

Introdução & Objetivo

A isquemia cerebral (IC) é uma das principais razões de mortalidade e deficiência adquirida em humanos, é causada por um bloqueio no fluxo sanguíneo o qual leva à morte celular na área afetada, sendo necessário investigar as vias que levam à reparação e à recuperação da função cerebral na área atingida.

A glicose é o principal substrato energético cerebral em condições fisiológicas. O seu catabolismo fornece a quantidade de ATP necessária para o funcionamento e manutenção das células neurais, sendo sua regulação crítica para a homeostase metabólica.

Considerando o papel do astrócito no metabolismo energético cerebral, o objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos de um modelo experimental de isquemia focal permanente (FPI) no metabolismo da glicose por duas metodologias distintas: microPET (*in vivo*) e em fatias de córtex (*ex vivo*) em dois tempos (2 e 9 dias).

Métodos

- Todos os procedimentos foram aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da UFRGS (processo #26674).
- No experimento, foram utilizados ratos Wistar machos de 90 dias, os quais foram divididos em dois grupos: Sham e Isquemia

Contralateral Ipsilateral

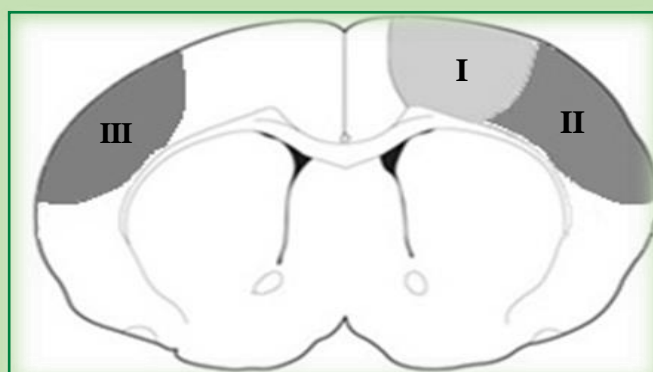
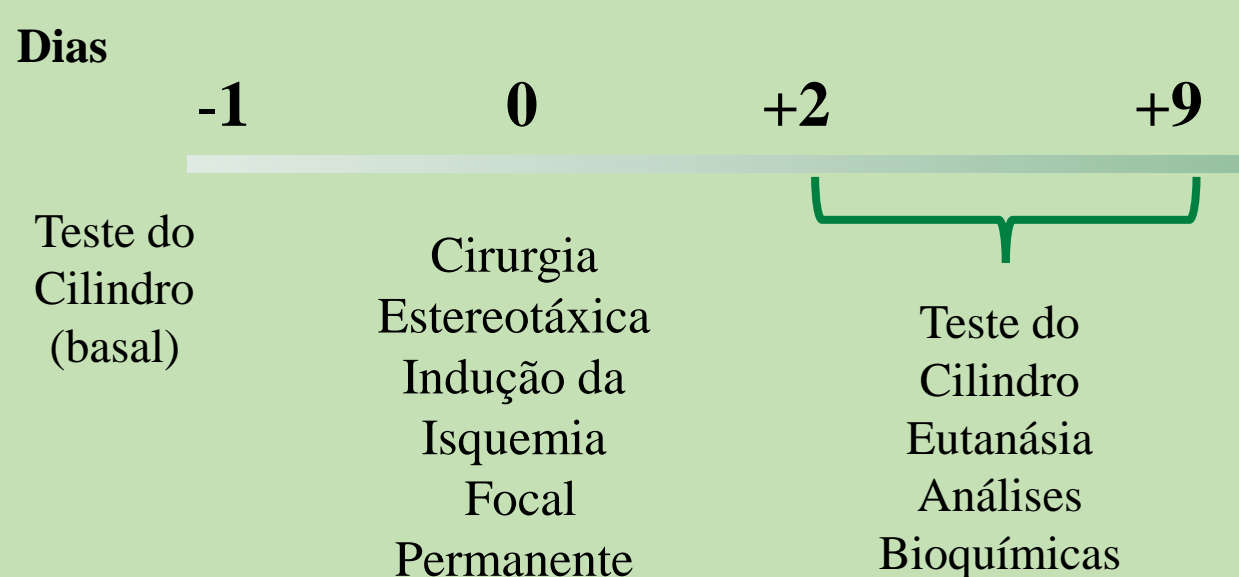


Figura 1. Ilustração esquemática das áreas cerebrais relevantes para este estudo: I - Infarto (core); II - Penumbra; III - Área equivalente à II contralateral

Foram realizadas análises bioquímicas em ambos os hemisférios cerebrais, ipsilateral (IP) e contralateral (CL) em dois tempos distintos: 2 e 9 dias.

Design Experimental



Análises Neuroquímicas:

Volume de Infarto: coloração de cloridrato de 2,3,5 trifeniltetrazólio (TTC)

Expressão de GFAP: imunohistoquímica

Metabolismo de [18F]FDG: microPET (*in vivo*)

Metabolismo de 2-[U-14C] Deoxi-D-Glicose: em fatias de córtex (*ex vivo*)

Resultados

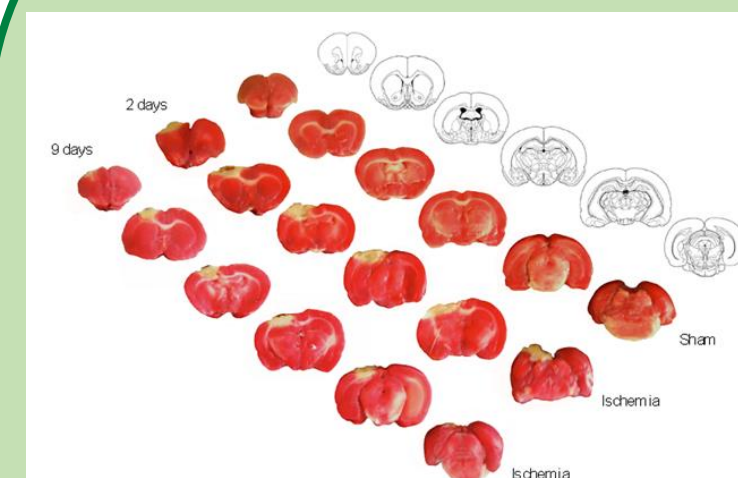


Figura 1. Coloração de TTC nos grupos experimentais 2 e 9 dias pós-isquemia em comparação com o sham. O modelo de FPI resultou em um volume de infarto médio de 119,18±8,99 mm³ (n=5) aos 2 dias. Pode-se observar uma recuperação parcial aos 9 dias (32,0±6,42 mm³, n=5)

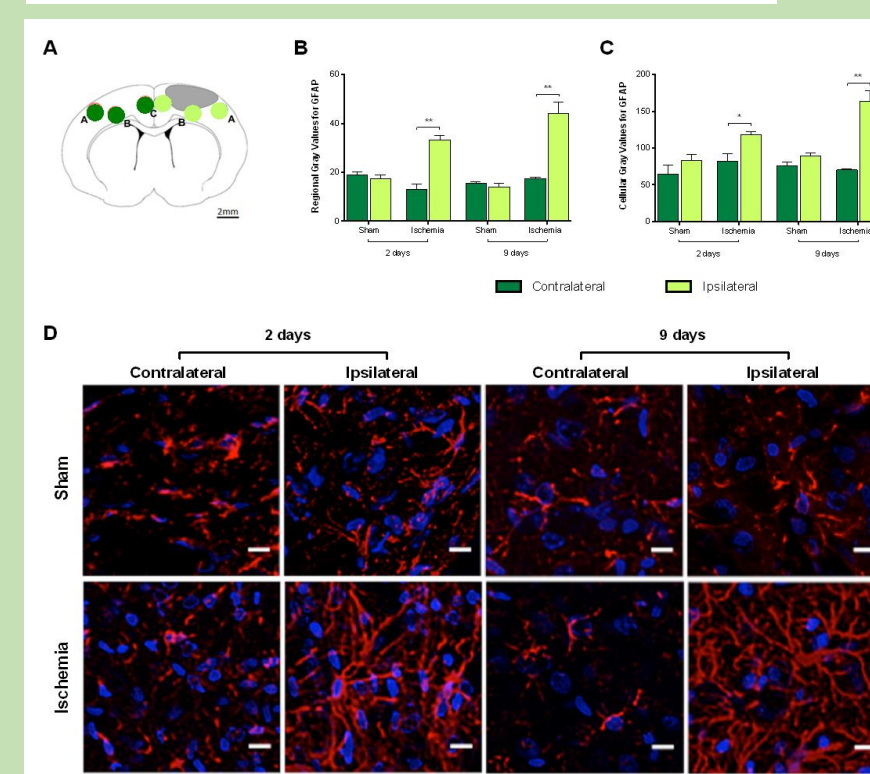
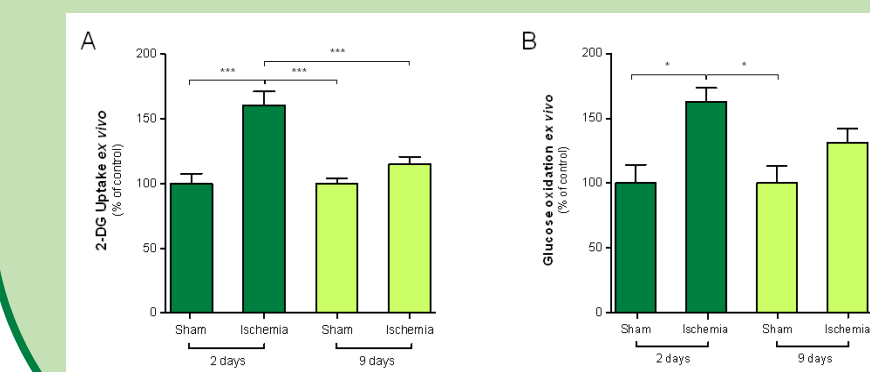


Figura 2. Metabolismo (*in vivo*) de [18F]FDG em microPET apresentou diminuição ipsilateral 2 e 9 dias pós-FPI em comparação com os valores basais (n=6).
A. Esquema representando a aplicação da anestesia e da mensuração em microPET de cada animal.
B. Cortical Ischemic Cluster - representação da área analisada *ex vivo* em todos os tempos (adaptado de Allen Brain Atlas). A cor vermelha representa maior significância estatística, P=0,0005 (*t*-statistical map).
C. Comparação entre os valores *baseline* com 2 e 9 dias pós-FPI do metabolismo de [18F]FDG.
D. Metabolismo de [18F]FDG 2 dias pós-FPI, mostrando uma região hipometabólica em relação aos valores *baseline*, P=0,0005 (*t*-statistical map). A cor vermelha representa maior significância estatística, P=0,0005 (*t*-statistical map).
E. Metabolismo de [18F]FDG 9 dias pós-FPI, mostrando uma região hipometabólica quando comparada com valores *baseline*, P=0,005 (*t*-statistical map). A cor vermelha representa maior significância estatística, P=0,0005 (*t*-statistical map).
F. Análises *voxel-based* entre os valores obtidos para o metabolismo de [18F]FDG 2 e 9 dias, demonstrando uma recuperação parcial significativa, P=0,0001 (*t*-statistical map). A cor vermelha representa maior significância estatística, P=0,0001 (*t*-statistical map).

Figura 3. A proteína GFAP tem sua expressão aumentada em astrócitos no córtex ipsilateral pós-FPI (n=3).
A. Fatia cerebral representando as regiões analisadas (adaptado de Paxinos e Watson, 2007): em azul, o hemisfério ipsilateral e, em vermelho, o contralateral.
B. Imunofluorescência regional para GFAP (*gray values*), ** representando P<0.01 (teste t).
C. Imunofluorescência celular para GFAP (*gray values*), * representando P<0.05 (teste t), ** representando P<0.01 (teste t).
D. Alterações morfológicas representativas em astrócitos no córtex ipsilateral 2 e 9 dias pós-FPI. Média+S.E.M. Escala: 20 µm.



Podemos observar uma recuperação parcial no hemisfério isquêmico aos 9 dias. Entretanto, na região analisada pode-se observar um hipometabolismo da [18F]FDG em ambos os tempos experimentais.

Figura 5. Metabolismo avaliado em fatias (*ex vivo*) também apresentou alterações no córtex ipsilateral (n=8).
A. Aumento de curto prazo (2 dias) da captura de glicose, ** representando P<0,01 (teste t).
B. 2 dias pós-FPI, a utilização de glicose (catabolismo até CO₂) é maior no córtex ipsilateral quando comparado com o grupo sham, * representando P<0,05 (teste t).

Análise de Sholl (dados não mostrados) constatou que os astrócitos tinham uma simetria mais radial em relação ao controle. Em conjunto, esses resultados evidenciam reatividade astrocitária 2 e 9 dias pós-FPI.

Conclusão

- Os resultados sugerem que a insuficiência de fluxo sanguíneo na região está por trás da diminuição do metabolismo de [18F]FDG.
- Enquanto as análises *in vivo* e *ex vivo* do metabolismo da glicose permitem uma visão mais completa em relação ao metabolismo pós-isquemia a curto e médio prazos (2 dias) e (9 dias). Indicando que o restabelecimento de fluxo sanguíneo regional deve ser prioridade no tratamento.

Apoio financeiro