



**EFEITO DOS PSICOESTIMULANTES NA NEUROGÉNESE
DO CÉREBRO ADULTO**

Autora: Joana Bárbara Cascais da Costa

Afiliação: Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra

Endereço: Rua do Crasto, nº 945, S. Martinho da Gândara

3720-536, Oliveira de Azeméis

Trabalho final do 6º Ano Médico com vista à atribuição do grau de Mestre no âmbito do ciclo de estudos do Mestrado Integrado em Medicina realizado sobre a orientação científica da Doutora Ana Paula da Silva Martins (Universidade de Coimbra).

AGRADECIMENTOS:

À Doutora Ana Paula Silva Martins gostava de agradecer a possibilidade de realização deste artigo de revisão e toda a sua disponibilidade para colaborar comigo.

Aos meus pais por serem duas peças fundamentais na minha formação pessoal e por terem estado sempre ao meu lado, incondicionalmente, em todos os momentos.

À minha irmã agradeço a paciência infinita e todo o colo que sempre me deu e dá, sempre atenta e cuidadosa, uma inspiração.

À Sofia Baptista, pela paciência em me esclarecer todas as dúvidas, por me tranquilizar e por estar sempre disponível para uma ajuda franca.

À Ana Rita Bento, que me acompanhou de perto nas primeiras descobertas sobre este tema e que sempre me incentivou.

A todos os professores que me acompanharam nestes anos de formação médica.

Às amigas que sempre ouviram os desabafos e preocupações e que sempre tiveram uma palavra amiga e um sorriso de incentivo e ânimo.

ÍNDICE:

Agradecimentos	4
Abstract	6
Resumo	8
INTRODUÇÃO	
Sistema Nervoso Central	10
Neurogênese	11
Drogas de Abuso e Cérebro	12
REVISÃO	
1. A Neurogênese no Cérebro Adulto	15
2. Nichos Neurogênicos	19
3. Psicoestimulantes e Neurogênese	23
3.1 Cocaína	26
3.2 Metanfetamina	28
3.3 Metilendioximetanfetamina	31
3.4 Metilfenidato	33
3.5 Fenciclidina	34
3.6 Cafeína	34
4. Processo de Viciação	36
5. Aplicações dos conhecimentos sobre neurogênese à prática clínica	38
6. Referências/Bibliografia	43

ABSTRACT:

The adult brain is well coordinated and endowed with plasticity. Thus, it has the capacity to adapt to morphological and physiological changes, as well as those related with environment, which can affect several nerve cells changing their structure and function. Neurogenesis is, indeed, a phenomenon responsible for brain adaptation since it involves the constant production and introduction of new cells in a pre-existing and functional neural network. The neurogenic process is accompanied by synaptogenesis, and both are regulated by neurotransmitters, hormones and growth factors. Indeed, the adult brain neurogenesis occurs mainly in two brain areas: the subgranular zone (SGZ), located in the dentate gyrus of the hippocampus, commonly related with cognitive processes; and the subventricular zone (SVZ) that lies along the lateral ventricles and is responsible for the integration of neurons in the olfactory bulb. However, neurogenesis in the adulthood is an unprofitable process because only half of the newly formed cells that migrate and differentiate will survive for more than one month.

Among several drugs of abuse, the psychostimulants have several effects such as increased motor activity, decreased fatigue, euphoria, as well as sympathomimetic effects. Overall, psychostimulant drugs have a negative impact in neurogenesis as they reduce cell proliferation and integration of new neurons in the pre-existing neural network. This type of drug is also associated with behavioral changes, including schizophrenic-like behavior and cognitive deficits. Although the effect of psychostimulants on neurogenesis depends on several conditions like the dose and frequency of consumption, there are studies showing that even a single acute consumption can impair neurogenesis.

The use of psychostimulants can lead to addiction, which is a brain disease with a high social impact. On the other hand, some of these drugs are prescribed in clinical practice with a positive impact in the pathogenesis of disease and its morbidity. Thus, in both situations, and

knowing that neurogenesis is an ongoing process with a key role in brain function, is crucial to understand how psychostimulants affect the neurogenic process on the adult brain.

Keyword:

Neurogenesis, Psychostimulants, Adult brain, Addiction, Cocaine, Methamphetamine, Methylenedioxymethamphetamine, Methylphenidate, Phencyclidine, Caffeine.

RESUMO:

O cérebro adulto é um sistema bem coordenado e dotado de plasticidade. Deste modo, a sua funcionalidade implica uma adaptação a várias alterações, nomeadamente do meio ambiente, morfológicas e fisiológicas, que podem atingir diversas células nervosas alterando a sua estrutura e função. Mais ainda, um dos fenómenos que pode conferir esta adaptação é a neurogênese, sendo este um processo que envolve a constante produção e introdução de novas células num circuito neuronal pré-existente e funcional. A neurogênese é por sua vez acompanhada pelo processo de sinaptogênese e em ambos existe um apertado controlo efetuado por neurotransmissores, hormonas e fatores de crescimento. De facto, a neurogênese do cérebro adulto ocorre, por excelência, em duas principais áreas: a zona subgranular, situada no giro dentado do hipocampo comumente associada a processos cognitivos; e a zona subventricular que se situa junto aos ventrículos laterais e é responsável pela integração de neurónios no bulbo olfativo. Contudo, a neurogênese na fase adulta é um processo pouco rentável, na medida em que das células recém-formadas que migram e que se diferenciam, apenas cerca de metade consegue sobreviver para períodos de tempo superiores a um mês.

De entre as inúmeras drogas de abuso que existem, os psicoestimulantes têm diversas ações tais como o aumento da atividade motora, diminuição da fadiga, euforia e efeitos simpaticomiméticos. De um modo geral, as drogas psicoestimulantes afetam negativamente a neurogênese já que diminuem a proliferação celular e a integração de novos neurónios nos circuitos nervosos pré-existentes. Este tipo de drogas também está associado a alterações comportamentais, nomeadamente do tipo esquizofrénico e défices cognitivos. Apesar do efeito dos psicoestimulantes ao nível da neurogênese depender de várias condicionantes tais como a dose e frequência de consumo, há evidências de que mesmo um consumo esporádico pode levar a uma diminuição da neurogênese.

O uso de psicoestimulantes pode conduzir à viciação que é uma doença do cérebro com elevado impacto social. Por outro lado, alguns psicoestimulantes são prescritos em condições clínicas específicas com impacto positivo na patogénese de doenças e na sua morbidade. Em ambas as situações, sabendo que a neurogênese é um processo contínuo e com um papel fundamental em várias funções no cérebro, é crucial entender de que forma as drogas de abuso afetam o processo neurogénico do cérebro adulto.

Palavras-Chave:

Neurogênese, Psicoestimulantes, Cérebro adulto, Viciação, Cocaína, Metanfetamina, Metilenodioximetanfetamina, Metilfenidato, Fenciclidina, Cafeína.

INTRODUÇÃO:

Sistema Nervoso Central

O tecido nervoso é um dos quatro tecidos base do organismo, juntamente com o epitelial, conjuntivo e muscular. O tecido nervoso começa a sua formação a partir da ectoderme da placa neural, que se começa a desenvolver a partir da terceira semana de gestação. Pelo vigésimo terceiro dia tem início o processo de neurulação em que as células da neuroectoderme começam a sua diferenciação em neurónios de diferentes tipos. A função destas células vai depender da correta integração nos circuitos nervosos e implica três passos principais: reação a um estímulo, excitação da célula neuronal e condução desse estímulo a órgãos e tecidos eferentes (Bairos *et al.*, 2006).

O tecido nervoso encontra-se distribuído por todo o organismo, formando circuitos de diferentes tamanhos e complexidades, e é constituído por dois tipos de células: neurónios e células da glia (Junqueira *et al.*, 2004). O neurónio é a unidade básica estrutural do Sistema Nervoso, e tem como função receber, integrar e transmitir a informação através de impulsos elétricos ou libertação de neurotransmissores. Mais ainda, as sinapses permitem o contato entre diferentes células e a comunicação especializada entre neurónios (Bairos *et al.*, 2006). Deste modo, os neurónios são células excitáveis e especializadas na receção de estímulos e na condução do impulso nervoso (Snell, 2005), sendo por isso responsáveis pelo processamento e transmissão de informação. Por outro lado, as células da glia têm uma função essencialmente de suporte e estão intimamente associadas às sinapses nervosas, em que algumas respondem e modulam a neurotransmissão. Para além disso, ajudam também à estabilização, manutenção e reconstrução de sinapses (Auld *et al.*, 2003). As células da glia incluem: os astrócitos – reguladores dos níveis de neurotransmissores e de iões extracelulares, e controladores ativos da formação de sinapses, do seu número, função e plasticidade (Barres, 2003); a microglia -

constitui a primeira linha de defesa contra estímulos nocivos no cérebro e deste modo detetam possíveis alterações agressivas na homeostase neuronal, migram para o local de lesão, sofrem alterações drásticas na sua morfologia, adquirem competências fagocíticas e libertam citocinas pró-inflamatórias, no sentido de removerem os restos celulares e restaurarem a homeostasia do microambiente cerebral (Lautner *et al.*, 2011); os oligodendrócitos e células de Schwann – participantes ativos no suporte trófico, estrutura e propriedades elétricas dos axónios. As células de Schwann controlam ainda a regeneração de axónios e o funcionamento de sinapses neuromusculares. As células da glia partilham com os neurónios as funções metabólicas do sistema nervoso e uma pequena proporção funciona como células neuronais multipotentes e reguladoras da migração celular – células radiais da glia (Barres, 2003).

Neurogênese

A neurogênese é definida como a geração de novos neurónios e é um importante modulador da plasticidade neuronal (Lledo *et al.*, 2006). De facto, a neurogênese tanto pode ocorrer precocemente durante o desenvolvimento, que incluem os períodos pré e pós natal precoce, como na idade adulta em duas principais áreas específicas do cérebro: a zona subventricular (ZSV) e a zona subgranular (ZSG). A ZSV situa-se junto aos ventrículos laterais e os neuroblastos migram através da via rostral migratória até ao bulbo olfativo, enquanto a ZSG situa-se na camada mais interna do giro dentado (GD) do hipocampo e as células migram e diferenciam-se de modo a incorporar a camada granular do GD. De facto, a neurogênese no cérebro adulto envolve um conjunto de processos desde as células precursoras até à formação de novos neurónios e sua integração funcional completa. Este processo é uma resposta adaptativa (Lledo *et al.*, 2006) que implica a existência de um microambiente permissivo (Ortega-Perez *et al.*, 2007) com condições particulares para a diferenciação e integração de novos neurónios. As células estaminais/progenitoras são células indiferenciadas com capaci-

dade de auto-renovação e detêm multipotência, podendo diferenciar-se em neurónios, astrócitos e oligodendrócitos (Yoneyama *et al.*, 2011). Outra particularidade destas células é o facto de possuírem ciclos celulares mais longos do que as células do período neonatal, também se encontram quiescentes e a migração de neuroblastos ocorre de forma mais lenta (Lledo *et al.*, 2006).

A neurogênese pode estar sujeita a modulação positiva gerando um aumento da proliferação de células progenitoras e da diferenciação neuronal. De facto, mais especificamente no hipocampo, o exercício físico voluntário e um ambiente enriquecido são fatores que estimulam a proliferação e a sobrevivência das células progenitoras (Brown *et al.*, 2010), estando intimamente relacionados com processos de memória e aprendizagem (Snyder *et al.*, 2005; Bruel-Jungerman *et al.*, 2007). Por outro lado, a modulação negativa, como o stress (Gould *et al.*, 1999), a depressão (Encinas *et al.*, 2006) ou a inflamação (Graciarena *et al.*, 2010) podem comprometer a neurogênese, diminuindo a proliferação, a diferenciação e a sobrevivência das células progenitoras. Mais ainda, quando ocorre uma lesão poderá haver uma perda de função (Snell, 2005) havendo posteriormente uma reorganização dos tecidos celulares com formação de novas sinapses, restabelecendo a atividade funcional (Junqueira *et al.*, 2004). De facto, as novas células migram para os seus locais definitivos e integram funcionalmente nos circuitos pré-existentes (Zhao *et al.*, 2008). A nível celular, a exposição crónica a alguns agressores induzem alterações que vão para além da simples perda de função: o corpo celular dos neurónios diminui, o núcleo e o citoplasma ficam hipercondensados e a membrana nuclear e dos organelos torna-se irregular (Snell, 2005).

Drogas de Abuso e Cérebro

O abuso de drogas tais como o álcool, psicoestimulantes e/ou opiáceos é um grave problema de saúde pública, resultando em graves consequências socioeconómicas. O consu-

mo crónico destas drogas resulta em alterações progressivas da morfologia e funcionamento cerebral e perda de controlo comportamental. A viciação é definida pelo desejo incontrolável de uso de drogas após um consumo que se tornou repetido na procura de um efeito específico, geralmente uma alteração do estado mental, independentemente do mal que causa. Nestas situações ocorre um aumento exponencial da dose ingerida para obtenção do mesmo efeito. O uso repetido de drogas de abuso aumenta a psicopatologia e diminui o controlo comportamental e a flexibilidade cognitiva. Esta exposição permite também a ativação de vias de sinalização celulares que contribuem para a degenerescência neuronal (Crews *et al.*, 2011). Os consumidores crónicos sofrem de lesões fisiológicas, psicose e descompensações cognitivas (Hodges *et al.*, 2011). Se este abuso acontecer na adolescência (período de formação das redes neuronais) o risco de viciação está aumentado (Crews *et al.*, 2011). Mais especificamente, a viciação induz alterações no sistema de recompensa, que inclui as vias mesolímbica e mesocortical. De facto, a via mesolímbica tem um papel principal em mecanismos de viciação, levando a alterações da homeostasia dopaminérgica em duas áreas principais, a área ventral tegmentada e o *nucleus accumbens* (Ikemoto, 2010). O consumo de drogas de abuso pode ter também um impacto negativo na neurogênese. Neste sentido foi demonstrado que consumidores crónicos de certos psicoestimulantes apresentam défices de memória (Thompson *et al.*, 2004; Kalapatapu *et al.*, 2011; Cuyàs *et al.*, 2011), bem como diminuição do volume do hipocampo (Thompson *et al.*, 2004). De uma forma geral, as drogas de abuso psicoestimulantes têm um impacto negativo na neurogênese (Mandyam *et al.*, 2008; Silva *et al.*, 2010; Bento *et al.*, 2011). Relativamente à cocaína, a exposição crónica, diminui a proliferação de células progenitoras da ZSG, não tendo efeito, porém, na sobrevivência ou morte celular (Dominguez-Escribà *et al.*, 2006). Mais ainda, a metanfetamina diminui a proliferação de células progenitoras da ZSG (Tian *et al.*, 2009; Teuchert-Noodt *et al.*, 2000), a diferenciação neuronal, a migração e a sobrevivência das células neuronais do hipocampo (Mandyam *et al.*, 2008) e da

ZSV (Bento *et al.*, 2011). Por outro lado, a administração de 3,4-metillenedioximetamfetamina (MDMA) a ratos induz aumento da proliferação, comprometendo a diferenciação neuronal (Catlow *et al.*, 2010).

De uma forma geral, o uso crónico de drogas de abuso do tipo psicoestimulante altera negativamente a homeostasia funcional do sistema nervoso, contribuindo de certa forma para uma inibição da neurogênese do cérebro adulto. Com esta dissertação pretende-se descrever o efeito de psicoestimulantes na neurogênese do cérebro adulto e as principais consequências.

1. A NEUROGÊNESE NO CÉREBRO ADULTO

A neurogênese no cérebro adulto é a formação e sobrevivência de novas células neuronais, ocorrendo principalmente na ZSV e ZSG (Crews *et al.*, 2011; Cho *et al.*, 2010) - figura 1 (Zhao *et al.*, 2008). A origem destes novos neurónios é atribuída à existência de células indiferenciadas, designadas por células estaminais/progenitoras, com capacidade de auto-renovação e multipotência (Trujillo *et al.*, 2009). Sabe-se que o cérebro, no período pós-natal, tem uma maior capacidade de neurogênese que o cérebro adulto e que o cérebro imaturo reage de forma única a um dano mostrando uma capacidade aumentada de respostas e de plasticidade. Por outro lado, no adulto, os estímulos excitatórios originam um aumento do número de células proliferativas, enquanto no cérebro imaturo ocorre uma redução dessas células, mas que, no entanto, se diferenciam maioritariamente em células da glia (Faiz *et al.*, 2008). É o processo coordenado de proliferação, diferenciação e migração de células precursoras que permite a constituição do sistema nervoso adulto (Stanic, 2008).

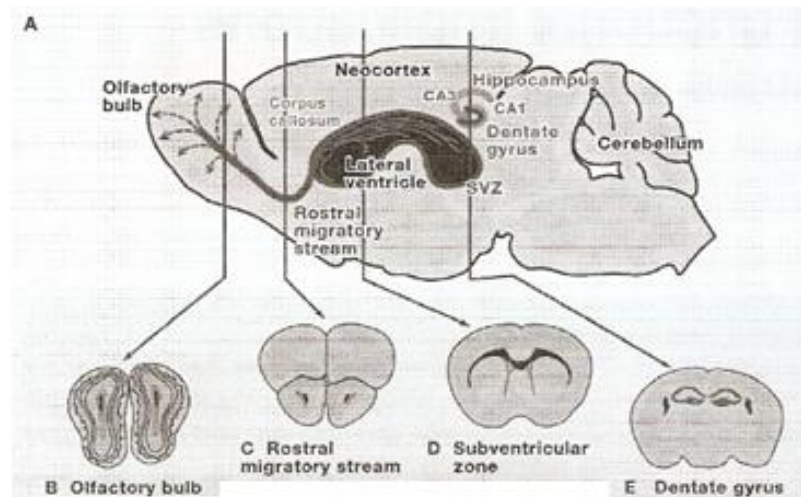


Figura 1. Neurogênese no cérebro de roedores adultos. (A) Representações de vistas sagitais e coronais do cérebro de roedores evidenciando áreas onde ocorre a neurogênese. A zona subgranular do giro dentado do hipocampo (SGZ) e a zona sub-ventricular (SBZ) do ventrículo lateral. (B-E) Neurogênese revelada pela incorporação de BrdU no bolbo olfativo (B), via rostromigratória (C), SVZ (D), e giro dentado (E). (Adaptado de Zhao *et al.*, 2008).

As principais zonas do cérebro adulto onde ocorre a neurogênese são a ZSG situada no giro dentado do hipocampo comumente associada a processos cognitivos, e a ZSV que se situa junto aos ventrículos laterais e responsável por integração de neurónios no bolbo olfativo (Doetsch, 2003). Relativamente à ZSG, as células recém-formadas migram curtas distâncias até à camada de células granulares do giro dentado onde se diferenciam em células glutamatérgicas, mas apenas algumas delas serão integradas no circuito neuronal, já que cerca de 50% acabam por não se integrarem funcionalmente no tecido circundante (Kaneko *et al.*, 2009). A constante renovação celular ao nível do hipocampo associa-se à recriação fiel de novas memórias (Nixon *et al.*, 2010) e tarefas de aprendizagem dependentes do hipocampo aumentam a quantidade de células progenitoras neuronais, promovendo a sobrevivência dos novos neurónios. A neurogênese do giro dentado diminui com a idade (Kuhn *et al.*, 1996). No entanto, entre a adolescência e a idade adulta jovem perdem-se cerca de 80% das células granulares produzidas (Nixon *et al.*, 2010). A ZSV, por sua vez, é uma camada de células na parede lateral dos ventrículos laterais. Nesta fina camada de células existem quatro tipos celulares (Kaneko *et al.*, 2009) – figura 2 (Ortega-Perez *et al.*, 2007) em diferentes graus de desenvolvimento: astrócitos, que se comportam como células estaminais apesar de serem incapazes de gerar potenciais de ação; células amplificadoras transitórias; neuroblastos, comprometidos com a linhagem de células neuronais; e células endimais (Kaneko *et al.*, 2009; Zhang *et al.*, 2008). A ZSV reúne características de um microambiente que permite que as células mantenham a sua capacidade de auto-renovação e multipotência. As células estaminais proliferam lenta e continuamente até formarem células amplificadoras transitórias. Em condições fisiológicas as células formadas na ZSV do cérebro adulto irão integrar os interneurónios do bolbo olfativo (Kaneko *et al.*, 2009). Os nichos neurogénicos são locais de renovação neuronal com um papel fundamental em várias situações de dano cerebral, tais como isquemia, atividade epileptogénica ou degenerescência (Kaneko *et al.*, 2009).

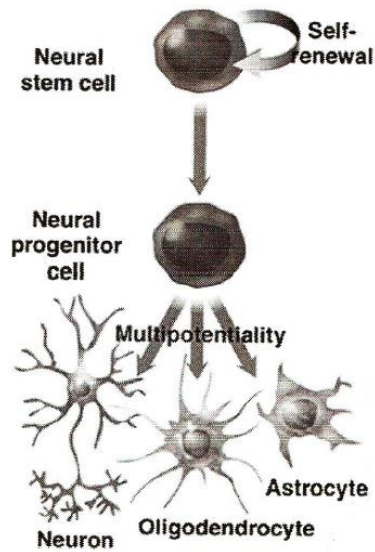


Figura 2. Células estaminais do cérebro adulto e sua descendência neural. As células estaminais neurais são células multipotentes que podem auto-renovar-se em novas células estaminais ou diferenciar-se em resposta a um estímulo. A progressiva diferenciação das células estaminais envolve a geração de precursores restritos a uma linhagem celular, que se maturam em neurónio, astrócitos ou oligodendrócitos.

(Adaptado de Ortega-Perez *et al.*, 2007).

Apesar de existirem duas populações bem conhecidas de células neuronais que proliferam no cérebro adulto, mais especificamente na ZSV e ZSG, não é apenas nestes locais que existem células estaminais neuronais (Nixon *et al.*, 2010). De facto, existem outras regiões onde ocorre neurogênese, como o córtex cerebral, o estriado, a substância negra, o hipotálamo e a amígdala (Cho *et al.*, 2010). O processo pelo qual se integram as novas células num circuito pré-existente, após migrarem para os seus destinos finais e se diferenciarem sob indicação de cascatas moleculares específicas, é fundamental para funções cognitivas específicas (Venkatesan *et al.*, 2007, Stanic *et al.*, 2008, Kaneko *et al.*, 2009). Mais ainda, este processo poderá ser útil na reparação cerebral para tratamentos de doenças degenerativas (Lie *et al.*, 2004).

Apesar da proliferação das células progenitoras e a formação de novos neurónios diminuir com a idade, a sinalização celular intrínseca para formação de um novo neurónio é semelhante ao longo da vida de um indivíduo (Olariu *et al.*, 2007). As células estaminais do

sistema nervoso central (SNC) são células imaturas com capacidade de auto-renovação e multipotência, ou seja, de dar origem a neurónios, astrócitos e oligodendrócitos. De facto, os astrócitos durante muito tempo foram considerados meras células gliais de suporte (Lim *et al.*, 2007), mas são também importantes reguladores dinâmicos de muitos processos cerebrais incluindo a sinaptogénese e a eficácia sináptica. Na neurogênese do cérebro adulto, os astrócitos atuam como células estaminais (Riquelme *et al.*, 2008), exceto os derivados da medula espinhal (Lim *et al.*, 2007).

São necessários cinco passos fundamentais para a produção de um novo neurónio: proliferação de células estaminais, diferenciação, migração, integração de axónios e dendrites no circuito neuronal e integração sináptica (Lledo *et al.*, 2006; Zhao *et al.*, 2008). No cérebro adulto uma célula estaminal produz células precursoras de neurónios que migram e diferenciam-se em neurónios maduros funcionais (Kaneko *et al.*, 2009). A neurogênese é o processo que começa por uma divisão assimétrica, importante para a diversidade celular (Trujillo *et al.*, 2009). A partir do momento em que a célula progenitora se divide em novas células, estas podem-se transformar-se em neurónios ou células da glia exibindo os respetivos marcadores morfológicos e funcionais. Apesar desta possibilidade de diferenciação, cerca de 60-80% irão expressar características neuronais (Kempermann *et al.*, 2003). As células radiais da glia contribuem para a formação de neurónios corticais, direta ou indiretamente pela formação de células progenitoras, numa divisão também assimétrica (Trujillo *et al.*, 2009). Os astrócitos, células da glia, estão associados a funções de suporte no cérebro adulto (Riquelme *et al.*, 2008). No entanto, a expansão das ramificações dendríticas pode ocorrer à custa da diminuição do volume glial (Hajszan *et al.*, 2007). As células amplificadoras transitórias entram rapidamente em divisão, por isso a sua proliferação deve ser controlada. Este controlo passa por tornar estas células quiescentes de modo a que não se dividam de modo frequente, evitando a acumulação de mutações em cada divisão (Riquelme *et al.*, 2008). A integração das novas

células está intimamente associada à sua sobrevivência, onde cerca de metade destas células não sobrevivem. De facto, o processo de integração neuronal inclui a arborização dendrítica, havendo integração sináptica nos circuitos neuronais pré-existentes. Os impulsos nervosos tornam-se idênticos aos das células maduras, onde o neurotransmissor glutamato torna-se excitatório e o GABA um neurotransmissor inibitório (Nixon *et al.*, 2010).

2. NICHOS NEUROGÉNICOS

Vários estudos sugerem uma relação entre o neurodesenvolvimento precoce e a neurogênese no cérebro adulto, uma vez que conjuntos de células já diferenciadas (por exemplo, células radiais da glia) podem diferenciar-se em células estaminais adultas que expressam características estruturais semelhantes a células embrionárias (Chojnacki *et al.*, 2009), mas há autores que defendem que o contributo da neurogênese no cérebro adulto para a função cerebral seja mais qualitativo do que quantitativo (Kempermann *et al.*, 2008). Sabemos no entanto que é relevante o contributo da neurogênese no cérebro adulto para a integridade estrutural do hipocampo, e para que as células estaminais se diferenciem é necessário a existência de um microambiente permissivo (Nixon *et al.*, 2010). Nos nichos neurogénicos reúnem-se condições físicas e químicas responsáveis pela regulação dos processos de auto-renovação e de multipotência (Chojnacki *et al.*, 2009). Uma célula de áreas neurogénicas quando colocada numa área não neurogénica vai exibir uma capacidade neurogénica muito limitada. Os microambientes especializados suportam a sobrevivência e a capacidade de auto-renovação das células estaminais e a diferenciação (Riquelme *et al.*, 2008) – figura 3 (Lim *et al.*, 2007). A neurogênese ocorre em grande proximidade com vasos sanguíneos (células endoteliais) e células da glia, o que sugere que a neurogênese e a angiogênese são processos intimamente associados havendo partilha de sinalização celular (Riquelme *et al.*, 2008). As células estaminais neuronais concentram-se junto a vasos sanguíneos, coordenando a interação entre sistema

nervoso e sistema vascular, facilitando deste modo os processos de regeneração e de reparação celular (Lim *et al.*, 2007). De facto, terapias farmacológicas e celulares demonstram que o aumento da angiogénese permite o aumento da neurogénese (Zhang *et al.*, 2008). Por outro lado, as células precursoras neuronais contribuem para a maturação dos vasos sanguíneos de modo a manter as suas propriedades de barreira, sendo também acompanhadas por um período de quiescência vascular e de estabilização (Lim *et al.*, 2007).

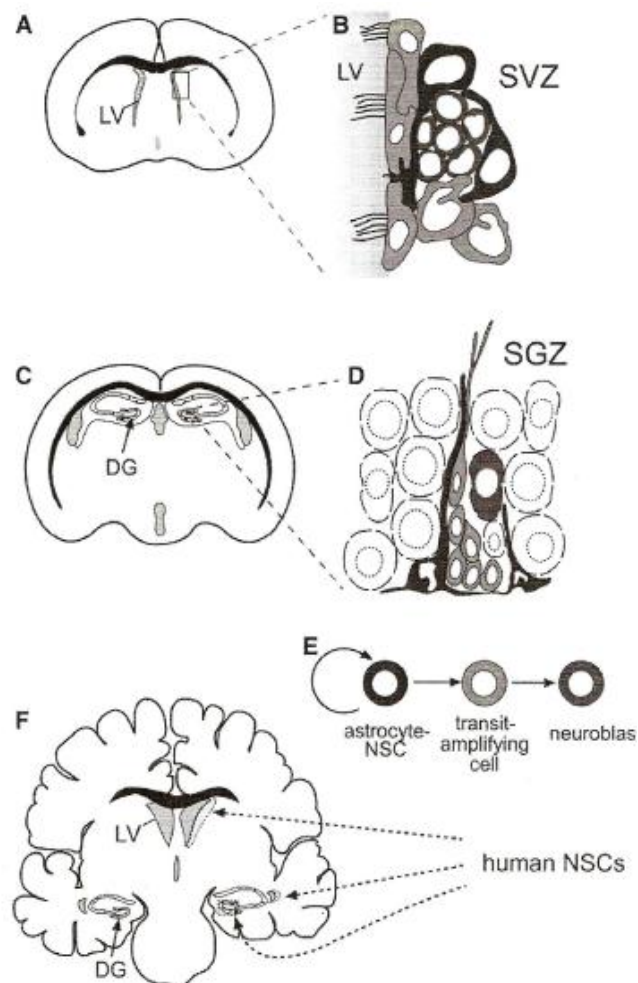


Figura 3. Esquema dos nichos de células estaminais neurais no cérebro adulto. (A-D) Cérebro de murganho adulto. (A) Cortes coronais do cérebro de murganho mostrando a ZSV situada junto aos ventrículos laterais. (B) Nicho neurogénico em pormenor da ZSV. (C) Corte coronal do cérebro de murganho mostrando a formação do hipocampo mostrando especificamente a DG. (D) Pormenor do nicho neurogénico da ZSG. (E) Esquema de diferenciação das células estaminais neurais. (F) Seção coronal do cérebro adulto humano. Populações de células progenitoras podem também ser isoladas de regiões da massa branca subcortical.

(Adaptado de Lim *et al.*, 2007).

As principais regiões de neurogênese são também bastante invadidas por estímulos axonais de origem local e/ou distante (Riquelme *et al.*, 2008). Mais ainda, o sistema imunitário é tido como um importante regulador dos nichos neurogênicos do cérebro adulto, controlando a proliferação e o destino celular das células progenitoras (Gonzalez-Perez *et al.*, 2010). As comunicações celulares no nicho neurogênico são reguladas pelo fornecimento, armazenamento e compartimentalização de fatores de crescimento e citocinas indispensáveis para a proliferação celular e diferenciação. As moléculas sinalizadoras interagem com células estaminais e células progenitoras para regular a sua ação modulando a neurogênese (Riquelme *et al.*, 2008). De facto, programas genéticos intrínsecos e sinais extracelulares definem o destino de cada célula estaminal, auto-renovação ou diferenciação (Riquelme *et al.*, 2008).

Diversos fatores comportamentais, ambientais e fisiológicos, regulam a neurogênese no cérebro adulto afetando quer a proliferação celular quer a sua sobrevivência (Cho *et al.*, 2010). Ambientes enriquecidos têm comprovadamente efeitos ansiolíticos, antidepressivos e neuroprotetores, tendo um impacto favorável à formação de novos neurónios. Estes estímulos ambientais são responsáveis por um aumento da sobrevivência e proliferação celular em células recém-formadas (Llorens-Martín *et al.*, 2010). O exercício físico é considerado um estímulo pró-neurogênico, sobretudo ao nível da arquitetura e função celular (Mandyam *et al.*, 2007), melhorando a capacidade cognitiva e os processos de memória. Apesar de o exercício físico não alterar a gliogênese no neocórtex de murganho, aumenta a proliferação e sobrevivência da microglia no córtex pré-frontal (Ehninger and Kempermann, 2003), aumentando também a vascularização no córtex motor. Por outro lado, fatores como o ritmo circadiano, alterações do sono ou alterações emocionais podem também afetar a neurogênese no cérebro adulto (Ramirez-Rodriguez *et al.*, 2009), que é uma estrutura altamente vulnerável (Nixon *et al.*, 2010). Para além disso, estes nichos, tal como o cérebro em geral, são muito sensíveis a fatores neurotóxicos, sendo que a neurotoxicidade é um conceito amplo que inclui qualquer

efeito adverso na estrutura ou função do sistema nervoso (central ou periférico) causada por um agente físico, químico ou biológico (Cunha-Oliveira *et al.*, 2008). No processo de reparação dos danos ao nível do SNC podem estar envolvidos processos diretos de reconstituição neuronal e das células da glia ou, por outro lado, processos de ativação endógena de células estaminais para a regeneração celular (Trujillo *et al.*, 2009). A tentativa de recuperação e regeneração do cérebro pode, no entanto, ocorrer por aumento inadequado ou excessivo do número de novas células que serão incluídas na área lesada ou em seu redor, pela supressão da neurogênese (Kaneko *et al.*, 2009) e da proliferação celular devido a um ciclo celular de duração alterada, ou ainda pela redução do número de células quiescentes e precursoras neuronais (Nixon *et al.*, 2010). Num cérebro saudável, uma barreira hemato-encefálica íntegra permite a troca de fatores pró-neurogénicos entre o sangue e o tecido nervoso. No entanto, a exposição a doses elevadas de drogas de abuso estimulantes pode ser responsável pela destruição das células estaminais existentes e assim sendo, a neurogênese poderá ficar comprometida (Silva *et al.*, 2010).

Durante o processo neurogénico diferentes recetores de membrana são ativados podendo originar uma diversidade de respostas intracelulares devido à ativação de diferentes vias de sinalização. A ocorrência de alterações neste processo pode resultar em circuitos aberrantes que são causadores de patologia tumoral ou de doenças degenerativas (Rodini *et al.*, 2010). De facto, a proliferação descontrolada das células estaminais/progenitoras pode levar à formação de tumores e a sua longevidade depende da acumulação de mutações genéticas, desencadeando a formação de células tumorais primárias (Demir *et al.*, 2009). Os tumores cerebrais podem ser derivados de células estaminais neuronais, podendo ter origem na ZSV. Neste grupo de tumores incluem-se os gliomas, meduloblastomas e ependimomas. As células estaminais de tumores cerebrais têm a capacidade de auto-renovação, de se diferenciar *in vitro* em neurónios, astrócitos e oligodendrócitos, e têm também a capacidade de originar tumores a

partir de poucas células. Estas células tumorais são ativadas por agentes mitogénicos exógenos, o que sugere uma semelhança entre os recetores de superfície celular e os mecanismos intracelulares das células estaminais tumorais e células estaminais neuronais (Quiñones-Hinojosa *et al.*, 2007). O estudo de tumores embrionários malignos permitiu a identificação de alterações genéticas que conduzem a transformações neoplásicas das células estaminais neuronais devido a alterações nos circuitos intracelulares (Rodini *et al.*, 2010). A mais pequena alteração ao nível da arquitetura e função celular contribui para a severidade dos tumores cerebrais, e as mutações podem conduzir a uma proliferação ilimitada e descontrolada do tumor. As células tumorais e estaminais partilham ainda vários marcadores da expressão genética, a capacidade de migrarem a longas distâncias e a afinidade com os vasos sanguíneos (Quiñones-Hinojosa *et al.*, 2007).

A neurogênese durante o período pós natal é regulada por fatores independentes da própria célula e também pelo próprio ambiente. Os circuitos intrínsecos anómalos que se podem gerar podem dever-se a modificações da morfologia e fisiologia neuronal, como o incorreto posicionamento de neurónios e seus precursores, levando ao desenvolvimento de fenótipos aberrantes, mesmo antes de integrarem a rede neuronal primária. Estas células de localização ectópica têm uma maturação mais acelerada das suas propriedades funcionais. Estas vias de sinalização aberrantes podem estar associadas a alterações na polaridade e direcionalidade das células que podem ter alterações de comprimento ou das ramificações. Alteração no processo de migração em fases precoces da neurogênese fetal modifica drasticamente os passos da maturação neuronal (Belvindrah *et al.*, 2011).

3. PSICOESTIMULANTES E NEUROGÉNESE

Os psicoestimulantes são drogas psicoativas que induzem alterações nas funções físicas e mentais. O abuso de drogas psicoestimulantes atinge atualmente proporções epidémicas

originando problemas médicos e sociais relevantes (Silva *et al.*, 2010), sendo mesmo o mais dispendioso dos distúrbios neuropsiquiátricos (Cunha-Oliveira *et al.*, 2008). Em 2010, a nível mundial, registaram-se entre 13,7 a 52,9 milhões de consumidores de psicoestimulantes, o que corresponde a 0,3 - 1,2% da população com idade compreendida entre os 15 e os 64 anos (Silva *et al.*, 2010). Tal como referido anteriormente, são inúmeros os fatores que regulam a formação e sobrevivência das células neuronais recém-formadas, nomeadamente as drogas de abuso (Mandyam *et al.*, 2008; Hernandez-Rabaza *et al.*, 2010; Noonan *et al.*, 2008). As drogas de abuso alteram o equilíbrio neurogénico (Silva *et al.*, 2010), não sendo os psicoestimulantes uma exceção (Venkatesan *et al.*, 2007) e associam-se também ao défice da função do córtex pré-frontal, que por sua vez se associa a comportamentos de procura compulsiva de drogas. Várias evidências têm demonstrado que os psicoestimulantes, como por exemplo a metanfetamina, têm um impacto negativo na função bioquímica e nos neurocircuitos cerebrais (Mandyam *et al.*, 2007), incluindo na neurogênese.

O abuso de drogas pode ser considerado uma doença cerebral porque causa alterações celulares e moleculares muitas vezes irreversíveis, afetando por isso diversas funções cerebrais. A neurotoxicidade pode dever-se à própria droga de abuso ou aos seus metabolitos se estes forem capazes de ultrapassar a barreira hemato-encefálica (Cunha-Oliveira *et al.*, 2008). A neurotoxicidade das drogas de abuso deve-se sobretudo à produção de radicais livres e ao stresse oxidativo, excitotoxicidade, disfunção mitocondrial, neuroinflamação e alteração das propriedades da barreira hemato-encefálica permitindo deste modo a passagem de moléculas potencialmente nocivas para o cérebro (Silva *et al.*, 2010). Já é do nosso conhecimento que o consumo de drogas pode originar défice de atenção, dificuldade na tomada de decisões, aumento da impulsividade e da ansiedade, resultando numa perda gradual do controlo do comportamento (Crews *et al.*, 2011). Mais ainda, leva a défices neurocognitivos tais como o condicionamento do medo, aprendizagem e memória espacial (Venkatesan *et al.*, 2007), bem

como neuroadaptações em áreas particulares do cérebro relacionadas com processos de recompensa, que se associam a um aumento dos níveis de dopamina nas terminações nervosas, levando à viciação e recaídas (Garcia-Fuster *et al.*, 2010).

Recentemente foi comprovado que as anfetaminas – figura 4, nomeadamente a metanfetamina, desencadeiam um processo neuroinflamatório, em paralelo com o desenvolvimento de disfunção neuronal (Gonçalves *et al.*, 2010). Mais ainda, foi sugerido que os psicoestimulantes comprometem a capacidade neurogénica cerebral e conduzem a uma disfunção da barreira hemato-encefálica, sendo que todos estes fatores contribuem para o dano cerebral permitindo a entrada de agentes patogénicos e diminuindo a capacidade de resposta endógena (Silva *et al.*, 2010; Martins *et al.*, 2011).

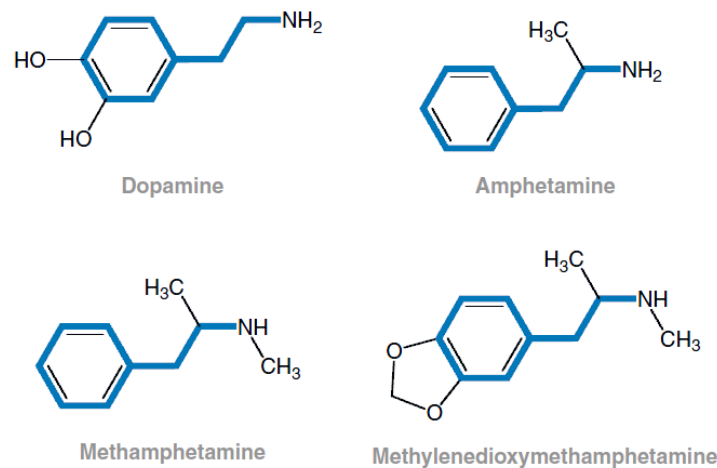


Figura 4. Diagramas representativos da estrutura química da dopamina e de anfetaminas (Fleckenstein *et al.*, 2007).

Os agentes estimulantes, sobretudo um consumo agudo, condicionam o aumento da atividade cerebral e estão associados à disrupção dos ritmos normais do sono que têm um impacto negativo na neurogênese do cérebro adulto (Kochman *et al.*, 2009). O seu efeito neurotóxico está frequentemente associado a processos de stresse oxidativo, disfunção mitocondrial, apoptose e inibição da neurogênese, culminando na alteração das respostas cerebrais a estímulos fisiológicos (Cunha-Oliveira *et al.*, 2008). No que diz respeito ao impacto dos psicoestimulantes na neurogênese do cérebro adulto, os efeitos variam de acordo com a frequência

da exposição e dose. A exposição crónica a psicoestimulantes é uma das principais causas para a inibição dos processos neurogénicos (Eisch *et al.*, 2006). De facto, o uso crónico de drogas de abuso (como a metanfetamina ou a cocaína) associa-se a uma diminuição da proliferação e sobrevivência das células neuronais, reduzindo efetivamente a neurogênese do hipocampo do cérebro adulto (Venkatesan *et al.*, 2007). O consumo regular tem repercussões em todos os aspetos da neurogênese por diminuição da capacidade proliferativa e formação de novos neurónios. Mesmo após longos períodos de abstinência de drogas estimulantes, podem ser detetadas lesões persistentes e seletivas, sobretudo ao nível da memória (Gouzoulis-Mayfrank *et al.*, 2009). Um dos fatores que pode explicar este facto é o prolongamento do ciclo celular e a alteração do comportamento celular neste ciclo. Com a metanfetamina verifica-se também um aumento da apoptose celular e diminuição do nível de corticosteróides (Mandyam *et al.*, 2008). Exposições agudas a derivados metabólicos de psicoestimulantes, como é o caso do peróxido de hidrogénio, originam morte celular por apoptose, enquanto exposições graduais no tempo e em concentração permitem uma maior resistência celular à toxicidade deste composto (Cunha-Oliveira *et al.*, 2008). O uso esporádico, nomeadamente de metanfetamina, induz uma diminuição da neurogênese no cérebro adulto por processos de neurodegenerescência, enquanto o uso diário e contínuo está implicado no processo de viciação e dependência deste género de drogas (Mandyam *et al.*, 2008).

3.1. COCAÍNA

A cocaína é uma droga de abuso psicostimulante que pode ser inalada, fumada ou injetada. Como qualquer psicostimulante, a cocaína induz euforia, constrição dos vasos sanguíneos, dilatação da pupila, aumento da temperatura corporal e aumento do batimento cardíaco. Os consumidores crónicos de cocaína podem sofrer de convulsões, isquemia cerebral, hemorragias e enfartes cerebrais, neuropatias óticas, atrofia cerebral, alterações do movimento e

disfunções cognitivas e comportamentais. As lesões cerebrais destes consumidores ocorrem sobretudo no córtex pré-frontal e nos gânglios da base e são atribuídas à vasoconstrição, hipóxia e stresse oxidativo que diminui a atividade das catalases, aumenta a peroxidação lipídica e a oxidação proteica (Brown *et al.*, 2001).

A cocaína interfere com o sistema dopaminérgico, sendo considerada um bloqueador da captação de dopamina, por ligação direta ao transportador membranar de dopamina (DAT), inibindo-o. Como resultado, a inibição do DAT aumenta os níveis de DA extracelular, desencadeando processos tóxicos semelhantes aos da metanfetamina. A importância deste transportador foi demonstrada por Giros e colaboradores (1996), em que murganhos que não expressam DAT (*knock-out* para DAT) mostraram uma preferência reduzida por cocaína quando submetidos a um protocolo de auto-administração de droga. A cocaína também pode interagir com o transportador vesicular de monoaminas 2 (VMAT-2), favorecendo o armazenamento de catecolaminas nas vesículas sinápticas (Brown *et al.*, 2001).

Alguns estudos avaliaram o efeito da cocaína na neurogênese da ZSG, onde 20 mg/kg/dia de cocaína por injeção intra-peritoneal (i.p.) durante 8 dias (curto-prazo) ou 24 dias (longo-prazo) diminuiu o número de células positivas a BrdU e a Ki-67, revelando deste modo uma diminuição da proliferação de células progenitoras do giro dentado. É importante referir que estas mesmas doses não induziram morte celular (Domínguez-Escribá *et al.*, 2006). Mais ainda, ratos submetidos a 4 horas de auto-administração de cocaína (0,5 mg/kg/infusão, intra-venosa - i.v.) durante 3 semanas apresentaram diminuição da proliferação em ambas as ZSG e ZSV (Noonan *et al.*, 2008). Por outro lado, a abstinência de cocaína durante 4 semanas conseguiu reverter estas alterações (Noonan *et al.*, 2008), levando também a um aumento do número de neurónios imaturos sugerindo que as diferentes fases da neurogênese do cérebro adulto são reguladas de modo distinto (Noonan *et al.*, 2008). Verificou-se também um aumento do número de células proliferativas na ZSG em murganhos adultos administrados com 20

mg/kg/dia de cocaína subcutânea (s.c.) durante 28 dias (Noonan *et al.*, 2010). O metabolismo da cocaína gera compostos inativos que não provocam danos no córtex cerebral. Mais ainda, a cocaína inibe a proliferação não causando alterações na diferenciação e sobrevivência das células neuronais progenitoras (Venkatesan *et al.*, 2007), nem no número ou morfologia das dendrites (Noonan *et al.*, 2008). A abstinência de cocaína leva de novo ao equilíbrio da proliferação celular e permite o amadurecimento das células progenitoras (Venkatesan *et al.*, 2007).

3.2. METANFETAMINA

A metanfetamina (MET) – figura 5 - é uma das drogas de abuso com maior incidência epidemiológica e de acordo com o relatório as Nações Unidas, estima-se que cerca de 15 a 16 milhões de pessoas sejam consumidores de MET (United Nations Office on Drugs and Crime, 2010). De facto, a MET tornou-se um grave problema de saúde pública, uma vez que a sua produção é facilmente executada em laboratórios caseiros improvisados e os compostos necessários para a sua síntese são de fácil acesso e de baixo custo.

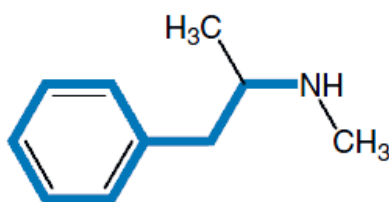


Figura 5. Estrutura molecular da metanfetamina. (Adaptado de Fleckenstein *et al.*, 2007)

Os efeitos a curto prazo do consumo de MET incluem alterações de comportamento, o aumento de produtividade e de energia, a desinibição sexual e a diminuição de ansiedade (Krasnova e Cadet, 2009). Por outro lado, os consumidores crónicos de MET geralmente iniciam o consumo de droga com doses pequenas a intervalos variáveis, que vão aumentando gradualmente na quantidade e frequência das tomas. Como consequência, o consumo crónico

de MET origina comportamentos distintos tais como ansiedade, depressão, agressividade, isolamento social, psicose, distúrbios de humor e disfunções a nível psicomotor (Krasnova e Cadet, 2009).

Um dos mecanismos pelos quais a MET exerce a sua toxicidade, reside no facto de ser uma molécula apolar e de baixo peso molecular, podendo facilmente atravessar a membrana plasmática. De facto, foi demonstrado em murganhos da estirpe C57BL/6J administrados com uma única dose de MET (30 mg/kg, i.p.), que a esta droga atinge uma concentração elevada no cérebro 1 hora após a injeção (Martins *et al.*, 2011). Por outro lado, a MET apresenta uma semelhança estrutural com a dopamina (DA). Em condições fisiológicas, a ativação neuronal induz libertação de DA, que é posteriormente removida da fenda sináptica através do seu transportador membranar (DAT) e acumulada em vesículas sinápticas pelo VMAT-2. Contudo, a MET pode entrar nos neurónios dopaminérgicos por difusão passiva e nas vesículas sinápticas através do VMAT-2, provocando a libertação de DA para o citoplasma. Posteriormente, a DA é oxidada, levando à formação de radicais de hidrogénio e de superóxido, que por sua vez podem induzir danos nos terminais nervosos e disfunção mitocondrial (Krasnova e Cadet, 2009). Mais ainda, os recetores de DA também estão envolvidos na toxicidade mediada pela MET, uma vez que a ativação de recetores do tipo D1 aumenta a expressão de sintetase do óxido nítrico cerebral (nNOS) (Wang e Lau, 2001). A neurotoxicidade da MET é ainda agravada pela hipertermia que pode causar lesões cerebrais (Matsumoto *et al.*, 2008). Por outro lado, a MET pode incitar a excitotoxicidade neuronal por aumento da libertação de glutamato, que irá ativar os recetores do glutamato, incluindo os recetores ionotrópicos do tipo NMDA, aumentando o influxo de cálcio, o que por sua vez pode ativar uma série de eventos intracelulares culminando na morte neuronal (Schinder *et al.*, 1996). Mais ainda, a MET causa lesões seletivas e persistentes dos terminais nervosos serotoninérgicos, resultando num impacto ao nível da neurotransmissão/neuromodulação, efeitos vasoconstritores, neurotrófi-

cos e neurogénicos. O uso crónico desta droga associa-se à diminuição do volume cerebral global e da densidade da substância cinzenta. Estes efeitos podem resultar do dano neurotóxico e da proliferação glial, tal como da vasodilatação resultante da diminuição do tónus vascular que se segue à degenerescência axonal (Gouzoulis-Mayfrank *et al.*, 2009).

No que diz respeito ao efeito da MET no hipocampo, foi demonstrado que ratos Wistar administrados com 0,05 mg/kg/infusão (i.v.) de MET durante 1 hora/dia durante 49 dias houve um aumento de células positivas a caspase-3 ativa, enquanto em ratos administrados durante 6 horas a MET verificou-se uma redução do volume do hipocampo (Mandyam *et al.*, 2008). Apesar do efeito tóxico da MET ser bem conhecido, pouco se sabe sobre o seu efeito na neurogênese do hipocampo. Os poucos estudos publicados até à data explicam que a MET tem repercussões negativas ao nível da proliferação celular. Observou-se uma diminuição da proliferação de células progenitoras neurais de hipocampo de rato expostas a MET (300 µM) durante 24 horas, devido à geração de espécies reativas de oxigénio (Tian *et al.*, 2009). Relativamente a estudos *in vivo*, foi demonstrado que uma única dose de 25 mg/kg de MET (i.p.) diminui a proliferação da ZSG de uma forma transitória (Teuchert-Noodt *et al.*, 2000). Por outro, a MET administrada a 0,05 mg/kg/infusão durante 1 hora/dia, 2 dias por semana, aumenta a proliferação celular, enquanto 1 hora/dia e 6 horas/dias têm um efeito contrário (Mandyam *et al.*, 2008). Os mesmos autores verificaram que a diminuição da proliferação era resultado de um decréscimo do número de células progenitoras na fase S do ciclo celular (Yuan *et al.*, 2011). No que diz respeito à formação de novos neurónios, foi demonstrado que 1 hora/dia de 0,05 mg/kg/infusão 2 vezes por semana, durante 49 dias de MET induz aumento da diferenciação e maturação de células progenitoras do hipocampo, o que corrobora com o aumento do número de células proliferativas (Mandyam *et al.*, 2008). Já a frequência de 1 ou 6 horas/dia de MET induz um efeito oposto, diminuindo a diferenciação, maturação e sobrevivência das células progenitoras (Mandyam *et al.*, 2008). É interessante ainda referir que o pré-

condicionamento celular com doses sub-tóxicas de MET pode ter um efeito protetor, já que estímulos repetidos desencadeiam respostas adaptativas (Cadet *et al.*, 2007).

Os consumidores abusivos de MET têm défices cognitivos devido às alterações bioquímicas e estruturais do cérebro adulto (Cadet *et al.*, 2007). À MET associa-se também uma redução e degradação da qualidade do sono, com prevalência do sono não-REM e diminuição da proliferação celular. Uma manifestação precoce da privação de sono é a supressão da proliferação celular ao nível do hipocampo. Estes efeitos podem estar associados à depleção de substratos energéticos, aumento da concentração de adenosina e à redução da síntese proteica devido aos longos períodos em que os indivíduos se mantêm acordados (Kochman *et al.*, 2009). Os efeitos neurotóxicos desta droga também se devem à alteração na cadeia respiratória mitocondrial e à formação de espécies reativas de oxigénio que se acumulam sobretudo nos terminais nervosos, causando alterações nos componentes lipídicos das membranas celulares (Ajijmaporn *et al.*, 2008).

3.3. METILENODIOXIMETANFETAMINA

A 3,4-metilenodioximetanfetamina (MDMA) – figura 6, também conhecida por *ecstasy*, é um estimulante do grupo das anfetaminas que é consumido em grandes doses sobretudo em festas associadas a música e dança por criar uma sensação de proximidade interpessoal e de confiança sexual (Cho *et al.*, 2008), além de ser uma droga potente e potencialmente alucinogénica. O seu consumo tem aumentado bastante nos últimos anos, bem como as morbidades associadas à *overdose*. O MDMA é um neurotóxico potente que tem graves efeitos como a depleção de serotonina (responsável por alterações na transmissão neuroquímica a nível cerebral), a desregulação energética, astrogliose e a formação de radicais livres. (Hernández-Rabaza *et al.*, 2006).

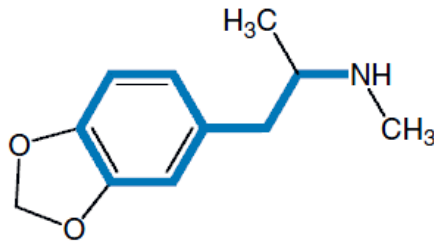


Figura 6. Estrutura molecular do MDMA. (Adaptado de Fleckenstein *et al.*, 2007)

Estudos feitos em ratos Wistar administrados 8 vezes com 5 mg/kg de MDMA a cada 6 horas, foi demonstrado que esta droga diminui a capacidade de sobrevivência das células progenitoras do hipocampo bem como a integração de novas células cerebrais numa rede neuronal pré-definida, sem no entanto afetar a sua proliferação (Hernández-Rabaza *et al.*, 2006). Para além deste efeito negativo, a MDMA tem um papel de reforço positivo no que diz respeito a processos de recompensa associados ao seu consumo (Catlow *et al.*, 2010). Por sua vez, os efeitos neuroquímicos do MDMA incluem depleção dos sistemas monoaminérgicos (Cho *et al.*, 2008) com aumento da libertação de serotonina, dopamina e noradrenalina. O consumo de MDMA tem efeitos farmacológicos que interferem com a proliferação de células progenitoras neuronais e com a formação de novas células neurogénicas (Catlow *et al.*, 2010). Esta droga induz ainda um aumento da transmissão da serotonina no hipocampo o que se julga ser responsável por efeitos antidepressivos e estimuladores da citogénese. Os efeitos na baixa sobrevivência celular devem-se ao stresse oxidativo, às alterações endócrinas e aos níveis de esteróides adrenérgicos em circulação (Hernández-Rabaza *et al.*, 2006).

O consumo neonatal pode induzir alterações na aprendizagem espacial e nas funções mnésicas no adulto (Cho *et al.*, 2008). Mais especificamente, em murganhos fêmeas da estirpe C57BL/6J administradas com 1,25 ou 20 mg/kg (*per os*) desde os 6 dias de gestação até 21 dias após o nascimento das crias, verificou-se uma diminuição de células progenitoras nos indivíduos descendentes adultos (Cho *et al.*, 2008). Nas grávidas, a exposição a doses elevadas de MDMA é lesivo para o cérebro adulto dos descendentes uma vez que a droga penetra

no cérebro do feto pelo líquido amniótico e, em menor proporção pode ainda ser transmitida pelo leite materno (Cho *et al.*, 2008). Quando o consumo de MDMA está associado ao consumo de álcool durante a adolescência, pode induzir alterações fulcrais no desenvolvimento e uma diminuição na sobrevivência das células progenitoras e neurogênese, dependendo no entanto da dose consumida (Catlow *et al.*, 2010). A função cognitiva é afetada pela interferência na formação do hipocampo, que é responsável pelos processos de memória, de aprendizagem associativa, processos de atenção e de orientação espacial. As drogas de abuso, nomeadamente o MDMA, interferem com os mecanismos subjacentes à codificação, consolidação e transferência de informação na rede neuronal do hipocampo e córtex cerebral (Hernández-Rabaza *et al.*, 2010).

3.4. METILFENIDATO

O metilfenidato é um fármaco vulgarmente prescrito para o tratamento da perturbação de hiperatividade e deficiência de atenção. Esta patologia caracteriza-se pelo desenvolvimento impróprio da capacidade de atenção e autocontrolo, resultando em comportamentos compulsivos e hiperativos (Goldman *et al.*, 1998; Miller and Castellanos, 1998; Kirby *et al.*, 2002). Apesar de ser largamente prescrito, sabe-se muito pouco do efeito do metilfenidato na neurogênese do hipocampo. Na realidade, apenas se sabe que o metilfenidato pode afetar a sobrevivência das células progenitoras do hipocampo em ratos Sprague-Dawley administrados duas vezes por dia durante 16 dias com 2,0 mg/kg de metilfenidato, sem afetar, porém, a sua proliferação (Lagace *et al.*, 2006). De facto, a exposição ao metilfenidato pode induzir um aumento dos níveis de corticosterona, que de uma forma geral tem um efeito negativo na neurogênese. Por outro lado, uma administração por dia de 5 mg/kg de metilfenidato durante 30 dias a gerbilos não teve qualquer efeito na proliferação de células progenitoras quando comparado com os animais controlo (Schaeffers *et al.*, 2009).

3.5. FENCICLIDINA

O uso crónico de fenciclidina leva ao aparecimento de comportamentos psicóticos e causa alterações na capacidade de memória do trabalho, memória de repetição, aprendizagens espacial e associativa e défices cognitivos, comportamentos estes que se mantêm mesmo após a suspensão da toma deste psicostimulante. Além de se caracterizar por alterações estruturais a longo prazo no córtex cerebral e hipocampo, a administração prolongada de fenciclidina durante 14 dias é responsável pela diminuição da proliferação das células estaminais neuronais, pela diminuição do número de neurónios maduros e pelo aumento da libertação de dopamina (Maeda *et al.*, 2007). Mais ainda, outro estudo revelou que uma única dose de fenciclidina não tem efeito no número de células proliferativas na ZSG, enquanto que administrada durante 14 dias diminui a proliferação celular (Liu *et al.*, 2006).

3.6. CAFEÍNA

A cafeína é um dos psicoestimulantes mais consumidos em todo o mundo (Han *et al.*, 2007). Como estimulante, pode melhorar o estado de alerta e o desempenho na realização de tarefas que requerem atenção, aumenta a atividade motora e tem efeitos neuroprotetores nos modelos de estudo da doença de Parkinson e Alzheimer. No entanto, doses elevadas de cafeína podem induzir alterações nos padrões de sono (dificuldades em adormecer) e estão associadas a aumento da ansiedade e na indução de ataques de pânico em doentes mais suscetíveis. A cafeína pode ainda ter um efeito vasoconstritor alterando a vasculatura dos nichos neurogénicos cerebrais e deste modo modificando o processo de neurogênese (Wentz *et al.*, 2010).

A neurogênese no cérebro adulto diminui com a idade, stresse e privação do sono. Estes fatores estão diretamente relacionados com o consumo de cafeína. O consumo prolongado de cafeína altera a proliferação das células precursoras do hipocampo de forma dependente da dose, sendo que consumos moderados a elevados conduzem a uma depressão da proliferação

celular. O consumo prolongado deste estimulante pode influenciar um número considerável de agentes e efeitos bioquímicos alterando a atividade cortical, talâmica e do estriado, induzindo alterações compensatórias nestes sistemas. No entanto, consumos supra-fisiológicos estão associados ao aumento dos precursores neuronais e consumos agudos não têm interferência na proliferação. Mais ainda, a cafeína não altera os marcadores de diferenciação neuronal ou a taxa de sobrevivência celular a longo prazo (Wentz *et al.*, 2010)

A doença de Alzheimer é o tipo mais comum de demência nos idosos, e caracteriza-se pela acumulação de placas de β amilóide e agregados de neurofibrilas no cérebro. O consumo prolongado de cafeína pode ter efeitos protetores nesta doença, pelo aumento do *turnover* do líquido encéfalo-raquidiano e da sua *clearance* (que contraria a acumulação de β amilóide, tendo um efeito anti-oxidante) e aumento do fluxo sanguíneo cerebral. (Wostyn *et al.*, 2011).

A doença de Parkinson é uma doença neurodegenerativa crónica patologicamente caracterizada pela perda de neurónios dopaminérgicos na substância negra cerebral. Os mecanismos celulares e moleculares subjacentes à sua patogénese são desconhecidos mas estão associados ao aumento da neuroinflamação e do stresse oxidativo, que causam a perda de função da barreira hemato-encefálica. A cafeína tem efeitos protetores na modelação de moléculas de sinalização celular, funções fisiológicas inerentes à patogénese da doença de Parkinson e têm ainda impacto funcional e fisiológico na barreira hemato-encefálica. A cafeína bloqueia os recetores adenosínicos das células endoteliais diminuindo os sintomas parkinsonianos, quando administrada cronicamente diminuiu o risco de desenvolver a doença e permite que haja neuroproteção contra a perda de neurónios dopaminérgicos da substância negra. Para além do impacto a nível das células endoteliais, a cafeína tem também um efeito neuroprotector na barreira hemato-encefálica pela modulação de outras células cerebrais como os astrócitos, microglia e neurónios. Os astrócitos e microglia têm grande importância na neuroinflamação causando a disrupção da barreira, que podem desencadear respostas neuroinflamatórias

levando a que células inflamatórias periféricas penetrem no parênquima cerebral, num ciclo vicioso. A cafeína tem a capacidade de inibir esta resposta pró-inflamatória neuronal e de limitar o aumento cerebral de citocinas que geralmente acompanham os processos inflamatórios (Chen *et al.*, 2010).

4. PROCESSO DE VICIAÇÃO

É importante também referir que a plasticidade cerebral, devida ao processo de neurogênese, tem um papel importante na manutenção de comportamentos de viciação e de recaída (Garcia-Fuster *et al.*, 2010). O processo de viciação pode ser uma resposta desfavorável de aprendizagem, à qual os adolescentes são particularmente suscetíveis, uma vez que a integração de novos neurónios é um processo dependente da experiência prévia do indivíduo (Nixon *et al.*, 2010). Se a exposição a drogas de abuso ocorrer em períodos sensíveis de maturação neuronal, poder-se-ão desencadear maior suscetibilidade para o abuso de drogas em idades jovens, acabando por conduzir a processos de viciação. Um modelo disfuncional associado à exposição ao stresse, desenvolvimento estrutural e de amadurecimento neuronal pode também explicar o processo de viciação em alguns indivíduos (Andersen *et al.*, 2009).

A viciação é uma doença crónica recidivante, constituindo a patologia neuropsiquiátrica mais dispendiosa e com graves consequências sociais e médicas (Cunha-Oliveira *et al.*, 2008). Esta resulta de uma neurobiologia complexa, com alteração da neurotransmissão e neurocircuitos, para a qual contribui a hiperexcitabilidade do córtex pré-frontal (Crews *et al.*, 2011) e que se supõe ser resultado da adaptação do hipocampo ao consumo de drogas (Noonan *et al.*, 2008). É um processo que depende do aumento da necessidade de consumir, da diminuição do controlo comportamental e das emoções negativas (Crews *et al.*, 2011), tendo como consequência défices da cognição, desinibições comportamentais, alterações na motiva-

ção, atenção, instabilidade emocional, depressão, anedonia, impulsividade e agressividade (Cunha-Oliveira *et al.*, 2008).

O processo de viciação inclui um conjunto de alterações que envolve a formação de memórias contextuais específicas, designado por “memória das drogas” (Noonan *et al.*, 2008). Numa primeira fase há a sensação de prazer que é o resultado do aumento de dopamina no *nucleus accumbens*. Seguidamente, o hipocampo assimila o processo de aprendizagem da sensação de prazer, criando memórias associadas à experiência. Assim as respostas são moduladas de forma a refletir as experiências prévias. Há então todo um processo de condicionamento (incluindo ambiental) associado à viciação e também um conjunto de neuroadaptações causadas pelo uso repetido de drogas de abuso (Andersen *et al.*, 2009) que podem ser responsáveis por recaídas, que geralmente são acompanhadas por sintomas de ansiedade e de depressão (Barr *et al.*, 2010), ou até mesmo aumento da motivação para o consumo de drogas de abuso (Cunha-Oliveira *et al.*, 2008). Concomitante a estes processos, há uma perda de inibição pré-frontal que perpetua o ciclo de viciação, no qual também é fundamental o funcionamento da ínsula e o seu papel nos sentimentos emocionais conscientes. A interação entre o consumo de drogas e as respostas neuronais pode ser diferente consoante a diferente fase do processo de viciação em que o indivíduo se encontre: intoxicação, abstinência e a procura compulsiva (Cunha-Oliveira *et al.*, 2008).

O abuso de drogas está associado a um efeito deletério da regulação neurogénica (Garcia-Fuster *et al.*, 2010) e o processo de viciação, em todas as suas fases, está associado às vias de sinalização intracelular que regulam a expressão genética diferencial o que irá justificar que uma droga tenha maior poder de viciação que outra pela indução de diferentes respostas celulares a estímulos citotóxicos (Cunha-Oliveira *et al.*, 2008). O hipocampo tem uma função importante na indução de comportamentos de viciação e nas recaídas. É concretamente o giro dentado do hipocampo que está envolvido na formação de memórias específicas asso-

ciadas à recompensa do consumo de drogas (Barr *et al.*, 2010). A supressão da neurogênese do hipocampo aumenta a vulnerabilidade para processos de viciação e de recaída, contribuindo para comportamentos de procura da droga (Noonan *et al.*, 2010).

5. APLICAÇÕES DOS CONHECIMENTOS SOBRE NEUROGÊNESE À PRÁTICA CLÍNICA

As células estaminais do cérebro adulto possuem um potencial terapêutico, que por transplantação ou por manipulação *in loco*, são atualmente consideradas uma possível terapia efetiva em doenças neurodegenerativas numa população rapidamente envelhecida (Demir *et al.*, 2009). A neurodegenerescência pode implicar a reativação de processos de morte celular programada (que estavam ativos no estado embrionário para eliminação dos neurónios excedentes) levando muitas vezes à perda desnecessária de neurónios (Demir *et al.*, 2009). As terapias de neuro-regeneração dos danos causados pelos diversos agentes agressores no sistema nervoso podem incluir: a substituição das células neuronais perdidas (que inclui a ativação de células estaminais neuronais endógenas e o transplante de células), a indução da regeneração axonal e a recuperação funcional das células. A neurogênese que se segue a uma agressão do SNC está associada à ativação de células estaminais endógenas, divisão de células amplificadoras transitórias, migração de neuroblastos, sobrevivência e maturação de novos neurónios que se formam no local da lesão e são incluídos nos circuitos neuronais (Okano *et al.*, 2007). O processo de neurogênese no cérebro adulto é cumulativo e permite a otimização e eficiência da rede neuronal, evitando interferências que seriam catastróficas, nomeadamente ao nível de doenças psiquiátricas que são crónicas com tendência a progredir (Kempermann *et al.*, 2008).

Na neurogênese do cérebro de mamíferos adultos, a morte celular de uma célula neuronal pode ser uma alternativa inevitável e necessária para o normal funcionamento cerebral. No que diz respeito às células tumorais, estas entram num ciclo celular aberrante dividindo-se

e perpetuando as características tumorais. Assim sendo, as estratégias de inibição do ciclo celular são uma importante forma de proteção neuronal, contribuindo para a não proliferação das células tumorais e para a gênese de células progenitoras neuronais no cérebro adulto. De facto, há evidências de replicação anormal do ADN que foram identificadas em doenças como a doença de Alzheimer, epilepsia, doença de Parkinson e esclerose lateral amiotrófica (Liu *et al.*, 2010). Mais ainda, estudos genómicos e bioinformáticos classificaram o ciclo celular como um dos principais fatores responsáveis pela transcrição de genes, em que uma alteração nestes processos pode resultar em várias agressões no sistema nervoso central como convulsões, hemorragias intracerebrais e isquemia. Um ciclo celular aberrante marca uma série de doenças do sistema nervoso central associadas à morte neuronal, enquanto a persistência de um ciclo celular indefinidamente se associa, mais comumente a processos tumorais em que a replicação e sobrevivência celulares estão perpetuadas mesmo em presença de oncogenes. A inibição do ciclo celular pode ser útil ao tratamento das doenças do sistema nervoso central em que há alteração do ciclo celular, prevenindo a morte celular e a progressão da doença (Liu *et al.*, 2010). Em teoria, qualquer parte do ciclo celular poderia ser um alvo para a descoberta de agentes farmacológicos eficazes, mas no entanto, têm falhado devido à falta de especificidade para os seus alvos. Por exemplo, qualquer terapêutica que previna a morte celular pelo bloqueio da sinalização mitogénica tem um benefício limitado porque também limitará o processo neurogénico. Associado à inibição do ciclo celular, por exemplo nas terapêuticas anti-tumorais, podem ocorrer também disfunções cognitivas, que podem também ser explicadas pela falta de especificidade da terapêutica aplicada (Liu *et al.*, 2010).

As doenças neurodegenerativas são caracterizadas pela perda progressiva de células da população neuronal do sistema nervoso. Neste grupo de doenças a morte celular é muitas vezes justificada pelo stresse oxidativo do seu microambiente (Wang *et al.*, 2008). As terapias de substituição dos neurónios por transplantação celular são atualmente alternativas com al-

gum sucesso, promovendo o recrutamento e diferenciação de células estaminais neuronais endógenas (Romanko *et al.*, 2004). Mais ainda, mecanismos que envolvem a neurogênese, a remodelação sináptica e a neuroprotecção têm importância clínica em doenças como a epilepsia (em que convulsões severas desencadeiam excitotoxicidade) ou a doença de Alzheimer (Hajszan *et al.*, 2007). Os estados epiléticos causam neurodegenerescência ou mesmo morte celular, reorganização anormal dos circuitos cerebrais com perda significativa da função inibitória e perda da plasticidade sináptica com reflexos na potenciação das respostas sináticas a longo prazo. As estratégias neuroprotetoras proporcionadas pela neurogênese são promissoras no tratamento destes sintomas, mas apesar das células estaminais neurogénicas persistirem durante a vida de um indivíduo, a capacidade de auto-reparação cerebral é limitada. No entanto, estratégias como a reinervação de neurónios, aumento da eficácia dos interneurónios ou a supressão da formação de sinapses aberrantes são apontadas como terapêuticas de sucesso (Acharya *et al.*, 2008).

As demências são défices adquiridos das capacidades cognitivas com grande impacto ao nível da aprendizagem e da memória (Kempermann *et al.*, 2008). Na doença de Alzheimer, a terapia com precursores neuronais poderá ainda permitir contornar o declínio cognitivo e o compromisso olfativo que surgem associados a uma fase precoce desta condição (Sotthibundhu *et al.*, 2008), permitindo a restauração das fibras celulares (Hajszan *et al.*, 2007). Mais ainda, um gene de suscetibilidade para a esquizofrenia foi estudado e comprovou-se a sua ação na regulação da maturação e integração das novas células granulares do hipocampo (Kaneko *et al.*, 2009). De modo semelhante, o uso da capacidade neurogénica no tratamento de doenças neurológicas avançadas, como a Doença de Parkinson, pode ser útil através de processos de transplantação de células neuronais (Trujillo *et al.*, 2009), uma vez que aumentam significativamente a capacidade funcional e diminuem o volume de lesão celular (Chen *et al.*, 2009).

Um agente que tem sido mencionado como tendo capacidades neurogênicas e de proteção de novas células é o neuropeptídeo Y. Este neuropeptídeo é produzido pelas células de forma autócrina e parácrina (Alvarez-Buylla and Lim, 2004), e estimula a neurogênese em algumas áreas como o hipocampo (Gray, 2008) e o epitélio olfativo (Agasse *et al.*, 2008), sendo um possível agente terapêutico em doenças neurodegenerativas como a doença de Huntington por permitir o repovoamento celular. O neuropeptídeo Y é um neuromodulador que aumenta o número de mitoses que ocorrem num nicho neurogênico promovendo a proliferação e diferenciação de células neuronais (Agasse *et al.*, 2008; Decressac *et al.*, 2009), tendo ainda a capacidade de inibir a hiperatividade do hipocampo que ocorre em casos de excitotoxicidade (Chen *et al.*, 2009), e de modular também a ansiedade, a dor, o apetite e os processos de memória. No que diz respeito à proteção celular, o neuropeptídeo Y inibe a libertação excessiva de glutamato que ocorre em algumas condições de hiperexcitabilidade cerebral (Silva *et al.*, 2003). Mais ainda, previne a apoptose neuronal induzida pela metanfetamina em murgos administrados 4 vezes com 10 mg/kg de METH a cada 2 horas (Thiriet *et al.*, 2005).

As células estaminais neuronais podem também contribuir para a recuperação após um acidente vascular cerebral diminuindo os défices neurológicos e permitindo a recuperação de funções perdidas após a lesão, pela reconstrução do circuito neuronal (Chen *et al.*, 2009), proliferação, migração e diferenciação neuronal (Ziabreva *et al.*, 2006). Os novos neurónios podem ser encontrados em locais “não-neurogênicos”, onde o processo de formação de novos neurónios normalmente não ocorre, o que evidencia a capacidade de migração celular. Os vasos sanguíneos e as substâncias químicas libertadas podem funcionar como orientação para a migração de neuroblastos para as zonas lesadas. Uma vez no local da lesão, os neuroblastos diferenciam-se em neurónios para integrar a rede neuronal e restaurar a função perdida (Okano *et al.*, 2007).

Na esquizofrenia, a neurogênese do giro dentado está diminuída e este fator pode contribuir para a patogénese da doença, estando associado a desregulações subtis que culminam em défices acentuados nas células proliferativas precursoras e em dificuldade de memorização, uma vez que há dificuldade no encadeamento correto de memórias complexas (Kempermann *et al.*, 2008). É também importante referir que, apesar das anfetaminas serem drogas de abuso, podem também ser usadas para fins terapêuticos, por exemplo no tratamento de distúrbios hiperativos com défice de atenção em crianças, e a curto prazo, no tratamento da obesidade (Silva *et al.*, 2010), o que torna fundamental compreender os efeitos das anfetaminas na neurogênese do cérebro adulto.

REFERÊNCIAS/BIBLIOGRAFIA:

1. Acharya MM, Hattiangady B, Shetty AK (2008), **Progress in neuroprotective strategies for preventing epilepsy**, Progress in Neurobiology 84: 363-404
2. Agasse F, Bernardino L, Kristiansen H, Christiansen SH, Ferreira R, Silva B, Grade S, Woldbye DD, Malva JO, (2008) **Neuropeptide Y promotes neurogenesis in murine subventricular zone**, Stem Cells; 26; 1636-1645
3. Agasse F, Bernardino L, Silva B, Ferreira R, Grade S, Malva JO, (2008) **Response to histamine allows the functional identification of neuronal progenitors, neurons, astrocytes and immature cells in subventricular zone cell cultures**, Rejuvenation Research, volume 11, number 1, 187-200
4. Andersen SL, Teicher MH (2009), **Desperately driven and no brakes: Developmental stress exposure and subsequent risk for substance abuse**, Neuroscience and Biobehavioral Reviews 33, 516-524
5. Ajjimaporn A, Shavali S, Ebadi M, Govitrapong P, (2008) **Zinc rescues dopaminergic SK-N-SH cell lines from methamphetamine-induced toxicity**, Brain Research Bulletin 77 361-366
6. Alvarez-Buylla A, Lim DA (2004), **For the long run: maintaining germinal niches in the adult brain.**, Neuron., 41 (5): 683-686
7. Auld DS, Robitaille R, (2003) **Glial cells and Neurotransmission**, Neuron, vol.40, 389-400
8. Bairos, Vasco, et al (2006), **Histologia – Texto e Imagens**, Coimbra – Impressora da Universidade
9. Barr JL, Renner KJ, Forster GL (2010), **Withdrawal from chronic amphetamine produces persistent anxiety-like behavior but temporally-limited reduction in monoamines and neurogenesis in the adult rat dentate gyrus**, Neuropharmacology 59: 395-405
10. Barres BA, (2003) **What is a glial cell?**, Glial 43, 4-5
11. Belvindrah R, Nissant A, Lledo PM (2011), **Abnormal Neuronal Migration Changes the Fate of Developing Neurons in the Postnatal Olfactory Bulb**, The Journal of Neuroscience, 31(20): 7551-7562
12. Bento AR, Baptista S, Malva JO, Silva AP, Agasse F. (2011), **Methamphetamine exerts toxic effects on subventricular zone stem/progenitor cells and inhibits neuronal differentiation**, Rejuvenation Res. 2011 Apr;14(2):205-214
13. Brown JM, Hanson GR, Fleckenstein AE (2001), **Cocaine-induced increases in vesicular dopamine uptake: role of dopamine receptors**, J Pharmacol Exp Ther., 298(3), 1150-1153

14. Brown JM, Hanson GR, Fleckenstein AE (2001), **Regulation of the vesicular monoamine transporter-2: a novel mechanism for cocaine and other psychostimulants**, *J Pharmacol Exp Ther.*, 296(3), 762-767
15. Brown TE, Lee BR, Ryu V, Herzog T, Czaja K, Dong Y (2010), **Reducing hippocampal cell proliferation in the adult rat does not prevent the acquisition of cocaine-induced conditioned place preference**, *Neuroscience Letters*, 481, 41-46
16. Bruel-Jungerman E, Davis S, Laroche S (2007), **Brain plasticity mechanisms and memory: a party of four**, *The Neuroscientist*, vol.13, no.5
17. Cadet JL and Krasnova IN (2007), **Interactions of HIV and Methamphetamine: Cellular and Molecular Mechanisms of Toxicity Potentiation**, *Neurotoxicity Research*, Vol 12(2), pp 1-24
18. Cadet JL, Krasnova IN, Ladenheim B, Cai NC, McCoy MT, Atianjoh FE (2009) **Methamphetamine Preconditioning: Differential Protective Effects on Monoaminergic Systems in the Rat Brain**, *Neurotox Res* 15:252-259
19. Catlow BJ, Badanich KA, Sponaugle AE, Rowe AR, Song S, Rafalovich I, Sava V, Kirstein CL, Sanchez-Ramos J (2010), **Effects of MDMA ("ectasy") during adolescence on place conditioning and hippocampal neurogenesis**, *European Journal of Pharmacology*, 628: 96-103
20. Chen B et al., (2009) **Neuroprotective effect of grafting GDNF gene- modified neural stem cells on cerebral ischemia in rats**, *Brain Res.*
21. Chen JJ, Ly AV (2006), **Rasagiline: A Second-Generation Monoamine Oxidase Type-B Inhibitor for the Treatment of Parkinson's Disease**, *American Journal of Health-System Pharmacy*;63(10):915-928
22. Chen X, Ghribi O, Geiger JD (2010), **Caffeine protects against disruptions of the blood-brain barrier in animal models of Alzheimer's and Parkinson's disease**, *J Alzheimers Dis.*, 20(Suppl 1), S127-S141
23. Cho KO, Rhee GS, Kwack SJ, Chung SY, Kim SY (2008), **Developmental exposure to 3,4-methylenedioxymethamphetamine results in downregulation of neurogenesis in the adult mouse hippocampus**, *Neuroscience*, 154: 1034-1041
24. Cho K and Kim SY (2010), **Effects of Brain Insults and Pharmacological Manipulations on the Adult Hippocampal Neurogenesis**, *Arch Pharm Res*, Vol 33, No 10, 1475-1488.

25. Chojnacki AK, Mak GK, Weiss S (2009), **Identity crisis for adult periventricular neural stem cells: subventricular zone astrocytes, ependymal cells or both?**, Nature Reviews – NeuroScience, vol. 10, 153-163
26. Crews FT and Vetreno RP,(2011) **Addiction, Adolescence, and Innate Immune Gene Induction**, Front Psychiatry, 2: 19.
27. Cuyàs E, Verdejo-García A, Fagundo AB, Khymnets O, Rodríguez J, Cuenca A, Llopis SS, Langohr K, Peña-Casanova J, Torrens M, Martín-Santos R, Farré-Magí, Torre R (2011), **The influence of Genetic and Environmental Factors among MDMA Users in Cognitive Performance**, PLoS ONE, volume 6, issue 11
28. Cunha-Oliveira T, Rego AC, Oliveira CR (2008), **Cellular and molecular mechanisms involved in the neurotoxicity of opioid and psychostimulant drugs**, Brain Research Reviews 58, 192-208
29. Decressac M, Prestoz L, Veran J, Cantereau A, Jaber M, Gaillard A (2009), **Neuropeptide Y stimulates proliferation, migration and differentiation of neural precursors from the subventricular zone in adult mice**, Neurobiology of Disease 34, 441-449
30. Demir O, Singh S, Klimaschewski L, Kurnaz IA (2009), **From Birth till death: Neurogenesis, Cell Cycle, and Neurodegeneration**, The Anatomical Record 292: 1953-1961
31. Doetsch F (2003), **The glial identity of neural stem cells**, Nat Neurosci, 6(11), 1127-1134
32. Domínguez-Escribà L, Hernández-Rabaza V, Soriano-Navarro M, Barcia JA, Romero FJ, García-Verdugo JM, Canales JJ (2006), **Chronic cocaine exposure impairs progenitor proliferation but spares survival and maturation of neural precursors in adult rat dentate gyrus**, European Journal of Neuroscience, vol. 24, 586-594
33. Ehninger D and Kempermann G (2003), **Regional Effects of Wheel Running and Environmental Enrichment on Cell Genesis and Microglia Proliferation in the Adult Murine Neocortex**, Cerebral Cortex, 13, 845–851
34. Eisch A, Harburg GC (2006), **Opiates, Psychostimulants and Adult Hippocampal Neurogenesis: Insights for Addiction and Stem Cell Biology**, Hippocampus 16: 271-286
35. Encinas JM, Vaahtokari A, Enikolopov G (2006), **Fluoxetine targets early progenitor cells in the adult brain**, PNAS, vol. 103, no. 21, 8233-8238

36. Faiz M, Acarin L, Villapol S, Schulz S, Castellano B, Gonzalez B, (2008) **Substantial migration of SVZ cells to the cortex results in the generation of new neurons in the excitotoxically damaged immature rat brain**, Mol. Cell. Neurosci., 38 170-182
37. Fleckenstein AE, Volz TJ, Riddle EL, Gibb JW, Hanson GR (2007), **New Insights into the Mechanism of Action of Amphetamines**, Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol., 47: 681-698
38. Garcia-Fuster M. J., Perez J. A., Clinton S. M., Watson S. J., Akil H. (2010), **Impact of Cocaine on Adult Hippocampal Neurogenesis in an Animal Model of Differential Propensity to Drug Abuse**, European Journal of Neuroscience, Vol.31, pp. 79-89
39. Giros B, Jaber M, Jones SR, Wightman RM, Caron MG (1996), **Hyperlocomotion and indifference to cocaine and amphetamine in mice lacking the dopamine transporter**, Nature, 379 (6566): 606-612
40. Goldman LS, Genel M, Bezman RJ, Slanetz, PJ (1998), **Diagnosis and Treatment of Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder in Children and Adolescents**, JAMA, vol. 279, no. 14
41. Gonzalez-Perez O, Jauregui-Huerta F, Galvez-Contreras A (2010), **Immune system modulates the function of adult neural stem cells**, Curr Immunol Rev., 6(3): 167-173
42. Gonçalves J, Baptista S, Martins T, Milhazes N, Borges F, Ribeiro CF, Malva JO, Silva AP (2010), **Methamphetamine-induced neuroinflammation and neuronal dysfunction in the mice hippocampus: preventive effect of indomethacin**, European Journal of Neuroscience, vol.31, 315-326
43. Gould E, Tanapat P (1999), **Stress and hippocampal neurogenesis**, Biol Psychiatry;46, 1472-1479
44. Gouzoulis-Mayfrank E, Daumann J (2009), **Neurotoxicity of drugs of abuse - the case of methylenedioxy amphetamines (MDMA, ecstasy), and amphetamines**, Dialogues Clin Neurosci, 11(3): 305-317
45. Graciarena M, Depino AM, Pitossi FJ (2010), **Prenatal inflammation impairs adult neurogenesis and memory related behaviour through persistent hippocampal TGF β 1 downregulation**, Brain, Behaviour and Immunity, 24, 1301-1309
46. Gray, WP (2008), **Neuropeptide Y signalling on hippocampal stem cells in health and disease**, Molecular and Cellular Endocrinology, volume 288, issues 1-2, 52-62
47. Hajszan T, Milner TA, Leranath C. (2007), **Sex Steroids and the dentate gyrus**, Prog Brain Res.; 163C: 399-816

48. Han ME, Park KH, Baek SY, Kim BS, Kim JB, Kim HJ, Oh SO (2007), **Inhibitory effects of caffeine on hippocampal neurogenesis and function**, Biochemical and Biophysical Research Communications 356, 976-980
49. Hernández-Rabaza V, Domínguez-Escribà L, Barcia JA, Rosel JF, Romero FJ, García-Verdugo JM, Canales JJ (2006), **Binge administration of 3,4-methylenedioxymethamphetamine ("ecstasy") impairs the survival of neural precursors in adult rat dentate gyrus**, Neuropharmacology 51: 967-973
50. Hernández-Rabaza V, Llorens-Martín M, Velázquez-Sánchez C, Ferragud A, Arcusa A, Gumus HG, Gómez-Pinedo U, Pérez-Villalba A, Roselló J, Trejo JL, Barcia JA, Canales JJ (2009), **Inhibition of adult hippocampal neurogenesis disrupts contextual learning but spares spatial working memory, long-term conditional rule retention and spatial reversal**, Neuroscience, 159: 59-68
51. Hernández-Rabaza V, Navarro Mora G, Velazquez-Sanchez C, Ferragud A, Marin MP, García-Verdugo JM, Renau-Piqueras J Canales JJ (2010), **Neurotoxicity and persistent cognitive deficits induced by combined MDMA and alcohol exposure in adolescent rats**, Addiction Biology, 15: 413-423
52. Hodges AB, Ladenheim B, McCoy MT, Beauvais G, Cai N, Krasnova IN, Cadet JL (2011), **Long-term protective effects of methamphetamine preconditioning against single-day methamphetamine toxic challenges.**, Curr Neuropharmacol, 9(1):35-9.
53. Ikemoto S (2010), **Brain Reward circuit beyond the mesolimbic dopamine system: a neurobiological theory**, Neurosci Biobehav Rev., 35(2), 129-150
54. Junqueira, Luiz, et al (2004), Histologia **Básica** – Texto e Atlas, GUANABARA KOOGAN S/A
55. Kaneko N, Sawamoto K (2009), **Adult Neurogenesis and its alteration under pathological conditions**, Neuroscience Research 63, 155-164
56. Kalapatapu RK, Vadhan NP, Rubon E, Bedi G, Cheng WY, Sullivan MA, Foltin RW (2011), **A pilot study of neurocognitive function in older and younger cocaine abusers and controls**, The American Journal on Addictions, 20, 228-239
57. Kempermann G, Krebs J, Fabel K (2008), **The contribution of failing adult hippocampal neurogenesis to psychiatric disorders**, Psychiatry 21: 290-295
58. Kirby K, Rutman LE, Bernstein H (2002), **Attention-deficit/hyperactivity disorder: a therapeutic update**, Curr Opin Pediatr., 14(2), 236-46

59. Kochman LJ, Fornal CA, Jacobs BL (2009), **Suppression of hippocampal cell proliferation by short-term stimulant drug administration in adult rats**, *European Journal of neuroscience*, vol. 29, pp.2157-2009
60. Krasnova IN, Cadet JL (2009), **Methamphetamine toxicity and messengers of death**, *Brain Research Reviews*, 60, 379-407
61. Kuhn HG, Dickinson-Anson H, Gage FH (1996), **Neurogenesis in the Dentate Gyrus of the Adult Rat: Age-Related Decrease of Neuronal Progenitor Proliferation**, *The Journal of Neuroscience*, 16(6), 2027-2033
62. Lagace DC, Yee JK, Bolaños CA, Eisch AJ (2006), **Juvenile administration of methylphenidate attenuates adult hippocampal neurogenesis**, *Biol Psychiatry*, 60(10), 1121-30
63. Lautner R, Mattson N, Schöll M, Augutis K, Blennow K, Olsson B, Zetterberg H (2011), **Biomarkers for Microglial Activation in Alzheimer's Disease**, *International Journal of Alzheimer's Disease*, volume 2011
64. Lie DC, Song H, Colamarino SA, Ming GL, Gage FH (2004), **Neurogenesis in the adult brain: new strategies for central nervous system diseases**, *Annu Rev Pharmacol Toxicol.*, 44, 399-421
65. Lim JC, Wolpaw AJ, Caldwell MA, Hladky SB, Barrand MA (2007), **Neural precursor cell influences on blood-brain barrier characteristics in rat brain endothelial cells**, *Brain Research*, 1159, 67-76
66. Lim DA, Huang Y, Alvarez-Buylla A (2007), **The adult neural stem cell niche: lessons for future neural cell replacement strategies**, *Neurosurg Clin N Am*, 18, 81-92
67. Liu D, Ander B, Sharp F (2010), **Cell cycle inhibition as a strategy for treatment of central nervous system diseases which must not block normal neurogenesis**, *Neurobiol Dis.*, 37(3): 549-557
68. Lledo PM, Alonso M, Grubbs MS, (2006) **Adult Neurogenesis and Functional Plasticity in Neuronal Circuits**, *Nature Reviews-Neuroscience*, volume 7, March
69. Llorens-Martín M, Tejeda GS, Trejo JL (2010), **Differential Regulation of the variations induced by a Environmental Richness in Adult Neurogenesis as a function of time: A dual Birthdating analysis**, *PLoS One* 5 (8): e12188
70. Maeda K, Sugino H, Hirose T, Kitagawa H, Nagai T, Mizoguchi H, Takuma K, Yamada K (2007), **Clozapine prevents a decrease in neurogenesis in mice repeatedly treated with phencyclidine**, *J Pharmacol Sci* 103, 299-308

71. Mandyam CD, Wee S, Crawford EF, Eisch A J, Richardson HN, Koob GF, (2008) **Varied Access to Intravenous Methamphetamine Self-Administration Differentially Alters Adult Hippocampal Neurogenesis**, *Biol Psychiatry*, 64; 958-965
72. Mandyam, CD, Wee S, Eisch A, Richardson HN, Koob GF (2007), **Methamphetamine self-administration and voluntary exercise have opposing effects on medial prefrontal cortex gliogenesis**, *The Journal of Neuroscience*, 27 (42); 11442-11450
73. Martins T, Baptista S, Gonçalves J, Leal E, Milhazes N, Borges F, Ribeiro CF, Quintela O, Lendoiro E, López-Rivadulla M, Ambrósio AF, Silva AP (2011), **Methamphetamine transiently increases the blood-brain barrier permeability in the hippocampus: Role of tight junction proteins and matrix metalloproteinase-9**, *Brain Res.*, doi:10.1016/j.brainres.2011.07.013
74. Matsumoto RR, Shaikh J, Wilson LL, Vedam S, Coop A (2008), **Attenuation of methamphetamine-induced effects through the antagonism of sigma receptors: evidence from in vivo and in vitro studies**, *European Neuropsychopharmacology*, 18, 871-881.
75. Miller KJ, Castellanos FX (1998), **Attention deficit/hyperactivity disorders**, *Pediatr Rev.*, 19(11), 373-84
76. Nixon K, Morris SA, Liput DJ, Kelso ML (2010), **Roles of neural stem cells and adult neurogenesis in adolescent alcohol use disorders**, *Alcohol* 44, 39-56
77. Noonan MA, Bulin S, Fuller DC, Eisch, AJ (2010), **Reduction of adult hippocampal neurogenesis confers vulnerability in an animal model of cocaine addiction**, *J Neurosci* 30 (1): 304-315
78. Noonan MA, Choi KH, Self DW, Eisch AJ, (2008) **Withdrawal from cocaine self-administration normalizes deficits in proliferation and enhances maturity of adult-generated hippocampal neurons**, *The Journal of Neuroscience*, 28 (10); 2516-2526
79. Okano H, Sakaguchi M, Ohki K, Suzuki N, Sawamoto K (2007), **Regeneration of the central nervous system using endogenous repair mechanisms**, *Journal of Neurochemistry*, 102, 1459-1465
80. Olariu A, Cleaver KM, Cameron HA (2007), **Decreased neurogenesis in aged rats results from loss of granule cell precursors without lengthening of the cell cycle**, *J Comp Neurol.*, 501(4), 659-67
81. Ortega-Perez I, Murray I, Lledo PM, (2007) **The How and Why of Adult Neurogenesis**, *J Mol, Hist* 38:555-562
82. Quiñones-Hinojosa A, Chaichana K (2007), **The human subventricular zone: a source of new cells and a potential source of brain tumors**, *Experimental Neurology*, 205, 313-324.

83. Ramirez-Rodriguez G, Klempin F, Babu H, Benitez-King G, Kempermann G (2009), **Melatonin Modulates Cell Survival of New Neurons in the Hippocampus of adult Mice**, *Neuropsychopharmacology*, 1-12
84. Riquelme PA, Drapeau E, Doetsch F, (2008) **Brain micro-ecologies: neural stem cell niches in the adult mammalian brain**, *Philosophical Transactions of The Royal Society*, 363, 123-137
85. Rodini C, Suzuki D, Nakahata A, Pereira M, Janjoppi L, Toledo S, Okamoto O (2010), **Aberrant signaling pathways in medulloblastomas: a stem cell connection**, *Arq. Neuro-Psiquiatr*, vol. 68, no.6
86. Romanko MJ, Rola R, Fike JR, Szele FG, Dizon ML, Felling RJ, Brazel CY, Levison SW (2004), **Roles of the mammalian subventricular zone in cell replacement after brain injury**, *Prog Neurobiol*, 74(2), 77-99
87. Schaefers AT, Teuchert-Noodt G, Bagorda F, Brummelte S (2009), **Effect of postnatal methamphetamine trauma and adolescent methylphenidate treatment on adult hippocampal neurogenesis in gerbils**, *European Journal of Pharmacology*, 616, 86-90
88. Schinder AF, Olson EC, Spitzer NC, Montal M (1996), **Mitochondrial dysfunction is a primary event in glutamate neurotoxicity**, *The Journal of Neuroscience*, 16(19): 6125-6133
89. Snell, Richard S. (2005) **Clinical Neuroanatomy**, Wolters Kluwer - Lippincott, Williams & Wilkins, 6th edition.
90. Snyder JS, Hong NS, McDonald RJ, Wojtowicz JM (2005), **A role for adult neurogenesis in spatial long-term memory**, *Neuroscience* 130, 843-852
91. Silva AP, Martins T, Baptista S, Goncalves J, Agasse F, Malva JO (2010), **Brain Injury Associated with Widely Abused Amphetamines: Neuroinflammation, Neurogenesis and Blood-Brain Barrier**, *Current Drug Abuse Reviews*, vol.3, no.4
92. Sothibundhu A, Li QX, Thangnipon W, Coulson EJ, (2008) **A β ₁₋₄₂ stimulates adult SVZ neurogenesis through the p75 neurotrophin receptor**, *Neurobiol Aging*
93. Stanic D, Paratcha G, Ledda F, Herzog H, Kopin AS, Hokfelt T, (2008) **Peptidergic influences on proliferation, migration and placement of neural progenitors in the adult mouse forebrain**, *PNAS*, vol. 105, n° 9, 3610-3615
94. Teuchert-Noodt G, Dawirs RR, Hildebrandt K (2000), **Adult treatment with methamphetamine transiently decreases dentate granule cell proliferation in the gerbil hippocampus**, *J Neural Transm*, 107, 133-143

95. Thiriet N, Deng X, Solinas M, Ladenheim B, Curtis W, Goldberg SR, Palmiter RD, Cadet JL (2005), **Neuropeptide Y protects against methamphetamine-induced neuronal apoptosis in the mouse striatum**, *The Journal of Neuroscience*, 25(22): 5273-5279
96. Thompson PM, Hayashi KM, Simon SL, Geaga JA, Hong MS, Sui Y, Lee JY, Toga AW, Ling W, London ED (2004), **Structural Abnormalities in the brains of human subjects who use methamphetamine**, *The Journal of Neuroscience*, 24 (26), 6028-6036
97. Tian C, Murrin C, Zheng JC (2009), **Mitochondrial fragmentation is involved in methamphetamine-induced cell death in rat hippocampal neural progenitor cells**, *PLoS ONE*, volume 4, issue 5
98. Trujillo CA, Schwindt TT, Martins AH, Alves JM, Mello LE, Henning Ulrich (2009), **Novel Perspectives of Neural Stem Cell Differentiation: From Neurotransmitters to Therapeutics**, *Cytometry Part A*, 75A: 38-53
99. Venkatesan A, Nath A, Ming GI, Song H (2007), **Adult hippocampal neurogenesis: regulation by HIV and drugs of abuse**, *Cell. Mol. Life Sci.* 64, 2120-2132
100. Wang JQ, Lau YS (2001), **Dose-related alteration in nitric oxide synthase mRNA expression induced by amphetamine and the full D1 dopamine receptor agonist SKF-82958 in mouse striatum**, *Neurosci Lett*, 311(1), 5-8
101. Wang SF, Yen JC, Yin PH, Chi CW, Lee HC (2008), **Involvement of oxidative stress-activated JNK signaling in the methamphetamine-induced cell death of human SH-SY5Y cells**, *Toxicology* 246, 234-241
102. Wentz C, Magavi SSP (2010), **Caffeine alters proliferation of neuronal precursors in the adult hippocampus**, *Neuropharmacology*, 56 (6-7): 994-1000
103. Wostyn P, Dam D, Audenaert K, Deyn P (2011), **Increased Cerebrospinal Fluid Production as a Possible Mechanism Underlying Caffeine's Protective Effect against Alzheimer's Disease**, *Int J Alzheimers*, 617420
104. Yoneyama M, Shiba T, Hasebe S, Ogita K (2011), **Adult Neurogenesis is regulated by endogenous factors produced during neurodegeneration**, *J Pharmacol Sci* 115, 425-432
105. Yuan CJ, Quirocho JM, Kim A, Wee S, Mandyam, CD (2011), **Extended access methamphetamine decreases immature neurons in the hippocampus which results from loss and altered development of neural progenitors without altered dynamics of the S-phase of the cell cycle**, *Pharmacol Biochem Behav*, (1):98-108

106. Ziabreva I, Perry E, Perry R, Minger SL, Ekonomou A., Prsyborski S., Ballard C. (2006), **Altered neurogenesis in Alzheimer's disease**, Journal of Psychosomatic Research 61: 311-316
107. Zhang RL, Zhang ZG, Chopp M, (2008) **Ischemic stroke and neurogenesis in the subventricular zone**, Neuropharmacology 55, 345-352
108. Zhang X, Banerjee A, Banks WA, Ercal N (2009), **N-Acetylcysteine amide protects against methamphetamine-induced oxidative stress and neurotoxicity in immortalized human brain endothelial cells**, Brain Research 1275: 87-95.
109. Zhao C, Deng W and Gage FH, (2008) **Mechanisms and Functional Implications of Adult Neurogenesis**, Cell 132, 645-660.