> >.

BALL, K. K. et al. Astrocytic connexin distributions and rapid, extensive dye transfer via gap junctions in the inferior colliculus: implications for [(14)C]glucose metabolite trafficking. **J Neurosci Res**, v. 85, n. 15, p. 3267-83, Nov 2007. ISSN 0360-4012. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17600824> >.

BAN, E.; HAOUR, F.; LENSTRA, R. Brain interleukin 1 gene expression induced by peripheral lipopolysaccharide administration. **Cytokine**, v. 4, n. 1, p. 48-54, Jan 1992. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1535519> >.

BAN, E. et al. Regulation of interleukin-1 receptor expression in mouse brain and pituitary by lipopolysaccharide and glucocorticoids. **Neuroendocrinology**, v. 58, n. 5, p. 581-7, Nov 1993. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8115027> >.

BATCHELOR, P. E. et al. Macrophages and Microglia Produce Local Trophic Gradients That Stimulate Axonal Sprouting Toward but Not beyond the Wound Edge. **Mol Cell Neurosci**, v. 21, n. 3, p. 436-53, Nov 2002. < <http://dx.doi.org/> >.

BAŞKAYA, M. K. et al. The biphasic opening of the blood-brain barrier in the cortex and hippocampus after traumatic brain injury in rats. **Neurosci Lett**, v. 226, n. 1, p. 33-6, Apr 1997. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9153635> >.

BERGERSEN, L.; RAFIKI, A.; OTTERSEN, O. P. Immunogold cytochemistry identifies specialized membrane domains for monocarboxylate transport in the central nervous system. **Neurochem Res**, v. 27, n. 1-2, p. 89-96, Feb 2002. ISSN 0364-3190. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11926280> >.

BESPALOV, M. M.; SAARMA, M. GDNF family receptor complexes are emerging drug targets. **Trends Pharmacol Sci**, v. 28, n. 2, p. 68-74, Feb 2007. ISSN 0165-6147 (Print)0165-6147. < <http://dx.doi.org/10.1016/j.tips.2006.12.005> >.

BITTNER, C. X. et al. Fast and reversible stimulation of astrocytic glycolysis by K<sup>+</sup> and a delayed and persistent effect of glutamate. **J Neurosci**, v. 31, n. 12, p. 4709-13, Mar 2011. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21430169> >.

BOHMER, A. E. et al. Neuron-specific enolase, S100B, and glial fibrillary acidic protein levels as outcome predictors in patients with severe traumatic brain injury. **Neurosurgery**, v. 68, n. 6, p. 1624-30; discussion 1630-1, Jun 2011. ISSN 0148-396x. < <http://dx.doi.org/10.1227/NEU.0b013e318214a81f> >.

BRAMHAM, C. R.; MESSAOUDI, E. BDNF function in adult synaptic plasticity: the synaptic consolidation hypothesis. **Prog Neurobiol**, v. 76, n. 2, p. 99-125, Jun 2005. ISSN 0301-0082. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16099088> >.

BRAMLETT, H. M.; DIETRICH, W. D. Pathophysiology of cerebral ischemia and brain trauma: similarities and differences. **J Cereb Blood Flow Metab**, v. 24, n. 2, p. 133-50, Feb 2004. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14747740> >.

BROWN, A. M.; RANSOM, B. R. Astrocyte glycogen and brain energy metabolism. **Glia**, v. 55, n. 12, p. 1263-71, Sep 2007. ISSN 0894-1491 (Print)0894-1491. < <http://dx.doi.org/10.1002/glia.20557> >.

BROWN, A. M.; TEKKOK, S. B.; RANSOM, B. R. Glycogen regulation and functional role in mouse white matter. **J Physiol**, v. 549, n. Pt 2, p. 501-12, Jun 1 2003. ISSN 0022-3751 (Print)0022-3751. < <http://dx.doi.org/10.1113/jphysiol.2003.042416> >.

BULLOCK, R. et al. Guidelines for the management of severe head injury. Brain Trauma Foundation. **Eur J Emerg Med**, v. 3, n. 2, p. 109-27, Jun 1996. ISSN 0969-9546. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9028756> >.

BÉLANGER, M.; ALLAMAN, I.; MAGISTRETTI, P. J. Brain energy metabolism: focus on astrocyte-neuron metabolic cooperation. **Cell Metab**, v. 14, n. 6, p. 724-38, Dec 2011. ISSN 1932-7420. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22152301> >.

CARVALHO, A. L. et al. Role of the brain-derived neurotrophic factor at glutamatergic synapses. **Br J Pharmacol**, v. 153 Suppl 1, p. S310-24, Mar 2008. ISSN 0007-1188. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18059328> >.

CATER, H. L.; BENHAM, C. D.; SUNDSTROM, L. E. Neuroprotective role of monocarboxylate transport during glucose deprivation in slice cultures of rat hippocampus. **J Physiol**, v. 531, n. Pt 2, p. 459-66, Mar 1 2001. ISSN 0022-3751 (Print)0022-3751. Disponível em: < <http://dx.doi.org/> >.

CERNAK, I. et al. Role of the cell cycle in the pathobiology of central nervous system trauma. **Cell Cycle**, v. 4, n. 9, p. 1286-93, Sep 2005. ISSN 1551-4005. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16082214> >.

\_\_\_\_\_. The pathobiology of moderate diffuse traumatic brain injury as identified using a new experimental model of injury in rats. **Neurobiol Dis**, v. 17, n. 1, p. 29-43, Oct 2004. ISSN 0969-9961. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15350963> >.

CHEN, G. et al. Inhibitory effect on cerebral inflammatory response following traumatic brain injury in rats: a potential neuroprotective mechanism of N-acetylcysteine. **Mediators Inflamm**, v. 2008, p. 716458, 2008. ISSN 1466-1861. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18483565> >.

CHENAL, J.; PELLERIN, L. Noradrenaline enhances the expression of the neuronal monocarboxylate transporter MCT2 by translational activation via stimulation of PI3K/Akt and the mTOR/S6K pathway. **J Neurochem**, v. 102, n. 2, p. 389-97, Jul 2007. ISSN 0022-3042. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17394554> >.

CHENAL, J.; PIERRE, K.; PELLERIN, L. Insulin and IGF-1 enhance the expression of the neuronal monocarboxylate transporter MCT2 by translational activation via stimulation of the phosphoinositide 3-kinase-Akt-mammalian target of rapamycin pathway. **Eur J Neurosci**, v. 27, n. 1, p. 53-65, Jan 2008. ISSN 1460-9568. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18093179> >.

CHERIAN, L.; HLATKY, R.; ROBERTSON, C. S. Nitric oxide in traumatic brain injury. **Brain Pathol**, v. 14, n. 2, p. 195-201, Apr 2004. ISSN 1015-6305. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15193032> >.

CHIARETTI, A. et al. Intraventricular nerve growth factor infusion improves cerebral blood flow and stimulates doublecortin expression in two infants with hypoxic-

ischemic brain injury. **Neurol Res**, v. 30, n. 3, p. 223-8, Apr 2008. ISSN 0161-6412. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18282376> >.

\_\_\_\_\_. Nerve growth factor and doublecortin expression correlates with improved outcome in children with severe traumatic brain injury. **J Trauma**, v. 65, n. 1, p. 80-5, Jul 2008. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18580535> >.

CHODOBSKI, A. et al. Early neutrophilic expression of vascular endothelial growth factor after traumatic brain injury. **Neuroscience**, v. 122, n. 4, p. 853-67, 2003. ISSN 0306-4522. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14643756> >.

CHODOBSKI, A.; ZINK, B. J.; SZMYDYNGER-CHODOBSKA, J. Blood-brain barrier pathophysiology in traumatic brain injury. **Transl Stroke Res**, v. 2, n. 4, p. 492-516, Dec 2011. < <http://dx.doi.org/10.1007/s12975-011-0125-x> >.

CHOI, H. B. et al. Metabolic communication between astrocytes and neurons via bicarbonate-responsive soluble adenylyl cyclase. **Neuron**, v. 75, n. 6, p. 1094-104, Sep 2012. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22998876> >.

CHOI-LUNDBERG, D. L. et al. Dopaminergic neurons protected from degeneration by GDNF gene therapy. **Science**, v. 275, n. 5301, p. 838-41, Feb 7 1997. ISSN 0036-8075 (Print)0036-8075. Disponível em: < <http://dx.doi.org/> >.

CLARK, R. S. et al. Increases in Bcl-2 and cleavage of caspase-1 and caspase-3 in human brain after head injury. **FASEB J**, v. 13, n. 8, p. 813-21, May 1999. ISSN 0892-6638. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10224225> >.

COULPIER, M.; IBANEZ, C. F. Retrograde propagation of GDNF-mediated signals in sympathetic neurons. **Mol Cell Neurosci**, v. 27, n. 2, p. 132-9, Oct 2004. ISSN 1044-7431 (Print)1044-7431. < <http://dx.doi.org/10.1016/j.mcn.2004.06.001> >.

COULTER, D. A.; EID, T. Astrocytic regulation of glutamate homeostasis in epilepsy. **Glia**, v. 60, n. 8, p. 1215-26, Aug 2012. ISSN 1098-1136. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22592998> >.

DAMKIER, H. H.; BROWN, P. D.; PRAETORIUS, J. Epithelial pathways in choroid plexus electrolyte transport. **Physiology (Bethesda)**, v. 25, n. 4, p. 239-49, Aug 2010. ISSN 1548-9221. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20699470> >.

DAS, M.; MOHAPATRA, S.; MOHAPATRA, S. S. New perspectives on central and peripheral immune responses to acute traumatic brain injury. **J Neuroinflammation**, v. 9, p. 236, 2012. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23061919> >.

DATASUS. 2011. Disponível em: < <http://www.datasus.gov.br/> >.

DAWBARN, D.; ALLEN, S. J. Neurotrophins and neurodegeneration. **Neuropathol Appl Neurobiol**, v. 29, n. 3, p. 211-30, Jun 2003. < <http://dx.doi.org/> >.

DEITMER, J. W. Glial strategy for metabolic shuttling and neuronal function. **Bioessays**, v. 22, n. 8, p. 747-52, Aug 2000. ISSN 0265-9247 (Print)0265-9247.



Disponível em: < [http://dx.doi.org/10.1002/1521-1878\(200008\)22:8<747::aid-bies8>3.0.co](http://dx.doi.org/10.1002/1521-1878(200008)22:8<747::aid-bies8>3.0.co) >.

\_\_\_\_\_. A role for CO(2) and bicarbonate transporters in metabolic exchanges in the brain. **J Neurochem**, v. 80, n. 5, p. 721-6, Mar 2002. ISSN 0022-3042 (Print)0022-3042. Disponível em: < <http://dx.doi.org/> >.

DEKOSKY, S. T. et al. Upregulation of nerve growth factor following cortical trauma. **Exp Neurol**, v. 130, n. 2, p. 173-7, Dec 1994. ISSN 0014-4886. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7867748> >.

\_\_\_\_\_. Time course analysis of hippocampal nerve growth factor and antioxidant enzyme activity following lateral controlled cortical impact brain injury in the rat. **J Neurotrauma**, v. 21, n. 5, p. 491-500, May 2004. ISSN 0897-7151. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15165358> >.

DESAGHER, S.; GLOWINSKI, J.; PREMONT, J. Astrocytes protect neurons from hydrogen peroxide toxicity. **J Neurosci**, v. 16, n. 8, p. 2553-62, Apr 15 1996. ISSN 0270-6474 (Print)0270-6474. Disponível em: < <http://dx.doi.org/> >.

DIENEL, G. A. Brain lactate metabolism: the discoveries and the controversies. **J Cereb Blood Flow Metab**, v. 32, n. 7, p. 1107-38, Jul 2012. ISSN 1559-7016. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22186669> >.

DIPIRO, J. T. et al. Association of interleukin-4 plasma levels with traumatic injury and clinical course. **Arch Surg**, v. 130, n. 11, p. 1159-62; discussion 1162-3, Nov 1995. ISSN 0004-0010. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7487457> >.

DIXON, C. E. et al. Nerve growth factor attenuates cholinergic deficits following traumatic brain injury in rats. **Exp Neurol**, v. 146, n. 2, p. 479-90, Aug 1997. ISSN 0014-4886. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9270059> >.

DORE-DUFFY, P. et al. Pericyte migration from the vascular wall in response to traumatic brain injury. **Microvasc Res**, v. 60, n. 1, p. 55-69, Jul 2000. ISSN 0026-2862. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10873515> >.

DRINGEN, R. Metabolism and functions of glutathione in brain. **Prog Neurobiol**, v. 62, n. 6, p. 649-71, Dec 2000. ISSN 0301-0082 (Print)0301-0082. Disponível em: < <http://dx.doi.org/> >.

DURBEC, P. et al. GDNF signalling through the Ret receptor tyrosine kinase. **Nature**, v. 381, n. 6585, p. 789-93, Jun 27 1996. ISSN 0028-0836 (Print)0028-0836. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1038/381789a0> >.

EMERICH, D. F. et al. The choroid plexus in the rise, fall and repair of the brain. **Bioessays**, v. 27, n. 3, p. 262-74, Mar 2005. ISSN 0265-9247. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15714561> >.

ERECIŃSKA, M.; SILVER, I. A. Ions and energy in mammalian brain. **Prog Neurobiol**, v. 43, n. 1, p. 37-71, May 1994. ISSN 0301-0082. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7972852> >.

FADEN, A. I. Neuroprotection and traumatic brain injury: theoretical option or realistic proposition. **Curr Opin Neurol**, v. 15, n. 6, p. 707-12, Dec 2002. ISSN 1350-7540. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12447109> >.

FARAHANI, R. et al. Alterations in metabolism and gap junction expression may determine the role of astrocytes as "good samaritans" or executioners. **Glia**, v. 50, n. 4, p. 351-61, Jun 2005. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15846800> >.

FARINA, C.; ALOISI, F.; MEINL, E. Astrocytes are active players in cerebral innate immunity. **Trends Immunol**, v. 28, n. 3, p. 138-45, Mar 2007. ISSN 1471-4906 (Print)1471-4906. < <http://dx.doi.org/10.1016/j.it.2007.01.005> >.

GADEA, A.; LÓPEZ-COLOMÉ, A. M. Glial transporters for glutamate, glycine, and GABA: II. GABA transporters. **J Neurosci Res**, v. 63, n. 6, p. 461-8, Mar 2001. ISSN 0360-4012. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11241581> >.

GARCIA, C. K. et al. Molecular characterization of a membrane transporter for lactate, pyruvate, and other monocarboxylates: implications for the Cori cycle. **Cell**, v. 76, n. 5, p. 865-73, Mar 1994. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8124722> >.

GENNARELLI, T. A. et al. Axonal injury in the optic nerve: a model simulating diffuse axonal injury in the brain. **J Neurosurg**, v. 71, n. 2, p. 244-53, Aug 1989. ISSN 0022-3085. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2746348> >.

GHAJAR, J. Traumatic brain injury. **Lancet**, v. 356, n. 9233, p. 923-9, Sep 2000. ISSN 0140-6736. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11036909> >.

GHIRNIKAR, R. S.; LEE, Y. L.; ENG, L. F. Inflammation in traumatic brain injury: role of cytokines and chemokines. **Neurochem Res**, v. 23, n. 3, p. 329-40, Mar 1998. ISSN 0364-3190. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9482245> >.

GIAUME, C. et al. Astroglial networks: a step further in neuroglial and gliovascular interactions. **Nat Rev Neurosci**, v. 11, n. 2, p. 87-99, Feb 2010. ISSN 1471-0048. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20087359> >.

GORDON, G. R. et al. Brain metabolism dictates the polarity of astrocyte control over arterioles. **Nature**, v. 456, n. 7223, p. 745-9, Dec 2008. ISSN 1476-4687. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18971930> >.

GRZYBOWSKI, D. M. et al. In vitro model of cerebrospinal fluid outflow through human arachnoid granulations. **Invest Ophthalmol Vis Sci**, v. 47, n. 8, p. 3664-72, Aug 2006. ISSN 0146-0404. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16877441> >.

GUZMAN, M.; BLAZQUEZ, C. Ketone body synthesis in the brain: possible neuroprotective effects. **Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids**, v. 70, n. 3, p. 287-92, Mar 2004. < <http://dx.doi.org/10.1016/j.plefa.2003.05.001> >.

HALLDORSSON, J. G. et al. The scope of early traumatic brain injury as a long-term health concern in two nationwide samples: prevalence and prognostic factors. **Brain Inj**, v. 26, n. 1, p. 1-13, 2012.: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22149441> >.

HAWKINS, B. T.; DAVIS, T. P. The blood-brain barrier/neurovascular unit in health and disease. **Pharmacol Rev**, v. 57, n. 2, p. 173-85, Jun 2005. ISSN 0031-6997 (Print)0031-6997. < <http://dx.doi.org/10.1124/pr.57.2.4> >.

HAY, N.; SONENBERG, N. Upstream and downstream of mTOR. **Genes Dev**, v. 18, n. 16, p. 1926-45, Aug 2004. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15314020> >.

HENDERSON, C. E. et al. GDNF: a potent survival factor for motoneurons present in peripheral nerve and muscle. **Science**, v. 266, n. 5187, p. 1062-4, Nov 11 1994. ISSN 0036-8075 (Print)0036-8075. < <http://dx.doi.org/> >.

HERGENROEDER, G. et al. Identification of serum biomarkers in brain-injured adults: potential for predicting elevated intracranial pressure. **J Neurotrauma**, v. 25, n. 2, p. 79-93, Feb 2008. < <http://dx.doi.org/10.1089/neu.2007.0386> >.

HOANE, M. R.; KAPLAN, S. A.; ELLIS, A. L. The effects of nicotinamide on apoptosis and blood-brain barrier breakdown following traumatic brain injury. **Brain Res**, v. 1125, n. 1, p. 185-93, Dec 2006. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17109832> >.

HOLMIN, S.; MATHIESEN, T. Intracerebral administration of interleukin-1beta and induction of inflammation, apoptosis, and vasogenic edema. **J Neurosurg**, v. 92, n. 1, p. 108-20, Jan 2000. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10616089> >.

HOUADES, V. et al. Shapes of astrocyte networks in the juvenile brain. **Neuron Glia Biol**, v. 2, n. 1, p. 3-14, Feb 2006. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18634587> >.

HOUENOU, L. J. et al. Regulation of spinal motoneuron survival by GDNF during development and following injury. **Cell Tissue Res**, v. 286, n. 2, p. 219-23, Nov 1996. < <http://dx.doi.org/> >.

HUSSON, E. C. et al. Prognosis of six-month functioning after moderate to severe traumatic brain injury: a systematic review of prospective cohort studies. **J Rehabil Med**, v. 42, n. 5, p. 425-36, May 2010. ISSN 1651-2081. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20544152> >.

HYDER, F. et al. Neuronal-glia glucose oxidation and glutamatergic-GABAergic function. **J Cereb Blood Flow Metab**, v. 26, n. 7, p. 865-77, Jul 2006. ISSN 0271-678X. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16407855> >.

IADECOLA, C.; NEDERGAARD, M. Glial regulation of the cerebral microvasculature. **Nat Neurosci**, v. 10, n. 11, p. 1369-76, Nov 2007. ISSN 1097-6256 (Print)1097-6256. < <http://dx.doi.org/10.1038/nn2003> >.

IZUMI, Y.; KATSUKI, H.; ZORUMSKI, C. F. Monocarboxylates (pyruvate and lactate) as alternative energy substrates for the induction of long-term potentiation in rat hippocampal slices. **Neurosci Lett**, v. 232, n. 1, p. 17-20, Aug 1997. ISSN 0304-3940. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9292881> >.

JENNETT, B. The history of the Glasgow Coma Scale: an interview with professor Bryan Jennett. Interview by Carole Rush. **Int J Trauma Nurs**, v. 3, n. 4, p. 114-8, 1997 Oct-Dec 1997. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9391355> >.

JOHANSON, C. et al. Traumatic brain injury and recovery mechanisms: peptide modulation of periventricular neurogenic regions by the choroid plexus-CSF nexus. **J Neural Transm**, v. 118, n. 1, p. 115-33, Jan 2011. ISSN 1435-1463. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20936524> >.

\_\_\_\_\_. The distributional nexus of choroid plexus to cerebrospinal fluid, ependyma and brain: toxicologic/pathologic phenomena, periventricular destabilization, and lesion spread. **Toxicol Pathol**, v. 39, n. 1, p. 186-212, Jan 2011. ISSN 1533-1601. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21189316> >.

JOHANSON, C. E.; WOODBURY, D. M. Uptake of [14C]urea by the in vivo choroid plexus--cerebrospinal fluid--brain system: identification of sites of molecular sieving. **J Physiol**, v. 275, p. 167-76, Feb 1978. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/633102> >.

JUNGER, H.; VARON, S. Neurotrophin-4 (NT-4) and glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF) promote the survival of corticospinal motor neurons of neonatal rats in vitro. **Brain Res**, v. 762, n. 1-2, p. 56-60, Jul 11 1997. ISSN 0006-8993 (Print)0006-8993. < <http://dx.doi.org/> >.

KAPLAN, D. R.; MILLER, F. D. Neurotrophin signal transduction in the nervous system. **Curr Opin Neurobiol**, v. 10, n. 3, p. 381-91, Jun 2000. ISSN 0959-4388. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10851172> >.

KAUR, C. et al. Studies of the choroid plexus and its associated epiplexus cells in the lateral ventricles of rats following an exposure to a single non-penetrative blast. **Arch Histol Cytol**, v. 59, n. 3, p. 239-48, Aug 1996. ISSN 0914-9465. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8874756> >.

KEEL, M.; TRENTZ, O. Pathophysiology of polytrauma. **Injury**, v. 36, n. 6, p. 691-709, Jun 2005. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15910820> >.

KIM, B. T. et al. Protective effects of glial cell line-derived neurotrophic factor on hippocampal neurons after traumatic brain injury in rats. **J Neurosurg**, v. 95, n. 4, p. 674-9, Oct 2001. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11596962> >.

KIRCHHOFF, C. et al. Intrathecal and systemic concentration of NT-proBNP in patients with severe traumatic brain injury. **J Neurotrauma**, v. 23, n. 6, p. 943-9, Jun 2006. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16774478> >.

KOFUJI, P.; NEWMAN, E. A. Potassium buffering in the central nervous system. **Neuroscience**, v. 129, n. 4, p. 1045-56, 2004. ISSN 0306-4522 (Print)0306-4522. < <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuroscience.2004.06.008> >.

KORDON, C.; BIHOREAU, C. Integrated communication between the nervous, endocrine and immune systems. **Horm Res**, v. 31, n. 1-2, p. 100-4, 1989. ISSN 0301-0163. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2656465> >.

KORN, A. et al. Focal cortical dysfunction and blood-brain barrier disruption in patients with Postconcussion syndrome. **J Clin Neurophysiol**, v. 22, n. 1, p. 1-9, 2005 Jan-Feb 2005. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15689708> >.

KOZLOWSKI, G. P. Hormone pathways in cerebrospinal fluid. **Neurol Clin**, v. 4, n. 4, p. 907-17, Nov 1986. < <http://dx.doi.org/> >.

KRISHNAMURTHY, S. et al. Intraventricular infusion of hyperosmolar dextran induces hydrocephalus: a novel animal model of hydrocephalus. **Cerebrospinal Fluid Res**, v. 6, p. 16, 2009. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20003330> >.

LANGLOIS, J. A.; RUTLAND-BROWN, W.; WALD, M. M. The epidemiology and impact of traumatic brain injury: a brief overview. **J Head Trauma Rehabil**, v. 21, n. 5, p. 375-8, 2006 Sep-Oct 2006. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16983222> >.

LEE, H. J. et al. Human neural stem cells genetically modified to overexpress brain-derived neurotrophic factor promote functional recovery and neuroprotection in a mouse stroke model. **J Neurosci Res**, v. 88, n. 15, p. 3282-94, Nov 2010. ISSN 1097-4547. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20818776> >.

LEE, J. H. et al. Hemodynamically significant cerebral vasospasm and outcome after head injury: a prospective study. **J Neurosurg**, v. 87, n. 2, p. 221-33, Aug 1997. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9254085> >.

LENZLINGER, P. M. et al. Prolonged intrathecal release of soluble Fas following severe traumatic brain injury in humans. **J Neuroimmunol**, v. 122, n. 1-2, p. 167-74, Jan 2002. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11777556> >.

\_\_\_\_\_. The duality of the inflammatory response to traumatic brain injury. **Mol Neurobiol**, v. 24, n. 1-3, p. 169-81, 2001 Aug-Dec 2001. ISSN 0893-7648. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11831551> >.

LI, L. et al. Rescue of adult mouse motoneurons from injury-induced cell death by glial cell line-derived neurotrophic factor. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 92, n. 21, p. 9771-5, Oct 10 1995. < <http://dx.doi.org/> >.

LONGHI, L. et al. Ex vivo gene therapy using targeted engraftment of NGF-expressing human NT2N neurons attenuates cognitive deficits following traumatic brain injury in mice. **J Neurotrauma**, v. 21, n. 12, p. 1723-36, Dec 2004. ISSN 0897-7151 (Print)0897-7151. < <http://dx.doi.org/10.1089/neu.2004.21.1723> >.

LUCAS, S. M.; ROTHWELL, N. J.; GIBSON, R. M. The role of inflammation in CNS injury and disease. **Br J Pharmacol**, v. 147 Suppl 1, p. S232-40, Jan 2006. ISSN 0007-1188. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16402109> >.

MAALOUF, M.; RHO, J. M.; MATTSON, M. P. The neuroprotective properties of calorie restriction, the ketogenic diet, and ketone bodies. **Brain Res Rev**, v. 59, n. 2, p. 293-315, Mar 2009. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18845187> >.

MAAS, A. I.; STOCCHETTI, N.; BULLOCK, R. Moderate and severe traumatic brain injury in adults. **Lancet Neurol**, v. 7, n. 8, p. 728-41, Aug 2008. ISSN 1474-4422. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18635021> >.

MAEKAWA, F. et al. Regulation of the intracellular distribution, cell surface expression, and protein levels of AMPA receptor GluR2 subunits by the monocarboxylate transporter MCT2 in neuronal cells. **J Neurochem**, v. 109, n. 6, p. 1767-78, Jun 2009. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19457092> >.

MAGISTRETTI, P. J.; PELLERIN, L. Cellular mechanisms of brain energy metabolism and their relevance to functional brain imaging. **Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci**, v. 354, n. 1387, p. 1155-63, Jul 1999. ISSN 0962-8436. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10466143> >.

MARMAROU, A. et al. Predominance of cellular edema in traumatic brain swelling in patients with. **J Neurosurg**, v. 104, n. 5, p. 720-30, May 2006. ISSN 0022-3085 (Print)0022-3085. < <http://dx.doi.org/10.3171/jns.2006.104.5.720> >.

MAXWELL, W. L. et al. Changes in the choroid plexus, responses by intrinsic ependymal cells and recruitment from monocytes after experimental head acceleration injury in the non-human primate. **Acta Neuropathol**, v. 84, n. 1, p. 78-84, 1992. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1502884> >.

MCKENNA, M. C. The glutamate-glutamine cycle is not stoichiometric: fates of glutamate in brain. **J Neurosci Res**, v. 85, n. 15, p. 3347-58, Nov 15 2007. ISSN 0360-4012 (Print)0360-4012. < <http://dx.doi.org/10.1002/jnr.21444> >.

MCKENNA, M. C. et al. Energy metabolism in cortical synaptic terminals from weanling and mature rat brain: evidence for multiple compartments of tricarboxylic acid cycle activity. **Dev Neurosci**, v. 16, n. 5-6, p. 291-300, 1994. ISSN 0378-5866. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7768208> >.

MCLEAN, A. J. Brain injury without head impact? **J Neurotrauma**, v. 12, n. 4, p. 621-5, Aug 1995. < <http://dx.doi.org/> >.

MINNICH, J. E. et al. Glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF) gene delivery protects cortical neurons from dying following a traumatic brain injury. **Restor Neurol Neurosci**, v. 28, n. 3, p. 293-309, 2010. < <http://dx.doi.org/10.3233/rnn-2010-0528> >.

MINTUN, M. A. et al. Blood flow and oxygen delivery to human brain during functional activity: theoretical modeling and experimental data. **Proc Natl Acad Sci U**

**S A**, v. 98, n. 12, p. 6859-64, Jun 2001. ISSN 0027-8424. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11381119> >.

\_\_\_\_\_. Increased lactate/pyruvate ratio augments blood flow in physiologically activated human brain. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 101, n. 2, p. 659-64, Jan 2004. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14704276> >.

MIYAZAKI, H. et al. Expression of glial cell line-derived neurotrophic factor induced by transient forebrain ischemia in rats. **Brain Res**, v. 922, n. 2, p. 165-72, Dec 20 2001. < <http://dx.doi.org/> >.

MORGANTI-KOSSMANN, M. C. et al. Modulation of immune response by head injury. **Injury**, v. 38, n. 12, p. 1392-400, Dec 2007. ISSN 0020-1383. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18048036> >.

MORGENTHALER, F. D. et al. Glucose and lactate are equally effective in energizing activity-dependent synaptic vesicle turnover in purified cortical neurons. **Neuroscience**, v. 141, n. 1, p. 157-65, Aug 2006. ISSN 0306-4522. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16713114> >.

NAG, S.; TAKAHASHI, J. L.; KILTY, D. W. Role of vascular endothelial growth factor in blood-brain barrier breakdown and angiogenesis in brain trauma. **J Neuropathol Exp Neurol**, v. 56, n. 8, p. 912-21, Aug 1997. ISSN 0022-3069. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9258261> >.

NEDERGAARD, M.; RANSOM, B.; GOLDMAN, S. A. New roles for astrocytes: redefining the functional architecture of the brain. **Trends Neurosci**, v. 26, n. 10, p. 523-30, Oct 2003. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14522144> >.

NEKLUDOV, M. et al. Coagulation abnormalities associated with severe isolated traumatic brain injury: cerebral arterio-venous differences in coagulation and inflammatory markers. **J Neurotrauma**, v. 24, n. 1, p. 174-80, Jan 2007. ISSN 0897-7151. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17263681> >.

OPPENHEIM, R. W. et al. Developing motor neurons rescued from programmed and axotomy-induced cell death by GDNF. **Nature**, v. 373, n. 6512, p. 344-6, Jan 26 1995. < <http://dx.doi.org/10.1038/373344a0> >.

PELLERIN, L. Lactate as a pivotal element in neuron-glia metabolic cooperation. **Neurochem Int**, v. 43, n. 4-5, p. 331-8, 2003 Sep-Oct 2003. ISSN 0197-0186. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12742077> >.

PELLERIN, L. et al. Activity-dependent regulation of energy metabolism by astrocytes: an update. **Glia**, v. 55, n. 12, p. 1251-62, Sep 2007. ISSN 0894-1491. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17659524> >.

PELLERIN, L.; MAGISTRETTI, P. J. Glutamate uptake into astrocytes stimulates aerobic glycolysis: a mechanism coupling neuronal activity to glucose utilization. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 91, n. 22, p. 10625-9, Oct 1994. ISSN 0027-8424. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7938003> >.

\_\_\_\_\_. Neuroenergetics: calling upon astrocytes to satisfy hungry neurons. **Neuroscientist**, v. 10, n. 1, p. 53-62, Feb 2004. ISSN 1073-8584. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14987448> >.

\_\_\_\_\_. Sweet sixteen for ANLS. **J Cereb Blood Flow Metab**, v. 32, n. 7, p. 1152-66, Jul 2012. < <http://dx.doi.org/10.1038/jcbfm.2011.149> >.

PIERRE, K. et al. Linking supply to demand: the neuronal monocarboxylate transporter MCT2 and the alpha-amino-3-hydroxyl-5-methyl-4-isoxazole-propionic acid receptor GluR2/3 subunit are associated in a common trafficking process. **Eur J Neurosci**, v. 29, n. 10, p. 1951-63, May 2009. ISSN 1460-9568. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19453627> >.

PIERRE, K.; MAGISTRETTI, P. J.; PELLERIN, L. MCT2 is a major neuronal monocarboxylate transporter in the adult mouse brain. **J Cereb Blood Flow Metab**, v. 22, n. 5, p. 586-95, May 2002. ISSN 0271-678X (Print)0271-678x. < <http://dx.doi.org/10.1097/00004647-200205000-00010> >.

POLLAY, M. The function and structure of the cerebrospinal fluid outflow system. **Cerebrospinal Fluid Res**, v. 7, p. 9, 2010. ISSN 1743-8454. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20565964> >.

POLLMÄCHER, T. et al. Low levels of circulating inflammatory cytokines--do they affect human brain functions? **Brain Behav Immun**, v. 16, n. 5, p. 525-32, Oct 2002. ISSN 0889-1591. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12401466> >.

POO, M. M. Neurotrophins as synaptic modulators. **Nat Rev Neurosci**, v. 2, n. 1, p. 24-32, Jan 2001. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11253356> >.

PRESTON, J. E. et al. Atrial natriuretic peptide induction of dark epithelial cells in choroid plexus: consistency with the model of CSF downregulation in hydrocephalus. **Eur J Pediatr Surg**, v. 13 Suppl 1, p. S40-2, Dec 2003. ISSN 0939-7248. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14986637> >.

PUN, P. B.; LU, J.; MOOCHHALA, S. Involvement of ROS in BBB dysfunction. **Free Radic Res**, v. 43, n. 4, p. 348-64, Apr 2009. ISSN 1029-2470. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19241241> >.

RABCHEVSKY, A. G. et al. Basic fibroblast growth factor (bFGF) enhances tissue sparing and functional recovery following moderate spinal cord injury. **J Neurotrauma**, v. 16, n. 9, p. 817-30, Sep 1999. ISSN 0897-7151 (Print)0897-7151. < <http://dx.doi.org/> >.

RANGEL-CASTILLA, L. et al. Cerebral pressure autoregulation in traumatic brain injury. **Neurosurg Focus**, v. 25, n. 4, p. E7, Oct 2008. ISSN 1092-0684. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18828705> >.

RANSOHOFF, R. M. Chemokines and chemokine receptors: standing at the crossroads of immunobiology and neurobiology. **Immunity**, v. 31, n. 5, p. 711-21,



Nov 2009. ISSN 1097-4180. Disponível em: <  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19836265> >.

RAVINDRAN, J. et al. Alteration of blood brain barrier permeability by T-2 toxin: Role of MMP-9 and inflammatory cytokines. **Toxicology**, v. 280, n. 1-2, p. 44-52, Feb 2011. ISSN 1879-3185. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21112371> >.

RIDET, J. L. et al. Reactive astrocytes: cellular and molecular cues to biological function. **Trends Neurosci**, v. 20, n. 12, p. 570-7, Dec 1997. ISSN 0166-2236 (Print)0166-2236. < <http://dx.doi.org/> >.

ROBERTSON, C. L. et al. Increased adenosine in cerebrospinal fluid after severe traumatic brain injury in infants and children: association with severity of injury and excitotoxicity. **Crit Care Med**, v. 29, n. 12, p. 2287-93, Dec 2001. ISSN 0090-3493. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11801827> >.

ROBINET, C.; PELLERIN, L. Brain-derived neurotrophic factor enhances the expression of the monocarboxylate transporter 2 through translational activation in mouse cultured cortical neurons. **J Cereb Blood Flow Metab**, v. 30, n. 2, p. 286-98, Feb 2010. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19794395> >.

RODRÍGUEZ-BAEZA, A. et al. Morphological features in human cortical brain microvessels after head injury: a three-dimensional and immunocytochemical study. **Anat Rec A Discov Mol Cell Evol Biol**, v. 273, n. 1, p. 583-93, Jul 2003. ISSN 1552-4884. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12808643> >.

ROSTÈNE, W. et al. Neurochemokines: a menage a trois providing new insights on the functions of chemokines in the central nervous system. **J Neurochem**, v. 118, n. 5, p. 680-94, Sep 2011. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21722132> >.

ROSTÈNE, W.; KITABGI, P.; PARSADANIANTZ, S. M. Chemokines: a new class of neuromodulator? **Nat Rev Neurosci**, v. 8, n. 11, p. 895-903, Nov 2007. ISSN 1471-0048. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17948033> >.

ROTHSTEIN, J. D. et al. Knockout of glutamate transporters reveals a major role for astroglial transport in excitotoxicity and clearance of glutamate. **Neuron**, v. 16, n. 3, p. 675-86, Mar 1996. ISSN 0896-6273 (Print)0896-6273. < <http://dx.doi.org/> >.

ROTHWELL, N. J.; LUHESHI, G. N. Interleukin 1 in the brain: biology, pathology and therapeutic target. **Trends Neurosci**, v. 23, n. 12, p. 618-25, Dec 2000. ISSN 0166-2236. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11137152> >.

ROUACH, N. et al. Astroglial metabolic networks sustain hippocampal synaptic transmission. **Science**, v. 322, n. 5907, p. 1551-5, Dec 2008. ISSN 1095-9203. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19056987> >.

ROUACH, N.; KOULAKOFF, A.; GIAUME, C. Neurons set the tone of gap junctional communication in astrocytic networks. **Neurochem Int**, v. 45, n. 2-3, p. 265-72, 2004 Jul-Aug 2004. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15145542> >.

SAMPOL, D. et al. Glucose and lactate metabolism in the awake and stimulated rat: a (13)C-NMR study. **Front Neuroenergetics**, v. 5, p. 5, 2013. ISSN 1662-6427. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23755012> >.

SANDBERG NORDQVIST, A. C. et al. Increase of insulin-like growth factor (IGF)-1, IGF binding protein-2 and -4 mRNAs following cerebral contusion. **Brain Res Mol Brain Res**, v. 38, n. 2, p. 285-93, Jun 1996. ISSN 0169-328X. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8793117> >.

SAROLA, H.; SAARMA, M. Novel functions and signalling pathways for GDNF. **J Cell Sci**, v. 116, n. Pt 19, p. 3855-62, Oct 1 2003. ISSN 0021-9533 (Print)0021-9533. < <http://dx.doi.org/10.1242/jcs.00786> >.

SCHAAR, D. G. et al. Regional and cell-specific expression of GDNF in rat brain. **Exp Neurol**, v. 124, n. 2, p. 368-71, Dec 1993. < <http://dx.doi.org/> >.

SCHURR, A. et al. Blockade of lactate transport exacerbates delayed neuronal damage in a rat model of cerebral ischemia. **Brain Res**, v. 895, n. 1-2, p. 268-72, Mar 23 2001. < <http://dx.doi.org/> >.

SCHUTYSER, E.; STRUYF, S.; VAN DAMME, J. The CC chemokine CCL20 and its receptor CCR6. **Cytokine Growth Factor Rev**, v. 14, n. 5, p. 409-26, Oct 2003. ISSN 1359-6101. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12948524> >.

SEGATORE, M.; WAY, C. The Glasgow Coma Scale: time for change. **Heart Lung**, v. 21, n. 6, p. 548-57, 1992 Nov-Dec 1992. ISSN 0147-9563. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1447002> >.

SERRES, S. et al. Ex vivo NMR study of lactate metabolism in rat brain under various depressed states. **J Neurosci Res**, v. 79, n. 1-2, p. 19-25, 2005 Jan 1-15 2005. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15558748> >.

SHANK, R. P. et al. Pyruvate carboxylase: an astrocyte-specific enzyme implicated in the replenishment of amino acid neurotransmitter pools. **Brain Res**, v. 329, n. 1-2, p. 364-7, Mar 11 1985. < <http://dx.doi.org/> >.

SHARMA, H. S.; JOHANSON, C. E. Intracerebroventricularly administered neurotrophins attenuate blood cerebrospinal fluid barrier breakdown and brain pathology following whole-body hyperthermia: an experimental study in the rat using biochemical and morphological approaches. **Ann N Y Acad Sci**, v. 1122, p. 112-29, Dec 2007. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18077568> >.

SIMPSON, I. A.; CARRUTHERS, A.; VANNUCCI, S. J. Supply and demand in cerebral energy metabolism: the role of nutrient transporters. **J Cereb Blood Flow Metab**, v. 27, n. 11, p. 1766-91, Nov 2007. ISSN 0271-678X (Print)0271-678x. < <http://dx.doi.org/10.1038/sj.jcbfm.9600521> >.

SKUP, M. H. BDNF and NT-3 widen the scope of neurotrophin activity: pharmacological implications. **Acta Neurobiol Exp (Wars)**, v. 54, n. 2, p. 81-94, 1994. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8053416> >.

SLEMMER, J. E. et al. Antioxidants and free radical scavengers for the treatment of stroke, traumatic brain injury and aging. **Curr Med Chem**, v. 15, n. 4, p. 404-14, 2008. ISSN 0929-8673 (Print)0929-8673. < <http://dx.doi.org/> >.

SMITH, D. E.; JOHANSON, C. E.; KEEP, R. F. Peptide and peptide analog transport systems at the blood-CSF barrier. **Adv Drug Deliv Rev**, v. 56, n. 12, p. 1765-91, Oct 2004. ISSN 0169-409X. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15381333> >.

SMITH, M. Monitoring intracranial pressure in traumatic brain injury. **Anesth Analg**, v. 106, n. 1, p. 240-8, Jan 2008. ISSN 0003-2999. < <http://dx.doi.org/10.1213/01.ane.0000297296.52006.8e> >.

SOFRONIEW, M. V. Reactive astrocytes in neural repair and protection. **Neuroscientist**, v. 11, n. 5, p. 400-7, Oct 2005. ISSN 1073-8584 (Print)1073-8584. < <http://dx.doi.org/10.1177/1073858405278321> >.

SOKOLOFF, L. Energetics of functional activation in neural tissues. **Neurochem Res**, v. 24, n. 2, p. 321-9, Feb 1999. < <http://dx.doi.org/> >.

SPECTOR, R. Nature and consequences of mammalian brain and CSF efflux transporters: four decades of progress. **J Neurochem**, v. 112, n. 1, p. 13-23, Jan 2010. ISSN 1471-4159. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19860860> >.

STAHEL, P. F. et al. Intrathecal levels of complement-derived soluble membrane attack complex (sC5b-9) correlate with blood-brain barrier dysfunction in patients with traumatic brain injury. **J Neurotrauma**, v. 18, n. 8, p. 773-81, Aug 2001. ISSN 0897-7151. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11526983> >.

STEWART, O.; SCHUMAN, E. M. Compartmentalized synthesis and degradation of proteins in neurons. **Neuron**, v. 40, n. 2, p. 347-59, Oct 2003. ISSN 0896-6273. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14556713> >.

STOICA, B. A.; FADEN, A. I. Cell death mechanisms and modulation in traumatic brain injury. **Neurotherapeutics**, v. 7, n. 1, p. 3-12, Jan 2010. ISSN 1878-7479. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20129492> >.

STRBIAN, D. et al. The blood-brain barrier is continuously open for several weeks following transient focal cerebral ischemia. **Neuroscience**, v. 153, n. 1, p. 175-81, Apr 2008. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18367342> >.

SUZUKI, A. et al. Astrocyte-neuron lactate transport is required for long-term memory formation. **Cell**, v. 144, n. 5, p. 810-23, Mar 2011. ISSN 1097-4172. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21376239> >.

TAGLIAFERRI, F. et al. A systematic review of brain injury epidemiology in Europe. **Acta Neurochir (Wien)**, v. 148, n. 3, p. 255-68; discussion 268, Mar 2006. ISSN 0001-6268. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16311842> >.

TAI, M. H. et al. Gene transfer of glial cell line-derived neurotrophic factor promotes functional recovery following spinal cord contusion. **Exp Neurol**, v. 183, n. 2, p. 508-15, Oct 2003. ISSN 0014-4886 (Print)0014-4886. < <http://dx.doi.org/> >.

TAUPIN, V. et al. Increase in IL-6, IL-1 and TNF levels in rat brain following traumatic lesion. Influence of pre- and post-traumatic treatment with Ro5 4864, a peripheral-type (p site) benzodiazepine ligand. **J Neuroimmunol**, v. 42, n. 2, p. 177-85, Feb 1993. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8429103> >.

TEASDALE, G.; JENNETT, B. Assessment of coma and impaired consciousness. A practical scale. **Lancet**, v. 2, n. 7872, p. 81-4, Jul 1974. ISSN 0140-6736. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4136544> >.

THOMAS, S. A.; SEGAL, M. B. The transport of the anti-HIV drug, 2',3'-didehydro-3'-deoxythymidine (D4T), across the blood-brain and blood-cerebrospinal fluid barriers. **Br J Pharmacol**, v. 125, n. 1, p. 49-54, Sep 1998. ISSN 0007-1188. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9776343> >.

THURMAN, D. J. et al. Traumatic brain injury in the United States: A public health perspective. **J Head Trauma Rehabil**, v. 14, n. 6, p. 602-15, Dec 1999. ISSN 0885-9701. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10671706> >.

TOMKINS, O. et al. Blood-brain barrier disruption in post-traumatic epilepsy. **J Neurol Neurosurg Psychiatry**, v. 79, n. 7, p. 774-7, Jul 2008. ISSN 1468-330X. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17991703> >.

UNTERBERG, A. W. et al. Edema and brain trauma. **Neuroscience**, v. 129, n. 4, p. 1021-9, 2004. < <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuroscience.2004.06.046> >.

UZAN, M. et al. Evaluation of apoptosis in cerebrospinal fluid of patients with severe head injury. **Acta Neurochir (Wien)**, v. 148, n. 11, p. 1157-64; discussion, Nov 2006. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16964558> >.

VAN WAGONER, N. J.; BENVENISTE, E. N. Interleukin-6 expression and regulation in astrocytes. **J Neuroimmunol**, v. 100, n. 1-2, p. 124-39, Dec 1999. ISSN 0165-5728. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10695723> >.

VAYNMAN, S. et al. Coupling energy metabolism with a mechanism to support brain-derived neurotrophic factor-mediated synaptic plasticity. **Neuroscience**, v. 139, n. 4, p. 1221-34, 2006. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16580138> >.

VERKHRATSKY, A.; STEINHÄUSER, C. Ion channels in glial cells. **Brain Res Brain Res Rev**, v. 32, n. 2-3, p. 380-412, Apr 2000. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10760549> >.

VINCENT, V. A.; TILDERS, F. J.; VAN DAM, A. M. Inhibition of endotoxin-induced nitric oxide synthase production in microglial cells by the presence of astroglial cells: a role for transforming growth factor beta. **Glia**, v. 19, n. 3, p. 190-8, Mar 1997. ISSN 0894-1491 (Print)0894-1491. < <http://dx.doi.org/> >.

WALTER, H. J. et al. Distinct sites of insulin-like growth factor (IGF)-II expression and localization in lesioned rat brain: possible roles of IGF binding proteins (IGFBPs) in the mediation of IGF-II activity. **Endocrinology**, v. 140, n. 1, p. 520-32, Jan 1999. ISSN 0013-7227. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9886865> >.

WANG, X. et al. Astrocytic Ca<sup>2+</sup> signaling evoked by sensory stimulation in vivo. **Nat Neurosci**, v. 9, n. 6, p. 816-23, Jun 2006. ISSN 1097-6256 (Print)1097-6256. < <http://dx.doi.org/10.1038/nn1703> >.

WANG, Y. et al. Protective effects of glial cell line-derived neurotrophic factor in ischemic brain injury. **Ann N Y Acad Sci**, v. 962, p. 423-37, May 2002. ISSN 0077-8923 (Print)0077-8923. < <http://dx.doi.org/> >.

WERNER, C.; ENGELHARD, K. Pathophysiology of traumatic brain injury. **Br J Anaesth**, v. 99, n. 1, p. 4-9, Jul 2007. ISSN 0007-0912. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17573392> >.

WYSS, M. T. et al. In vivo evidence for lactate as a neuronal energy source. **J Neurosci**, v. 31, n. 20, p. 7477-85, May 18 2011. ISSN 0270-6474. < <http://dx.doi.org/10.1523/jneurosci.0415-11.2011> >.

YANG, B. et al. Effects of lactate/pyruvate on synaptic plasticity in the hippocampal dentate gyrus. **Neurosci Res**, v. 46, n. 3, p. 333-7, Jul 2003. ISSN 0168-0102. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12804794> >.

ZHANG, H. et al. Regulation and role of organic anion-transporting polypeptides (OATPs) in drug delivery at the choroid plexus. **J Clin Neurosci**, v. 17, n. 6, p. 679-84, Jun 2010. ISSN 1532-2653. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20356750> >.

ZHANG, X. et al. Intranuclear localization of apoptosis-inducing factor (AIF) and large scale DNA fragmentation after traumatic brain injury in rats and in neuronal cultures exposed to peroxynitrite. **J Neurochem**, v. 82, n. 1, p. 181-91, Jul 2002. ISSN 0022-3042. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12091479> >.

ZINK, B. J.; SZMYDYNGER-CHODOBSKA, J.; CHODOBSKI, A. Emerging concepts in the pathophysiology of traumatic brain injury. **Psychiatr Clin North Am**, v. 33, n. 4, p. 741-56, Dec 2010. < <http://dx.doi.org/10.1016/j.psc.2010.08.005> >.

## 4. OBJETIVOS

O objetivo primário deste estudo é averiguar o comportamento dos níveis líquidos do substrato energético lactato e dos fatores neurotróficos, GDNF e BDNF, nos pacientes com TCE grave.

O objetivo secundário é correlacionar as mesmas dosagens com o desfecho clínico mortalidade nestes pacientes.

## 5. ARTIGO

### 5.1. ARTIGO EM PORTUGUÊS

**Associação entre os níveis de lactato, BDNF e GDNF no líquido cefalorraquidiano de pacientes com traumatismo cranioencefálico**

Rafael Modkovski, MD (1)

Jean Pierre Oses, PhD (3)

Marco Antônio Stefani, MD, PhD (1,2)

Diogo Onofre de Souza, PhD (3)

Luis Valmor Portela, PhD (3)

1. Programa de Pós-Graduação em Medicina – Ciências Cirúrgicas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil.
2. Professor do Departamento de Anatomia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil.
3. Departamento de Bioquímica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil.

Autor correspondente:

Rafael Modkovski

INEURO – Neurologia e Neurocirurgia

Rua Dr. Luis Bastos do Prado, nº 1586/B, 5º andar.

Telefone: +55 51 3484 1745

E-mail: rmodkovski@gmail.com

## RESUMO

**Introdução:** Uma melhor compreensão das alterações fisiopatológicas em pacientes com traumatismo cranioencefálico (TCE) é necessária para o desenvolvimento de tratamentos mais eficientes. Descobertas recentes sobre o metabolismo energético neuronal permitem novas perspectivas quanto aos mecanismos de neuroproteção.

**Objetivo:** Analisar os níveis de lactato, BDNF e GDNF e suas correlações no líquido cefalorraquidiano (LCR) de pacientes com TCE grave.

**Métodos:** Vinte pacientes com TCE grave foram estudados. O LCR foi coletado por meio de cateter ventricular inserido nas primeiras 6 horas de internação.

**Resultados:** Os pacientes com TCE grave apresentaram uma elevação estatisticamente significativa de lactato e BDNF (lactato:  $4.93 \pm 3.41$  mmol/L vs.  $1.48 \pm 0.55$  mmol/L ( $p < 0,0001$ ); BDNF:  $265.12 \pm 91.79$  pg/mL vs.  $190.09 \pm 21.25$  pg/mL ( $p < 0,0001$ )). O valor médio de GDNF não demonstrou alteração significativa em relação ao controle ( $376.8 \pm 110.89$  pg/mL vs.  $344.87 \pm 36.36$  pg/mL;  $p = 0,23$ ). Identificou-se uma correlação entre lactato e BDNF ( $r = 0,46$ ,  $p = 0,05$ ).

**Discussão:** Estes achados sugerem a existência de uma resposta aguda do SNC ao evento traumático através da modulação de BDNF, resultando no aumento dos substratos energéticos local para suprir a elevação da demanda energética neuronal. Os dados também apoiam um papel importante do LCR no transporte de substratos e neuropeptídeos nestas condições.

**Palavras-chave:** traumatismo cranioencefálico, lactato, líquido cefalorraquidiano, fatores neurotróficos, BDNF, GDNF.



## INTRODUÇÃO

O traumatismo craniano (TCE) é uma das maiores causas de mortalidade e morbidade em todo o mundo. Somente nos EUA, são registrados anualmente 1,4 milhões de casos, resultando em aproximadamente 50.000 mortes por ano (Langlois, Rutland-Brown e Wald, 2006). A taxa de incidência na Europa é de cerca de 240 casos para cada 100.000 habitantes por ano (Tagliaferri *et al.*, 2006). A morbidade resultante é um importante problema social – estima-se que um total de 2% da população dos EUA apresenta alguma condição secundária ao TCE, representando um gasto anual de 60 bilhões de dólares em custos diretos e indiretos (Thurman *et al.*, 1999). O TCE grave, que engloba todos aqueles pacientes que apresentam uma pontuação menor que 9 no exame inicial da Escala de Coma de Glasgow (ECG), contribui para metade de todas as mortes relacionadas ao trauma (Teasdale e Jennett, 1974; Ghajar, 2000).

O TCE grave, particularmente, representa um grande desafio para o manejo neurointensivo. O quadro comatoso, decorrente do próprio traumatismo ou da sedação utilizada para proteção cerebral, dificulta a monitorização da evolução clínica desses pacientes. A compilação de diretrizes embasadas em evidências científicas para o manejo do TCE teve seu marco em 1995 com a publicação dos primeiros *guidelines* da *Brain Trauma Foundation* (Bullock *et al.*, 1996). Recentemente, grande atenção tem sido direcionada aos estudos de possíveis marcadores bioquímicos de lesão cerebral nesse cenário (Hergenroeder *et al.*, 2008). Valiosas contribuições na compreensão dos aspectos fisiopatológicos da lesão traumática cerebral já foram publicadas (Werner e Engelhard, 2007). No

entanto, grupos de estudo estão constantemente buscando novos tratamentos e diretrizes clínicas mais eficazes (Ghajar, 2000; Carney *et al.*, 2007). Dessa maneira, é imperativo desenvolver novas pesquisas sobre as bases patológicas do TCE.

A lesão decorrente do TCE pode ser caracterizada como primária ou secundária. A lesão primária é decorrente da ação direta das forças envolvida no momento do traumatismo causando impacto e deformações teciduais, manifestando-se como contusões, hematomas ou lesões difusas. A lesão cerebral secundária é aquela que ocorre posteriormente, em decorrência de alterações do fluxo cerebral, edema, reações inflamatórias e outras alterações bioquímicas (Chesnut, 1995; Unterberg *et al.*, 2004).

Imediatamente após o traumatismo, inicia-se uma série de eventos que se caracterizam por ativação inflamatória das células da glia, quebra da barreira hematoencefálica e liberação de diversos neuromoduladores (Das, Mohapatra e Mohapatra, 2012). Mudanças no plexo corióide e epêndima ventricular decorrentes do TCE tem importante efeito na homeostasia do LCR (Johanson, Stopa, Mcmillan, *et al.*, 2011). Alterações nos níveis dos peptídeos ventriculares refletem eventos celulares ocorrendo tanto no PC quanto nos astrócitos, necessitando uma maior investigação para caracterizar plenamente a composição de neuropeptídeos, proteínas e hormônios conforme o estágio e a gravidade da lesão cerebral (Johanson, Stopa, Baird, *et al.*, 2011).

O BDNF é um fator neurotrófico que atua através de receptores Tirosina-quinase (TrK) na função sináptica e morfologia neuronal. Assim, ele modula o desenvolvimento e fisiologia dos neurônios, podendo desempenhar uma função neuroprotetora (Allen e Dawbarn, 2006; Bagnato *et al.*, 2012). Diversos estudos demonstraram um aumento significativo nos níveis centrais de BDNF em modelos

experimentais de TCE (Yang *et al.*, 1996; Hicks *et al.*, 1998). Além disso, outros trabalhos têm explorado e sugerido a utilização do BDNF como uma ferramenta terapêutica nas lesões neurológicas traumáticas e não traumáticas (Sinson *et al.*, 1997; Koda *et al.*, 2004; Dwivedi, 2009; Kaplan, Vasterling e Vedak, 2010; Aloe *et al.*, 2012; Allen *et al.*, 2013).

Recentemente, houve um grande avanço no entendimento do metabolismo energético neuronal (Dienel, 2012; Pellerin e Magistretti, 2012). Dentre as ações multifuncionais dos astrócitos, tem sido descritas a regulação do substrato energético neuronal e o papel do lactato como fonte de energia preferencial em algumas situações para os neurônios (Bélanger, Allaman e Magistretti, 2011; Ivanov *et al.*, 2011; Wyss *et al.*, 2011). Além do mais, a expressão dos transportadores de lactato (MCT2) é regulada pela ação do BDNF e de outros fatores tróficos (Robinet e Pellerin, 2010). Desta maneira, ao regular o transporte de lactato, ele promove uma modulação do *turnover* das vesículas sinápticas e fornece uma fonte energética adicional aos neurônios na manutenção de suas atividades (Pellerin e Magistretti, 1994).

## **OBJETIVO**

Tendo em vista o papel do BDNF na modulação dos substratos energéticos, o objetivo deste trabalho foi avaliar os níveis de lactato e dos fatores neurotróficos em amostras de líquido obtidas do sistema ventricular de pacientes com TCE grave, comparativamente aos resultados em amostras de indivíduos controles.

## MÉTODOS

### *Pacientes*

Um estudo transversal foi realizado entre 2006 e 2007 com um total de 20 casos consecutivos de pacientes com TCE grave (escore igual ou menor que oito na ECG) e com alterações no exame de tomografia computadorizada de crânio admissional, atendidos na unidade de emergência do Hospital Cristo Redentor (Porto Alegre, Brasil). Em uma publicação prévia, foram avaliados o dano glial e neuronal e descrito o seu manejo clínico. Resumidamente, os pacientes com TCE eram jovens e, na sua maioria, do sexo masculino como visto na Tabela 1. A causa do traumatismo foi predominantemente por acidentes de trânsito e nenhum dos pacientes apresentava diagnóstico de patologia neurológica prévia. A gravidade do TCE foi determinada pela avaliação clínica inicial da ECG. Todos os pacientes foram submetidos à ventriculostomia para colocação de derivação ventricular externa com o objetivo de monitorar e tratar as alterações da pressão intracraniana. As amostras de LCR foram coletadas entre 2 e 4 horas após a hospitalização através do cateter ventricular. Após a coleta, as amostras foram centrifugadas a 10.000 x g por 10 minutos a uma temperatura de 4°C. O sobrenadante livre era pipetado e congelado a -70°C até o momento de sua análise. Vinte pacientes neurologicamente saudáveis submetidos à anestesia raquidiana para pequenos procedimentos eletivos foram selecionados como controles (Bohmer *et al.*, 2011).

### ***Aprovação do protocolo e consentimento informado***

O protocolo foi aprovado pelo comitê de ética em pesquisa da instituição e registrado sob o número de projeto 0038.0.164.165-05. O termo de consentimento para os participantes do estudo foi obtido com os seus familiares ou responsáveis legais e, diretamente, com os indivíduos saudáveis, conforme os princípios da Declaração de Helsinque.

### ***Medidas de BDNF e GDNF no LCR***

Os níveis de BDNF e GDNF foram medidos no líquido utilizando um kit de imunoenensaio disponível comercialmente (DuoSet ELISA Development, ReD Systems Inc. USA). A quantidade de BDNF ou GDNF foi, então, determinada por uma medida da absorbância a 450nm com um medidor SpectraMax M5 (Molecular Devices, USA). Todas as amostras e controles foram medidos duas vezes e seu coeficiente de variação considerado menor que 5%. Os níveis de BDNF e GDNF no líquido estão expressos como pg/mL.

### ***Medidas dos níveis e lactato***

Os níveis de lactato foram avaliados pela metodologia de lactato oxidase produzida pela empresa Katal Biotecnologia (MG, Brasil). Todas as amostras de pacientes e dos controles foram testadas duplamente no mesmo experimento.

Fatores de calibragem foram determinados usando um padrão de lactato de lítio (4,44 mmol/L).

### ***Análise estatística***

A análise estatística dos dados foi realizada por meio do programa GraphPad Prism 5.0 para Windows. A maioria dos valores de lactato, BDNF e GDNF apresentaram uma curva de distribuição normal, sendo submetidos a análises não paramétricas. Todos os valores são apresentados como média  $\pm$  desvio padrão (D.P.). Para as comparações entre os grupos, foi utilizado o teste t de Student. A correlação entre os níveis de BDNF e lactato foi avaliada pelo coeficiente de correlação de Spearman. Valores de  $P \leq 0,05$  foram considerados estatisticamente significativos.

## **RESULTADOS**

### ***Dosagens de Lactato, BDNF e GDNF***

Os pacientes com TCE grave apresentaram valores de lactato e BDNF no líquido superiores aos encontrados nos controles (Lactato:  $4,93 \pm 3,41$  mmol/L vs.  $1,48 \pm 0,55$  mmol/L ( $p < 0,0001$ ); BDNF:  $265,12 \pm 91,79$  pg/mL vs.  $190,09 \pm 21,25$  pg/mL ( $p < 0,0001$ )). Os valores médios de GDNF não apresentaram diferença

significativa em relação aos controles ( $376,8 \pm 110,89$  pg/mL vs.  $344,87 \pm 36,36$  pg/mL) ( $p = 0,23$ ) (Figura 1). A comparação entre os diferentes marcadores demonstrou uma associação positiva dos valores do lactato com o aumento dos valores do BDNF ( $r = 0,46$ ,  $p = 0,05$ ). As demais correlações entre os diversos marcadores não apresentaram associação estatisticamente significativa (Figura 2).

Ao se analisarem os parâmetros clínicos para pesquisar uma possível associação dos marcadores bioquímicos com a gravidade do TCE, foram comparados os níveis de BDNF, GDNF e lactato entre os sujeitos que vieram a óbito e os sobreviventes. Não houve diferença significativa dos níveis destes marcadores entre os pacientes avaliados (Figura 3).

## DISCUSSÃO

O TCE grave é uma patologia desafiadora, pois os recursos terapêuticos existentes não conseguem amenizar completamente o seu grande impacto em termos de saúde pública (Maas, Stocchetti e Bullock, 2008). O estudo aprofundado das questões fisiopatológicas que o cercam é um caminho para o embasamento de novos tratamentos e para um manejo mais eficiente. Nesse sentido, acreditamos que as adaptações metabólicas neuronais à lesão traumática sejam fundamentais aos mecanismos de proteção e sobrevivência celular.

O lactato recebeu muita atenção recentemente como substrato energético cerebral (Pellerin e Magistretti, 2012). Ele exerce o papel de substrato oxidativo preferencial para neurônios *in vitro* e *in vivo*, sendo capaz de sustentar o *turnover* de

vesículas sinápticas e a transmissão sináptica (Schurr, West e Rigor, 1988; Mckenna *et al.*, 1994; Serres *et al.*, 2005; Hyder *et al.*, 2006; Morgenthaler *et al.*, 2006; Rouach *et al.*, 2008). Foi demonstrado, também, que ele preserva a função neuronal em modelos experimentais de excitotoxicidade, recuperação pós-hipóxia isquemia cerebral e privação de energia (Schurr *et al.*, 1997; Cater, Benham e Sundstrom, 2001; Schurr *et al.*, 2001). Salienta-se, assim, a importância do lactato derivado dos astrócitos para a função e viabilidade neuronal.

Os astrócitos desempenham uma função fundamental no acoplamento energético da atividade neuronal, o que é explicado por um modelo bioquímico denominado como transportador de lactato astrócito-neuronal (*Astrocyte-Neuron Lactate Shuttle* ou ANLS) (Pellerin e Magistretti, 2004). Em resumo, após a liberação sináptica de glutamato, este é absorvido pelos astrócitos onde estimula a glicólise anaeróbica e captação de glicose da circulação através da GLUT1, um transportador de glicose com expressão específica pelas células gliais e endoteliais capilares do cérebro (Simpson, Carruthers e Vannucci, 2007). O lactato produzido em decorrência da glicólise é liberado no espaço extracelular e depois é absorvido pelos neurônios através dos transportadores monocarboxilase (MCT). (Pierre e Pellerin, 2005) Dentro dos neurônios, o lactato é utilizado como substrato energético através da sua conversão em piruvato pela ação da lactato desidrogenase e subsequente oxidação no ciclo mitocondrial (Pellerin, 2003).

Nossos achados demonstraram uma elevação significativa do lactato medido no líquido dos pacientes com TCE grave. Esta elevação, possivelmente, representa uma reação do SNC ao evento traumático, proporcionando a disponibilização aguda de um ávido substrato energético que auxilia os neurônios no enfrentamento das condições fisiopatológicas que seguem. Esses dados sugerem, também, um



importante papel do meio líquido ventricular na difusão de nutrientes nessas condições.

Vários níveis de suporte neuropeptidérgico ocorrem na resposta homeostática do SNC ao TCE (Johanson, Stopa, Baird, *et al.*, 2011). Primeiramente, verifica-se uma expressão compensatória reacional de fatores neurotróficos pelas células parenquimatosas e vasculares na região da lesão. Por exemplo, o *NGF MRNA* no córtex cerebral está aumentado em aproximadamente cinco vezes apenas um dia após a contusão cerebral (Dekosky *et al.*, 1994). A transcrição dos neuropeptídios IGF-1 e colecistoquinina, também, aumenta cerca de dez vezes nas áreas perilesionais (Sandberg Nordqvist *et al.*, 1996). Secundariamente, ocorre a secreção de outros peptídeos pelo plexo coriáide e sua subsequente distribuição através do LCR para a região traumatizada (Walter *et al.*, 1999; Chiaretti, Antonelli, Mastrangelo, *et al.*, 2008). Esta função neuroendócrina do LCR envolve peptídeos entregues por convecção para modular a neurogênese e facilitar a recuperação celular (Scott *et al.*, 1977; Kozlowski, 1986).

Estudos avaliando o uso terapêutico de neuropeptídios através do LCR demonstram diversos resultados favoráveis aos efeitos neuroregenerativos e melhora da cognição após a lesão (Johanson, Stopa, Baird, *et al.*, 2011).

O GDNF exerce efeitos neuroprotetores em relação à isquemia cerebral (Lee *et al.*, 2010). Num modelo experimental de impacto cortical, o GDNF também apresentou efeitos neuroprotetores quando administrado no LCR através de bomba osmótica (Kim *et al.*, 2001).

A dosagem do GDNF nessa amostragem não demonstrou uma diferença significativa na comparação aos controles. Embora fosse esperada a sua elevação,

esse achado pode ser explicado em razão do momento da dosagem ser muito precoce em relação à sua liberação (Miyazaki *et al.*, 2001).

O BDNF é uma neurotrofina vastamente expressa no SNC (Skup, 1994). Ele age através de receptores TrK específicos, modulando a sobrevivência e diferenciação neuronal e a plasticidade sináptica. Embora não tenha apresentado papel neurogênico, ele demonstrou ação neuroprotetora em modelos de isquemia e hipertermia maligna quando infundido no LCR (Sharma e Johanson, 2007; Galvão, Garcia-Verdugo e Alvarez-Buylla, 2008).

Na região pré-sináptica, o BDNF potencializa a liberação de glutamato e também provoca sua liberação direta através da mobilização de  $Ca^{++}$ . Ele é responsável por adaptações neuroenergéticas necessárias as mudanças decorrentes da plasticidade neuronal (Robinet e Pellerin, 2010). Um estudo recente demonstrou que ele aumenta a expressão do transportador MCT2 em culturas de neurônios corticais através de um mecanismo translacional (Robinet e Pellerin, 2010). Tal efeito pode resultar no aumento da disponibilidade de transportadores de lactato locais, permitindo, possivelmente, que as sinapses alcancem maiores demandas energéticas conforme sua ativação.

Como o papel primário do MCT2 é suplementar os neurônios com substratos energéticos alternativos à glicose, as mudanças na sua expressão pela modulação do BDNF podem facilitar a utilização desses substratos. Tal cenário corresponde ao encontrado no SNC dos pacientes com TCE grave. A identificação do aumento dos níveis líquórico tanto de lactato quanto do BDNF e, ainda, da correlação entre eles, suporta esse raciocínio.

## CONCLUSÃO

Nossos achados sugerem que, nos pacientes com TCE grave, ocorre uma maior disponibilização de lactato no LCR do sistema ventricular, possivelmente destinado a suprir o aumento do gasto energético neuronal. Verificamos, também, um aumento agudo do BDNF contido no meio liquórico, cuja ação possivelmente esteja ligada à maior disponibilização de lactato. Esta é a primeira publicação a apresentar estes dados..

Supõe-se, dessa maneira, que, na resposta aguda do SNC a uma lesão severa, ocorre uma rápida resposta fisiológica, incluindo a ativação de fatores neurotróficos, que acarreta uma mobilização energética com aumento do lactato disponível para o consumo metabólico neuronal aumentado. Os mecanismos neuromodulatórios discutidos suportam esse raciocínio.

A extrapolação desses achados pode, entretanto, ser limitada devido ao reduzido número da amostragem. A impossibilidade do acompanhamento da evolução temporal desses marcadores bioquímicos devido à escassez das amostras subsequentes ao primeiro dia, também, impede uma compreensão melhor do desenvolvimento longitudinal dessas respostas neuroendócrinas e metabólicas.

Dessa maneira, recomendamos que sejam realizados estudos adicionais baseados nesses achados, utilizando-se um grupo maior de pacientes e, dentro das possibilidades clínicas, coletando-se amostras ao longo de um maior período temporal.

## **DECLARAÇÃO**

Esta pesquisa foi financiada por recursos da FAPERGS, PPSUS, CAPES, CNPQ, IBNET e INCTen. Os autores não possuem nenhum conflito de interesse.

## REFERÊNCIAS

ALLEN, S. J.; DAWBARN, D. Clinical relevance of the neurotrophins and their receptors. **Clin Sci (Lond)**, v. 110, n. 2, p. 175-91, Feb 2006. ISSN 0143-5221 (Print)0143-5221. < <http://dx.doi.org/10.1042/cs20050161> >.

ALLEN, S. J. et al. GDNF, NGF and BDNF as therapeutic options for neurodegeneration. **Pharmacol Ther**, v. 138, n. 2, p. 155-75, May 2013. ISSN 0163-7258. < <http://dx.doi.org/10.1016/j.pharmthera.2013.01.004> >.

ALOE, L. et al. Nerve growth factor: from the early discoveries to the potential clinical use. **J Transl Med**, v. 10, p. 239, 2012. ISSN 1479-5876. < <http://dx.doi.org/10.1186/1479-5876-10-239> >.

BAGNATO, S. et al. Brain-derived neurotrophic factor (Val66Met) polymorphism does not influence recovery from a post-traumatic vegetative state: a blinded retrospective multi-centric study. **J Neurotrauma**, v. 29, n. 11, p. 2050-9, Jul 20 2012. ISSN 0897-7151. < <http://dx.doi.org/10.1089/neu.2011.2184> >.

BOHMER, A. E. et al. Neuron-specific enolase, S100B, and glial fibrillary acidic protein levels as outcome predictors in patients with severe traumatic brain injury. **Neurosurgery**, v. 68, n. 6, p. 1624-30; discussion 1630-1, Jun 2011. ISSN 0148-396x. < <http://dx.doi.org/10.1227/NEU.0b013e318214a81f> >.

BULLOCK, R. et al. Guidelines for the management of severe head injury. Brain Trauma Foundation. **Eur J Emerg Med**, v. 3, n. 2, p. 109-27, Jun 1996. ISSN 0969-9546. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9028756> >.

BÉLANGER, M.; ALLAMAN, I.; MAGISTRETTI, P. J. Brain energy metabolism: focus on astrocyte-neuron metabolic cooperation. **Cell Metab**, v. 14, n. 6, p. 724-38, Dec 2011. ISSN 1932-7420. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22152301> >.

CARNEY, N. A. et al. Guidelines for the management of severe traumatic brain injury. Introduction. **J Neurotrauma**, v. 24 Suppl 1, p. S1-2, 2007. ISSN 0897-7151. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17511535> >.

CATER, H. L.; BENHAM, C. D.; SUNDSTROM, L. E. Neuroprotective role of monocarboxylate transport during glucose deprivation in slice cultures of rat hippocampus. **J Physiol**, v. 531, n. Pt 2, p. 459-66, Mar 1 2001. ISSN 0022-3751 (Print)0022-3751. < <http://dx.doi.org/> >.

CHESNUT, R. M. Secondary brain insults after head injury: clinical perspectives. **New Horiz**, v. 3, n. 3, p. 366-75, Aug 1995. ISSN 1063-7389 (Print)1063-7389. < <http://dx.doi.org/> >.

CHIARETTI, A. et al. Nerve growth factor expression correlates with severity and outcome of traumatic brain injury in children. **Eur J Paediatr Neurol**, v. 12, n. 3, p. 195-204, May 2008. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17881264> >.

DAS, M.; MOHAPATRA, S.; MOHAPATRA, S. S. New perspectives on central and peripheral immune responses to acute traumatic brain injury. **J Neuroinflammation**, v. 9, p. 236, 2012. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23061919> >.

DEKOSKY, S. T. et al. Upregulation of nerve growth factor following cortical trauma. **Exp Neurol**, v. 130, n. 2, p. 173-7, Dec 1994. ISSN 0014-4886. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7867748> >.

DIENEL, G. A. Brain lactate metabolism: the discoveries and the controversies. **J Cereb Blood Flow Metab**, v. 32, n. 7, p. 1107-38, Jul 2012. ISSN 1559-7016. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22186669> >.

DWIVEDI, Y. Brain-derived neurotrophic factor: role in depression and suicide. **Neuropsychiatr Dis Treat**, v. 5, p. 433-49, 2009. ISSN 1176-6328 (Print)1176-6328. < <http://dx.doi.org/> >.

GALVÃO, R. P.; GARCIA-VERDUGO, J. M.; ALVAREZ-BUYLLA, A. Brain-derived neurotrophic factor signaling does not stimulate subventricular zone neurogenesis in adult mice and rats. **J Neurosci**, v. 28, n. 50, p. 13368-83, Dec 2008. ISSN 1529-2401. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19074010> >.

GHAJAR, J. Traumatic brain injury. **Lancet**, v. 356, n. 9233, p. 923-9, Sep 2000. ISSN 0140-6736. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11036909> >.

HERGENROEDER, G. et al. Identification of serum biomarkers in brain-injured adults: potential for predicting elevated intracranial pressure. **J Neurotrauma**, v. 25, n. 2, p. 79-93, Feb 2008. ISSN 0897-7151 (Print)0897-7151. < <http://dx.doi.org/10.1089/neu.2007.0386> >.

HICKS, R. R. et al. Expression of trkB mRNA is altered in rat hippocampus after experimental brain trauma. **Brain Res Mol Brain Res**, v. 59, n. 2, p. 264-8, Aug 31 1998. ISSN 0169-328X (Print)0169-328x. < <http://dx.doi.org/> >.

HYDER, F. et al. Neuronal-glia glucose oxidation and glutamatergic-GABAergic function. **J Cereb Blood Flow Metab**, v. 26, n. 7, p. 865-77, Jul 2006. ISSN 0271-678X. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16407855> >.

IVANOV, A. et al. Lactate Effectively Covers Energy Demands during Neuronal Network Activity in Neonatal Hippocampal Slices. **Front Neuroenergetics**, v. 3, p. 2, 2011. ISSN 1662-6427. < <http://dx.doi.org/10.3389/fnene.2011.00002> >.

JOHANSON, C. et al. Traumatic brain injury and recovery mechanisms: peptide modulation of periventricular neurogenic regions by the choroid plexus-CSF nexus. **J Neural Transm**, v. 118, n. 1, p. 115-33, Jan 2011. ISSN 1435-1463. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20936524> >.

\_\_\_\_\_. The distributional nexus of choroid plexus to cerebrospinal fluid, ependyma and brain: toxicologic/pathologic phenomena, periventricular destabilization, and lesion spread. **Toxicol Pathol**, v. 39, n. 1, p. 186-212, Jan 2011. ISSN 1533-1601. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21189316> >.

KAPLAN, G. B.; VASTERLING, J. J.; VEDAK, P. C. Brain-derived neurotrophic factor in traumatic brain injury, post-traumatic stress disorder, and their comorbid conditions: role in pathogenesis and treatment. **Behav Pharmacol**, v. 21, n. 5-6, p. 427-37, Sep 2010. < <http://dx.doi.org/10.1097/FBP.0b013e32833d8bc9> >.

KIM, B. T. et al. Protective effects of glial cell line-derived neurotrophic factor on hippocampal neurons after traumatic brain injury in rats. **J Neurosurg**, v. 95, n. 4, p. 674-9, Oct 2001. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11596962> >.

KODA, M. et al. Adenovirus vector-mediated in vivo gene transfer of brain-derived neurotrophic. **J Neurotrauma**, v. 21, n. 3, p. 329-37, Mar 2004. ISSN 0897-7151 (Print)0897-7151. < <http://dx.doi.org/10.1089/089771504322972112> >.

KOZLOWSKI, G. P. Hormone pathways in cerebrospinal fluid. **Neurol Clin**, v. 4, n. 4, p. 907-17, Nov 1986. ISSN 0733-8619 (Print)0733-8619. < <http://dx.doi.org/> >.

LANGLOIS, J. A.; RUTLAND-BROWN, W.; WALD, M. M. The epidemiology and impact of traumatic brain injury: a brief overview. **J Head Trauma Rehabil**, v. 21, n. 5, p. 375-8, 2006 Sep-Oct 2006. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16983222> >.

LEE, H. J. et al. Human neural stem cells genetically modified to overexpress brain-derived neurotrophic factor promote functional recovery and neuroprotection in a mouse stroke model. **J Neurosci Res**, v. 88, n. 15, p. 3282-94, Nov 2010. ISSN 1097-4547. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20818776> >.

MAAS, A. I.; STOCCHETTI, N.; BULLOCK, R. Moderate and severe traumatic brain injury in adults. **Lancet Neurol**, v. 7, n. 8, p. 728-41, Aug 2008. ISSN 1474-4422. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18635021> >.

MCKENNA, M. C. et al. Energy metabolism in cortical synaptic terminals from weanling and mature rat brain: evidence for multiple compartments of tricarboxylic acid cycle activity. **Dev Neurosci**, v. 16, n. 5-6, p. 291-300, 1994. ISSN 0378-5866. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7768208> >.

MIYAZAKI, H. et al. Expression of glial cell line-derived neurotrophic factor induced by transient forebrain ischemia in rats. **Brain Res**, v. 922, n. 2, p. 165-72, Dec 20 2001. < <http://dx.doi.org/> >.

MORGENTHALER, F. D. et al. Glucose and lactate are equally effective in energizing activity-dependent synaptic vesicle turnover in purified cortical neurons. **Neuroscience**, v. 141, n. 1, p. 157-65, Aug 2006. ISSN 0306-4522. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16713114> >.

PELLERIN, L. Lactate as a pivotal element in neuron-glia metabolic cooperation. **Neurochem Int**, v. 43, n. 4-5, p. 331-8, 2003 Sep-Oct 2003. ISSN 0197-0186. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12742077> >.

PELLERIN, L. et al. Activity-dependent regulation of energy metabolism by astrocytes: an update. **Glia**, v. 55, n. 12, p. 1251-62, Sep 2007. ISSN 0894-1491. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17659524> >.

PELLERIN, L.; MAGISTRETTI, P. J. Glutamate uptake into astrocytes stimulates aerobic glycolysis: a mechanism coupling neuronal activity to glucose utilization. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 91, n. 22, p. 10625-9, Oct 1994. ISSN 0027-8424. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7938003> >.

\_\_\_\_\_. Sweet sixteen for ANLS. **J Cereb Blood Flow Metab**, v. 32, n. 7, p. 1152-66, Jul 2012. < <http://dx.doi.org/10.1038/jcbfm.2011.149> >.

PIERRE, K.; PELLERIN, L. Monocarboxylate transporters in the central nervous system: distribution, regulation and function. **J Neurochem**, v. 94, n. 1, p. 1-14, Jul 2005. < <http://dx.doi.org/10.1111/j.1471-4159.2005.03168.x> >.

ROBINET, C.; PELLERIN, L. Brain-derived neurotrophic factor enhances the expression of the monocarboxylate transporter 2 through translational activation in mouse cultured cortical neurons. **J Cereb Blood Flow Metab**, v. 30, n. 2, p. 286-98, Feb 2010. ISSN 1559-7016. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19794395> >.

ROUACH, N. et al. Astroglial metabolic networks sustain hippocampal synaptic transmission. **Science**, v. 322, n. 5907, p. 1551-5, Dec 2008. ISSN 1095-9203. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19056987> >.

SANDBERG NORDQVIST, A. C. et al. Increase of insulin-like growth factor (IGF)-1, IGF binding protein-2 and -4 mRNAs following cerebral contusion. **Brain Res Mol Brain Res**, v. 38, n. 2, p. 285-93, Jun 1996. ISSN 0169-328X. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8793117> >.

SCHURR, A. et al. Brain lactate is an obligatory aerobic energy substrate for functional recovery after hypoxia: further in vitro validation. **J Neurochem**, v. 69, n. 1, p. 423-6, Jul 1997. < <http://dx.doi.org/> >.

\_\_\_\_\_. Blockade of lactate transport exacerbates delayed neuronal damage in a rat model of cerebral ischemia. **Brain Res**, v. 895, n. 1-2, p. 268-72, Mar 23 2001. ISSN 0006-8993 (Print)0006-8993. < <http://dx.doi.org/> >.

SCHURR, A.; WEST, C. A.; RIGOR, B. M. Lactate-supported synaptic function in the rat hippocampal slice preparation. **Science**, v. 240, n. 4857, p. 1326-8, Jun 1988. ISSN 0036-8075. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3375817> >.

SCOTT, D. E. et al. The ventricular system in neuroendocrine mechanisms. III. Supraependymal neuronal networks in the primate brain. **Cell Tissue Res**, v. 179, n. 2, p. 235-54, Apr 1977. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/404043> >.



SERRES, S. et al. Ex vivo NMR study of lactate metabolism in rat brain under various depressed states. **J Neurosci Res**, v. 79, n. 1-2, p. 19-25, 2005 Jan 1-15 2005. ISSN 0360-4012. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15558748> >.

SHARMA, H. S.; JOHANSON, C. E. Intracerebroventricularly administered neurotrophins attenuate blood cerebrospinal fluid barrier breakdown and brain pathology following whole-body hyperthermia: an experimental study in the rat using biochemical and morphological approaches. **Ann N Y Acad Sci**, v. 1122, p. 112-29, Dec 2007. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18077568> >.

SIMPSON, I. A.; CARRUTHERS, A.; VANNUCCI, S. J. Supply and demand in cerebral energy metabolism: the role of nutrient transporters. **J Cereb Blood Flow Metab**, v. 27, n. 11, p. 1766-91, Nov 2007. ISSN 0271-678X (Print)0271-678x. < <http://dx.doi.org/10.1038/sj.jcbfm.9600521> >.

SINSON, G. et al. Improvement of cognitive deficits and decreased cholinergic neuronal cell loss and apoptotic cell death following neurotrophin infusion after experimental traumatic brain injury. **J Neurosurg**, v. 86, n. 3, p. 511-8, Mar 1997. ISSN 0022-3085 (Print)0022-3085. < <http://dx.doi.org/10.3171/jns.1997.86.3.0511> >.

SKUP, M. H. BDNF and NT-3 widen the scope of neurotrophin activity: pharmacological implications. **Acta Neurobiol Exp (Wars)**, v. 54, n. 2, p. 81-94, 1994. ISSN 0065-1400. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8053416> >.

TAGLIAFERRI, F. et al. A systematic review of brain injury epidemiology in Europe. **Acta Neurochir (Wien)**, v. 148, n. 3, p. 255-68; discussion 268, Mar 2006. ISSN 0001-6268. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16311842> >.

TEASDALE, G.; JENNETT, B. Assessment of coma and impaired consciousness. A practical scale. **Lancet**, v. 2, n. 7872, p. 81-4, Jul 1974. ISSN 0140-6736. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4136544> >.

THURMAN, D. J. et al. Traumatic brain injury in the United States: A public health perspective. **J Head Trauma Rehabil**, v. 14, n. 6, p. 602-15, Dec 1999. ISSN 0885-9701. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10671706> >.

UNTERBERG, A. W. et al. Edema and brain trauma. **Neuroscience**, v. 129, n. 4, p. 1021-9, 2004. < <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuroscience.2004.06.046> >.

WALTER, H. J. et al. Distinct sites of insulin-like growth factor (IGF)-II expression and localization in lesioned rat brain: possible roles of IGF binding proteins (IGFBPs) in the mediation of IGF-II activity. **Endocrinology**, v. 140, n. 1, p. 520-32, Jan 1999. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9886865> >.

WERNER, C.; ENGELHARD, K. Pathophysiology of traumatic brain injury. **Br J Anaesth**, v. 99, n. 1, p. 4-9, Jul 2007. ISSN 0007-0912. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17573392> >.

WYSS, M. T. et al. In vivo evidence for lactate as a neuronal energy source. **J Neurosci**, v. 31, n. 20, p. 7477-85, May 18 2011. ISSN 0270-6474. < <http://dx.doi.org/10.1523/jneurosci.0415-11.2011> >.

YANG, K. et al. Increased expression of brain-derived neurotrophic factor but not neurotrophin-3 mRNA in rat brain after cortical impact injury. **J Neurosci Res**, v. 44, n. 2, p. 157-64, Apr 15 1996. < [http://dx.doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-4547\(19960415\)44:2<157::AID-JNR8>3.0.CO](http://dx.doi.org/10.1002/(SICI)1097-4547(19960415)44:2<157::AID-JNR8>3.0.CO) >.

## 5.2. ARTIGO TRADUZIDO PARA O INGLÊS

### **Association between CSF levels of lactate, BDNF and GDNF in patients with traumatic brain injury**

Rafael Modkovski, MD (1)

Jean Pierre Oses, PhD (3)

Marco Antônio Stefani, MD, PhD (1,2)

Diogo Onofre de Souza, PhD (3)

Luis Valmor Portela, PhD (3)

1. Programa de Pós-Graduação em Medicina – Ciências Cirúrgicas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil.
2. Professor do Departamento de Anatomia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil.
3. Departamento de Bioquímica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil.

Corresponding author:

Rafael Modkovski

INEURO – Neurologia e Neurocirurgia

Rua Dr. Luis Bastos do Prado, nº 1586/B, 5º andar.

Telefone: +55 51 3484 1745

E-mail: [rmodkovski@gmail.com](mailto:rmodkovski@gmail.com)

## ABSTRACT

**Background:** Better understanding of the pathophysiological changes in severe traumatic brain injury (TBI) patients is necessary to pursue novel treatments. Recent discoveries in neuroenergetics provided new perspectives of neuroprotective mechanisms.

**Objective:** To analyze cerebrospinal fluid (CSF) levels of lactate, BDNF and GDNF and their correlations in patients with severe TBI.

**Methods:** Twenty patients with acute severe TBI were studied. CSF was sampled by ventricular catheter placed in the first 6 hours of hospitalization.

**Results:** Severe TBI patients presented a statistical significant increase in lactate and BDNF CSF levels (Lactate:  $4.93 \pm 3.41$  mmol/L vs.  $1.48 \pm 0.55$  mmol/L ( $p < 0.0001$ ); BDNF:  $265.12 \pm 91.79$  pg/mL vs.  $190.09 \pm 21.25$  pg/mL ( $p < 0.0001$ )). The mean value of GDNF CSF levels did not show significant difference compared to controls ( $376.8 \pm 110.89$  pg/mL vs.  $344.87 \pm 36.36$  pg/mL;  $p = 0.23$ ). The association between lactate and BDNF levels was shown ( $r = 0.46$ ,  $p = 0.05$ ).

**Discussion:** These findings suggest the existence of a CNS response to the traumatic event by means of BDNF modulation resulting in acute delivery of energy substrates to meet the increased neuronal energy demands. These data also support an important role of the CSF in substrate and neuropeptide transportation.

**Key words:** traumatic brain injury, lactate, cerebrospinal fluid, neurotrophic factor, BDNF, GDNF.

## INTRODUCTION

Traumatic head injury (TBI) represents one of the major causes of mortality and morbidity worldwide. The United States alone register 1.4 million cases annually, resulting in approximately 50,000 deaths per year (Langlois, Rutland-Brown e Wald, 2006). The incidence rate found in Europe is approximately 243 cases for every 100,000 inhabitants per year (Tagliaferri *et al.*, 2006). The resulting morbidity is an important social problem – it is estimated that a total of 2% of the U.S. population suffers from some health impairment secondary to TBI, representing an annual expense of approximately 60 billion dollars in direct and indirect costs (Thurman *et al.*, 1999). Severe TBI, which encompasses all of those patients with an initial Glasgow Coma Score (GCS) between 3 and 8, contributes to half of all trauma-related deaths (Teasdale e Jennett, 1974; Ghajar, 2000).

Severe TBI particularly represents a major challenge in neurological intensive care management. These patients are found in a comatose state as a direct result of the traumatic injury or secondary to sedative drugs utilization. Therefore there is a great difficulty in monitoring their clinical status. The compilation of evidence-based TBI management guidelines had its landmark in 1995 with the publication of the first Brain Trauma Foundation guidelines (Bullock *et al.*, 1996). Recently, great attention has been directed to studies of possible biochemical markers of TBI (Hergenroeder *et al.*, 2008). Valuable contributions in the understanding of the brain's pathophysiological reaction to the injury have been published (Werner e Engelhard, 2007). However, study groups are constantly pursuing more effective treatments and

management strategies (Ghajar, 2000; Carney *et al.*, 2007). Thus, it is imperative to develop further research in the pathological basis of TBI.

TBI damage is characterized as primary or secondary. The primary lesion is caused by the direct action of the forces involved at the moment of impact causing tissue deformation, resulting in contusions, hemorrhages or diffuse lesions. Secondary brain injury occurs later, due to changes of cerebral blood flow, edema, inflammatory reactions and other biochemical changes (Chesnut, 1995; Unterberg *et al.*, 2004).

A series of reactions take place immediately after the traumatic event, characterized by inflammatory activation of glial cells, impairment of the blood-brain barrier and release of various neuromodulators (Das, Mohapatra e Mohapatra, 2012). Changes in the choroid plexuses (CP) and ependymal wall in the brain interior following TBI have marked effects on CSF homeostasis (Johanson, Stopa, Mcmillan, *et al.*, 2011). Alterations in CSF peptides levels reflect cellular events occurring in both CP and astrocytes, requiring further investigation to characterize more thoroughly the CSF composition of neuropeptides, proteins, and hormones as a function of TBI stage and severity (Johanson, Stopa, Baird, *et al.*, 2011).

BDNF is a neurotrophic factor that acts through Tyrosine-kinase (TrK) receptor activation and modulates the synaptic function and neuronal morphology affecting neuron cells development and function (Allen e Dawbarn, 2006; Bagnato *et al.*, 2012). Several studies with experimental TBI models have shown increased neurotrophin levels in the damaged brain (Yang *et al.*, 1996; Hicks *et al.*, 1998). Researchers keep exploring its therapeutic use in traumatic and non-traumatic neurological lesions (Sinson *et al.*, 1997; Koda *et al.*, 2004; Dwivedi, 2009; Kaplan, Vasterling e Vedak, 2010; Aloe *et al.*, 2012; Allen *et al.*, 2013).

Recent publications represented a breakthrough regarding the understanding of neuronal energy metabolism (Dienel, 2012; Pellerin e Magistretti, 2012). Amongst the multiple actions of astrocytes, neuronal energy substrate modulation and the role of lactate as preferential energy source to neurons in some conditions have been described (Bélanger, Allaman e Magistretti, 2011; Ivanov *et al.*, 2011; Wyss *et al.*, 2011). Furthermore, the expression of lactate transporters (MCT2) is upregulated by the action of BDNF and other trophic factors (Robinet e Pellerin, 2010). Thus regulating the transport of lactate, it promotes a modulation of synaptic vesicles turnover and provide an additional energy source to the maintenance of neuronal activity (Pellerin e Magistretti, 1994).

## **OBJECTIVE**

Considering the role of BDNF in energetic substrate modulation, the objective of this study was to determine the levels of lactate and neurotrophic factors in CSF samples obtained from the ventricular system of severe TBI patients, comparing them with control samples.

## **METHODS**

### ***TBI Subjects***

A cross-sectional study was carried out since 2006 to 2007 with a total of 20 consecutive patients with severe TBI (score of 8 or less in Glasgow Coma Scale) and

abnormal computed tomography (CT) scan on admission to the Emergency Unit of Cristo Redentor Hospital (Porto Alegre, Brazil). In previous work we evaluated the neuronal and glial damage and described the clinical management. Briefly, the TBI patients were young and predominantly male as seen in table 1. They were admitted to emergency mainly because of car accidents and did not have prior reports of neurological diseases. The severity of TBI was based on Glasgow Coma Score on admission and intracranial CT findings. All patients were submitted to ventriculostomy and external ventricular drainage catheter placement intended to monitor and manage intracranial pressure alterations. The ventricular CSF samples were collected between 2 and 4 hours after hospitalization. After collection, the CSF samples were centrifuged at 10,000 x *g* for 10 min at 4°C to obtain cell-free supernatants and were aliquot and frozen at -70°C until analyses. Twenty healthy patients scheduled for elective surgery were selected as controls (Bohmer *et al.*, 2011).

### ***Standard Protocol Approvals and Patient Consent***

The protocol was approved by the Institutional Ethics Committee (project number 0038.0.164.165-05). Informed consent for participating in this study was obtained from patients' family members and directly from healthy individuals, according to the Declaration of Helsinki.



### ***Measurements of CSF BDNF and GDNF levels***

The CSF BDNF and GDNF levels were measured using a commercially available enzyme immunoassay kit (DuoSet ELISA Development, R&D Systems Inc., USA). The amount of BDNF or GDNF was then determined by measuring the absorbance at 450 nm with a SpectraMax M5 (Molecular Devices, USA). All samples and standards were measured in duplicate, and the coefficient of variation was less than 5 %. The CSF BDNF and GDNF levels are expressed as pg/mL.

### ***Measurements of CSF lactate levels***

Lactate levels were assayed in CSF using a lactate oxidase methodology manufactured by Katal Biotecnologica, MG, Brazil. All samples and standard were carried out in duplicate in the same experiment. Calibration factors were determined using a standard of lithium lactate (4.44 mmol/L).

### ***Statistical analysis***

Statistical analysis was performed using GraphPad Prism 5.0 for Windows. Most of the lactate, BDNF and GDNF values were fitted in a standard distribution curve and were therefore subjected to nonparametric analyses. All values are presented as mean  $\pm$  standard deviation (S.D.). For the comparisons between the groups, Student t test was used. Spearman correlation coefficient was used to

analyze the correlation between BDNF, GDNF and lactate levels. P-values  $\leq 0.05$  were considered statistically significant.

## RESULTS

### *Lactate, BDNF and GDNF measurements*

Patients with severe TBI presented CSF levels of lactate and BDNF greater than those found in controls (Lactate:  $4.93 \pm 3.41$  mmol/L vs.  $1.48 \pm 0.55$  mmol/L ( $p < 0.0001$ ); BDNF:  $265.12 \pm 91.79$  pg/mL vs.  $190.09 \pm 21.25$  pg/mL ( $p < 0.0001$ )). The mean values of GDNF did not show significant difference compared to controls ( $376.8 \pm 110.89$  pg/mL vs.  $344.87 \pm 36.36$  pg/mL;  $p = 0.23$ ) (Figure 1). When comparing the different measurements, an association between lactate level with the increasing values of BDNF was shown ( $r = 0.46$ ,  $p = 0.05$ ). The other comparisons did not show any statistical significant findings (Figure 2).

The comparison of these parameters with the intracranial pressure measures and clinical outcome (survival group vs. mortality group) did not show any differences either (Figure 3).

## DISCUSSION

Severe TBI is a challenging clinical condition. Despite of modern treatment guidelines, it continues to impact as a major public health issue (Maas, Stocchetti e

Bullock, 2008). A deeper study of its pathophysiological aspects is needed for the further development of more efficient therapies and management guides. We believe that the metabolic adaptations to neuronal injury are fundamental to cell survival and protection mechanisms.

Lactate recently has received much attention as a cerebral energy substrate (Pellerin e Magistretti, 2012). It plays a role as preferred oxidative substrate to neurons *in vitro* and *in vivo*, being capable of sustaining synaptic vesicles turnover and synaptic transmission (Schurr, West e Rigor, 1988; Mckenna *et al.*, 1994; Serres *et al.*, 2005; Hyder *et al.*, 2006; Morgenthaler *et al.*, 2006; Rouach *et al.*, 2008). It also promotes the preservation of neuronal function in experimental models of excitotoxicity, posthypoxic recovery, cerebral ischemia, and energy deprivation, highlighting the importance of astrocyte-derived lactate for neuronal function and viability (Schurr *et al.*, 1997; Cater, Benham e Sundstrom, 2001; Schurr *et al.*, 2001).

Astrocytes play a crucial role in energy coupling of neuronal activity, as explained by the proposed biochemical model of Astrocyte-Neuron Lactate Shuttle (ANLS) (Pellerin *et al.*, 2007). In summary, after the synaptic release of glutamate, this neurotransmitter is absorbed by the astrocytes, where it stimulates anaerobic glycolysis and glucose uptake through the action of GLUT1, a glucose transporter with specific expression by brain capillary endothelial and glial cells (Simpson, Carruthers e Vannucci, 2007). Lactate produced as the result of glycolysis is released into the extracellular space and then absorbed by neurons via monocarboxilase transport (MCT) (Pierre e Pellerin, 2005). Within the neuron, lactate is used as energy substrate through its conversion into pyruvate by the action of lactate dehydrogenase and subsequent oxidation on mitochondrial cycle (Pellerin, 2003).

Our findings demonstrated a significant elevation of CSF lactate in patients with severe TBI. This effect possibly represents a CNS reaction to the traumatic event, resulting in rapid delivery of an avid energy substrate that helps to supply the increased neuronal energy demands during the pathophysiological conditions that follow. These data also suggest an important role of the CSF in the transportation of these substrates.

Many levels of neuropeptidergic support occur during CNS homeostatic response to TBI (Johanson, Stopa, Baird, *et al.*, 2011). First, there is a compensatory elevation of neurotrophic factors expression by parenchymal and vascular cells in the lesion region. For example, the NGF mRNA in cerebral cortex is increased by approximately five times just one day after cerebral contusion (Dekosky *et al.*, 1994). The transcription of neuropeptides IGF-1 and cholecystokinin also increases about ten-fold in the peri-lesional areas (Sandberg Nordqvist *et al.*, 1996). Secondly, the CP begins the secretion of other peptides that are subsequently distributed through the CSF to the traumatized region (Walter *et al.*, 1999; Chiaretti, Antonelli, Riccardi, *et al.*, 2008). This neuroendocrine function of the CSF involves peptides delivered by convection to modulate neurogenesis and facilitate cell recovery (Scott *et al.*, 1977; Kozlowski, 1986).

Some studies that evaluated the therapeutic use of neuropeptides through CSF demonstrated several favorable results regarding neuroregenerative effects and improved cognition after injury (Johanson, Stopa, Baird, *et al.*, 2011).

GDNF has shown neuronal protection effects in cerebral ischemia models (Lee *et al.*, 2010). In an experimental model of cortical impact, GDNF also presented neuroprotective effects when administered directly in the CSF through osmotic pump (Kim *et al.*, 2001).

The CSF GDNF levels of TBI patients in this study did not show a significant difference in comparison to controls. Although an elevation was expected, this finding could be explained by the timing of sample collection, considering that GDNF release may occur from 3 hours to 24 hours after brain damage (Miyazaki *et al.*, 2001).

BDNF is a neurotrophin vastly expressed in the CNS (Skup, 1994). It acts through specific tyrosine-kinase receptors, modulating neuronal survival and differentiation and synaptic plasticity. Although it has not presented a neurogenic role, it has demonstrated neuroprotective action in experimental models of ischemia and hyperthermia when infused in the CSF (Sharma e Johanson, 2007; Galvão, Garcia-Verdugo e Alvarez-Buylla, 2008).

BDNF also potentiates the release of glutamate in the presynaptic region, and cause its direct release through the mobilization of  $Ca^{++}$ . It is responsible for neuroenergetic adaptations necessary to meet neuronal plasticity requirements (Robinet e Pellerin, 2010). A recent study has shown that BDNF upregulates the expression of the monocarboxylate transporter MCT2 in cultured cortical neurons through a translational mechanism (Robinet e Pellerin, 2010). Such an effect could result in an increase of the local lactate transporter pool and possibly allow potentiated synapses to meet higher energy demands on activation.

Considering that the primary role of MCT2 is to supplement the neurons with glucose-alternative energy substrates, the changes in expression of MCT2 by BDNF modulation can facilitate the metabolism of these alternative substrates. Such a scenario corresponds to that found in the CNS of severe TBI patients. The finding of increased BDNF and lactate levels and the verified correlation between them support this hypothesis.

## CONCLUSION

Our findings suggest that there is a rise in CSF lactate availability in severe TBI patients, possibly directed to supply the increased neuronal energy expenditure. We also verified an acute increase in CSF BDNF, which could be directly involved in this local lactate buffering.

This is the first publication to demonstrate the correlation between increased levels of lactate and BDNF in the CSF of severe TBI patients. We presume that CNS reacts rapidly to a severe injury resulting in an intricate physiological response, which includes the activation of neurotrophic factors and a substantial increase in CSF lactate availability. The discussed neurobiological mechanisms support this reasoning.

However the extrapolation of these findings could be limited considering our relatively small sample of subjects. The impossibility of monitoring the temporal evolution of these markers, due to the scarcity of samples following the first day, also prevents a better understanding of the longitudinal development of neuroendocrine and metabolic responses.

Therefore it would be recommended to perform additional experiments based on these observations in severe TBI, but with a larger group of patients, and additionally perform a temporal analysis of these biochemical markers.

**DISCLOSURE**

This research was funded by resources from FAPERGS, PPSUS, CAPES, CNPQ, IBNET and INCTen. The authors have no conflict of interest.

## REFERENCES

ALLEN, S. J.; DAWBARN, D. Clinical relevance of the neurotrophins and their receptors. **Clin Sci (Lond)**, v. 110, n. 2, p. 175-91, Feb 2006. ISSN 0143-5221 (Print)0143-5221. < <http://dx.doi.org/10.1042/cs20050161> >.

ALLEN, S. J. et al. GDNF, NGF and BDNF as therapeutic options for neurodegeneration. **Pharmacol Ther**, v. 138, n. 2, p. 155-75, May 2013. ISSN 0163-7258. < <http://dx.doi.org/10.1016/j.pharmthera.2013.01.004> >.

ALOE, L. et al. Nerve growth factor: from the early discoveries to the potential clinical use. **J Transl Med**, v. 10, p. 239, 2012. ISSN 1479-5876. < <http://dx.doi.org/10.1186/1479-5876-10-239> >.

BAGNATO, S. et al. Brain-derived neurotrophic factor (Val66Met) polymorphism does not influence recovery from a post-traumatic vegetative state: a blinded retrospective multi-centric study. **J Neurotrauma**, v. 29, n. 11, p. 2050-9, Jul 20 2012. ISSN 0897-7151. < <http://dx.doi.org/10.1089/neu.2011.2184> >.

BOHMER, A. E. et al. Neuron-specific enolase, S100B, and glial fibrillary acidic protein levels as outcome predictors in patients with severe traumatic brain injury. **Neurosurgery**, v. 68, n. 6, p. 1624-30; discussion 1630-1, Jun 2011. ISSN 0148-396x. < <http://dx.doi.org/10.1227/NEU.0b013e318214a81f> >.

BULLOCK, R. et al. Guidelines for the management of severe head injury. Brain Trauma Foundation. **Eur J Emerg Med**, v. 3, n. 2, p. 109-27, Jun 1996. ISSN 0969-9546. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9028756> >.

BÉLANGER, M.; ALLAMAN, I.; MAGISTRETTI, P. J. Brain energy metabolism: focus on astrocyte-neuron metabolic cooperation. **Cell Metab**, v. 14, n. 6, p. 724-38, Dec 2011. ISSN 1932-7420. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22152301> >.

CARNEY, N. A. et al. Guidelines for the management of severe traumatic brain injury. Introduction. **J Neurotrauma**, v. 24 Suppl 1, p. S1-2, 2007. ISSN 0897-7151. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17511535> >.

CATER, H. L.; BENHAM, C. D.; SUNDSTROM, L. E. Neuroprotective role of monocarboxylate transport during glucose deprivation in slice cultures of rat hippocampus. **J Physiol**, v. 531, n. Pt 2, p. 459-66, Mar 1 2001. ISSN 0022-3751 (Print)0022-3751. < <http://dx.doi.org/> >.

CHESNUT, R. M. Secondary brain insults after head injury: clinical perspectives. **New Horiz**, v. 3, n. 3, p. 366-75, Aug 1995. ISSN 1063-7389 (Print)1063-7389. < <http://dx.doi.org/> >.



CHIARETTI, A. et al. Nerve growth factor expression correlates with severity and outcome of traumatic brain injury in children. **Eur J Paediatr Neurol**, v. 12, n. 3, p. 195-204, May 2008. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17881264> >.

DAS, M.; MOHAPATRA, S.; MOHAPATRA, S. S. New perspectives on central and peripheral immune responses to acute traumatic brain injury. **J Neuroinflammation**, v. 9, p. 236, 2012. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23061919> >.

DEKOSKY, S. T. et al. Upregulation of nerve growth factor following cortical trauma. **Exp Neurol**, v. 130, n. 2, p. 173-7, Dec 1994. ISSN 0014-4886. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7867748> >.

DIENEL, G. A. Brain lactate metabolism: the discoveries and the controversies. **J Cereb Blood Flow Metab**, v. 32, n. 7, p. 1107-38, Jul 2012. ISSN 1559-7016. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22186669> >.

DWIVEDI, Y. Brain-derived neurotrophic factor: role in depression and suicide. **Neuropsychiatr Dis Treat**, v. 5, p. 433-49, 2009. ISSN 1176-6328 (Print)1176-6328. < <http://dx.doi.org/> >.

GALVÃO, R. P.; GARCIA-VERDUGO, J. M.; ALVAREZ-BUYLLA, A. Brain-derived neurotrophic factor signaling does not stimulate subventricular zone neurogenesis in adult mice and rats. **J Neurosci**, v. 28, n. 50, p. 13368-83, Dec 2008. ISSN 1529-2401. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19074010> >.

GHAJAR, J. Traumatic brain injury. **Lancet**, v. 356, n. 9233, p. 923-9, Sep 2000. ISSN 0140-6736. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11036909> >.

HERGENROEDER, G. et al. Identification of serum biomarkers in brain-injured adults: potential for predicting elevated intracranial pressure. **J Neurotrauma**, v. 25, n. 2, p. 79-93, Feb 2008. ISSN 0897-7151 (Print)0897-7151. < <http://dx.doi.org/10.1089/neu.2007.0386> >.

HICKS, R. R. et al. Expression of trkB mRNA is altered in rat hippocampus after experimental brain trauma. **Brain Res Mol Brain Res**, v. 59, n. 2, p. 264-8, Aug 31 1998. ISSN 0169-328X (Print)0169-328x. < <http://dx.doi.org/> >.

HYDER, F. et al. Neuronal-glia glucose oxidation and glutamatergic-GABAergic function. **J Cereb Blood Flow Metab**, v. 26, n. 7, p. 865-77, Jul 2006. ISSN 0271-678X. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16407855> >.

IVANOV, A. et al. Lactate Effectively Covers Energy Demands during Neuronal Network Activity in Neonatal Hippocampal Slices. **Front Neuroenergetics**, v. 3, p. 2, 2011. ISSN 1662-6427. < <http://dx.doi.org/10.3389/fnene.2011.00002> >.

JOHANSON, C. et al. Traumatic brain injury and recovery mechanisms: peptide modulation of periventricular neurogenic regions by the choroid plexus-CSF nexus. **J Neural Transm**, v. 118, n. 1, p. 115-33, Jan 2011. ISSN 1435-1463. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20936524> >.

\_\_\_\_\_. The distributional nexus of choroid plexus to cerebrospinal fluid, ependyma and brain: toxicologic/pathologic phenomena, periventricular destabilization, and lesion spread. **Toxicol Pathol**, v. 39, n. 1, p. 186-212, Jan 2011. ISSN 1533-1601. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21189316> >.

KAPLAN, G. B.; VASTERLING, J. J.; VEDAK, P. C. Brain-derived neurotrophic factor in traumatic brain injury, post-traumatic stress disorder, and their comorbid conditions: role in pathogenesis and treatment. **Behav Pharmacol**, v. 21, n. 5-6, p. 427-37, Sep 2010. < <http://dx.doi.org/10.1097/FBP.0b013e32833d8bc9> >.

KIM, B. T. et al. Protective effects of glial cell line-derived neurotrophic factor on hippocampal neurons after traumatic brain injury in rats. **J Neurosurg**, v. 95, n. 4, p. 674-9, Oct 2001. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11596962> >.

KODA, M. et al. Adenovirus vector-mediated in vivo gene transfer of brain-derived neurotrophic. **J Neurotrauma**, v. 21, n. 3, p. 329-37, Mar 2004. ISSN 0897-7151 (Print)0897-7151. < <http://dx.doi.org/10.1089/089771504322972112> >.

KOZLOWSKI, G. P. Hormone pathways in cerebrospinal fluid. **Neurol Clin**, v. 4, n. 4, p. 907-17, Nov 1986. ISSN 0733-8619 (Print)0733-8619. < <http://dx.doi.org/> >.

LANGLOIS, J. A.; RUTLAND-BROWN, W.; WALD, M. M. The epidemiology and impact of traumatic brain injury: a brief overview. **J Head Trauma Rehabil**, v. 21, n. 5, p. 375-8, 2006 Sep-Oct 2006. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16983222> >.

LEE, H. J. et al. Human neural stem cells genetically modified to overexpress brain-derived neurotrophic factor promote functional recovery and neuroprotection in a mouse stroke model. **J Neurosci Res**, v. 88, n. 15, p. 3282-94, Nov 2010. ISSN 1097-4547. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20818776> >.

MAAS, A. I.; STOCCHETTI, N.; BULLOCK, R. Moderate and severe traumatic brain injury in adults. **Lancet Neurol**, v. 7, n. 8, p. 728-41, Aug 2008. ISSN 1474-4422. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18635021> >.

MCKENNA, M. C. et al. Energy metabolism in cortical synaptic terminals from weanling and mature rat brain: evidence for multiple compartments of tricarboxylic acid cycle activity. **Dev Neurosci**, v. 16, n. 5-6, p. 291-300, 1994. ISSN 0378-5866. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7768208> >.

MIYAZAKI, H. et al. Expression of glial cell line-derived neurotrophic factor induced by transient forebrain ischemia in rats. **Brain Res**, v. 922, n. 2, p. 165-72, Dec 20 2001. < <http://dx.doi.org/> >.

MORGENTHALER, F. D. et al. Glucose and lactate are equally effective in energizing activity-dependent synaptic vesicle turnover in purified cortical neurons. **Neuroscience**, v. 141, n. 1, p. 157-65, Aug 2006. ISSN 0306-4522. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16713114> >.

PELLERIN, L. Lactate as a pivotal element in neuron-glia metabolic cooperation. **Neurochem Int**, v. 43, n. 4-5, p. 331-8, 2003 Sep-Oct 2003. ISSN 0197-0186. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12742077> >.

PELLERIN, L. et al. Activity-dependent regulation of energy metabolism by astrocytes: an update. **Glia**, v. 55, n. 12, p. 1251-62, Sep 2007. ISSN 0894-1491. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17659524> >.

PELLERIN, L.; MAGISTRETTI, P. J. Glutamate uptake into astrocytes stimulates aerobic glycolysis: a mechanism coupling neuronal activity to glucose utilization. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 91, n. 22, p. 10625-9, Oct 1994. ISSN 0027-8424. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7938003> >.

\_\_\_\_\_. Sweet sixteen for ANLS. **J Cereb Blood Flow Metab**, v. 32, n. 7, p. 1152-66, Jul 2012. < <http://dx.doi.org/10.1038/jcbfm.2011.149> >.

PIERRE, K.; PELLERIN, L. Monocarboxylate transporters in the central nervous system: distribution, regulation and function. **J Neurochem**, v. 94, n. 1, p. 1-14, Jul 2005. < <http://dx.doi.org/10.1111/j.1471-4159.2005.03168.x> >.

ROBINET, C.; PELLERIN, L. Brain-derived neurotrophic factor enhances the expression of the monocarboxylate transporter 2 through translational activation in mouse cultured cortical neurons. **J Cereb Blood Flow Metab**, v. 30, n. 2, p. 286-98, Feb 2010. ISSN 1559-7016. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19794395> >.

ROUACH, N. et al. Astroglial metabolic networks sustain hippocampal synaptic transmission. **Science**, v. 322, n. 5907, p. 1551-5, Dec 2008. ISSN 1095-9203. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19056987> >.

SANDBERG NORDQVIST, A. C. et al. Increase of insulin-like growth factor (IGF)-1, IGF binding protein-2 and -4 mRNAs following cerebral contusion. **Brain Res Mol Brain Res**, v. 38, n. 2, p. 285-93, Jun 1996. ISSN 0169-328X. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8793117> >.

SCHURR, A. et al. Brain lactate is an obligatory aerobic energy substrate for functional recovery after hypoxia: further in vitro validation. **J Neurochem**, v. 69, n. 1, p. 423-6, Jul 1997. < <http://dx.doi.org/> >.

\_\_\_\_\_. Blockade of lactate transport exacerbates delayed neuronal damage in a rat model of cerebral ischemia. **Brain Res**, v. 895, n. 1-2, p. 268-72, Mar 23 2001. ISSN 0006-8993 (Print)0006-8993. < <http://dx.doi.org/> >.

SCHURR, A.; WEST, C. A.; RIGOR, B. M. Lactate-supported synaptic function in the rat hippocampal slice preparation. **Science**, v. 240, n. 4857, p. 1326-8, Jun 1988. ISSN 0036-8075. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3375817> >.

SCOTT, D. E. et al. The ventricular system in neuroendocrine mechanisms. III. Supraependymal neuronal networks in the primate brain. **Cell Tissue Res**, v. 179, n. 2, p. 235-54, Apr 1977. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/404043> >.

SERRES, S. et al. Ex vivo NMR study of lactate metabolism in rat brain under various depressed states. **J Neurosci Res**, v. 79, n. 1-2, p. 19-25, 2005 Jan 1-15 2005. ISSN 0360-4012. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15558748> >.

SHARMA, H. S.; JOHANSON, C. E. Intracerebroventricularly administered neurotrophins attenuate blood cerebrospinal fluid barrier breakdown and brain pathology following whole-body hyperthermia: an experimental study in the rat using biochemical and morphological approaches. **Ann N Y Acad Sci**, v. 1122, p. 112-29, Dec 2007. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18077568> >.

SIMPSON, I. A.; CARRUTHERS, A.; VANNUCCI, S. J. Supply and demand in cerebral energy metabolism: the role of nutrient transporters. **J Cereb Blood Flow Metab**, v. 27, n. 11, p. 1766-91, Nov 2007. ISSN 0271-678X (Print)0271-678x. < <http://dx.doi.org/10.1038/sj.jcbfm.9600521> >.

SINSON, G. et al. Improvement of cognitive deficits and decreased cholinergic neuronal cell loss and apoptotic cell death following neurotrophin infusion after experimental traumatic brain injury. **J Neurosurg**, v. 86, n. 3, p. 511-8, Mar 1997. ISSN 0022-3085 (Print)0022-3085. < <http://dx.doi.org/10.3171/jns.1997.86.3.0511> >.

SKUP, M. H. BDNF and NT-3 widen the scope of neurotrophin activity: pharmacological implications. **Acta Neurobiol Exp (Wars)**, v. 54, n. 2, p. 81-94, 1994. ISSN 0065-1400. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8053416> >.

TAGLIAFERRI, F. et al. A systematic review of brain injury epidemiology in Europe. **Acta Neurochir (Wien)**, v. 148, n. 3, p. 255-68; discussion 268, Mar 2006. ISSN 0001-6268. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16311842> >.

TEASDALE, G.; JENNETT, B. Assessment of coma and impaired consciousness. A practical scale. **Lancet**, v. 2, n. 7872, p. 81-4, Jul 1974. ISSN 0140-6736. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4136544> >.

THURMAN, D. J. et al. Traumatic brain injury in the United States: A public health perspective. **J Head Trauma Rehabil**, v. 14, n. 6, p. 602-15, Dec 1999. ISSN 0885-9701. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10671706> >.

UNTERBERG, A. W. et al. Edema and brain trauma. **Neuroscience**, v. 129, n. 4, p. 1021-9, 2004. < <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuroscience.2004.06.046> >.

WALTER, H. J. et al. Distinct sites of insulin-like growth factor (IGF)-II expression and localization in lesioned rat brain: possible roles of IGF binding proteins (IGFBPs) in the mediation of IGF-II activity. **Endocrinology**, v. 140, n. 1, p. 520-32, Jan 1999. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9886865> >.

WERNER, C.; ENGELHARD, K. Pathophysiology of traumatic brain injury. **Br J Anaesth**, v. 99, n. 1, p. 4-9, Jul 2007. ISSN 0007-0912. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17573392> >.

WYSS, M. T. et al. In vivo evidence for lactate as a neuronal energy source. **J Neurosci**, v. 31, n. 20, p. 7477-85, May 18 2011. ISSN 0270-6474. < <http://dx.doi.org/10.1523/jneurosci.0415-11.2011> >.

YANG, K. et al. Increased expression of brain-derived neurotrophic factor but not neurotrophin-3 mRNA in rat brain after cortical impact injury. **J Neurosci Res**, v. 44, n. 2, p. 157-64, Apr 15 1996. < [http://dx.doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-4547\(19960415\)44:2<157::AID-JNR8>3.0.CO](http://dx.doi.org/10.1002/(SICI)1097-4547(19960415)44:2<157::AID-JNR8>3.0.CO) >.

## 6. ANEXOS

### 6.1 ANEXOS DO ARTIGO EM PORTUGUÊS

#### 6.1.1. Tabela 1

<b>Tabela 1. Características Clínicas dos Pacientes com TCE</b>	
<b>Idade (anos)<sup>a</sup></b>	29 ± 13
<b>Sexo (homens/mulheres)</b>	9:1
<b>ECG<sup>a,b</sup></b>	6 ± 1
<b>PIC (mmHg)<sup>a,c</sup></b>	20 ± 23

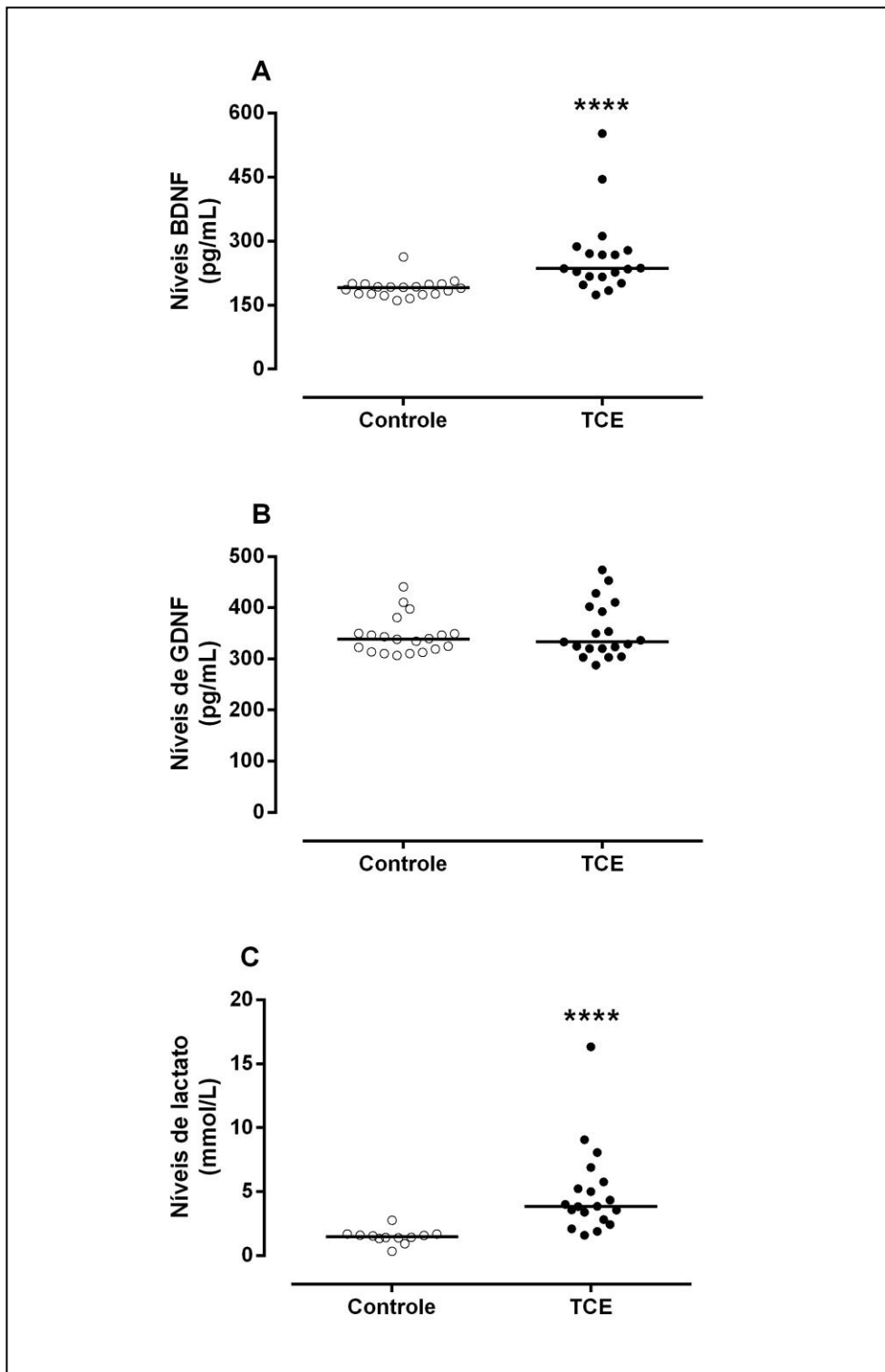
<sup>a</sup> Valores expressos como média ± desvio padrão.

<sup>b</sup> Escore de Coma de Glasgow na admissão.

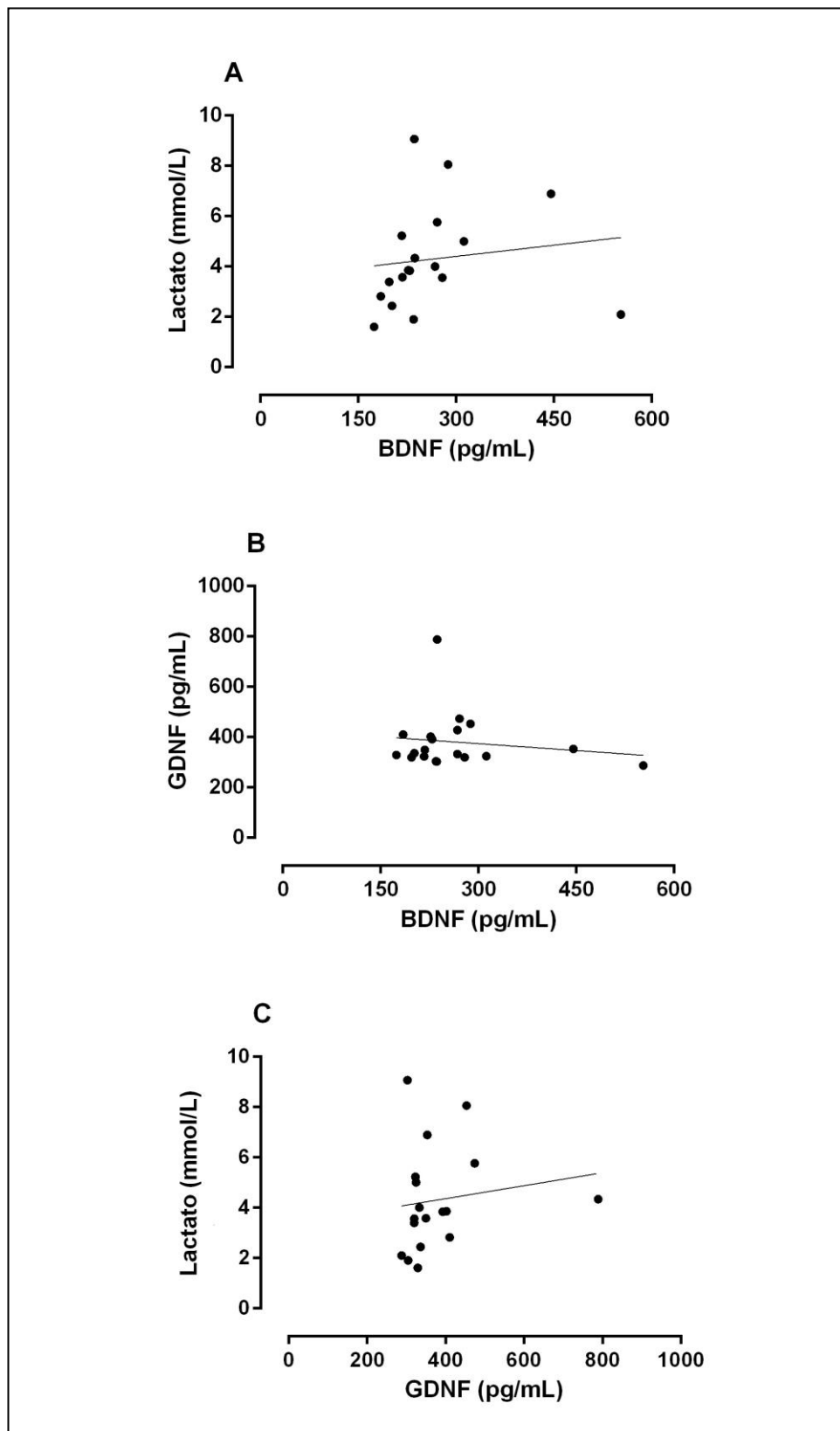
<sup>c</sup> Pressão Intracraniana inicial.

## 6.1.2. Figuras do artigo em português

## 6.1.2.1. Figura 1

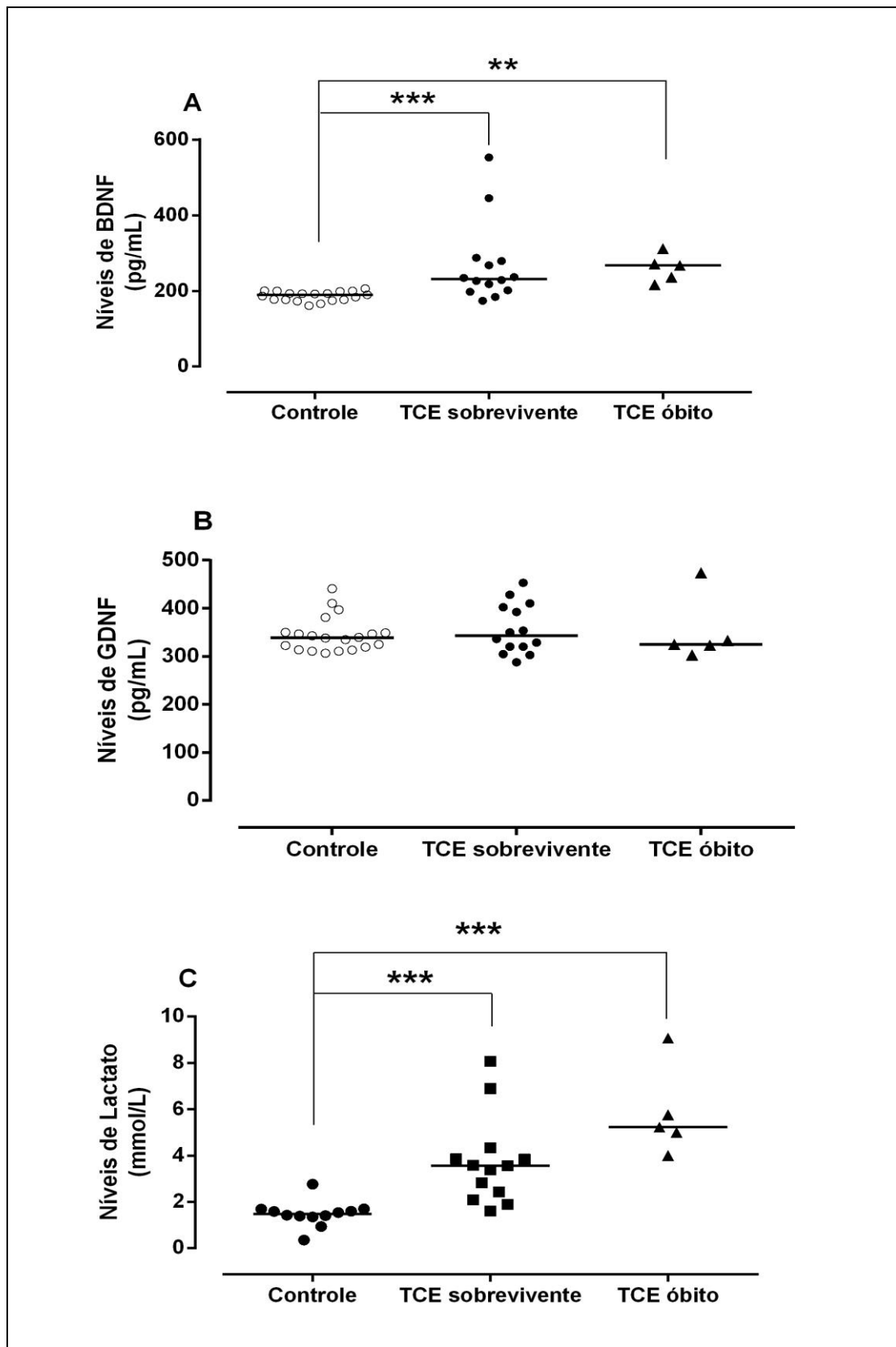


6.1.2.2. Figura 2





6.1.2.3. Figura 3



### 6.1.3. Legendas do artigo em português

6.1.3.1. **Figura 1:** Níveis de BDNF (A), GDNF (B) e lactato (C) no líquido de pacientes com trauma cranioencefálico (TCE) e controles (sujeitos submetidos a cirurgia eletiva). \*\*\*\*  $p \leq 0,0001$ .

6.1.3.2. **Figura 2:** Correlação entre os níveis de BDNF, GDNF e lactato em pacientes com trauma cranioencefálico (TCE). (A) correlação entre BDNF e lactato,  $r = 0.46$ ,  $p = 0.05$ . (B) correlação entre BDNF e GDNF,  $r = 0.006$ ,  $p = 0.98$ . (C) Correlação entre GDNF e lactato,  $r = 0.32$ ,  $p = 0.19$ .

6.1.3.3. **Figura 3:** Níveis de BDNF (A), GDNF (B) e lactato (C) no líquido de pacientes com TCE sobreviventes, TCE óbitos e controles (sujeitos submetidos à cirurgia eletiva). \*\*  $p \leq 0,01$ , \*\*\*  $p \leq 0,001$ .

## 6.2 ANEXOS DO ARTIGO EM INGLÊS

### 6.2.1. Table 1

**Table 1. Clinical Characteristics of TBI Patients**

<b>Age (years)</b>	29 ± 13
<b>Sex (male/female ratio)</b>	9:1
<b>GCS</b>	6 ± 1
<b>ICP (mmHg)</b>	20 ± 23

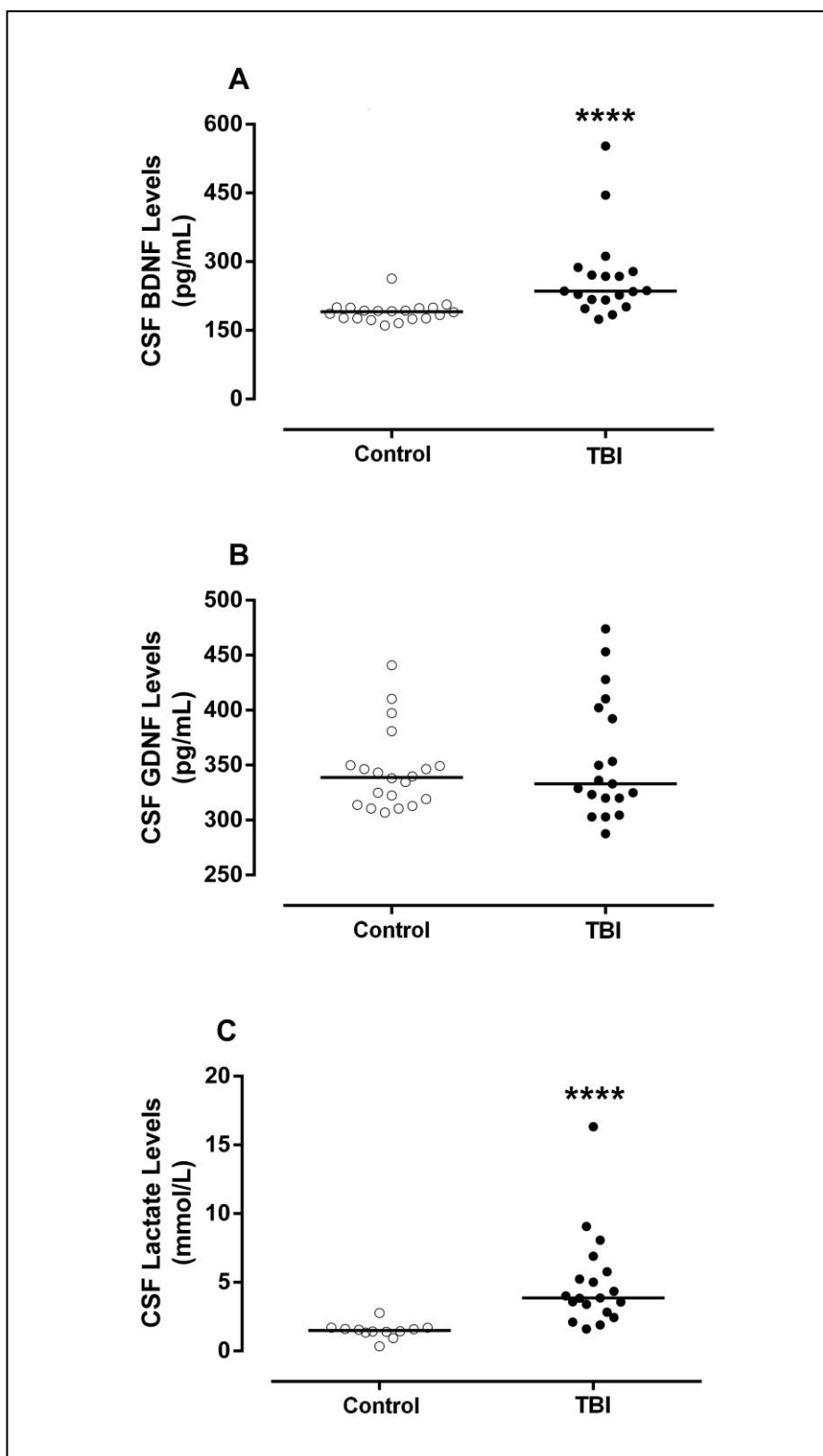
<sup>a</sup> Values are expressed as mean ± standard deviation.

<sup>b</sup> Glasgow Coma Scale on admission.

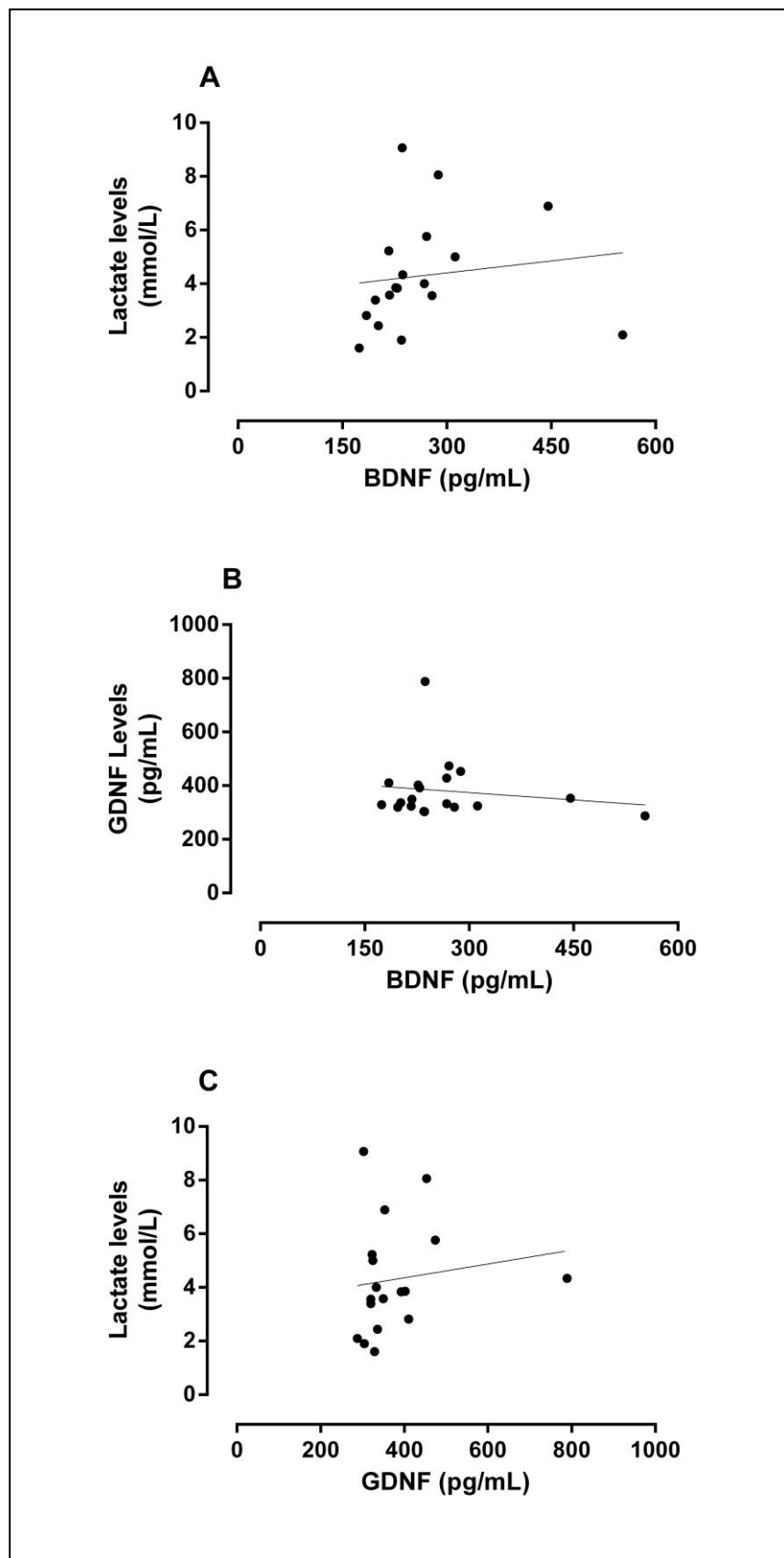
<sup>c</sup> Initial Intracranial Pressure.

## 6.2.2. Figuras do artigo em inglês

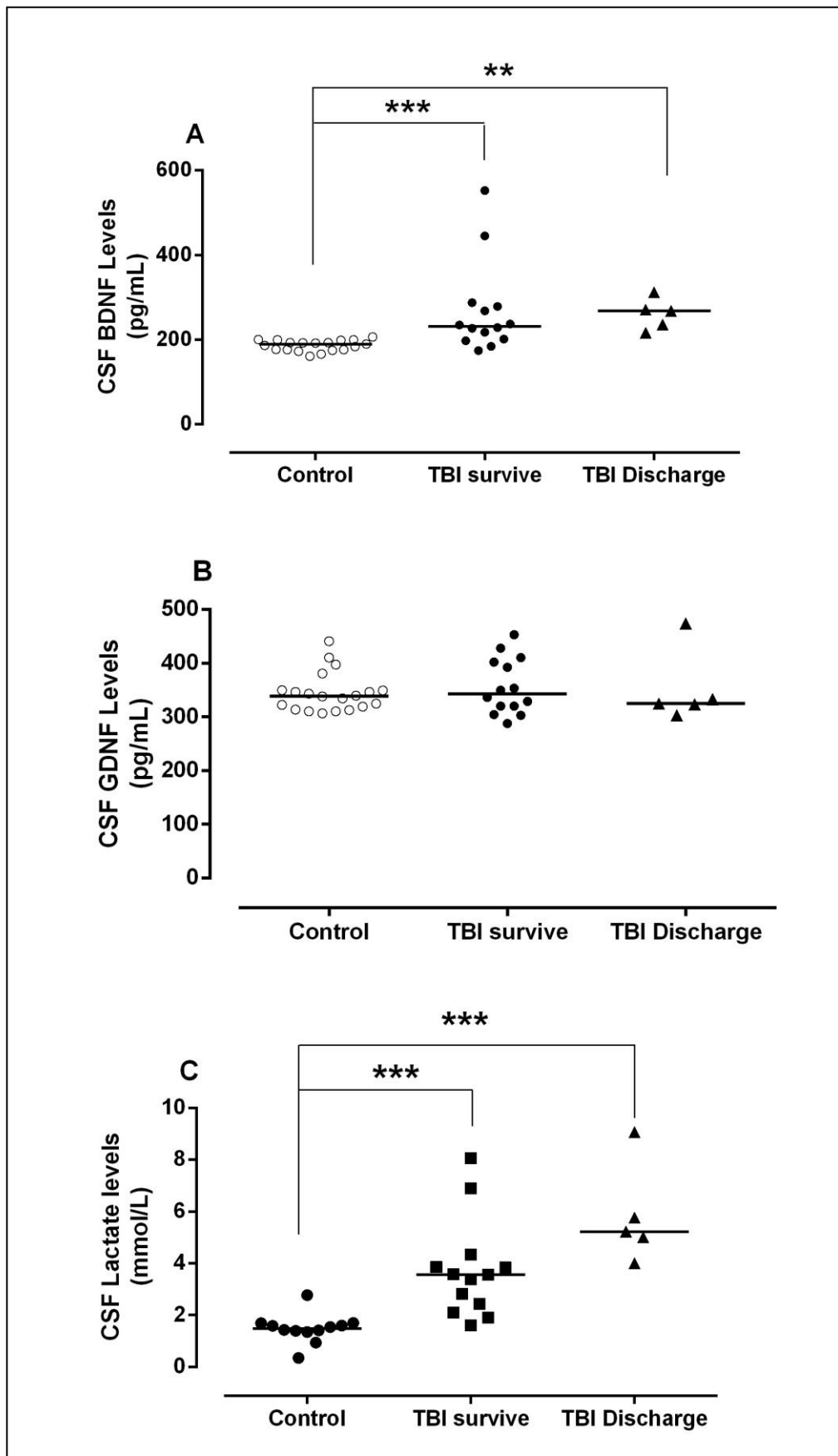
## 6.2.2.1. Figure 1



6.2.2.2. Figure 2



6.2.2.3. Figure 3



### 6.2.3. Legendas do artigo em inglês

6.2.3.1. **Figure 1:** CSF levels of BDNF (A), GDNF (B) and lactate (C) of patients with brain trauma (TBI) and controls (subjects undergoing elective surgery). \*\*\*\*  $p \leq 0.0001$ .

6.2.3.2. **Figure 2:** correlation between levels of BDNF, GDNF and lactate in patients with brain trauma (TBI). (A) Correlation between BDNF and lactate,  $r = 0.46$ ,  $p = 0.05$ . (B) Correlation between BDNF and GDNF,  $r = 0.006$ ,  $p = 0.98$ . (C) Correlation between lactate and GDNF,  $r = 0.32$ ,  $p = 0.19$ .

6.2.3.3. **Figure 3:** CSF levels of BDNF (A), GDNF (B) and lactate (C) of patients with TBI survivors, TBI deaths and controls (subjects undergoing elective surgery). \*\*  $p \leq 0.01$ , \*\*\*  $p \leq 0.001$ .