



INTRODUÇÃO

O acidente vascular encefálico (AVE) isquêmico agudo começa com uma hipoperfusão focal severa, impedindo a síntese de ATP e iniciando uma série de processos neuroquímicos conhecidos como cascata isquêmica, culminando em morte celular [1]. A injúria cerebral se mantém por horas e até dias, expandindo a área de infarto.

A zona de penumbra é vista como o alvo tecidual para terapias de revascularização, pois é tida como tecido viável, contudo é um tecido passível de tornar-se permanentemente infartado. Quando a reperfusão ou circulação colateral se estabelece, esta zona pode recuperar-se. Sem reperfusão, as células cerebrais na zona de penumbra morrerão, e a lesão aumentará [2].

Normalmente, o glutamato é removido da fenda sináptica por transportadores (GLAST e GLT-1) encontrados principalmente em astrócitos, células gliais responsáveis pelo metabolismo do glutamato e reutilização pelos neurônios [3]. A captação de glutamato por astrócitos previne a excitotoxicidade, fenômeno encontrado em inúmeras disfunções cerebrais agudas e crônicas.

Minutes Hours Days Weeks

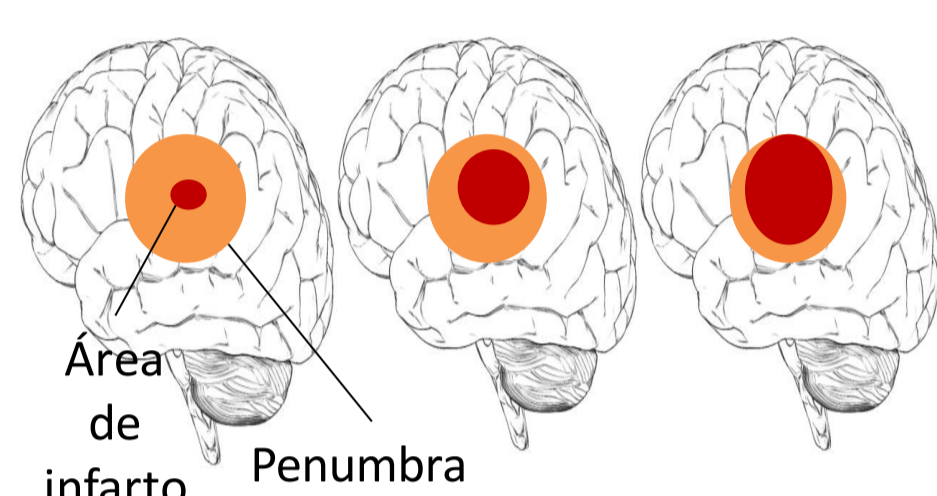


Figura 1. Ilustração representando a expansão da área de infarto (vermelho). O grande valor de definir a zona de penumbra (laranja) é o potencial de recuperação pela restauração, em tempo, do fluxo sanguíneo antes de atingir o limiar para morte neuronal.

Além disso, astrócitos tem um papel de fornecer substratos energéticos para neurônios (como lactato) suprindo seu metabolismo energético. Assim, a propagação da área de infarto pode modular disponibilidade de substratos e utilização pelo cérebro.

OBJETIVO

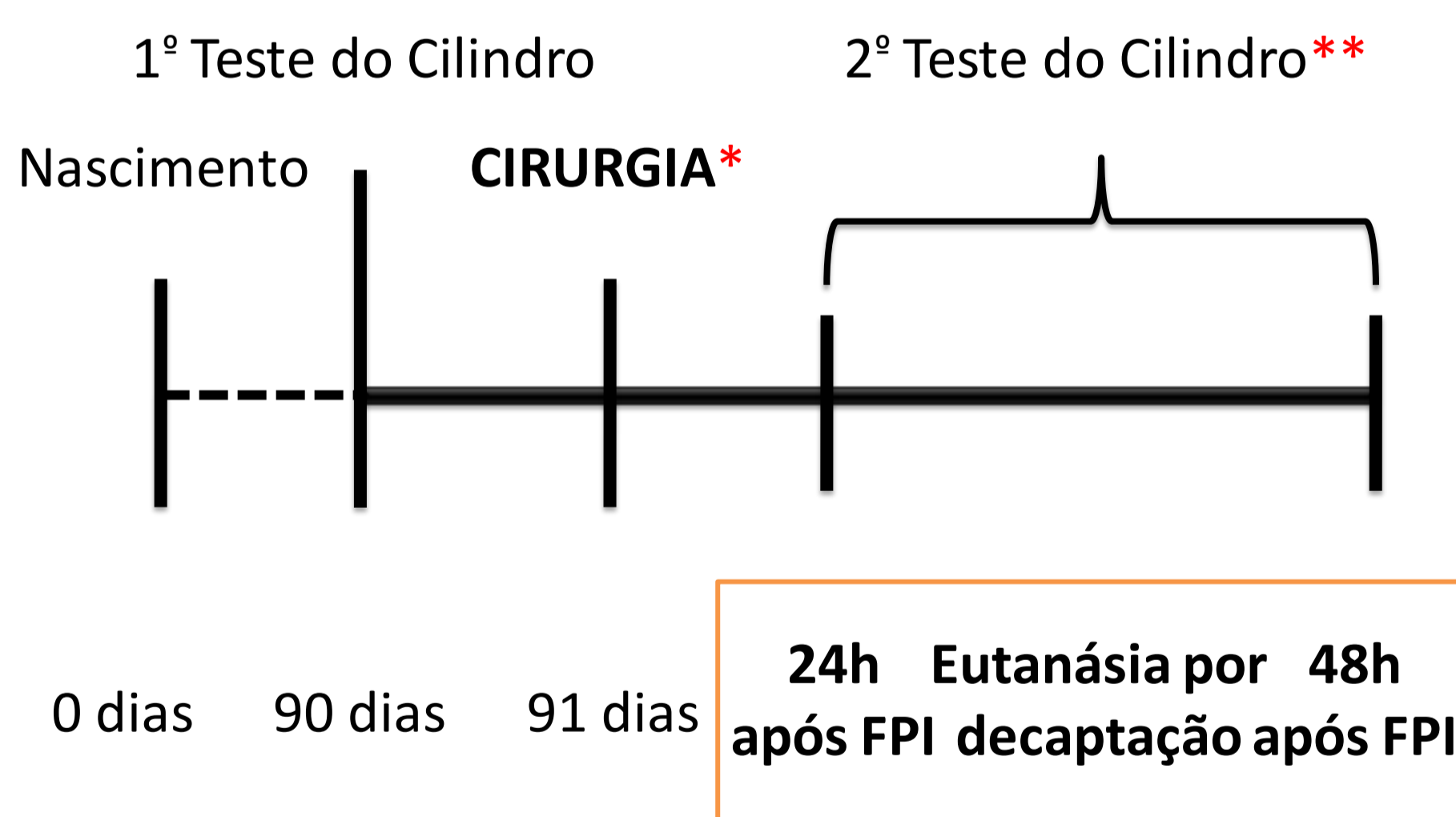
Considerando o papel do metabolismo astrocitário na excitotoxicidade e produção energética, este estudo avalia o efeito da propagação da injúria por no metabolismo energético, 24h e 48h após isquemia focal permanente (FPI).

MATERIAIS E MÉTODOS

Animais divididos randomicamente em dois grupos: sham (SS) e isquemia (IS). A FPI foi induzida cirurgicamente por termocoagulação sanguínea dos vasos piais dos córtices motor e sensoriomotor em ratos Wistar machos adultos (90 dias) [5].

DESIGN EXPERIMENTAL

Modelo cirúrgico + Tempos analisados

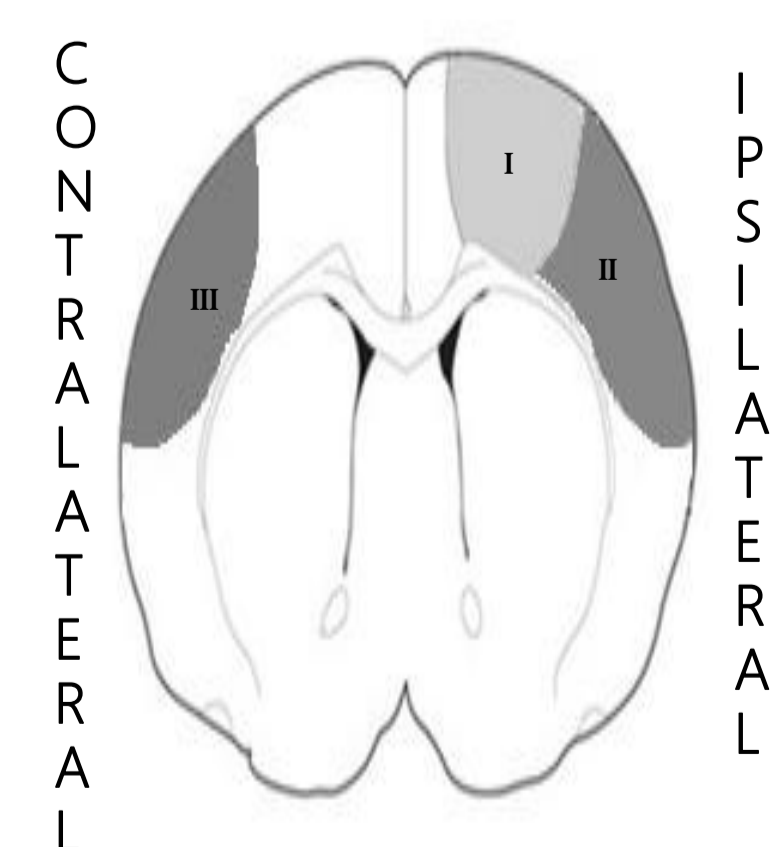


*SS: Animais submetidos somente à craniotomia.

**O teste do cilindro foi usado para avaliar a taxa de assimetria do animal. Para o grupo IS, apenas animais com taxas entre 70 e 90% foram usados para experimentos bioquímicos [6].

ANÁLISES BIOQUÍMICAS

Regiões cerebrais analisadas + metodologia



VOLUME DE INFARTO foi obtido pelo método de coloração do cloreto de 2,3,5-trifeniltetrazólio (TTC) [7];

CAPTAÇÕES DE GLUTAMATO E GLICOSE foram realizadas em fatias usando glutamato-³H [8].

CAPTAÇÃO DE LACTATO foi realizada usando lactato-¹⁴C.

OXIDAÇÕES DE SUBSTRATOS (glutamato, glicose e lactato) foram mensuradas pela produção de CO₂ marcado com ¹⁴C num contador de cintilações e expressas como cpm.mg⁻¹ [9].

I – Área de infarto: lesão estrutural;
II – Área adjacente à área de infarto (penumbra);
III – Região equivalente à região II, ipsilateral.

RESULTADOS

TESTE DO CILINDRO



Figura 3. O modelo de FPI por termocoagulação produz uma disfunção acentuada no membro anterior comprometido, como observado no teste do cilindro. Não foi observada disfunção do membro anterior no grupo SS.

VOLUME DE INFARTO

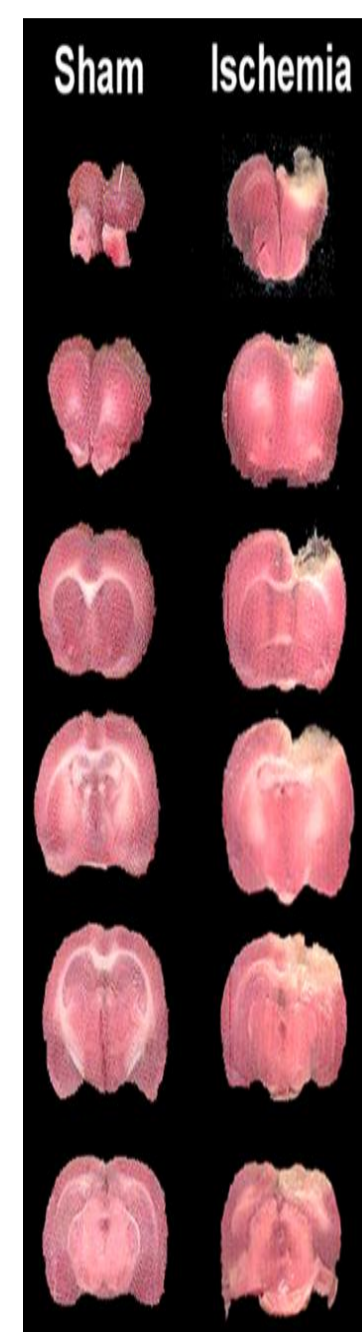
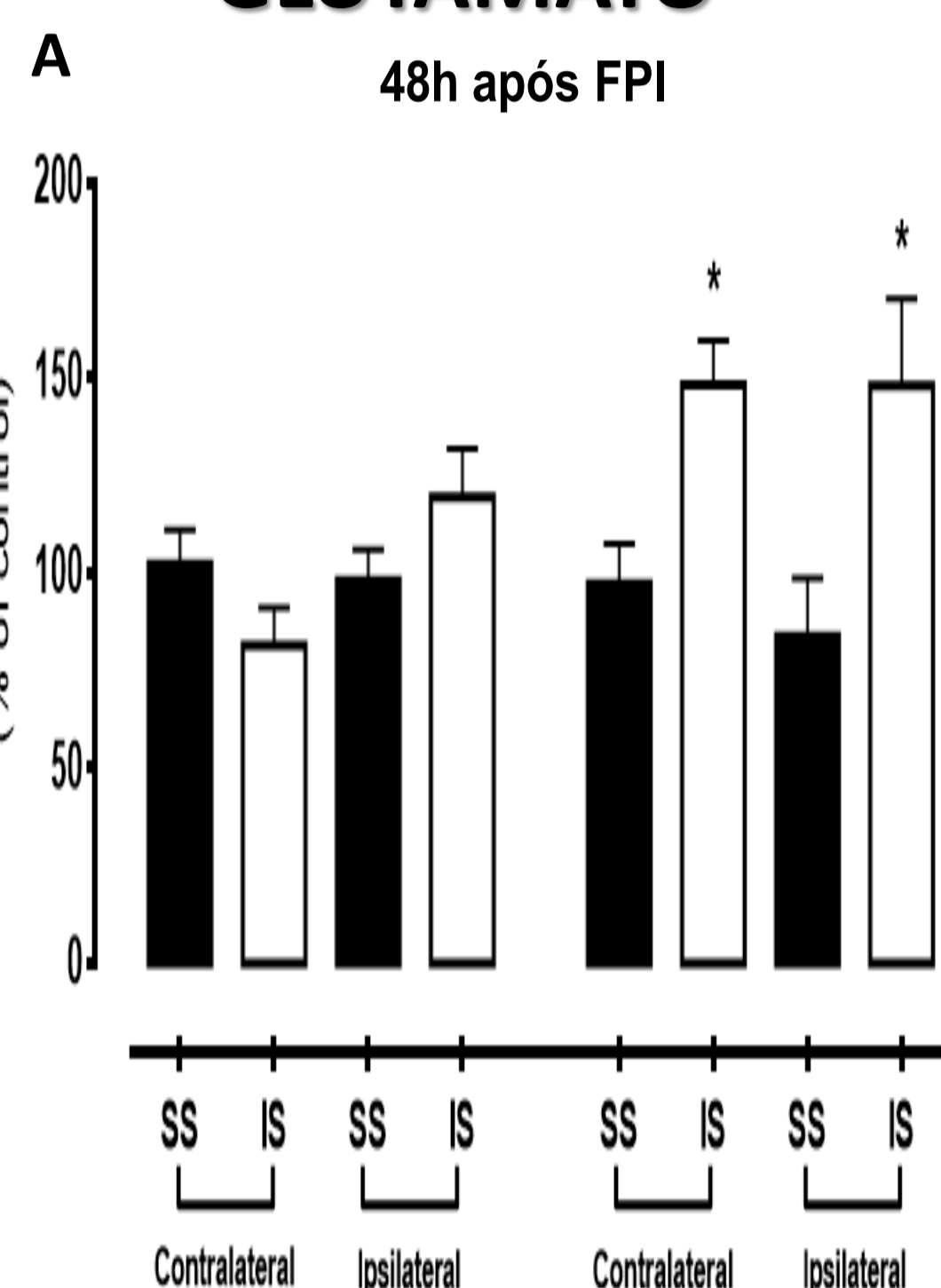
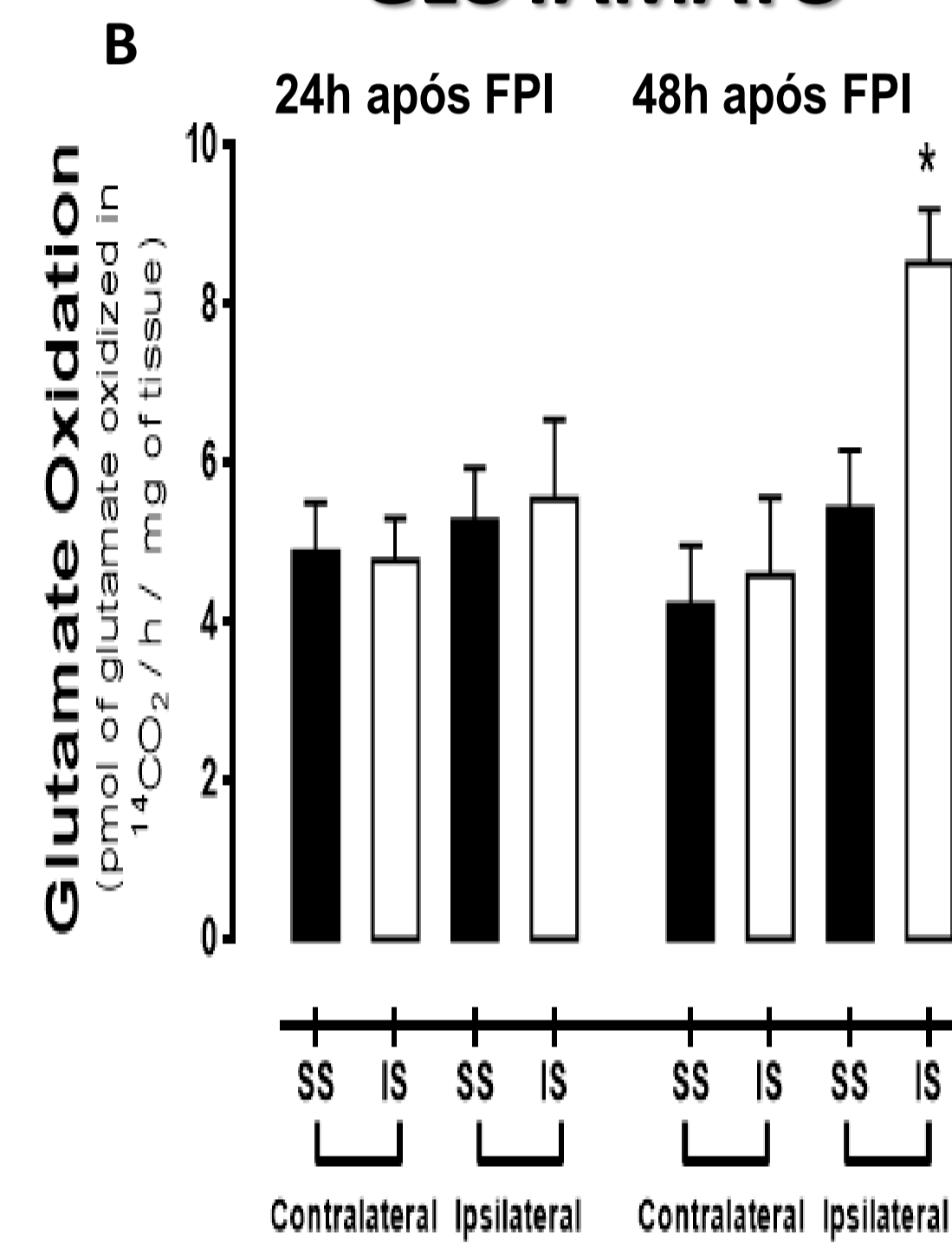


Figura 4. Método de coloração TTC. Brevemente as fatias foram imersas por 30 minutos em uma solução contendo 2% de cloreto de 2,3,5-trifeniltetrazólio (TTC) (Sigma, USA) a 30°C seguido de fixação de um dia para o outro numa solução contendo 4% de paraformaldeído (Sigma, USA). As fatias foram analisadas por Image J software (NIH, USA) e o volume de infarto foi calculado como descrito previamente. Volume de infarto médio = 119,188 mm³.

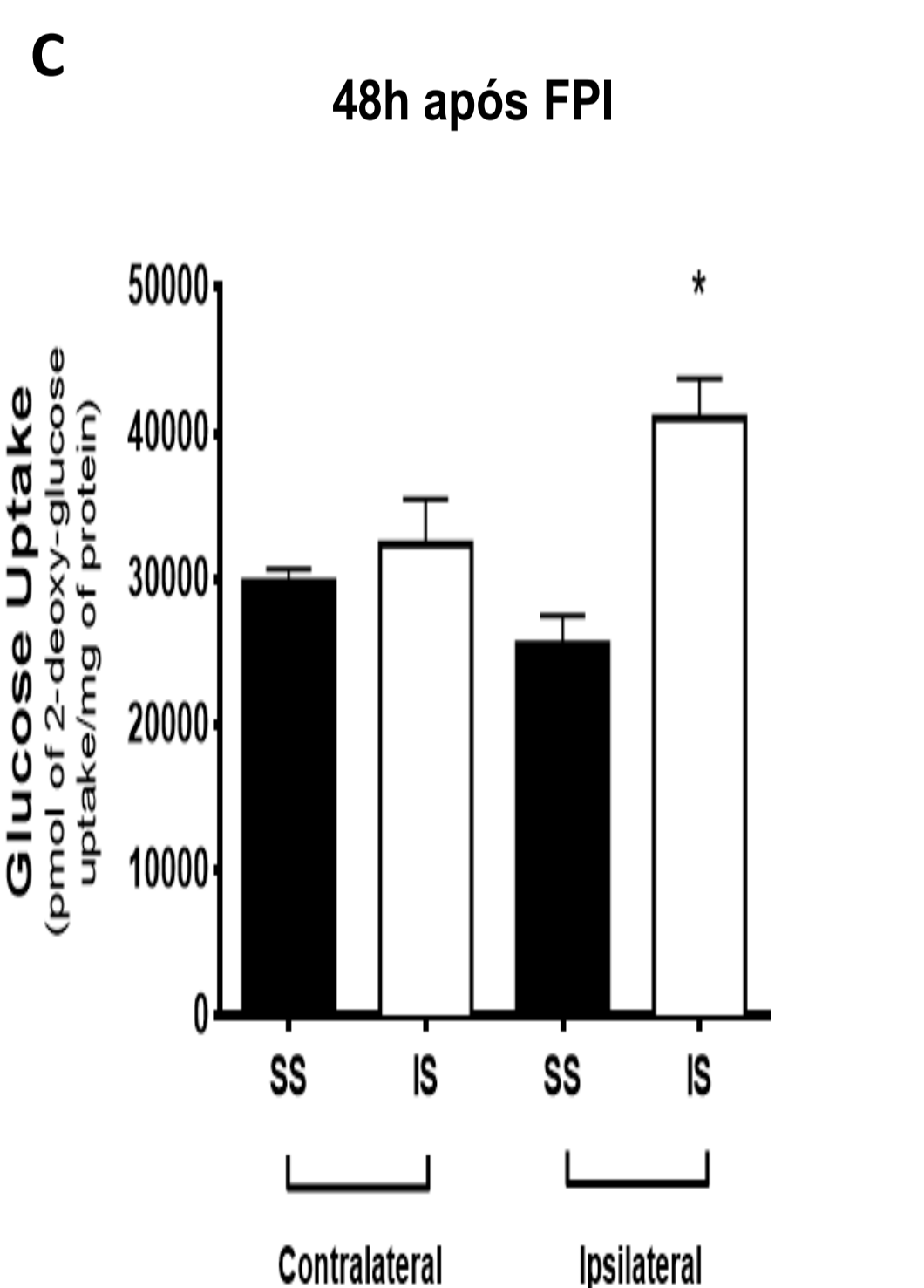
CAPTAÇÃO DE GLUTAMATO



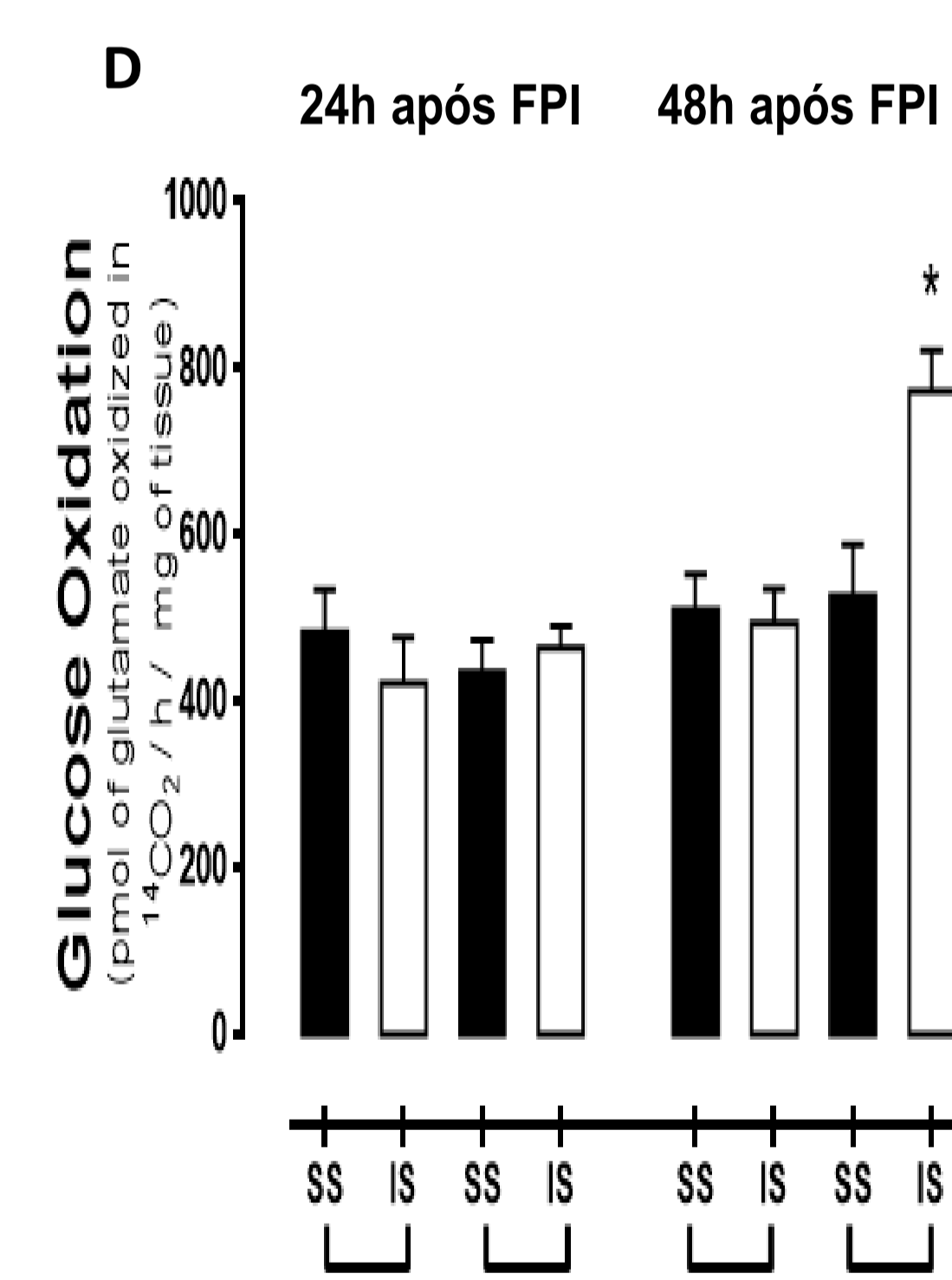
OXIDAÇÃO DE GLUTAMATO



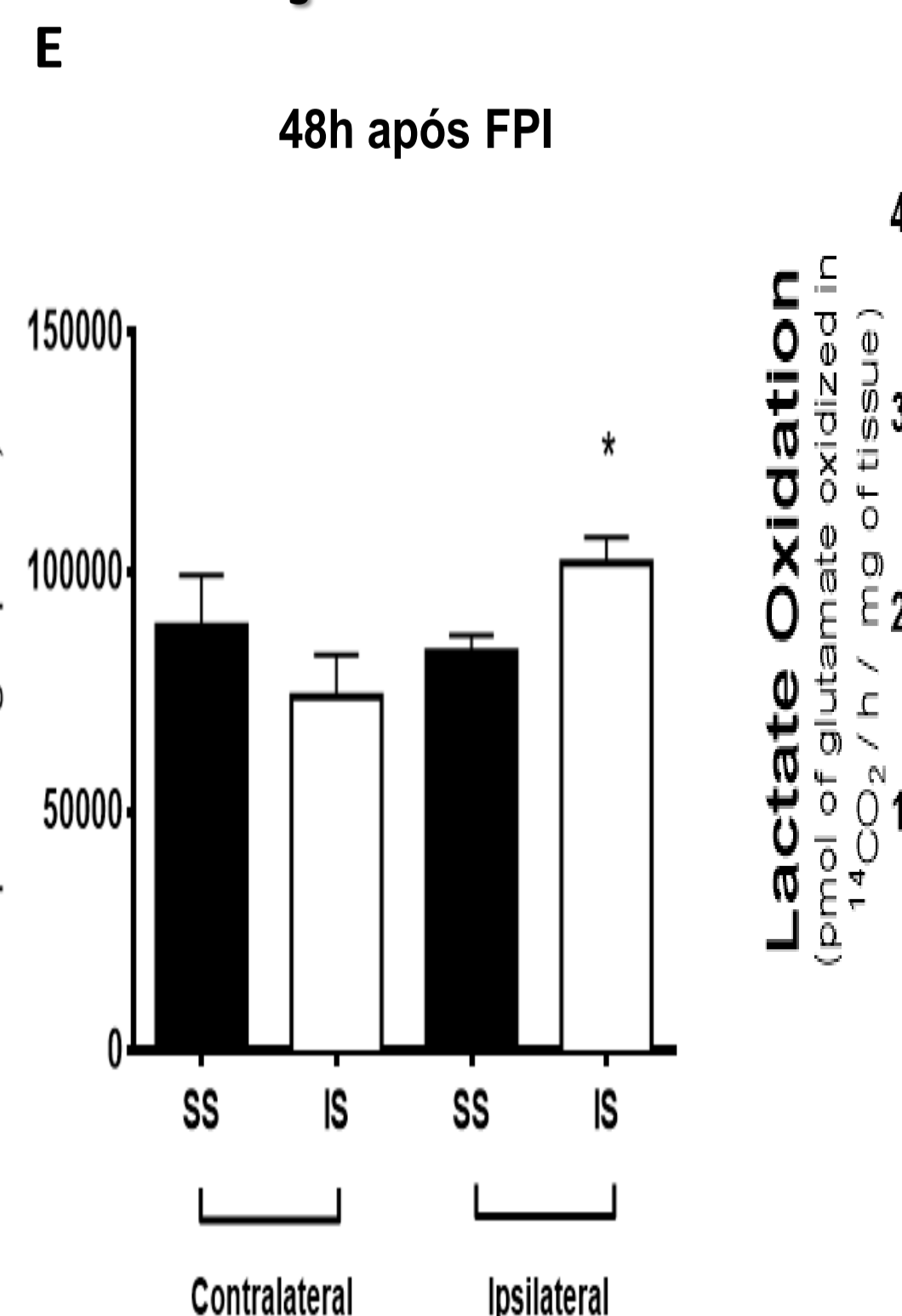
CAPTAÇÃO DE GLICOSE



OXIDAÇÃO DE GLICOSE



CAPTAÇÃO DE LACTATO



OXIDAÇÃO DE LACTATO

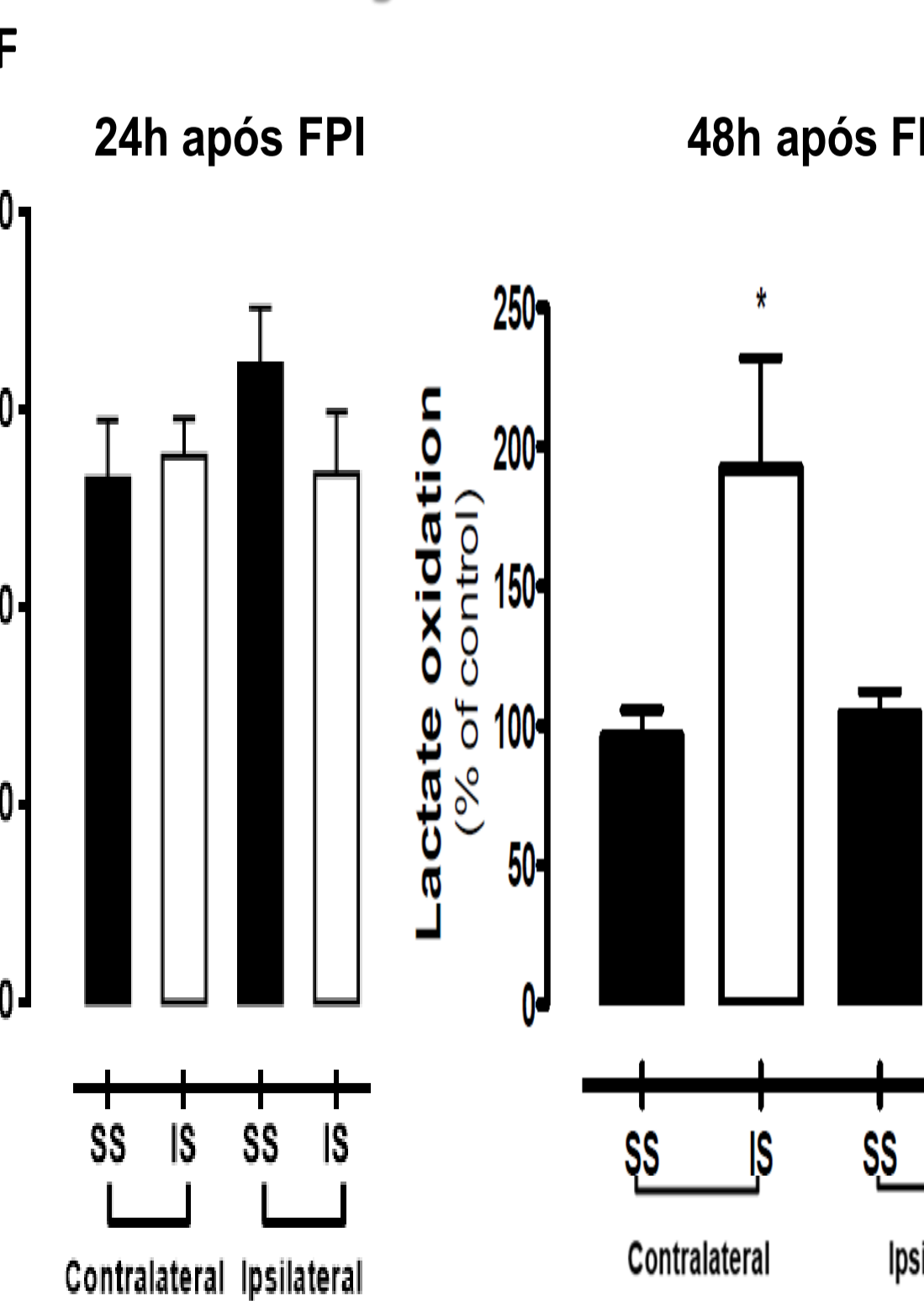


Figura 5. Modelo de FPI induziu modulações no metabolismo energético e na captação de substratos. (A) Aumento significativo da captação de glutamato em ambos os hemisférios 48h após FPI (P<0,005) acompanhado por (B) um aumento da oxidação de glutamato no hemisfério ipsilateral no mesmo tempo (P<0,05); (C) Aumento significativo de captação de glicose no hemisfério ipsilateral 48h após FPI (P<0,05) acompanhado por (D) aumento da oxidação de glicose na mesma região no mesmo tempo; (E) Significativo aumento na captação de lactato no hemisfério ipsilateral 48h após FPI (P<0,05) acompanhado por (F) aumento na utilização de lactato como fonte energética em ambos hemisférios no mesmo tempo (48h após FPI, P<0,05).

DISCUSSÃO

Os resultados mostram que o modelo de FPI descrito pode modular tanto o metabolismo energético quanto a utilização de substratos.

O aumento na taxa no metabolismo do glutamato sugere que FPI induziu modulações no sentido de remover glutamato da fenda sináptica para prevenir excitotoxicidade. Ainda, o aumento na disponibilidade de glutamato e o fluxo sanguíneo restrito na zona de penumbra podem estimular a oxidação de glutamato. Além disso, este neurotransmissor é conhecido por ser uma fonte energética astrocitária e pode ser usado para alimentar sua própria captação [10]. Além disso, o uso de glutamato como fonte energética pode ser uma tentativa do cérebro de poupar glicose.

Sabe-se que a captação de glutamato pode estimular a via glicolítica em astrócitos [11] e o link entre o metabolismo do glutamato e da glicose pode explicar as alterações observadas na captação de glicose e na oxidação no hemisfério ipsilateral. No entanto, a captação de glutamato pode ter um mecanismo regulatório distinto, **uma vez que o metabolismo da glicose não apresenta modulações no hemisfério contralateral.**

Além disso, o lactato mostrou um aumento na sua oxidação em ambos os hemisférios cerebrais. Isto pode estar relacionado com a captação de glutamato no hemisfério contralateral, uma vez que astrócitos podem fornecer aos neurônios lactato derivado de glutamato.

Em conclusão, estes resultados sugerem que a isquemia induz modulações em astrócitos que podem ser protetoras e podem desempenhar um papel na tolerância isquêmica e na recuperação pós acidente vascular encefálico. Além disso, a lesão por FPI afeta ambos os hemisférios cerebrais, além de que outras vias que conectam ambos os lados do cérebro podem estar envolvidas na tentativa de conter o avanço da região infartada. Maiores análises envolvendo transportadores de glutamato e lactato devem ser realizados para esclarecer os mecanismos relacionados ao dano cerebral isquêmico.

SUMÁRIO E CONCLUSÕES

Observou-se que a isquemia induz formas reparativas e protetoras de plasticidade que podem desempenhar um papel na recuperação e na tolerância pós AVE.

➤Podemos concluir que FPI afeta ambos os hemisférios, aumentando a captação de glutamato e modulando a utilização de substratos energéticos;

➤Para os experimentos futuros, vias que conectam ambos os lados do cérebro devem ser consideradas, visto que elas podem estar envolvidas numa tentativa de conter o avanço da região infartada;

➤Além disso, maiores análises são necessárias para avaliar a expressão de transportadores de glutamato e lactato, para esclarecer os mecanismos por trás dessas alterações.

MODULAÇÕES DO SISTEMA GLUTAMATÉRGICO E METABOLISMO ENERGÉTICO

HEMISFÉRIO CONTRALATERAL	HEMISFÉRIO IPSILATERAL
	↑ Captação e oxidação de glutamato
↑ Captação de glutamato	↑ Captação e oxidação de glicose
	↑ Captação de lactato
	↓ Oxidação de lactato

Tabela 1. Resumo dos resultados obtidos até agora na propagação do dano isquêmico ao longo do tempo no sistema glutamatérgico e no metabolismo energético.

REFERÊNCIAS

- Phillis JW, O'Regan MH, Esteves AY, Song D, Vander Heide SJ. Cerebral energy metabolism during severe ischemia of varying duration and following reperfusion. *J Neurochem*. 1996 Oct;67(4):1525-31.
- Scalzo F, Nour M, Liebskind DS. Data Science of Stroke Imaging and Enlightenment of the Penumbra. *Frontiers in Neurology*. 2015;6:8.
- Voutsinos-Porche B, Bonvento G, Tanaka K, Steiner P, Welker E, Chatton JY, Magistretti PI, Pellierin L. Glial glutamate transporters mediate a functional metabolic crosstalk between neurons and astrocytes in the mouse developing cortex. *Neuron*. 2003 Jan;23(1):275-86.
- Sheldan AL, Robinson MB. The role of glutamate transporters in neurodegenerative diseases and potential opportunities for intervention. *Neurochem Int*. 2007 Nov-Dec;51(6-7):333-55.
- Hansel G, Ramos DB, Delgado CA, Souza DG, Almeida RF, Portella LV, Quincozes-Santos A, Souza DO. The potential therapeutic effect of guanidine after cortical focal ischemia in rats. *PLoS One*. 2014 Feb;28(2):e90593.
- Schallert T. Behavioral tests for preclinical intervention assessment. *2006 Neuro Rx* 3(4):497-504.
- Swanson RA, Morton MT, Tsao-Wu G, Savalos RA, Davidson C, Sharp FR. A semi automated method for measuring brain infarct volume. *J Cereb Blood Flow and Metab*. 1990 Mar;10(2):290-3.
- Thomas AG, Godinho GF, Rodrigues JM, Schwalm FD, Frizzo ME, Moriguchi E, Souza DO, Wofchuk ST. Ontogenetic profile of glutamate uptake in brain structures slices from rats: sensitivity to guanidine. *Mech Ageing Dev*. 2004 Jul;125(7):475-81.
- Schmidt B, de Assis AM, Battu CE, Hansen F, Sordi F, Longoni A, Hoefel AL, Farina M, Gonçalves CA, Souza DO, Perry ML. Effects of glyoxal or methylglyoxal on the metabolism of amino acids, lactate, glucose and acetate in the cerebral cortex of young and adult rats. *Brain Res*. 2010 Feb;22:1335-19-24.
- McKenna MC, Somnewald U, Huang X, Stevenson J, Ziekle HR. Exogenous glutamate concentration regulates the metabolic fate of glutamate in astrocytes. *J Neurochem*. 1996;66:386-393.
- Pellierin L, Magistretti PI. Glutamate uptake into astrocytes stimulates aerobic glycolysis: a mechanism coupling neuronal activity to glucose utilization. *Proc Natl Acad Sci Neurobiol* 1994 Vol. 91, 10625-10629.

SUPORTE FINANCEIRO

