

Fisiopatologia da Isquemia Cerebral *

Hercília Mayumi Homi, TSA¹, Bomfim Alves da Silva Júnior², Irineu Tadeu Velasco³

Homi HM, Silva Júnior BA, Velasco IT - Fisiopatologia da Isquemia Cerebral

Homi HM, Silva Júnior BA, Velasco IT - Pathophysiology of Brain Ischemia

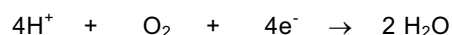
UNITERMOS - COMPLICAÇÕES: isquemia cerebral; SISTEMA NERVOSO CENTRAL: metabolismo cerebral

KEY WORDS - CENTRAL NERVOUS SYSTEM: brain metabolism; COMPLICATIONS: cerebral ischemia

Alta demanda metabólica, aliada à escassez de reservas energéticas, torna o encéfalo bastante vulnerável às alterações do meio interno. No homem o encéfalo representa aproximadamente 2% do peso corporal e recebe cerca de 15 % do débito cardíaco. É responsável por 20% do consumo de oxigênio e 25% do de glicose em condições de repouso¹. O fluxo sanguíneo cerebral normal oscila em torno de 50 ml/100g/minuto². Quando esse valor diminui para 15 ml/100g/minuto o registro eletrocorticográfico torna-se isoeletrico e, estima-se que, ao atingir 10 ml/100g/minuto aconteça a perda do potencial de membrana neuronal. O encéfalo utiliza glicose e oxigênio como nutrientes, é totalmente dependente do metabolismo aeróbico e praticamente desprovido de glicogênio³. A maior parte da energia utilizada pelo encéfalo é gasta na manutenção do potencial de membrana necessário para a geração e propagação dos potenciais de ação⁴.

METABOLISMO CELULAR

Nos organismos vivos a aquisição e transferência de energia podem ser entendidas como dependente de reações de oxidação e redução e reações ácido-básicas⁵. Nas reações de oxidação e redução há transferência de elétrons entre as moléculas (a molécula que doa elétrons é oxidada, a que recebe é reduzida). Nas reações ácido-básicas ocorre troca de prótons entre as moléculas (a molécula que doa prótons é ácida, a que recebe é a base). Toda a dinâmica do metabolismo celular para a utilização de energia pode ser condensada como a reação acoplada oxidação-redução/ ácido-básica:



Nessa reação está representado o principal redutor dos mamíferos (o oxigênio); basicamente toda a energia em jogo no organismo vem desta reação que resume a complexa via metabólica de utilização de nutrientes⁴ (Figura 1). Parte dessas vias metabólicas acontecem no citoplasma ou em suas organelas até a formação de um intermediário comum: acetil coenzima A. Na mitocôndria o grupo acetil desse intermediário é oxidado para CO₂ através de uma série de reações conhecidas como ciclo do ácido cítrico. Nessa seqüência de reações ocorre redução da nicotina adenina dinucleotídeo (NAD⁺) e flavo adenina dinucleotídeo (FAD⁺) com a formação do NADH e FADH₂. A reoxidação dessas coenzimas pelo oxigênio através da fosforilação oxidativa, via cadeia de transporte de elétrons na mitocôndria, produz H₂O e ATP^{4,5} (Figura 2).

No metabolismo neuronal a mitocôndria desempenha um papel crucial na produção de energia e na homeostase do cálcio intracelular. As mitocôndrias variam amplamente em seu tamanho, morfologia, estado metabólico e quantidade nas diversas regiões do neurônio⁶. É caracteristicamente uma organela elipsóide com uma membrana externa (amplamente permeável e não representa uma barreira ao citoplasma) e uma membrana interna que se invagina na forma de cristas (onde se localizam as enzimas da fosforilação oxidativa e cadeia de transporte de elétrons) (Figura 3). Entre as cristas formadas pelas membranas internas limita-se um compartimento preenchido por uma substância gelatinosa denominada matriz mitocondrial (na matriz encontram-se as enzimas do ciclo do ácido cítrico). A membrana mitocondrial interna é impermeável às substâncias hidrofílicas e apresenta sistemas específicos para o transporte do NADH, produzido no citoplasma durante a glicólise, e do fósforo inorgânico, que são utilizados dentro da mitocôndria. Além disso, apresenta um mecanismo para a troca do ATP produzido em sua matriz pelo ADP formado no citoplasma pela hidrólise do ATP. Cada um desses sistemas é representado por um complexo e eficaz mecanismo que mantém concentrações ótimas de substratos para a adequação da síntese de ATP à demanda de sua utilização⁴.

* Trabalho realizado na Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FMUSP), São Paulo, SP. Apoio Financeiro: Fapesp 1996/10377-7
1. Médica Assistente da Disciplina de Anestesiologia do HC-FMUSP; Médica Pesquisadora do LIM 51 (Emergências Clínicas) - FMUSP
2. Médico Pesquisador do LIM 51 (Emergências Clínicas) - FMUSP
3. Professor Titular da Disciplina de Emergências Clínicas do HC-FMUSP

Apresentado em 08 de fevereiro de 2000
Aceito para publicação em 05 de abril de 2000

Correspondência para Hercília Mayumi Homi
Av. Dr. Arnaldo, N° 455
Faculdade de Medicina- USP - 3° Andar - Sala 3132
01246-903 São Paulo - SP
E-mail: mayumi@emercli.fm.usp.br

© 2000, Sociedade Brasileira de Anestesiologia

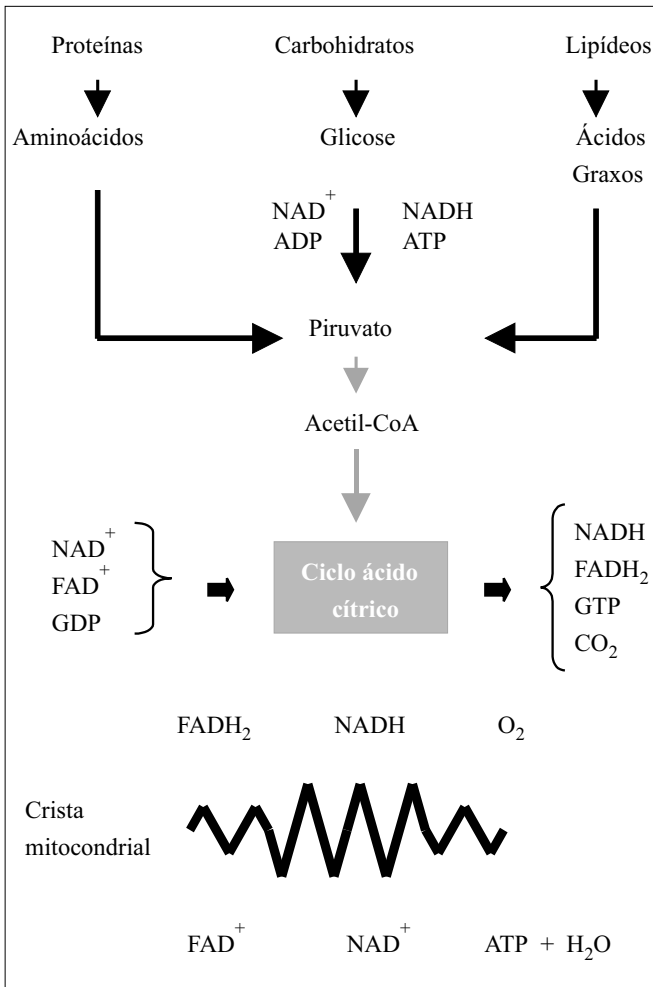


Figura 1 - Os nutrientes ingeridos passam para a corrente sanguínea na forma de seus constituintes básicos (aminoácidos, glicose e ácidos graxos). No organismo, vias metabólicas específicas levam à produção de piruvato. No metabolismo energético da célula o piruvato é transformado em acetil coenzima A. A acetil-CoA é transferida do citoplasma para a matriz mitocondrial onde é oxidada a CO_2 e concomitante redução de FAD^+ e NAD^+ com a formação de $FADH_2$ e $NADH$. Essa via metabólica é conhecida como Ciclo do Ácido Cítrico. Nas cristas mitocondriais essas coenzimas ($FADH_2$ e $NADH$) são reoxidadas com a transferência de energia livre e formação de fosfatos de alta energia (ATP)

O cálcio desempenha inúmeras funções na fisiologia celular (contração muscular, liberação de neurotransmissores, ativação de enzimas oxidativas do ciclo do ácido cítrico e fosfolipases) e sua concentração intracelular é mantida em níveis fisiológicos com a ajuda dos sistemas de captação de cálcio no retículo endoplasmático e na mitocôndria⁷. No neurônio as mitocôndrias representam as principais organelas que mantêm a homeostase do cálcio. A membrana interna da mitocôndria controla de maneira diferente a entrada e saída de cálcio para sua matriz. A entrada de cálcio é direcionada por uma diferença de cargas, uma vez que a matriz mitocondrial é negativa em relação ao citoplasma. A saída de cálcio mitocondrial está acoplada à entrada de sódio para a mitocôndria, ou seja, depende do gradiente de concentração do só-

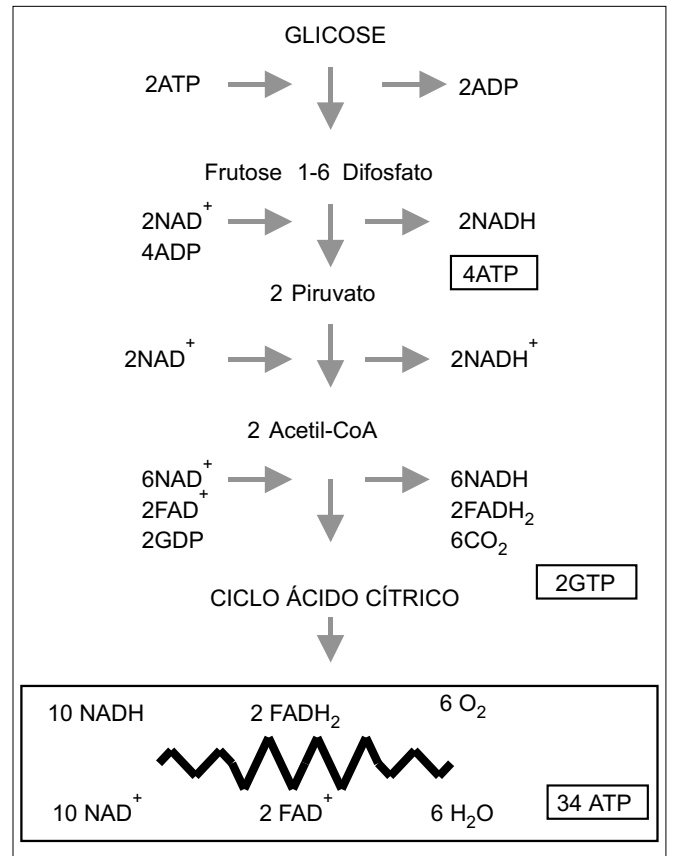


Figura 2 - Metabolismo aeróbico da glicose. Há um ganho líquido de 38 ATP para cada molécula de glicose oxidada (produção de 40 ATP e consumo inicial de 2 moléculas de ATP)

dio intramitocondrial e normalmente funciona em capacidade máxima. Assim, quando a concentração de cálcio aumenta no citoplasma ocorre sua entrada para a matriz mitocondrial e, como a saída de cálcio da mitocôndria se mantém constante, haverá um acúmulo desse íon na mitocôndria. Quando cai a concentração de cálcio no citoplasma diminui sua entrada para a matriz e a manutenção da saída de cálcio da mitocôndria tende a restabelecer seu nível citoplasmático fisiológico. Paralelamente a esses mecanismos intracelulares para a manutenção da concentração de cálcio citoplasmático, existe na membrana celular uma *bomba de cálcio* que, utilizando ATP, ativamente leva cálcio para fora da célula. A calmodulina é uma proteína que se encontra ligada a esta *bomba* tornando-a inativa; o aumento na concentração intracelular de cálcio leva à formação de um complexo cálcio-calmodulina e ativação da *bomba de cálcio*^{4,5}. O sistema nervoso exerce sua função através de complexas vias de sinalização entre suas células. A transmissão de informações entre as células nervosas depende da integridade de sua maquinaria metabólica e da homeostase iônica. O potencial de membrana do neurônio é de aproximadamente $-60mV$ e é mantido estável através da bomba Na^+/K^+ ATPase (como nas demais células do organismo). Quando a resultante da somatória de estímulos excitatórios e inibitórios que atingem o neurônio é capaz de desencadear o potencial de

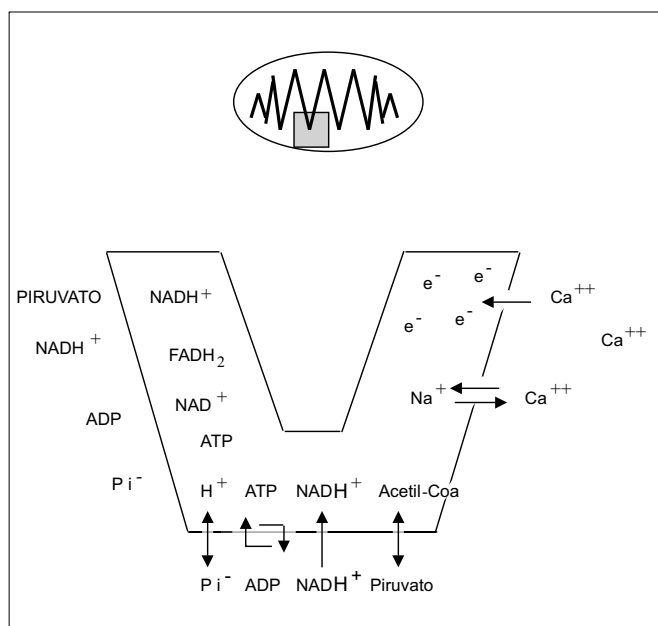


Figura 3 - Representação esquemática de uma crista mitocondrial e seus mecanismos de transporte das moléculas e íons através da membrana mitocondrial interna. O fósforo inorgânico é transferido para a matriz mitocondrial pela troca com o íon hidrogênio (H^+), direcionado pelo gradiente eletroquímico. Uma proteína carreadora leva o ATP para o citoplasma juntamente com a entrada simultânea de ADP para a matriz. O cálcio entra na matriz mitocondrial levado pelo gradiente eletroquímico. A saída do cálcio da mitocôndria é acoplada à entrada de sódio para a matriz. Outras complexas vias metabólicas são responsáveis pela entrada de $NADH^+$ (via do malato) e piruvato (via do citrato)

ação, ocorre a abertura dos canais iônicos controlados por voltagem para o Na^+ e K^+ . Inicialmente o Na^+ entra na célula movido por seu forte gradiente eletroquímico e a célula se despolariza até próximo à neutralidade (0 mV). Essa tendência à entrada de Na^+ é acompanhada da saída de K^+ , movido por seu gradiente eletroquímico. A resultante da mobilização dessas cargas iônicas é a despolarização inicial da célula (até a inversão de seu potencial de membrana) seguida da repolarização e normalização do potencial de repouso.

As células nervosas desempenham suas funções de recepção, integração e transmissão de informações através de regiões especializadas da membrana que são chamadas de sinapses. As sinapses podem ser diferenciadas por aspectos morfológicos e funcionais em: sinapses elétricas e sinapses químicas. À microscopia eletrônica as sinapses elétricas são representadas por regiões de íntimo contato entre as membranas (*junções comunicantes*). Sob o ponto de vista funcional nessas sinapses as variações do potencial de membrana são transmitidas sem modificações para o neurônio seguinte⁶. Esta característica ajuda na maior rapidez da troca de sinais entre os neurônios, porém diminui a capacidade de integrar estímulos, o que representa a mais importante função do Sistema Nervoso Central. Essa propriedade de modificar e integrar os sinais recebidos são características das sinapses químicas. A liberação dos neurotransmis-

sores a partir do neurônio pré-sináptico ocorre com a chegada do potencial de ação nas terminações axônicas e fusão das vesículas sinápticas à membrana, com liberação de seu conteúdo. A chegada do potencial de ação às terminações axônicas leva à abertura de canais de cálcio controlados por voltagem presentes nesses terminais. A entrada de cálcio na célula leva à liberação das vesículas sinápticas ancoradas ao citoesqueleto do neurônio e à mobilização de proteínas estruturais da membrana que condicionam a fusão da vesícula à membrana^{6,8}. A liberação dos neurotransmissores para a fenda sináptica torna possível sua ligação com o neuroreceptor da membrana pós-sináptica. A resposta do neurônio pós-sináptico depende do tipo de receptor ativado: ionotrópico ou metabotrópico. Os receptores ionotrópicos levam à abertura de um canal iônico na membrana pós-sináptica. A abertura direta de um canal iônico ocorre com alguns dos receptores para a acetil-colina, ácido gama-amino-butírico (GABA), serotonina ou glutamato e controla canais de sódio (acetil-colina, glutamato), cloreto (GABA), potássio (serotonina) ou cálcio (glutamato).

Quando ocorre ligação de um neurotransmissor a um receptor metabotrópico, a resposta celular é desencadeada pela ação de um segundo mensageiro e modificação do metabolismo celular. Esses receptores metabotrópicos estão ligados a proteínas que contêm um nucleosídeo guanidina (Proteína G). Em sua forma inativa, a proteína G apresenta-se ligada a dois grupos fosfato (GDP). A ligação do neurotransmissor ao receptor metabotrópico leva à fosforilação da proteína G, e conseqüente formação de GTP com ativação de sistemas enzimáticos específicos para a célula (adenilato-ciclase, fosfolipase C ou fosfolipase A_2). A adrenalina, a acetilcolina, o GABA, o glutamato, a serotonina e os neuropeptídeos apresentam receptores metabotrópicos específicos para sua ação.

Os principais neurotransmissores inibitórios do sistema nervoso são o ácido gama-aminobutírico e a glicina, que controlam a abertura de canais de cloreto ou potássio. O glutamato é o principal aminoácido excitatório das células nervosas e sua liberação na fenda sináptica leva à ativação de dois grupos de receptores: ionotrópicos (NMDA e não-NMDA) e metabotrópicos. O agonista para os receptores ionotrópicos de glutamato que abrem canais de cálcio é o N-metil-D-aspartato (receptores NMDA). Os receptores ionotrópicos não-NMDA abrem canais que são permeáveis ao sódio e ao potássio. A liberação de glutamato e a ativação dos receptores não-NMDA desencadeiam a abertura dos canais iônicos para o sódio e leva à despolarização da membrana plasmática. Essa despolarização da membrana leva à mobilização do magnésio que bloqueia o receptor NMDA, abrindo os canais de cálcio. A ligação do glutamato a seus receptores metabotrópicos leva à ativação das fosfolipases A_2 e C (Figuras 4 e 6). Na hidrólise dos fosfolípidos da membrana plasmática pela fosfolipase C formam-se o trifosfato de inositol e o diacil-glicerol. O trifosfato de inositol desencadeia a liberação de cálcio através do retículo endoplasmático e essa ação so-

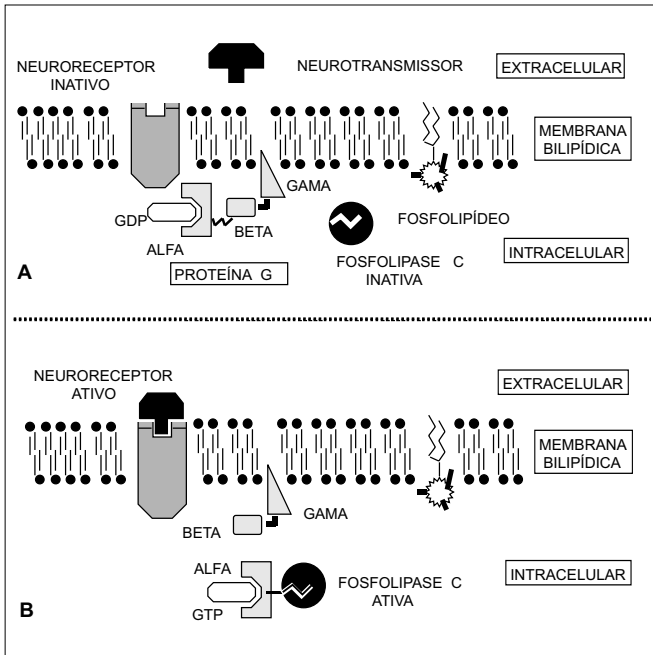


Figura 4 - A: Representação esquemática de um receptor metabotrópico. B: A ligação do neurotransmissor desencadeia uma mudança na estrutura da proteína G. Ocorre a formação do GTP que, ligado à sub-unidade alfa, desprende-se do complexo protéico e, nesse exemplo, levam à ativação da fosfolipase C

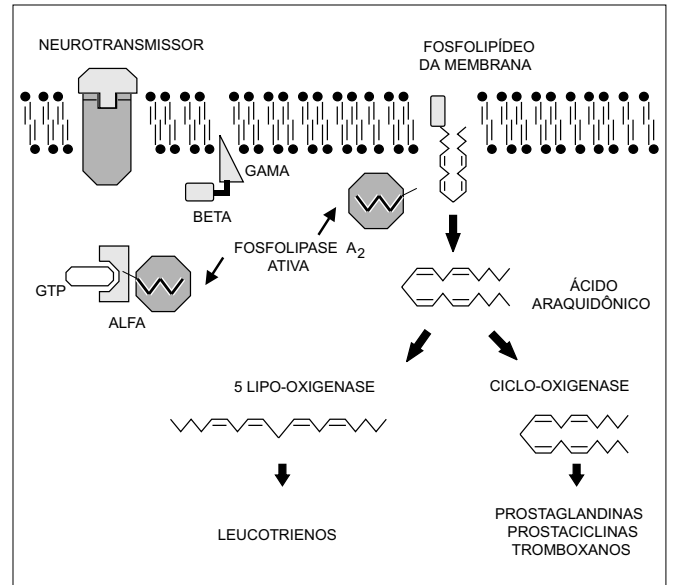


Figura 6 - Representação esquemática de um receptor metabotrópico que leva à ativação da fosfolipase A₂. A ação dessa fosfolipase libera o ácido araquidônico da membrana plasmática. O ácido araquidônico é metabolizado no citoplasma por duas vias distintas: via das lipo-oxigenases (via linear) e via das ciclo-oxigenases

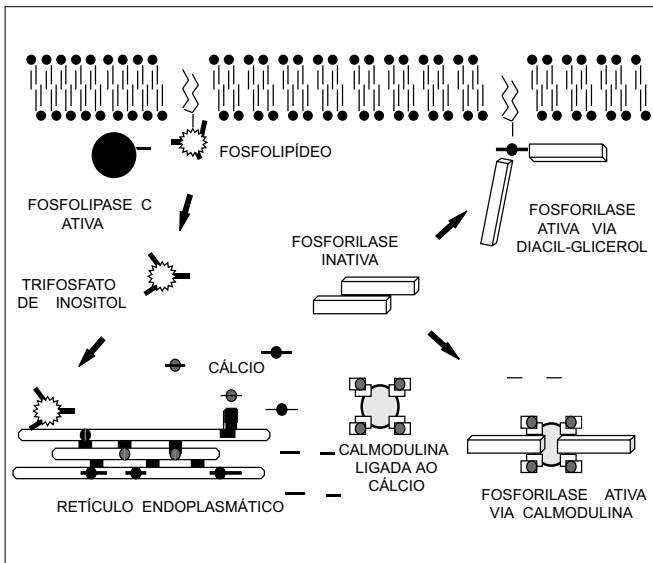


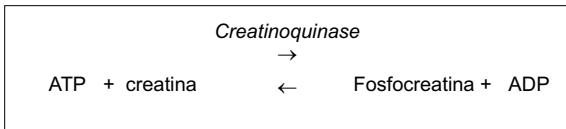
Figura 5 - A ação da fosfolipase C leva à hidrólise do fosfatidil-inositol (fosfolípido da membrana plasmática) e formação do diacil-glicerol e do trifosfato de inositol. O trifosfato de inositol é uma molécula solúvel e promove a liberação de Ca⁺⁺ pelo retículo endoplasmático da célula. O diacil-glicerol (molécula insolúvel) permanece ligado à membrana plasmática e utilizando Ca⁺⁺ leva à ativação de fosforilases da célula. O aumento do Ca⁺⁺ celular (ação do trifosfato de inositol) leva à mobilização da calmodulina que, também, age ativando fosforilases citoplasmáticas

mada à entrada de cálcio promovida pelos receptores NMDA eleva sua concentração no citoplasma. O aumento do cálcio intracelular favorece sua ligação com a calmodulina e o complexo cálcio/calmodulina leva à fosforilação de enzimas celulares que são ativadas. O diacil-glicerol mantém-se ligado à membrana plasmática, pois não é hidrossolúvel e, favorecido pelo aumento da concentração de cálcio intracelular, ativa as enzimas celulares através de reações de fosforilação (Figura 5). A fosfolipase A₂, agindo sobre os fosfolídeos da membrana, libera o ácido araquidônico para o citoplasma. O ácido araquidônico é, então, metabolizado através de duas vias. Uma delas utiliza lipo-oxigenases e forma moléculas que podem agir como neuromoduladores trans-sinápticos (leucotrienos); a outra via utiliza ciclo-oxigenases e leva à formação de prostaciclina, prostaglandinas e tromboxanos (Figura 6).

FISIOPATOLOGIA DA ISQUEMIA E REPERFUSÃO CEREBRAL

Alterações do fluxo sangüíneo no sistema nervoso levam a uma seqüência de eventos que vão desde o comprometimento de seu metabolismo até modificações do meio interno, causadas pela disfunção dos centros neurovegetativos. A diminuição do fluxo sangüíneo cerebral leva a uma rápida deterioração das funções neurológicas. A diminuição do fluxo sangüíneo ou a isquemia completa, seguida do restabelecimento do fluxo sangüíneo cerebral, desencadeia profundas alterações no metabolismo neuronal/gliar. A isquemia

cerebral completa leva à morte celular pela falência de seu metabolismo, por falta de suprimento energético. A fisiopatologia da isquemia cerebral tem sido amplamente estudada em modelos experimentais que nos permitem produzir várias formas de lesões isquêmicas⁹. As reservas metabólicas do sistema nervoso são representadas por uma pequena quantidade de glicogênio e pela fosfocreatina. A enzima creatinoquinase cataliza a reação reversível de fosforilação da creatina utilizando ATP, funcionando como um sistema de reserva para a rápida regeneração de ATP:



Durante a isquemia as reservas de energia do sistema nervoso são rapidamente esgotadas, e com a glicose sendo utilizada anaerobicamente ocorre uma dramática queda na quantidade de ATP disponível. Nessa situação a bomba Na⁺/K⁺ ATPase entra em disfunção, levando ao acúmulo de sódio intracelular e conseqüente alteração do potencial de membrana e edema celular. O metabolismo anaeróbico da glicose leva a um acúmulo de lactato dentro da célula e aumento na concentração de H⁺ (Figura 7).

O controle do pH no sistema nervoso é efetuado em três níveis: neuronal, intersticial e glial. As células do sistema nervoso são bastante sensíveis à diminuição do pH que acompanha a formação de lactato. As células gliais na fase inicial da isquemia apresentam pH mais ácido do que o interstício/neurônio. Parecem constituir um sistema captador de lactato poupando, até certo ponto, o neurônio da diminuição do seu pH intracelular¹⁰.

Estudos em animais de experimentação mostram que a hiperglicemia exacerba as lesões após a isquemia. Esse tipo de resposta parece ser devida à maior oferta de lactato que se segue à fase inicial da isquemia nos animais hiperglicêmicos¹⁰. A queda do pH intracelular e a falência do metabolismo

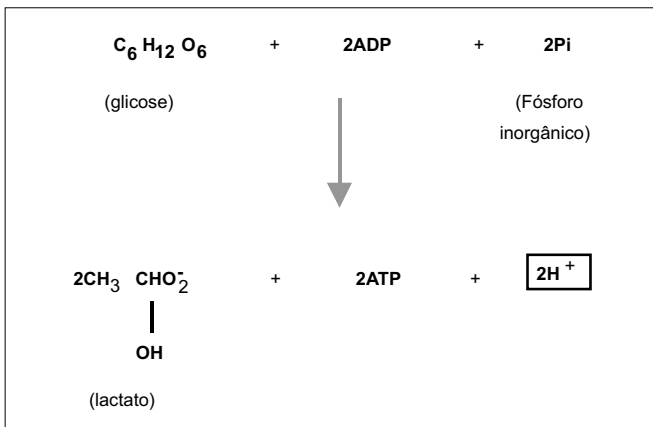


Figura 7 - Metabolismo anaeróbico da glicose. Há um ganho líquido de 2 ATP para cada molécula de glicose oxidada

energético levarão à lesão celular irreversível se o fluxo sanguíneo não for restabelecido.

Durante a isquemia o metabolismo celular é direcionado para reações de catabolismo. O ADP formado no citoplasma continua em processo de hidrólise para fornecer AMP. A hidrólise do último grupo fosfato do AMP leva à adenosina. A adenosina é uma molécula que, em condições fisiológicas, age como um neuromodulador nas sinapses glutamatérgicas. A adenosina é produzida nas terminações sinápticas, na fenda sináptica ou nas células gliais. Sua ação no terminal pré-sináptico leva à diminuição na liberação do glutamato¹¹. Com o restabelecimento do fluxo sanguíneo cerebral a oferta de glicose e oxigênio está, inicialmente, acima da capacidade de sua utilização pela célula¹². O oxigênio é o principal redutor dos mamíferos e, durante a reperfusão, a maior oferta de elétrons liberada pela mitocôndria leva à formação de espécies reativas de oxigênio (estresse oxidativo)^{13,14}. As espécies reativas de oxigênio são definidas como moléculas que contêm O₂ com um elétron não-pareado em sua órbita mais externa^{15,16}. Essa característica torna a molécula bastante instável e disponível para participar de reações que a transformem em molécula estável (elétrons pareados em sua órbita externa). A redução do oxigênio por um elétron forma o radical superóxido (O₂⁻) que imediatamente reage com o íon H⁺ (fornecido pelo NADPH ou FADH₂) sob a ação enzimática da superóxido dismutase (SOD) para formar peróxido de hidrogênio (H₂O₂)^{17,18}. O peróxido de hidrogênio, em condições normais, é neutralizado até a formação de água e oxigênio pela ação enzimática da catalase e do sistema da glutatona^{19,20} (Figura 8).

Quando a capacidade desses sistemas de proteção são esgotadas o peróxido de hidrogênio (H₂O₂) tende a reagir com o superóxido em uma reação (Haber-Weiss) que passa pela redução do íon Fe³⁺, oxidação do íon Fe²⁺ e leva à formação do radical hidroxila (OH⁻)^{15,21,22}. Entre as espécies reativas de oxigênio o OH⁻ pode ser considerado o mais lesivo para a célula (Figura 9).

Durante a isquemia ocorre a seqüência progressiva de quebra do ATP até adenosina que, em seguida, é metabolizada até a formação de hipoxantina. A reperfusão do encéfalo encontra uma alta concentração de hipoxantina que, na pre-

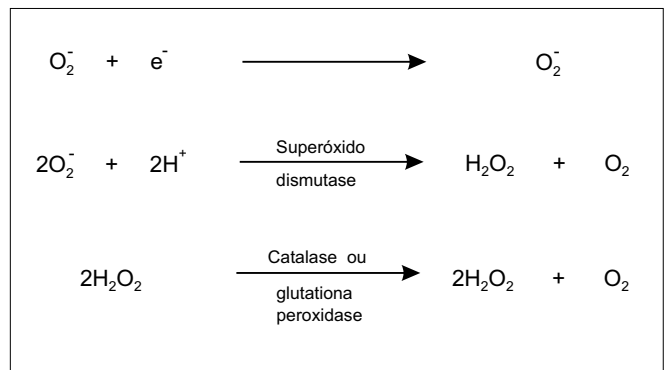


Figura 8 - Mecanismos enzimáticos para a neutralização do radical superóxido (O₂⁻) e peróxido de hidrogênio (H₂O₂)

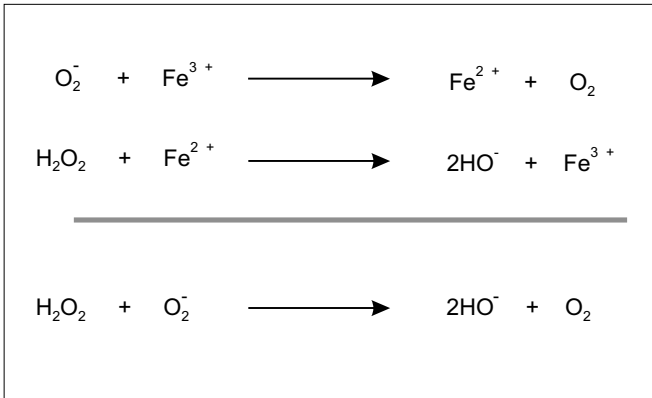


Figura 9 - Reação de Haber-Weiss

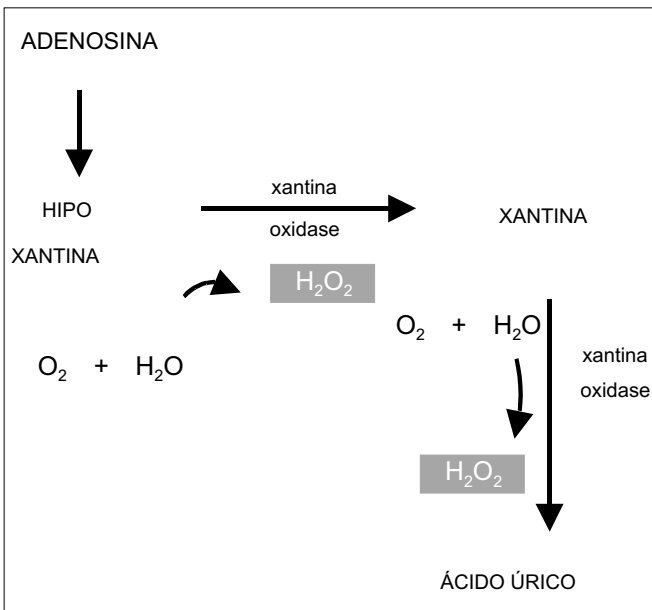


Figura 10 - Metabolismo da adenosina que se segue à reperfusão e leva à formação do peróxido de hidrogênio

sença de oxigênio e sob ação catalítica da xantina oxidase, reage produzindo xantina e peróxido de hidrogênio¹⁹. Essa enzima cataliza, também, a quebra da xantina até ácido úrico com a formação de mais uma molécula de peróxido de hidrogênio⁴. Segundo a reação de Haber-Weiss e na presença de Fe^{2+} ocorre, novamente, a produção do radical hidroxila²² (Figura 10).

As espécies reativas de oxigênio são produzidas normalmente no metabolismo celular e o organismo dispõe de mecanismos protetores para sua neutralização²³. A superóxido dismutase ($\text{O}_2^- + \text{H}^+ \rightarrow \text{H}_2\text{O}_2$), a catalase e o sistema da glutathiona peroxidase ($\text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$) representam os sistemas enzimáticos envolvidos nessa neutralização^{15,21}. Outro sistema de proteção são os sequestradores de espécies reativas representados pelo ácido ascórbico (vitamina C) e alfatocoferol (vitamina E)^{24,25}. Quando esses sistemas de proteção são esgotados ocorre aumento na concentração

das espécies reativas de oxigênio que, moléculas altamente instáveis, vão reagir com constituintes da estrutura celular. A ação das espécies reativas de oxigênio sobre os lipídeos da membrana plasmática (bi-camada lipídica) leva à mudança de sua estrutura e conseqüentes alterações nos neuroreceptores e canais iônicos. As membranas neuronais são ricas em ácidos graxos poli-insaturados que representam lipídeos passíveis de hidrólise. A ação dos radicais hidroxila leva à quebra das moléculas de ácidos graxos poli-insaturados da membrana e a ação do oxigênio tende a perpetuar sua hidrólise^{16,19,25,26} (Figura 11).

Durante a reperfusão a ação sinérgica do aminoácido excitatório glutamato e das espécies reativas de oxigênio leva a um aumento da liberação do ácido araquidônico^{15,27}. Seu metabolismo leva à formação dos leucotrienos (via metabólica das lipo-oxigenases), prostaciclina, prostaglandinas e tromboxanos (via metabólica das ciclo-oxigenases). O ácido araquidônico e seus metabólitos estão envolvidos em respostas vasculares. Os leucotrienos são potentes vasoconstritores; as prostaciclina são vasodilatadoras e inibem a adesividade plaquetária; os tromboxanos são vasoconstri-

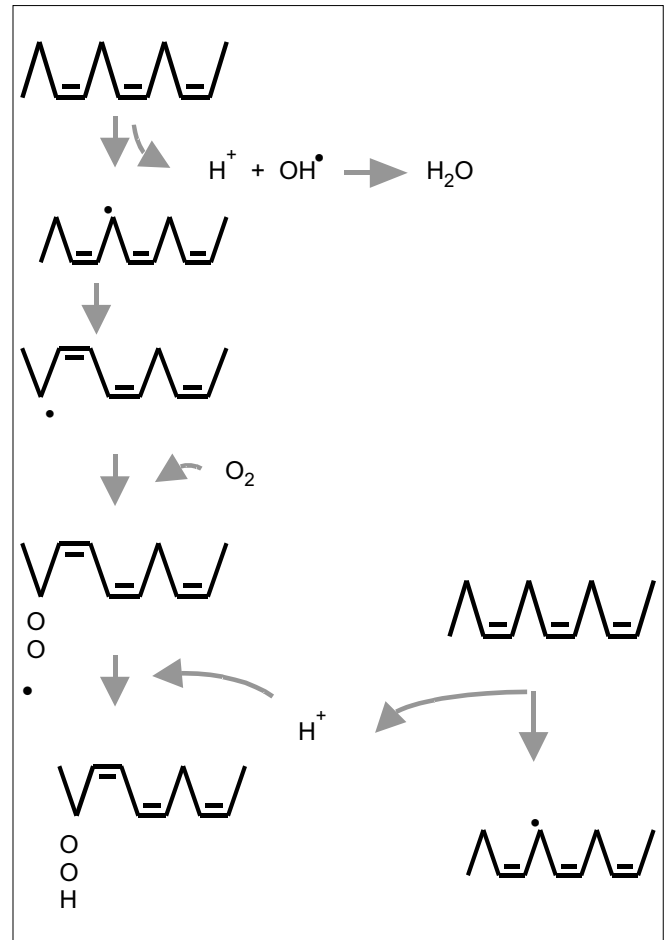


Figura 11 - Peroxidação lipídica. Representação esquemática da seqüência de reações que levam à ruptura de uma cadeia de ácidos graxos poli-insaturados da membrana plasmática pelo radical hidroxila

tores e estimulam a adesividade plaquetária⁴. Durante a isquemia/reperfusão o aumento da concentração dessas moléculas no tecido cerebral pode estar envolvido na formação de edema citotóxico e lesão das membranas plasmáticas e das organelas²⁸. Na circulação cerebral a produção dessas substâncias pelo endotélio e células sanguíneas podem estar implicadas na formação de edema vasogênico e alterações no diâmetro dos vasos da microcirculação²⁹. Embora exista uma vasta literatura disponível sobre o assunto a importância desses eicosanóides (moléculas com 20 átomos de carbono) na fisiopatologia da isquemia/reperfusão não está plenamente estabelecida^{3,28,30,31}.

Os modelos experimentais de isquemia cerebral mostram que as alterações no metabolismo que acompanham a reperfusão podem desencadear lesão celular em regiões específicas do sistema nervoso, que são dependentes da duração da isquemia (fenômeno da maturação)³¹. Entre essas regiões estão o hipocampo (área CA₁), o estriado (núcleo caudado e putâmen) e as lâminas 3, 5 e 6 do córtex cerebral³². Os estudos sobre a maior vulnerabilidade do hipocampo à isquemia/reperfusão tem sido direcionados para mecanismos que envolvem a liberação do glutamato. Durante a isquemia a disfunção da bomba Na⁺/K⁺ ATPase tende a despolarizar o neurônio e a alteração da homeostase iônica compromete os sistemas de liberação/captação de neurotransmissores na fenda sináptica^{33,34}. A ação do glutamato em seus receptores leva ao aumento da concentração de cálcio intracelular, que tende a ser mantido pela falência da *bomba* de cálcio^{35,36}. Após a reperfusão, o cálcio intracelular aumentado tem uma ação lesiva pela ativação enzimática (proteases e fosfolipases). A ação do glutamato sobre os receptores NMDA é dependente do potencial de membrana, da concentração citoplasmática de cálcio e do estado de oxidação-redução do meio³⁷. A mobilização do íon magnésio com a alteração do

potencial de membrana torna o receptor NMDA ativo, permitindo a entrada de cálcio para a célula. Esse receptor tem sua atividade modulada por uma proteína que, em forma de *ponte*, o mantém ligado à cadeia de actina (citoesqueleto neuronal). Quando há entrada de cálcio e aumento de sua concentração intracelular essa proteína solta-se do receptor, tornando-o inativo. Se a célula não for capaz de restabelecer sua concentração de cálcio, haverá destruição das cadeias de actina e irreversível inativação do receptor NMDA³⁷ (Figura 12). O receptor NMDA tem duas moléculas de cisteína, cujos resíduos sulfidríla (SH) podem estar ligados em forma de *ponte*, dependendo do estado de oxidação-redução do meio; quando estão oxidados (ligação presente) o canal encontra-se bloqueado e uma vez reduzidos (ligação desfeita) o canal torna-se patente.

O óxido nítrico (NO) é um gás com características de espécie reativa e, portanto, com meia vida extremamente curta, age no sistema nervoso como um neuromodulador nas sinapses glutamatérgicas^{38,39}. É produzido no neurônio pós-sináptico e, difundindo-se como um gás, pode agir nas terminações pré-sinápticas próximas. Seu mecanismo de ação parece ser a oxidação dos resíduos sulfidríla dos receptores NMDA, tornando-os inativos. Na presença do radical superóxido (O₂⁻) o óxido nítrico reage prontamente, formando o radical peroxinitrito (ONOO⁻), que representa uma potente espécie reativa de nitrogênio. O radical peroxinitrito reage com o próton H⁺, formando o radical hidroxila^{40,41}.

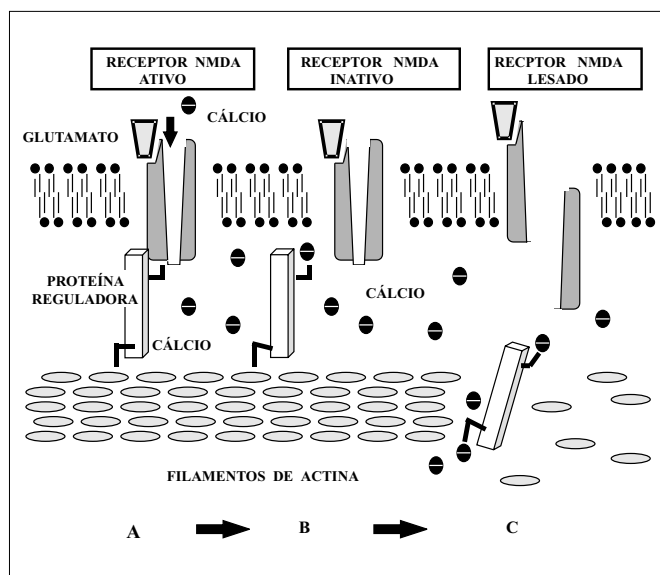
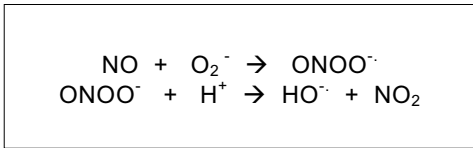


Figura 12 - Representação esquemática do mecanismo proposto para a inativação do receptor NMDA pela elevada e mantida concentração de cálcio intracelular (esquema adaptado de MacBain & Mayer³⁷)

A ação sinérgica de múltiplos fatores determina uma sequência de eventos que podem levar à morte celular. A diferente sensibilidade dos neurônios à isquemia (fenômeno da maturação) pode estar relacionada à intensidade do comprometimento da estrutura celular. As alterações que se seguem à isquemia/reperfusão podem limitar-se à ação sobre os lipídeos da membrana plasmática e proteínas celulares e, portanto, são potencialmente reversíveis. Quando essas alterações tem intensidade suficiente para comprometer a transcrição para a síntese proteica ou alterar as cadeias de DNA ocorrerá a morte celular.

O conhecimento adquirido com os modelos experimentais torna possível a utilização de medidas que tentam diminuir o dano cerebral pela isquemia/reperfusão. A maior parte delas é utilizada nos modelos de isquemia transitória (focal ou global) e tem seus resultados avaliados em relação à morte neuronal. Os principais aspectos fisiopatológicos durante a isquemia/reperfusão são decorrentes do consumo de ATP, alterações na homeostase iônica, formação de espécies reativas de oxigênio e ação excitotóxica do glutamato. Grande parte das medidas sugeridas como protetoras do sistema nervoso agem sobre esses pontos. A hipotermia, os barbitú-

ricos, o manitol, a superóxido dismutase, o ácido ascórbico, o alfa-tocoferol e os bloqueadores de canais de cálcio são algumas das muitas medidas sugeridas para reduzir o dano cerebral pela isquemia/reperfusão.

Mesmo em condições experimentais a eficácia dessas medidas tem relatos controversos que podem ser atribuídos ao método empregado (modelo experimental, tempo de isquemia/reperfusão, período em que foi utilizada). Na clínica encontram-se situações nas quais a *proteção* do sistema nervoso é desejada. Durante a ressuscitação na parada cardíaca⁴² e antes dos procedimentos cirúrgicos que, intencionalmente, diminuem ou cessam o fluxo sanguíneo cerebral, o uso dessas manobras terapêuticas tenta diminuir os danos ao Sistema Nervoso Central. Dentre essas manobras, a hipotermia tem sua eficácia comprovada em estudos clínicos e experimentais. Em cirurgia cardíaca a hipotermia induzida tem sido utilizada desde a década de 50 e, atualmente, tornou-se um procedimento rotineiro e bastante seguro⁴⁴. Em neurocirurgia o tratamento de aneurismas intracranianos pode necessitar oclusão temporária de artérias cerebrais levando a uma isquemia focal. A tolerância desse procedimento é dependente da localização da artéria, do tempo de oclusão e presença de circulação colateral. Em algumas situações especiais, onde se prevê um tempo prolongado para essa oclusão, a hipotermia leve (34 °C) ou moderada (28 °C) tem sido utilizada. Considera-se que o encéfalo aumente sua resistência à falta de fluxo sanguíneo com a diminuição da temperatura corporal. Estima-se que na temperatura corporal de 38 °C o sistema nervoso suportaria um período de 4 a 5 minutos de isquemia; esse tempo aumenta para até 80 minutos com temperatura corporal de 10 °C⁴⁵. Entre os possíveis mecanismos de ação da hipotermia, o mais provável é a redução do metabolismo celular. Isto é evidenciado pela diminuição do consumo de oxigênio (CMRO₂) e glicose (CMRG). A diminuição da liberação de glutamato, da hidrólise de lipídeos das membranas (e seu metabolismo para leucotrienos e prostaglandinas), da peroxidação lipídica e do fluxo de íons através da membrana plasmática são outros mecanismos propostos para a ação da hipotermia⁴³⁻⁴⁵.

Os barbitúricos compõem um grupo de agentes farmacológicos muito estudado no campo da proteção cerebral. A isquemia focal parece se beneficiar com o uso de barbitúricos, como mostram estudos experimentais e clínicos. Nos experimentos de isquemia global do encéfalo não existem evidências de que o uso de barbitúricos diminua a magnitude da lesão neuronal. Na área clínica um estudo multicêntrico com o uso de tiopental sódico após parada cardíaca⁴⁶ corrobora os trabalhos experimentais que não mostram benefício em sua utilização. Seu principal mecanismo de ação parece ser a diminuição do metabolismo celular. A vasoconstrição dos vasos cerebrais pelos barbitúricos leva à redistribuição do fluxo sanguíneo regional e pode ser responsável pelos bons resultados na isquemia cerebral focal. Outros possíveis mecanismos de ação dos barbitúricos parecem ser: estabilização de membranas celulares, seqüestro de espécies reativas, comprometimento da termoregulação e bloqueio de canais de cálcio⁴⁴.

Os mecanismos fisiopatológicos que levam à lesão por isquemia/reperfusão sugerem a possibilidade do uso de medidas que poderiam agir em vários pontos dessa seqüência multifatorial de eventos. O manitol parece agir favoravelmente na isquemia focal nos modelos experimentais e durante a oclusão temporária de vasos intracranianos em procedimentos neurocirúrgicos⁴⁴. O manitol diminui a viscosidade sanguínea e o tamanho dos eritrócitos, melhorando o fluxo sanguíneo na microcirculação e, além disso, parece atuar como seqüestrador de espécies reativas de oxigênio.

Apesar da importância atribuída ao cálcio na fisiopatologia da isquemia/reperfusão, um grande número de estudos avaliando a ação de substâncias que diminuem a entrada de cálcio para a célula não conseguiu estabelecer a eficácia dessa abordagem na proteção neuronal. Os canais de cálcio que se abrem na dependência do potencial de membrana (dependentes de voltagem) são divididos em quatro subtipos, caracterizados segundo o limiar de ativação, a condutância e sua localização³³. Dois deles, tipo N e tipo L, parecem estar envolvidos na fisiopatologia da isquemia/reperfusão. Os canais tipo N são pré-sinápticos e estão relacionados à liberação de neurotransmissores na fenda sináptica e os canais tipo L são pós-sinápticos e estão relacionados a alterações do metabolismo neuronal. Substâncias derivadas da di-hidropiridina (nimodipina, nifedipina e nicardipina) e difenil-alkilaminas (flunarazina e lidoflazina) agem bloqueando os canais de cálcio tipo L e, portanto, diminuem a entrada desse íon para a célula. Quando utilizada nos modelos experimentais de isquemia focal estão associadas a uma diminuição da mortalidade e melhora da função neurológica⁴⁷. Na área clínica o uso da nimodipina parece correlacionado a um melhor prognóstico neurológico nos casos de isquemia focal, porém, esses estudos tem métodos discutíveis em relação à avaliação e divisão dos grupos de pacientes^{44,47}. Os modelos experimentais e os estudos clínicos não relatam benefício no uso desses bloqueadores de canais de cálcio^{48,49}. Nos modelos experimentais de isquemia focal o uso de antagonistas não-competitivos do glutamato para os receptores NMDA (cetamina, fenciclidina, MK 801) associam-se a resultados discretamente favoráveis em relação à morte celular. Nos modelos de isquemia global o uso desses inibidores tem relatos controversos em relação a sua eficácia. Os estudos *in vitro* com esses antagonistas apresentam bons resultados em relação à manutenção da viabilidade neuronal, porém, sujeito a críticas com relação ao método³.

O uso de medidas terapêuticas com ação sobre as espécies reativas de oxigênio (diminuindo o estresse oxidativo) causou uma expectativa favorável em relação a sua ação, protegendo o neurônio durante a reperfusão cerebral. A administração experimental de substâncias como a superóxido dismutase, glutatona peroxidase, catalase e seqüestradores de espécies reativas como o alfa-tocoferol e o ácido ascórbico nos modelos de isquemia focal e global tem resultados controversos.

A utilização dos modelos experimentais em isquemia cerebral tem auxiliado a compreensão dos mecanismos responsáveis pela lesão do sistema nervoso central. Apesar da for-

te expectativa gerada por esses resultados, a utilização desses conhecimentos na prática clínica ainda é inicial. Muitas vezes as medidas que minimizam a lesão neuronal nas condições padronizadas do laboratório são inócuas quando utilizadas no tratamento de seres humanos. Isso acontece porque, a maior parte das vezes, a isquemia cerebral ocorre de maneira inesperada e o médico somente pode agir após períodos variáveis da reperfusão do sistema nervoso. Situações particulares durante o ato cirúrgico podem exigir a manutenção de períodos de isquemia/hipoperfusão cerebral. Nessas situações, o anestesiológico encontra-se em uma posição única podendo, ativamente, preparar o sistema nervoso para o evento de isquemia/reperfusão.

REFERÊNCIAS

01. Fitch W - Brain Metabolism, em: Cottrell JE, Smith DS - Anesthesia and Neurosurgery, 3rd Ed, St Louis, Mosby, 1994;1-16.
02. Lassen NA, Astrup J - Cerebral Blood Flow: Normal Regulation and Ischemic Thresholds, em: Weinstein PR, Faden AI - Protection of the Brain from Ischemia. San Francisco, Williams & Wilkins, 1990;7-19.
03. Farooqui AA, Haun SE, Horrocks LA - Ischemia and Hypoxia, em: Siegel GJ - Basic Neurochemistry: Molecular, Cellular and Medical Aspects, 5th Ed, New York, Raven Press, 1994; 867-883.
04. Voet D, Voet JG - Biochemistry, 2nd Ed, New York, Wiley, 1995;412-598.
05. Holum J - Fundamentals of General, Organic and Biological Chemistry, 5th Ed, New York, Wiley, 1994;705-746.
06. Kandel ER, Schwartz JH, Jessel TM - Essentials of neural science and behavior. Prentice Hall, London, 1995;161-177.
07. Pozzan T, Rizzuto R, Volpe P et al - Molecular and cellular physiology of intracellular calcium stores. *Physiol Rev*, 1994;74: 595-636.
08. Calakos N, Scheller RH - Synaptic vesicle biogenesis, docking and fusion: a molecular description. *Physiol Rev*, 1996;76:1-29.
09. Molinari GF - Why model strokes? [Editorial]. *Stroke*, 1988; 19:1195-1197.
10. Plum F - Mediators and antagonism in secondary brain damage. In vivo and in vitro control of acid-base regulation of brain cells during ischemic and selective acidic exposure. *Acta Neurochir*, 1993;57(Suppl):57-63.
11. Schubert P, Kreutzberg GW - Cerebral protection by adenosine. *Acta Neurochir*, 1993;57(Suppl):80-88.
12. Dietrich WD - Morphological manifestations of reperfusion injury in brain. *Ann N Y Acad Sci*, 1994;723:15-24.
13. Lai JC - Oxidative metabolism in neuronal and non-neuronal mitochondria. *Can J Physiol Pharmacol*, 1992;70:S130-137.
14. Abe K, Aoki M, Kawagoe J et al - Ischemic delayed neuronal death. A mitochondrial hypothesis. *Stroke*, 1995;26:1478-1489.
15. Ikeda Y, Long DM - The molecular basis of brain injury and brain edema: the role of oxygen free radicals. *Neurosurgery*, 1990; 27:1-11.
16. Schmidley JW - Free radicals in central nervous system ischemia. *Stroke*, 1990;21:1086-1090.
17. Chan PH, Fishman RA, Wesley MA et al - Pathogenesis of vasogenic edema in focal cerebral ischemia. Role of superoxide radicals. *Adv Neurol*, 1990;52:177-183.
18. Nelson CW, Wei EP, Povlishock JT et al - Oxygen radicals in cerebral ischemia. *Am J Physiol*, 1992;263:H1356-1362.
19. Floyd RA - Role of oxygen free radicals in carcinogenesis and brain ischemia. *FASEB J*, 1990; 4:2587-2597.
20. Watson BD - Evaluation of the concomitance of lipid peroxidation in experimental models of cerebral ischemia and stroke. *Prog Brain Res*, 1993;96:69-95.
21. Basaga HS - Biochemical aspects of free radicals. *Biochem Cell Biol*, 1990;68:989-998.
22. Grammas P, Liu GJ, Wood K et al - Anoxia/reoxygenation induces hydroxyl free radical formation in brain microvessels. *Free Rad Biol Med*, 1993;14:553-557.
23. Sakamoto A, Ohnishi ST, Ohnishi T et al - Protective effect of a new anti-oxidant on the rat brain exposed to ischemia-reperfusion injury: inhibition of free radical formation and lipid peroxidation. *Free Rad Biol Med*, 1991;11:385-391.
24. Traystman RJ, Kirsch JR, Koehler RC - Oxygen radical mechanisms of brain injury following ischemia and reperfusion. *J Appl Physiol*, 1991;71:1185-1195.
25. Yue TL, Barone F, Gu JL et al - Brain alpha-tocopherol levels are not altered following ischemia/reperfusion induced cerebral injury in rats and gerbils. *Brain Res*, 1993;610:53-56.
26. Caldwell M, O'Neill M, Earley B et al - NG-nitro-L-arginine methyl ester protects against lipid peroxidation in the gerbil following cerebral ischaemia. *Eur J Pharmacol*, 1995;285:203-206.
27. Oh MS, Betz AL - Interaction between free radicals and excitatory amino acids in the formation of ischemic brain edema in rats. *Stroke*, 1991;22:915-921.
28. Wahl M, Schilling L, Unterberg A et al - Mediators of vascular and parenchymal mechanisms in secondary brain damage. *Acta Neurochir*, 1993;57:(Suppl):64-72.
29. Aktan S, Aykut C, Okta Y S et al - The alterations of leukotriene C4 and prostaglandin E2 levels following different ischemic periods in rat brain tissue. *Prostaglandins Leukot Fatty Acids*, 1991;42: 67-71.
30. Vannucci RC - Experimental biology of cerebral hypoxia-ischemia: relation to perinatal brain damage. *Pediatr Res*, 1990; 27:317-326.
31. Ito U, Spatz M, Walker Jr JT et al - Experimental cerebral ischemia in mongolian gerbils. *Acta Neuropath (Ber)*, 1975; 32:209-223.
32. Diemer NH, Johansen FF, Benveniste H et al - Ischemia as an excitotoxic lesion: protection against hippocampal nerve cell loss by denervation. *Acta Neurochir*, 1993;57:(Suppl): 94-101.
33. Peruche B, Kriegelstein J - Mechanisms of drug actions against neuronal damage caused by ischemia - an overview. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 1993;17:21-70.
34. Baker C, Fiore AJ, Franzini VI et al - Intraischemic hypothermia decreases the release of glutamate in the cores of permanent focal cerebral infarcts. *Neurosurgery*, 1995;36:994-1002.
35. DeGraba TJ, Ostrow PT, Strong BS et al - Temporal relation of calcium-calmodulin binding and neuronal damage after global ischemia in rats. *Stroke*, 1992;23:876-882.
36. DeGraba TJ, Ostrow PT, Grotta JC - Threshold of calcium disturbances after global ischemia in rats. *Stroke*, 1993;24: 1212-1217.
37. MacBain CJ, Mayer ML - N-methyl-D-aspartic acid receptor structure and function. *Physiol Rev*, 1994;74:723-760.
38. Moncada S, Palmer RM, Higgs EA - Nitric oxide: physiology, pathophysiology and pharmacology. *Pharmacol Rev*, 1991;43: 109-142.
39. Madison DV, Schuman EM - Diffusible messengers and intercellular signaling: locally distributed synaptic potentiation in the hippocampus. *Curr Top Microbiol Immunol*, 1995; 196:5-6.

40. Crow JP, Beckman JS - The role of peroxynitrite in nitric-oxide mediated toxicity. *Curr Top Microbiol Immunol*, 1995;196: 57-73.
41. Nakashima MN, Yamashita K, Kataoka Y et al - Time course of nitric oxide synthase activity in neuronal, glial and endothelial cells of rat striatum following focal cerebral ischemia. *Cell Mol Neurobiol*, 1995;15:341-349.
42. Safar P - Cerebral resuscitation after cardiac arrest: research initiatives and future directions. *Ann Emerg Med*, 1993;22: (2 Pt 2):324-349.
43. Milde LN, Weglinski MR - Pathophysiology of Metabolic Brain Injury, em Cottrell JE, Smith DS - *Anesthesia and Neurosurgery*, 3rd Ed, St. Louis, Mosby, 1994;59-92.
44. Kelly BJ, Luce JM - Current concepts in cerebral protection. *Chest*, 1993;103:1246-1254.
45. Mault JR, Ohtake S, Klingensmith ME et al - Cerebral metabolism and circulatory arrest: effects of duration and strategies for protection. *Annals of Thoracic Surgery*, 1993;55:57-63.
46. Brain Resuscitation Clinical Trial I. Study Group: Randomized Clinical Study of thiopental loading in comatose survivors of cardiac arrest. *N Engl J Med*, 1986;31:397-403.
47. Gustafson I, Edgren E, Hulting J - Brain-oriented intensive care after resuscitation from cardiac arrest. *Resuscitation*, 1992;24: 245-261.
48. Abramson NS, Safar P, Detre KM et al - Neurologic recovery after cardiac arrest: effect of duration of ischemia. Brain resuscitation clinical trial I study group. *Critical Care Medicine*, 1985;13: 930-931.
49. Anonymous - A Randomized Clinical Study of a calcium-entry blocker (lidoflazine) in the treatment of comatose survivors of cardiac arrest. Brain Resuscitation Clinical Trial II. Study Group. *N Engl J Med*, 1991;324:1225-1231.