

C624098  
R1289390  
03/05/00

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ**  
**FACULDADE DE MEDICINA**  
**Departamento de Fisiologia e Farmacologia**

**AVALIAÇÃO ELETROFISIOLÓGICA DA AÇÃO DOS  
ANTIOXIDANTES GLUTATION E ÁCIDO  $\alpha$ -LIPÓICO  
EM UM MODELO ANIMAL DE ISQUEMIA  
CEREBRAL**

**Otoni Cardoso do Vale**

**Fortaleza**  
**2000**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ**  
**BIBLIOTECA DE CIÊNCIAS DA SAÚDE**

TESE  
616.81  
2/24/3a  
2000

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ**  
**FACULDADE DE MEDICINA**  
**Departamento de Fisiologia e Farmacologia**

Avaliação eletrofisiológica da ação dos antioxidantes glutatíon e ácido  $\alpha$ -lipóico em um modelo animal de isquemia cerebral

Otoni Cardoso do Vale

Tese apresentada ao curso de pós-graduação em Farmacologia do Departamento de Fisiologia e Farmacologia da Universidade Federal do Ceará para obtenção do título de Doutor.

Orientador:

Prof. Dr. Manassés Claudino Fonteles

**Fortaleza**  
**2000**

V 243

Vale, Otoni Cardoso do

Avaliação eletrofisiológica da ação dos antioxidantes glutathion e ácido  $\alpha$ -lipóico em um modelo animal de isquemia cerebral / Otoni Cardoso do Vale. — Fortaleza, 2000.

363 f.

Orientador: Prof. Dr. Manassés Claudino Fonteles.  
Dissertação (Doutorado). Universidade Federal do Ceará. Faculdade de Medicina

1. Isquemia Cerebral      2. Eletroencefalografia      3. Glutathion  
4. Antioxidantes      5. Título.

CDD 616.81

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ**  
**FACULDADE DE MEDICINA**  
**DEPARTAMENTO DE FISIOLOGIA E FARMACOLOGIA**  
**CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMACOLOGIA**

Esta tese foi submetida como parte dos requisitos necessários à obtenção do grau de Doutor em Farmacologia, outorgado pela Universidade Federal do Ceará, e encontra-se à disposição dos interessados na Biblioteca Setorial desta Instituição.

  
Otoni Cardoso do Vale

**Data da Defesa:** 31/03/2000

**Banca Examinadora:**

Prof. Dr. Manassés Claudino Fonteles  
(Orientador) ✓

  
Prof. Dr. Gerson Canedo de Magalhães

  
Prof. Dr. Aldo Ângelo Moreira Lima

  
Prof. Dr. Carlos Mauricio de Castro Costa

  
Prof. Dr. Krishnamurti de Moraes Carvalho

A meus pais,  
Manuel Cardoso do Vale (“in memoriam”) e  
Isaura Carlos do Vale (“in memoriam”)

que, apesar de sua humildade, ensinaram a mim e a meus irmãos  
padrões de conduta moral e como obstinadamente trilhar os ideais de  
nosso desenvolvimento intelectual, sempre com a preocupação de não  
limitar o direito de outros,

dedico, com saudades, este trabalho.

A minha eterna esposa Marilene  
e a meus queridos filhos Otoni Junior, Thales e Manuela

que souberam, com resignação, suportar minha ausência, durante a concepção deste trabalho e durante minha própria atividade profissional, incentivando-me, quando já me faltava ânimo para sua continuidade, muitas vezes com ensinamentos que certamente me trarão aprendizado ainda no futuro,

dedico este trabalho com amor e gratidão.

Ao Professor  
Dr. Manassés Claudino Fonteles,  
orientador da presente tese,

pelos ensinamentos que, com amizade e com espírito científico, me proporcionou, desde épocas prévias ao meu ingresso no curso de medicina, pelo incentivo que me trouxe para que ampliasse minha qualificação enquanto professor da Faculdade de Medicina desta Universidade, e para que pudesse adotar o método científico como base de minha atividade profissional,

dedico este trabalho.

## AGRADECIMENTOS

Ao Professor Dr. Manassés Claudino Fonteles, orientador da presente tese, pelos ensinamentos que, com amizade e com espírito científico, me proporcionou, desde épocas prévias a meu ingresso no curso de medicina, pelo incentivo que me trouxe para que ampliasse minha qualificação enquanto professor da Faculdade de Medicina desta Universidade, e para que pudesse adotar o método científico como base de minha atividade profissional.

Aos Professores Dr. Krishnamurti de Moraes Carvalho, Dr. Aldo Angelo Moreira Lima e Dra. Gisela Costa Camarão, envolvidos na difícil incubência de administrar o curso de pós-graduação em Farmacologia desta universidade durante a maior parte de minha pós-graduação, pela receptividade sempre amigável e desprovida de interesses, bem como, pela orientação, quando me faltava experiência no campo de pesquisa experimental em áreas básicas.

Ao Professor Dr. Manoel Odorico de Moraes pelo incentivo e por manter, a minha disposição, material bibliográfico e de informática.

Ao Professor Dr. Henrique Leal Cardoso pelas imprescindíveis orientações no curso de meu trabalho de pesquisa e análise de dados, pelos não merecidos elogios a mim dispensados e pelo incentivo.

Aos Professores Dr. Carlos Maurício de Castro Costa e Dr. Carlos Augusto Ciarlini Teixeira, a quem muito devo, por incorporarem parte de meus trabalhos na disciplina de Neurologia e no serviço de Neurologia do Hospital Universitário Walter Cantídio.

Aos colegas Dr. Arnaldo Motta de Arruda e Dr. Wagner de Goes Horta pelo sempre pronto apoio na atividade médica do Hospital Universitário Walter Cantídio, quando os trabalhos de pesquisa não permitiam minha presença.

Aos Professores Dr. Cesar Augusto de Lima e Forti e Dr. Fernando Frota Bezerra que compreenderam, durante a direção dos destinos administrativos do Hospital Universitário Dr. Walter Cantídio, a necessidade de minha qualificação.

Aos Professores Dr. Carlos Alberto Batista Mendes de Souza, vice-reitor da Universidade de Fortaleza, e Dra. Regina Coeli Vieira Gomes, coordenadora do curso de Fisioterapia da Universidade de Fortaleza, pelo incentivo e pela demonstração de interesse em minha qualificação.

Ao Dr. Domingos Barreto da Silva e a Maria Sílvia Helena Freire de França por sua imprescindível orientação e ajuda nos trabalhos de pesquisa em laboratório.

Ao mestrando Dr. Francisco Romero Cabral e ao estudante Daniel Sá Roriz Fonteles pela imprescindível ajuda nos trabalhos de pesquisa, sem a qual, certamente, esta tese não se concretizaria.

A Norma de Carvalho Linhares pela eficiente ajuda na aquisição do acervo bibliográfico de apoio a este trabalho científico, bem como, pela orientação a mim dispensada durante a descrição das referências bibliográficas.

Ao Professor Dr. João Vianney Campos de Mesquita, cuja orientação constituiu para mim um dos fatos recentes mais importantes para minha qualificação como professor e pesquisador.

A minha colega e ex-aluna Dra. Suely Carvalho Mendes Barreto e a seu esposo, Dr. José Barreto de Araujo Junior pela importante ajuda na editoração desta tese.

A todos os funcionários da Unidade de Pesquisas Clínicas, em particular José Amadeus, Katia, Fabiana e Joana que, com paciência, souberam tolerar minhas injustificadas exigências e que sempre estiveram dispostos a ajudar-me.

A meus colegas de doutorado, em particular as Dras. Falba Bernadete dos Anjos e Adriana da Rocha Tomé, pelo apoio especializado, pela tolerância e pela amizade.

Ao Professor Geraldo de Sousa Tomé por seus ensinamentos e por sua valiosa ajuda.

Aos Professores Dr. Gerson Canedo Magalhães e Dr. Cláudio Godinho Naylor (“in memoriam”) pelos importantes ensinamentos neurológicos a mim dispensados durante a Residência Médica no Hospital dos Servidores do Estado (Rio de Janeiro).

“As palavras sinceras não são agradáveis,  
As palavras agradáveis não são sinceras.  
As boas pessoas não são questionadoras,  
As questionadoras não são boas pessoas.  
As pessoas sábias não são eruditas,  
As eruditas não são sábias.  
O sábio não toma nada para monopolizar;  
Quanto mais vive para os outros,  
Mais plena é sua vida.  
Quanto mais dá, mais vive na abundância.  
A Lei do Céu é beneficiar.  
A Lei do Sábio é cumprir seu dever, não lutar  
contra ninguém.”

*(Tao Te King, 600 A. C.)*

## SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIACÕES .....	xiii
LISTA DE GRÁFICOS .....	xx
LISTA DE TABELAS .....	xxvii
LISTA DE FIGURAS .....	xliii
RESUMO .....	xliv
1 HISTÓRICO .....	1
1.1 Da apoplexia aos antioxidantes .....	1
1.2 História da Doença Vascular Cerebral na Universidade Brasileira .....	9
2 INTRODUÇÃO .....	12
2.1 Comprometimento bio-energético na Isquemia Cerebral .....	12
2.1.1 Generalidades .....	12
2.1.2 Metabolismo Energético e Isquemia Cerebral .....	13
2.2 Fisiopatogênese da Isquemia Cerebral .....	25
2.2.1 Generalidades .....	25
2.2.2 Mecanismos bioquímicos .....	25
2.2.3 Efeitos da temperatura sobre as lesões secundárias à isquemia cerebral .....	33
2.2.4 Isquemia focal: fluxo sangüíneo e requerimentos energéticos .....	36
2.3 Sinalização celular na Isquemia Cerebral .....	38
2.3.2 Radicais livres e estresse oxidativo na isquemia cerebral .....	53
2.4 Fontes de Espécies Reativas de Oxigênio .....	58
2.4.1 Cadeia mitocondrial de transporte de elétrons .....	58
2.4.2 Xantina oxidase – xantina desidrogenase .....	58
2.4.3 Leucócitos polimorfonucleares .....	59
2.4.4 Produtos metabólicos do ácido araquidônico .....	59
2.4.5 Espécies reativas de oxigênio e catecolaminas .....	60
2.4.6 Metais de transição .....	60
2.5 Mecanismos de lesão cerebral a partir da produção de radicais livres .....	61
2.5.1 Alterações da barreira hemato-encefálica .....	61
2.5.2 Alterações na permeabilidade de membrana .....	61
2.5.3 Peroxidação lipídica .....	62
2.5.4 Redução das reservas de energia .....	63
2.5.5 Necrose e apoptose .....	63
2.6 Mecanismos celulares de remoção de radicais livres .....	66
2.6.1 Enzimas do grupo superóxido-dismutase (SOD) .....	66
2.6.2 Catalase, glutathion peroxidase (GSH peroxidase) e outros sistemas antioxidantes .....	67
2.7 Glutathion no Sistema Nervoso .....	70
2.7.1 Generalidades .....	70
2.7.2 Síntese e degradação de glutathion .....	71
2.7.3 Funções biológicas do glutathion .....	73
2.7.4 GSH e doença neurológica .....	76
2.8 Ácido $\alpha$ -lipóico .....	77
2.8.1 Estrutura química e funções .....	77

2.8.2	Efeito do ácido $\alpha$ -lipóico e di-hidrolipóico na lesão decorrente de isquemia-reperfusão .....	80
2.9	Eletroencefalograma e isquemia cerebral .....	82
2.9.1	Generalidades .....	82
2.9.2	Substratos anatômicos dos ritmos do eletroencefalograma.....	82
2.9.3	EEG como meio experimental de investigação na isquemia cerebral .....	83
3	OBJETIVOS .....	84
3.1	Objetivos gerais .....	84
3.2	Objetivos específicos.....	85
4	MATERIAL E MÉTODOS .....	86
4.1	Animais de laboratório utilizados.....	87
4.2	Avaliação eletrofisiológica: eletroencefalograma e eletrocardiograma .....	87
4.3	Oclusão carotídea, monitorização da pressão arterial e infusão intracarotídea de substâncias.....	90
4.4	Efeitos da oclusão carotídea sobre a amplitude absoluta média dos espectros do eletroencefalograma .....	93
4.5	Infusão intracarotídea de glutathion reduzido (0,12 mM) e amplitudes absolutas médias dos espectros eletroencefalográficos em ratos com oclusão das artérias carótidas comuns .....	95
4.6	Amplitudes absolutas médias dos espectros eletroencefalográficos em ratos com oclusão das carótidas comuns e infusão intracarotídea de solução de solução 1,2 mM de glutathion reduzido .....	96
4.7	Amplitudes absolutas médias dos espectros eletroencefalográficos em ratos com oclusão das carótidas comuns e infusão intracarotídea de solução salina..	97
4.8	Amplitudes absolutas médias dos espectros eletroencefalográficos: ratos sem isquemia; com oclusão da carótida comum esquerda; com oclusão da carótida comum esquerda e infusão intracarotídea esquerda de glutathion 1,2 mM. ....	97
4.9	Amplitudes absolutas médias dos espectros eletroencefalográficos em ratos com oclusão das carótidas comuns e infusão intracarotídea de solução de solução 2,1 mM de L-cistina. ....	99
4.10	Amplitudes absolutas médias dos espectros eletroencefalográficos em ratos com oclusão das carótidas comuns e infusão intracarotídea de solução 1,2 mM de L-glutamina. ....	100
4.11	Amplitudes absolutas médias dos espectros eletroencefalográficos em ratos com oclusão das carótidas comuns e infusão intracarotídea de ácido $\alpha$ -lipóico 3,03 mM.....	100
4.12	Amplitudes absolutas médias dos espectros eletroencefalográficos em ratos com oclusão das carótidas comuns e infusão intracarotídea de ácido $\alpha$ -lipóico 6,06 mM.....	102
4.13	Amplitudes absolutas médias dos espectros eletroencefalográficos em ratos com oclusão das carótidas comuns e infusão intracarotídea de ácido $\alpha$ -lipóico 60,6 mM.....	103
4.14	Dosagem de glutathion reduzido em fragmentos de córtex cerebral de ratos Wistar-Kyoto.....	104
4.14.1	Determinação da curva padrão de glutathion .....	105

4.14.2	Determinação dos níveis de glutathion reduzido em fragmentos de córtex cerebral de ratos Wistar-Kyoto .....	107
5	RESULTADOS .....	109
5.1	Efeito da isquemia induzida por obstrução bilateral das artérias carótidas comuns sobre a amplitude absoluta média dos espectros do EEG .....	109
5.2	Ação da solução 0,12 mM de glutathion reduzido em infusão intracarotídea a 38,99 $\mu$ l/100g/min, durante sessenta minutos, sobre as amplitudes absolutas médias dos espectros eletroencefalográficos de ratos com oclusão das artérias carótidas comuns .....	120
5.3	Estudo das amplitudes absolutas médias dos espectros eletroencefalográficos em ratos com oclusão das carótidas comuns e infusão intracarotídea de solução de solução 1,2 mM de glutathion reduzido .....	140
5.4.	Estudo das amplitudes absolutas médias dos espectros eletroencefalográficos em ratos com oclusão das carótidas comuns e infusão intracarotídea de solução salina .....	150
5.5	Estudo das amplitudes absolutas médias dos espectros eletroencefalográficos de ratos sem isquemia, com oclusão da carótida comum esquerda e com oclusão da carótida comum esquerda seguida de infusão intracarotídea esquerda de solução 1,2 mM glutathion reduzido. ....	166
4.6.	Estudo das amplitudes absolutas médias dos espectros eletroencefalográficos em ratos com oclusão das carótidas comuns e infusão intracarotídea de solução de solução 2,1 mM de L-cistina. ....	184
5.7	Estudo das amplitudes absolutas médias dos espectros eletroencefalográficos em ratos com oclusão das carótidas comuns e infusão intracarotídea de solução 1,2 mM de L-glutamina. ....	193
5.8	Estudo das amplitudes absolutas médias dos espectros eletroencefalográficos em ratos com oclusão das carótidas comuns e infusão intracarotídea de solução 3,03 mM de ácido $\alpha$ -lipóico. ....	202
5.9	Estudo das amplitudes absolutas médias dos espectros eletroencefalográficos em ratos com oclusão das carótidas comuns e infusão intracarotídea de solução 6,06 mM de ácido $\alpha$ -lipóico. ....	219
5.10	Estudo das amplitudes absolutas médias dos espectros eletroencefalográficos em ratos com oclusão das carótidas comuns e infusão intracarotídea de solução 60,6 mM de ácido $\alpha$ -lipóico. ....	227
5.11	Dosagens de glutathion reduzido em fragmentos de córtex cerebral de ratos Wistar-Kyoto .....	235
6	DISCUSSÃO .....	245
7	CONCLUSÕES .....	273
8	ABSTRACT .....	280
9	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	282

## LISTA DE ABREVIACOES

(A-V)Glu	Diferença de concentração arterial e venosa de glicose
(A-V) <sub>O<sub>2</sub></sub>	Diferença entre a concentração arterial e venosa de O <sub>2</sub>
$\gamma$ -GT	$\gamma$ -glutamil-transpeptidase
$\mu$ g	microgramas
$\mu$ l	Microlitros
$\mu$ V	Microvolts
<sup>15</sup> O	Isótopo de oxigênio com peso atmico 15
220V	Duzentos e vinte volts
2-DG	2-desoxi-glicose
<sup>31</sup> P-NMR	Ressonância nuclear magnética com isótopo radioativo 31 do fósforo
5-HETE	cido 5-hidroxi-eicosa-tetraenico
5-HPETE	cido 5-hiroxi-eicosa-peroxi-tetraenico
A.N.O.	Ala não oxidativa
A.O.	Ala oxidativa
A1	Região auricular esquerda
A2	Região auricular direita
AA	cido araquidônico
AAL	cido $\alpha$ -lipóico
AC	Adenilato ciclase
AD	Região anterior direita
ADP	Difosfato de adenosina
AE	Região anterior esquerda
AF3	Alfa da região frontal esquerda
AF4	Alfa da região frontal direita
AGLs	cidos graxos livres
AIF	Fator indutor de apoptose
AL	cido lipóico
AMP	Monofosfato de adenosina
AMPA	$\alpha$ -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazol-propionato
ANOVA	Análise de variância
AP3	Alfa da região parietal esquerda
AP4	Alfa da região parietal direita
ATP	Trifosfato de adenosina
ATPase(s)	Adenosina trifosfatase(s)

B1F3	Beta <sub>1</sub> da região frontal esquerda
B1F4	Beta <sub>1</sub> da região frontal direita
B1P3	Beta <sub>1</sub> da região parietal esquerda
B1P4	Beta <sub>1</sub> da região parietal direita
B2F3	Beta <sub>2</sub> da região frontal esquerda
B2F4	Beta <sub>2</sub> da região frontal direita
B2P3	Beta <sub>2</sub> da região parietal esquerda
B2P4	Beta <sub>2</sub> da região parietal direita
B3F3	Beta <sub>3</sub> da região frontal esquerda
B3F4	Beta <sub>3</sub> da região frontal direita
B3P3	Beta <sub>3</sub> da região parietal esquerda
B3P4	Beta <sub>3</sub> da região parietal direita
BHE	Barreira hemato-encefálica
C	Controle
Ca <sup>++</sup> (i)	Cálcio citosólico livre
CaM quinase II	Quinase II dependente de cálcio/calmodulina
caspase	Protease cisteína-aspartato
CCSV	Canais de cálcio sensitivos à voltagem
CE	Com obstrução da carótida comum esquerda
CEG	Com obstrução da carótida comum esquerda e infusão intracarotídea esquerda de glutation
Cis	L-cistina
CK	Creatina quinase
CoA	Coenzima A
Conc.	Concentração
COX	Ciclo-oxigenase
CPP	Sítio antagonista do receptor NMDA do glutamato
CTP	Trifosfato de citosina
Cz	Região central mediana
D	Direito
DAG	Diacilglicerol
DF3	Delta da região frontal esquerda
DF4	Delta da região frontal direita
DMSO	Dimetilsulfóxido
DNA	Ácido desoxirribonucléico
DO	Densidade óptica ou absorbância
DOPEGAL	3,4-di-hidroxifenilglicolaldeído
DP3	Delta da região parietal esquerda
DP4	Delta da região parietal direita
DTNB	Ácido 5,5' ditiobis-(2-nitrobenzóico)

E	Esquerdo
E.P.M.	Erro padrão da média
E <sub>2</sub>	Enzima mitocondrial do complexos desidrogenases
E <sub>3</sub>	Di-hidro-lipoamida-desidrogenase
EAAC1	Transportador de glutamato
ECASS	Estudo Cooperativo Europeu de Doença Vascular Cerebral Isquêmica Aguda;
ECG	Eletrocardiograma
EEG	Eletroencefalograma
EMSA	Equipamentos médicos sociedade anônima
Eq.	Equação
ERO	Espécies reativas de oxigênio
F3	Região frontal esquerda
F4	Região frontal direita
FAD	Flavino adenina dinucleotídeo
FADH <sub>2</sub>	Falvino adenina dinucleotídeo reduzido
FEO	Fração de extração do oxigênio
FSC	Fluxo sangüíneo cerebral
g	Grama
G	Proteína G
GABA	Ácido gama-amino-butírico
GLAST	Transportador de glutamato
glm	L-glutamina
Gln	Glutamina
GLT1	Transportador de glutamato
Glu	Glutamato
GluR1	Subunidade do receptor ionotrópico do glutamato
GluR2	Subunidade do receptor ionotrópico do glutamato
GluR3	Subunidade do receptor ionotrópico do glutamato
GluR4	Subunidade do receptor ionotrópico do glutamato
GluR5	Subunidade do receptor ionotrópico do glutamato
GluR6	Subunidade do receptor ionotrópico do glutamato
GluR7	Subunidade do receptor ionotrópico do glutamato
glut	Sítio do glutamato
GLUT1	Transportador de glicose
GLUT2	Transportador de glicose
GLUT3	Transportador de glicose
GLUT4	Transportador de glicose
GLUT5	Transportador de glicose
GLUT6	Transportador de glicose

GLUT7	Transportador de glicose
GPC	Glicerofosfolina
GS	Radical proveniente de glutathion
GSH	Forma reduzida de glutathion
GSH-Px	Glutathion peroxidase
GSH-S transferases	Transferases de glutathion
GS-S-	Dissulfeto misto de glutathion
GSSG	Forma oxidada de glutathion
GSSG-R	Glutathion redutase
GTP	Trifosfato de guanosina
I	Isquemia (obstrução das artérias carótidas comuns)
IAL	Obstrução das carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda de ácido $\alpha$ -lipóico
IC	Isquemia e infusão intracarotídea esquerda de L-cistina
IG	Isquemia e infusão intracarotídea esquerda de glutathion
I-Glm	Isquemia e infusão intracarotídea esquerda de L-glutamina
II	Grupo com obstrução das carótidas comuns e na fase inicial de infusão intracarotídea de ácido $\alpha$ -lipóico
III	Grupo com obstrução das carótidas comuns e na fase intermediária de infusão intracarotídea de ácido $\alpha$ -lipóico
IRDA	Atividade rítmica intermitente delta
IS	Isquemia e infusão intracarotídea esquerda de solução salina
IV	Grupo com obstrução das carótidas comuns e na fase final de infusão intracarotídea de ácido $\alpha$ -lipóico
KA1	Subunidade do receptor ionotrópico do glutamato (kainato)
KA2	Subunidade do receptor ionotrópico do glutamato (kainato)
kDa	Quilodaltons
Kg	quilograma
Km	Quociente de saturação enzimática
L	Lipóico
L	Radical livre obtido a partir de ácido graxo insaturado
Lac	Lactato
LH	Ácido graxo insaturado
LOO	Radical peroxi obtido a partir de ácido graxo insaturado
LOOH	Hidroperóxido de lipídio

LPLs	Lisofosfolipídios
LT	Leucotrieno
MAO-A	Monoamino-oxidase A
MAP-2	Proteína 2 associada a microtúbulos
MEDLINE	Arquivo de dados da Biblioteca Nacional de Medicina referente a trabalhos publicados em periódicos indexados
MELAS	Miopatia mitocondrial, encefalopatia acidose láctica e episódios similares à doença vascular cerebral isquêmica
MERFF	Epilepsia mioclônica com fibras musculares do tipo "ragged-red"
MGluR1	Subunidade do receptor metabrotópico do glutamato
MGluR2	Subunidade do receptor metabrotópico do glutamato
MGluR3	Subunidade do receptor metabrotópico do glutamato
MGluR4	Subunidade do receptor metabrotópico do glutamato
MGluR5	Subunidade do receptor metabrotópico do glutamato
MGluR6	Subunidade do receptor metabrotópico do glutamato
MGluR7	Subunidade do receptor metabrotópico do glutamato
MGluR8	Subunidade do receptor metabrotópico do glutamato
mgT	Miligrama de tecido
min <sup>-1</sup>	Por minuto
MK-801	Dizocilpina
ml	Mililitro
mM	Milimolar
MPP <sup>+</sup>	Íon 1-metil-4-fenil-piridinium
MPTP	1-Metil-4-fenil-1,2,3,6-tetraidropiridina
n	Número de animais
NAD	Adenina dinucleotídeo
NAD <sup>+</sup>	Adenina dinucleotídeo oxidado
NADH	Adenina dinucleotídeo reduzido
NADP <sup>+</sup>	Fosfato de nicotinamida-adenina-dinucleotídeo oxidado
NADPH	Fosfato de nicotinamida-adenina-dinucleotídeo reduzido
NASCET	Ensaio norte-americano de endarterectomia carotídea entre sintomáticos
NF-kB	Fator de transcrição
NMDA	n-Metil-D-aspartato
NO	Óxido nítrico
NO·	Radical óxido nítrico
NO <sup>+</sup>	Íon nitronium
NOO <sup>-</sup>	peroxinitrito
NOS	Sintetase do óxido nítrico

NR1	Subunidade do receptor ionotrópico do glutamato
NR2A	Subunidade do receptor ionotrópico do glutamato
NR2B	Subunidade do receptor ionotrópico do glutamato
NR2C	Subunidade do receptor ionotrópico do glutamato
NR2D	Subunidade do receptor ionotrópico do glutamato
NREM	Fase de sono não paradoxal (sem movimentos oculares rápidos)
°C	Graus centígrados
ox	Oxidado
P	Significância estatística
P23	Transdutor para medição da pressão arterial
P3	Região parietal esquerda
P4	Região parietal direita
PAF	Fator de ativação plaquetária (1-O-alkil-2-acetil-sn-glicero-3-fosfocolina)
PARS	Poli-ADP ribose sintetase
PCP	Fenciclidina
PCr	Fosfocreatina
PD	Região posterior direita
PDH	Piruvato desidrogenase
PE50	Cânula de polietileno
PEG	Polietilenoglicol
PG	Prostaglandina
Pi	Fosfato inorgânico
PIP2	Difosfato de inositol
PIP3	Trifosfato de inositol
Pir	Piruvato
PKC	Proteína quinase C
PKG	Fosfoglicocquinase
PLA <sub>2</sub>	Fosfolipase A <sub>2</sub>
PLC	Fosfolipase C
PTK	Proteína tirosina quinase
r.p.m.	Rotações por minuto
R'SH	Proteína com grupo sulfidrila proveniente de glutathione
R-CO-COOH	α-cetoácido
re	Reduzido
REM	Sono paradoxal (movimentos oculares rápidos)
Rf	Referência
RL	Radicais livres
ROO·	Radical livre com grupo peroxi em sua estrutura

	molecular
ROOH	Radical livre reduzido com grupo peroxi
RS-SG	Glutation conjugado a proteína através de ponte dissulfeto
RS-SR	Proteína oxidada sob forma de dissulfeto
SO	Sem obstrução das carótidas comuns
SOD	Superóxido dismutase
st	Teste t-student
t	Estatístico
T3	Região correspondente à pata dianteira esquerda
T5	Região correspondente à pata dianteira direita
TCA	Ácido tricloroacético
TF3	Teta da região frontal esquerda
TF4	Teta da região frontal direita
TMCO <sub>2</sub>	Taxa metabólica cerebral de oxigênio
TMGlu	Taxa de utilização cerebral de glicose
TP3	Teta da região parietal esquerda
TP4	Teta da região parietal direita
TPP-E <sub>1</sub>	Complexo enzima (descarboxilase)-tiaminopirofosfato
TXA <sub>2</sub>	Tromboxano A <sub>2</sub>
UTP	Trifosfato de uridina
x	Exato
XDH	Xantina desidrogenase
XO	Xantina oxidase

## LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 – Curva padrão de GSH (glutation reduzido) .....	106
Gráfico 2 – Efeito da obstrução das artérias carótidas comuns sobre a amplitude absoluta do espectro alfa do eletroencefalograma de ratos Wistar-Kyoto anestesiados.....	114
Gráfico 3 – Efeito da obstrução das artérias carótidas comuns sobre a amplitude absoluta dos espectros $\beta_1$ , $\beta_2$ e $\beta_3$ da região anterior direita do eletroencefalograma de ratos Wistar-Kyoto anestesiados.....	115
Gráfico 4 – Efeito da obstrução das artérias carótidas comuns sobre a amplitude absoluta dos espectros $\beta_1$ , $\beta_2$ e $\beta_3$ da região anterior esquerda do eletroencefalograma de ratos Wistar-Kyoto anestesiados.....	115
Gráfico 5 – Efeito da obstrução das artérias carótidas comuns sobre a amplitude absoluta dos espectros $\beta_1$ , $\beta_2$ e $\beta_3$ da região posterior direita do eletroencefalograma de ratos Wistar-Kyoto anestesiados.....	116
Gráfico 6 – Efeito da obstrução das artérias carótidas comuns sobre a amplitude absoluta do espectro delta do eletroencefalograma de ratos Wistar-Kyoto anestesiados....	116
Gráfico 7 – Efeito da obstrução das artérias carótidas comuns sobre a amplitude absoluta do espectro teta do eletroencefalograma de ratos Wistar-Kyoto anestesiados.....	117
Gráfico 8 – Modificação da amplitude absoluta média do espectro alfa (atividade somente não-hipersíncrona) induzida por infusão intracarotídea esquerda de GSH (0,12 mM).....	127
Gráfico 9 – Modificação da amplitude absoluta média do espectro $\beta_1$ (atividade somente não hipersíncrona) induzida por infusão intracarotídea esquerda de GSH (0,12 mM).....	127
Gráfico 10 – Modificação da amplitude absoluta média do espectro $\beta_2$ (atividade somente não hipersíncrona) induzida por infusão intracarotídea esquerda de GSH (0,12 mM).....	128
Gráfico 11 – Modificação da amplitude absoluta média do espectro $\beta_3$ EEG (atividade somente não hipersíncrona) induzida por infusão intracarotídea esquerda de GSH (0,12 mM).....	128
Gráfico 12 – Modificação da amplitude absoluta média do espectro delta (atividade somente não hipersíncrona) induzida por infusão intracarotídea esquerda de GSH (0,12 mM).....	129
Gráfico 13 – Modificação da amplitude absoluta média do espectro teta (atividade somente não hipersíncrona) induzida por infusão intracarotídea esquerda de GSH (0,12 mM).....	129
Gráfico 14 – Modificação das amplitudes absolutas médias do espectro alfa do EEG com atividade hipersíncrona de ratos com obstrução bilateral das carótidas comuns induzida por infusão intracarotídea esquerda de GSH (0,12 mM).....	136

Gráfico 15 – Modificação das amplitudes absolutas médias do espectro $\beta_1$ do EEG com atividade hipersíncrona de ratos com obstrução bilateral das carótidas comuns induzida por infusão intracarotídea esquerda de GSH (0,12 mM).....	136
Gráfico 16 – Modificação das amplitudes absolutas médias do espectro $\beta_2$ do EEG com atividade hipersíncrona de ratos com obstrução bilateral das carótidas comuns induzida por infusão intracarotídea esquerda de GSH (0,12 mM).....	137
Gráfico 17 – Modificação das amplitudes absolutas médias do espectro $\beta_3$ do EEG com atividade hipersíncrona de ratos com obstrução bilateral das carótidas comuns induzida por infusão intracarotídea esquerda de GSH (0,12 mM).....	137
Gráfico 18 – Modificação das amplitudes absolutas médias do espectro delta do EEG com atividade hipersíncrona de ratos com obstrução bilateral das carótidas comuns induzida por infusão intracarotídea esquerda de GSH (0,12 mM).....	138
Gráfico 19 – Modificação das amplitudes absolutas médias do espectro teta do EEG com atividade hipersíncrona de ratos com obstrução bilateral das carótidas comuns induzida por infusão intracarotídea esquerda de GSH (0,12 mM).....	138
Gráfico 20 – Aumento da amplitude média absoluta do espectro alfa induzido por infusão intracarotídea esquerda de GSH (1,2 mM).....	145
Gráfico 21 – Aumento da amplitude média absoluta do espectro beta frontal esquerdo induzido por infusão intracarotídea esquerda de GSH (1,2 mM).....	145
Gráfico 22 – Aumento da amplitude média absoluta do espectro beta frontal direito induzido por infusão intracarotídea esquerda de GSH (1,2 mM).....	146
Gráfico 23 – Aumento da amplitude média absoluta do espectro beta parietal esquerdo induzido por infusão intracarotídea esquerda de GSH (1,2 mM).....	146
Gráfico 24 – Aumento da amplitude média absoluta do espectro beta parietal direito induzido por infusão intracarotídea esquerda de GSH (1,2 mM).....	147
Gráfico 25 – Aumento da amplitude média absoluta do espectro delta induzido por infusão intracarotídea esquerda de GSH (1,2 mM).....	147
Gráfico 26 – Aumento da amplitude média absoluta do espectro teta induzido por infusão intracarotídea esquerda de GSH (1,2 mM).....	148
Gráfico 27 – Amplitude absoluta média do espectro alfa do EEG com atividade não hipersíncrona de ratos com obstrução bilateral das carótidas comuns e com infusão intracarotídea esquerda de salina.....	159
Gráfico 28 – Amplitudes absolutas médias do espectro $\beta_1$ do EEG com atividade não hipersíncrona de ratos com obstrução bilateral das carótidas comuns e com infusão intracarotídea esquerda de salina.....	160
Gráfico 29 – Amplitudes absolutas médias do espectro $\beta_2$ do EEG com atividade não hipersíncrona de ratos com obstrução bilateral das carótidas comuns e com infusão intracarotídea esquerda de salina.....	160
Gráfico 30 – Amplitudes absolutas médias do espectro $\beta_3$ do EEG com atividade não hipersíncrona de ratos com obstrução bilateral das carótidas comuns e com infusão intracarotídea esquerda de salina.....	161

Gráfico 31 – Amplitudes absolutas médias do espectro delta do EEG com atividade não hipersíncrona de ratos com obstrução bilateral das carótidas comuns e com infusão intracarotídea esquerda de salina.....	161
Gráfico 32 – Amplitudes absolutas médias do espectro teta do do EEG com atividade não hipersíncrona de ratos com obstrução bilateral das carótidas comuns e com infusão intracarotídea esquerda de salina.....	162
Gráfico 33 – Amplitudes absolutas médias do espectro alfa do EEG com atividade hipersíncrona de ratos com obstrução bilateral das carótidas comuns e com infusão intracarotídea esquerda de salina.....	162
Gráfico 34 – Amplitudes absolutas médias do espectro beta <sub>1</sub> EEG com atividade hipersíncrona de ratos com obstrução bilateral das carótidas comuns e com infusão intracarotídea esquerda de salina.....	163
Gráfico 35 – Amplitudes absolutas médias do espectro beta <sub>2</sub> EEG com atividade hipersíncrona de ratos com obstrução bilateral das carótidas comuns e com infusão intracarotídea esquerda de salina.....	163
Gráfico 36 – Amplitudes absolutas médias do espectro beta <sub>3</sub> do EEG com atividade hipersíncrona de ratos com obstrução bilateral das carótidas comuns e com infusão intracarotídea esquerda de salina.....	164
Gráfico 37 – Amplitudes absolutas médias do espectro delta do EEG com atividade hipersíncrona de ratos com obstrução bilateral das carótidas comuns e com infusão intracarotídea esquerda de salina.....	164
Gráfico 38 – Amplitudes absolutas médias do espectro teta do EEG com atividade hipersíncrona de ratos com obstrução bilateral das carótidas comuns e com infusão intracarotídea esquerda de salina.....	165
Gráfico 39 – Amplitudes absolutas médias do espectro alfa do EEG sem atividade hipersíncrona de ratos sem obstrução de carótida comum (_SO), com obstrução da carótida comum esquerda (_CE), com obstrução da carótida comum esquerda e infusão intracarotídea esquerda de GSH (_CEG).....	172
Gráfico 40 – Amplitudes absolutas médias do espectro beta <sub>1</sub> do EEG sem atividade hipersíncrona de ratos sem obstrução de carótida comum (_SO), com obstrução da carótida comum esquerda (_CE), com obstrução da carótida comum esquerda e infusão intracarotídea esquerda de GSH (_CEG).....	172
Gráfico 41 – Amplitudes absolutas médias do espectro beta <sub>2</sub> do EEG sem atividade hipersíncrona de ratos sem obstrução de carótida comum (_SO), com obstrução da carótida comum esquerda (_CE), com obstrução da carótida comum esquerda e infusão intracarotídea esquerda de GSH (_CEG).....	173
Gráfico 42 – Amplitudes absolutas médias do espectro beta <sub>3</sub> do EEG sem atividade hipersíncrona de ratos sem obstrução de carótida comum (_SO), com obstrução da carótida comum esquerda (_CE), com obstrução da carótida comum esquerda e infusão intracarotídea esquerda de GSH (_CEG).....	173
Gráfico 43 – Amplitudes absolutas médias do espectro delta do EEG sem atividade hipersíncrona de ratos sem obstrução de carótida comum (_SO), com obstrução da carótida comum esquerda (_CE), com obstrução da carótida comum esquerda e infusão intracarotídea esquerda de GSH (_CEG).....	174

Gráfico 44 – Amplitudes absolutas médias do espectro teta do EEG sem atividade hipersíncrona de ratos sem obstrução de carótida comum (_SO), com obstrução da carótida comum esquerda (_CE), com obstrução da carótida comum esquerda e infusão intracarotídea esquerda de GSH (_CEG).....	174
Gráfico 45 – Amplitudes absolutas médias do espectro alfa do EEG (incluindo atividade hipersíncrona) de ratos sem obstrução de carótida comum (_SO), com obstrução da carótida comum esquerda (_CE), com obstrução da carótida comum esquerda e infusão intracarotídea esquerda de GSH (_CEG)..	180
Gráfico 46 – Amplitudes absolutas médias do espectro beta <sub>1</sub> do EEG (incluindo atividade hipersíncrona) de ratos sem obstrução de carótida comum (_SO), com obstrução da carótida comum esquerda (_CE), com obstrução da carótida comum esquerda e infusão intracarotídea esquerda de GSH (_CEG).	180
Gráfico 47 – Amplitudes absolutas médias do espectro beta <sub>2</sub> do EEG (incluindo atividade hipersíncrona) de ratos sem obstrução de carótida comum (_SO), com obstrução da carótida comum esquerda (_CE), com obstrução da carótida comum esquerda e infusão intracarotídea esquerda de GSH (_CEG).	181
Gráfico 48 – Amplitudes absolutas médias do espectro beta <sub>3</sub> do EEG (incluindo atividade hipersíncrona) de ratos sem obstrução de carótida comum (_SO), com obstrução da carótida comum esquerda (_CE), com obstrução da carótida comum esquerda e infusão intracarotídea esquerda de GSH (_CEG)..	181
Gráfico 49 – Amplitudes absolutas médias do espectro delta do EEG (incluindo atividade hipersíncrona) de ratos sem obstrução de carótida comum (_SO), com obstrução da carótida comum esquerda (_CE), com obstrução da carótida comum esquerda e infusão intracarotídea esquerda de GSH (_CEG).	182
Gráfico 50 – Amplitudes absolutas médias do espectro teta do EEG (incluindo atividade hipersíncrona) de ratos sem obstrução de carótida comum (_SO), com obstrução da carótida comum esquerda (_CE), com obstrução da carótida comum esquerda e infusão intracarotídea esquerda de GSH (_CEG).	182
Gráfico 51 – Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) $\pm$ E.P.M. ( $\mu\text{V}$ ) do espectro alfa do EEG de ratos Wistar-Kyoto, cada um deles participando de dois grupos: _I e _Cis. ....	189
Gráfico 52 - Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) $\pm$ E.P.M. ( $\mu\text{V}$ ) do espectro beta <sub>1</sub> do EEG de ratos Wistar-Kyoto, cada um deles participando de dois grupos: _I e _Cis. _	190
Gráfico 53 - Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) $\pm$ E.P.M. ( $\mu\text{V}$ ) do espectro beta <sub>2</sub> do EEG de ratos Wistar-Kyoto, cada um deles participando de dois grupos: _I e _Cis.. ...	190
Gráfico 54 - Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) $\pm$ E.P.M. ( $\mu\text{V}$ ) do espectro beta <sub>3</sub> do EEG de ratos Wistar-Kyoto, cada um deles participando de dois grupos: _I e _Cis.. ...	191
Gráfico 55 - Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) $\pm$ E.P.M. ( $\mu\text{V}$ ) do espectro delta do EEG de ratos Wistar-Kyoto, cada um deles participando de dois grupos: _I e _Cis.. ...	191
Gráfico 56 - Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) $\pm$ E.P.M. ( $\mu\text{V}$ ) do espectro teta do EEG de ratos Wistar-Kyoto, cada um deles participando de dois grupos: _I e _Cis. ....	192
Gráfico 57 - Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) $\pm$ E.P.M. ( $\mu\text{V}$ ) dos espectros alfa em ratos do grupo <b>Isquemia</b> (_I) e nos mesmos animais do grupo <b>Infusão de L-glutamina</b> (_glm).....	198

- Gráfico 58 - Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ )  $\pm$  E.P.M. ( $\mu\text{V}$ ) dos espectros  $\beta_1$  em ratos do grupo **Isquemia (I)** e nos mesmos animais do grupo **Infusão de L-glutamina (glm)**..... 199
- Gráfico 59 - Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ )  $\pm$  E.P.M. ( $\mu\text{V}$ ) dos espectros  $\beta_2$  em ratos do grupo **Isquemia (I)** e nos mesmos animais do grupo **Infusão de L-glutamina (glm)**..... 199
- Gráfico 60 - Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ )  $\pm$  E.P.M. ( $\mu\text{V}$ ) dos espectros  $\beta_3$  em ratos do grupo **Isquemia (I)** e nos mesmos animais do grupo **Infusão de L-glutamina (glm)**..... 200
- Gráfico 61 - Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ )  $\pm$  E.P.M. ( $\mu\text{V}$ ) dos espectros delta em ratos do grupo **Isquemia (I)** e nos mesmos animais do grupo **Infusão de L-glutamina (glm)**..... 200
- Gráfico 62 - Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ )  $\pm$  E.P.M. ( $\mu\text{V}$ ) dos espectros teta em ratos do grupo **Isquemia (I)** e nos mesmos animais do grupo **Infusão de L-glutamina (glm)**..... 201
- Gráfico 63 - Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ )  $\pm$  E.P.M. ( $\mu\text{V}$ ) do espectro alfa do EEG de ratos Wistar-Kyoto, cada um deles participando de quatro grupos: -I (isquemia devida a obstrução bilateral das artérias carótidas comuns), -II (fase inicial), -III (fase intermediária) e -IV (fase final) de infusão intracarotídea esquerda, a 41,91  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , durante trinta minutos, de solução 3,03 mM de ácido  $\alpha$ -lipóico em animais com obstrução prévia das artérias carótidas comuns..... 215
- Gráfico 64 - Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ )  $\pm$  E.P.M. ( $\mu\text{V}$ ) do espectro  $\beta_1$  do EEG de ratos Wistar-Kyoto, cada um deles participando de quatro grupos: I (isquemia devida a obstrução bilateral das artérias carótidas comuns), II (fase inicial), III (fase intermediária) e IV (fase final) de infusão intracarotídea esquerda de solução 3,03 mM de ácido  $\alpha$ -lipóico, a 41,91  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , durante trinta minutos, em animais com obstrução prévia das artérias carótidas comuns.. 216
- Gráfico 65 - Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ )  $\pm$  E.P.M. ( $\mu\text{V}$ ) do espectro  $\beta_2$  do EEG de ratos Wistar-Kyoto, cada um deles participando de quatro grupos: I (isquemia devida a obstrução bilateral das artérias carótidas comuns), II (fase inicial), III (fase intermediária) e IV (fase final) de infusão intracarotídea esquerda, a 41,91  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , durante trinta minutos, de solução 3,03 mM de ácido  $\alpha$ -lipóico em animais com obstrução prévia das artérias carótidas comuns..... 216
- Gráfico 66 - Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ )  $\pm$  E.P.M. ( $\mu\text{V}$ ) do espectro  $\beta_3$  do EEG de ratos Wistar-Kyoto, cada um deles participando de quatro grupos: I (isquemia devida a obstrução bilateral das artérias carótidas comuns), II (fase inicial), III (fase intermediária) e IV (fase final) de infusão intracarotídea esquerda, a 41,91  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , durante trinta minutos, de solução 3,03 mM de ácido  $\alpha$ -lipóico em animais com obstrução prévia das artérias carótidas comuns..... 217

- Gráfico 67 - Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ )  $\pm$  E.P.M. ( $\mu\text{V}$ ) do espectro delta do EEG de ratos Wistar-Kyoto, cada um deles participando de quatro grupos: I (isquemia devida a obstrução bilateral das artérias carótidas comuns), II (fase inicial), III (fase intermediária) e IV (fase final) de infusão intracarotídea esquerda, a 41,91  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , durante trinta minutos, de solução 3,03 mM de ácido  $\alpha$ -lipóico em animais com obstrução prévia das artérias carótidas comuns..... 217
- Gráfico 68 - Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ )  $\pm$  E.P.M. ( $\mu\text{V}$ ) do espectro teta do EEG de ratos Wistar-Kyoto, cada um deles participando de quatro grupos: I (isquemia devida a obstrução bilateral das artérias carótidas comuns), II (fase inicial), III (fase intermediária) e IV (fase final) de infusão intracarotídea esquerda, a 41,91  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , durante 30 minutos, de solução 3,03 mM de ácido  $\alpha$ -lipóico em animais com obstrução prévia das artérias carótidas comuns..... 218
- Gráfico 69 - Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ )  $\pm$  E.P.M. ( $\mu\text{V}$ ) do espectro alfa do EEG de ratos Wistar-Kyoto, cada um deles participando de dois grupos: I e AAL... 223
- Gráfico 70 - Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ )  $\pm$  E.P.M. ( $\mu\text{V}$ ) do espectro beta<sub>1</sub> do EEG de ratos Wistar-Kyoto, cada um deles participando de dois grupos: I e AAL... 224
- Gráfico 71 - Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ )  $\pm$  E.P.M. ( $\mu\text{V}$ ) do espectro beta<sub>2</sub> do EEG de ratos Wistar-Kyoto, cada um deles participando de dois grupos: I e AAL... 224
- Gráfico 72 - Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ )  $\pm$  E.P.M. ( $\mu\text{V}$ ) do espectro beta<sub>3</sub> do EEG de ratos Wistar-Kyoto, cada um deles participando de dois grupos: I e AAL... 225
- Gráfico 73 - Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ )  $\pm$  E.P.M. ( $\mu\text{V}$ ) do espectro delta do EEG de ratos Wistar-Kyoto, cada um deles participando de dois grupos: I e AAL... 225
- Gráfico 74 - Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ )  $\pm$  E.P.M. ( $\mu\text{V}$ ) do espectro teta do EEG de ratos Wistar-Kyoto, cada um deles participando de dois grupos: I e AAL... 226
- Gráfico 75 - Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ )  $\pm$  E.P.M. ( $\mu\text{V}$ ) do espectro alfa do EEG de ratos Wistar-Kyoto, cada um deles participando de dois grupos: I e AAL... 232
- Gráfico 76 - Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ )  $\pm$  E.P.M. ( $\mu\text{V}$ ) do espectro beta<sub>1</sub> do EEG de ratos Wistar-Kyoto, cada um deles participando de dois grupos: I e AAL... 232
- Gráfico 77 - Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ )  $\pm$  E.P.M. ( $\mu\text{V}$ ) do espectro beta<sub>2</sub> do EEG de ratos Wistar-Kyoto, cada um deles participando de dois grupos: I e AAL... 233
- Gráfico 78 - Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ )  $\pm$  E.P.M. ( $\mu\text{V}$ ) do espectro beta<sub>3</sub> do EEG de ratos Wistar-Kyoto, cada um deles participando de dois grupos: I e AAL... 233
- Gráfico 79 - Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ )  $\pm$  E.P.M. ( $\mu\text{V}$ ) do espectro delta do EEG de ratos Wistar-Kyoto, cada um deles participando de dois grupos: I e AAL... 234
- Gráfico 80 - Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ )  $\pm$  E.P.M. ( $\mu\text{V}$ ) do espectro teta do EEG de ratos Wistar-Kyoto, cada um deles participando de dois grupos: I e AAL... 234
- Gráfico 81 - Níveis de glutathion reduzido de fragmentos de córtex cerebral de ratos do grupo **Controle** e do grupo **Isquemia** (obstrução das artérias carótidas comuns).. ..... 239

Gráfico 82 – Níveis de glutathion reduzido de fragmentos de córtex cerebral de ratos do grupo <b>Isquemia</b> (obstrução das artérias carótidas comuns) e <b>Isquemia e Glutathion</b> (isquemia e infusão de GSH 1,2 mM). .....	239
Gráfico 83 – Níveis de glutathion reduzido de fragmentos de córtex cerebral de ratos do grupo <b>Isquemia</b> (obstrução das artérias carótidas comuns) e <b>Isquemia e ácido <math>\alpha</math>-lipóico 6,06 mM</b> . .....	240
Gráfico 84 – Níveis de glutathion reduzido de fragmentos de córtex cerebral de ratos do grupo <b>Isquemia</b> (obstrução das artérias carótidas comuns) e <b>Isquemia e infusão de ácido <math>\alpha</math>-lipóico 60,6 mM</b> . .....	240

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Correlação entre as concentrações de glutathione pré-estabelecidas e as densidades ópticas obtidas por espectrofotometria. ....	106
Tabela 2- Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) da faixa de frequência alfa processadas do eletroencefalograma de oito ratos Wistar-Kyoto anestesiados com uretana: grupos controle e isquemia (oclusão das artérias carótidas comuns). ....	109
Tabela 3- Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) da faixa de frequência beta da região anterior direita processadas do eletroencefalograma de oito ratos Wistar-Kyoto anestesiados com uretana: grupos controle e isquemia (oclusão das artérias carótidas comuns). ....	110
Tabela 4- Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) da faixa de frequência beta da região posterior direita processadas do eletroencefalograma de oito ratos Wistar-Kyoto anestesiados com uretana: grupos controle e isquemia (oclusão das artérias carótidas comuns). ....	110
Tabela 5- Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) da faixa de frequência beta da região anterior esquerda processadas do eletroencefalograma de oito ratos Wistar-Kyoto anestesiados com uretana: grupos controle e isquemia (oclusão das artérias carótidas comuns). ....	111
Tabela 6- Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) da faixa de frequência delta processadas do eletroencefalograma de oito ratos Wistar-Kyoto anestesiados com uretana: grupos controle e isquemia (oclusão das artérias carótidas comuns). ....	111
Tabela 7- Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) da faixa de frequência teta processadas do eletroencefalograma de oito ratos Wistar-Kyoto anestesiados com uretana: grupos controle e isquemia (oclusão das artérias carótidas comuns). ....	112
Tabela 8 – Nível de significância (P) com relação à redução da amplitude dos potenciais do eletroencefalograma induzida por obstrução bilateral das carótidas comuns de ratos Wistar-Kyoto. ....	112
Tabela 9 – Amplitude média ( $\mu\text{V}$ ) $\pm$ erro padrão da média (E.P.M.) em $\mu\text{V}$ dos diversos espectros de frequência do eletroencefalograma estatisticamente processados a partir das amplitudes absolutas médias do exame eletrofisiológico de dois grupos pares de animais: grupos controle e isquemia (oclusão das artérias carótidas comuns). ....	113
Tabela 10 - Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) da faixa de frequência alfa processadas do eletroencefalograma de nove ratos Wistar-Kyoto anestesiados com uretana, e com obstrução das artérias carótidas comuns, cada um deles fazendo parte dos grupos controle e tratamento (infusão intracarotídea esquerda a 38,99 $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ de solução 0,12 mM de glutathione reduzido). Apenas a atividade não hipersíncrona foi analisada. ....	123

- Tabela 11 - Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) da faixa de frequência  $\beta_1$  processadas do eletroencefalograma de nove ratos Wistar-Kyoto anestesiados com uretana, e com obstrução das artérias carótidas comuns, cada um deles fazendo parte dos grupos controle e tratamento (infusão intracarotídea esquerda a 38,99  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$  de solução 0,12 mM de glutathion reduzido). Apenas a atividade não hipsíncrona foi analisada. .... 123
- Tabela 12 - Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) da faixa de frequência  $\beta_2$  processadas do eletroencefalograma de nove ratos Wistar-Kyoto anestesiados com uretana, e com obstrução das artérias carótidas comuns, cada um deles fazendo parte dos grupos controle e tratamento (infusão intracarotídea esquerda a 38,99  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$  de solução 0,12 mM de glutathion reduzido). Apenas a atividade não hipsíncrona foi analisada. .... 124
- Tabela 13 - Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) da faixa de frequência  $\beta_3$  processadas do eletroencefalograma de nove ratos Wistar-Kyoto anestesiados com uretana, e com obstrução das artérias carótidas comuns, cada um deles fazendo parte dos grupos controle e tratamento (infusão intracarotídea esquerda a 38,99  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$  de solução 0,12 mM de glutathion reduzido). Apenas a atividade não hipsíncrona foi analisada. .... 124
- Tabela 14 - Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) da faixa de frequência delta processadas do eletroencefalograma de nove ratos Wistar-Kyoto anestesiados com uretana, e com obstrução das artérias carótidas comuns, cada um deles fazendo parte dos grupos controle e tratamento (infusão intracarotídea esquerda a 38,99  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$  de solução 0,12 mM de glutathion reduzido). Apenas a atividade não hipsíncrona foi analisada. .... 125
- Tabela 15 - Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) da faixa de frequência teta processadas do eletroencefalograma de nove ratos Wistar-Kyoto anestesiados com uretana, e com obstrução das artérias carótidas comuns, cada um deles fazendo parte dos grupos controle e tratamento (infusão intracarotídea esquerda a 38,99  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$  de solução 0,12 mM de glutathion reduzido). Apenas a atividade não hipsíncrona foi analisada. .... 125
- Tabela 16 – Média ( $\mu\text{V}$ )  $\pm$  erro padrão da média ( $\mu\text{V}$ ) das amplitudes absolutas médias dos espectros de frequência do EEG de grupos pares de animais (n=9): **Isquemia** (obstrução bilateral das carótidas comuns) e **Infusão de glutathion** (mesmos animais com infusão intracarotídea de glutathion 0,12 mM). Apenas a atividade não hipsíncrona foi analisada. .... 126
- Tabela 17 – Significância (P) relativa à modificação da amplitude dos potenciais do EEG induzida por infusão intracarotídea de GSH (0,12 mM) em ratos Wistar-Kyoto com obstrução das carótidas comuns. Apenas a atividade não hipsíncrona foi analisada. .... 126
- Tabela 18 - Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) do espectro alfa do eletroencefalograma de ratos Wistar-Kyoto, cada um deles fazendo parte dos grupos **Isquemia** (obstrução das carótidas comuns) e **Infusão de glutathion** (obstrução das carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda a 38,99  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$  de solução 0,12 mM de glutathion reduzido). Apenas a atividade hipsíncrona foi analisada. .... 130

- Tabela 19 - Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) do espectro  $\beta_1$  do eletroencefalograma de ratos Wistar-Kyoto, cada um deles fazendo parte dos grupos **Isquemia** (obstrução das carótidas comuns) e **Infusão de glutation** (obstrução das carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda a  $38,99 \mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$  de solução  $0,12 \text{ mM}$  de glutation reduzido). Apenas a atividade hipersíncrona foi analisada. .... 131
- Tabela 20 - Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) do espectro  $\beta_2$  do eletroencefalograma de ratos Wistar-Kyoto, cada um deles fazendo parte dos grupos **Isquemia** (obstrução das carótidas comuns) e **Infusão de glutation** (obstrução das carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda a  $38,99 \mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$  de solução  $0,12 \text{ mM}$  de glutation reduzido). Apenas a atividade hipersíncrona foi analisada. .... 131
- Tabela 21 - Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) do espectro  $\beta_3$  do eletroencefalograma de ratos Wistar-Kyoto, cada um deles fazendo parte dos grupos **Isquemia** (obstrução das carótidas comuns) e **Infusão de glutation** (obstrução das carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda a  $38,99 \mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$  de solução  $0,12 \text{ mM}$  de glutation reduzido). Apenas a atividade hipersíncrona foi analisada. .... 132
- Tabela 22 - Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) do espectro delta do eletroencefalograma de ratos Wistar-Kyoto, cada um deles fazendo parte dos grupos **Isquemia** (obstrução das carótidas comuns) e **Infusão de glutation** (obstrução das carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda a  $38,99 \mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$  de solução  $0,12 \text{ mM}$  de glutation reduzido). Apenas a atividade hipersíncrona foi analisada. .... 132
- Tabela 23 - Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) do espectro teta do eletroencefalograma de ratos Wistar-Kyoto, cada um deles fazendo parte dos grupos **Isquemia** (obstrução das carótidas comuns) e **Infusão de glutation** (obstrução das carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda a  $38,99 \mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$  de solução  $0,12 \text{ mM}$  de glutation reduzido). Apenas a atividade hipersíncrona foi analisada. .... 133
- Tabela 24 - Significância estatística (P) entre os grupos pares **Isquemia (I)** e **Infusão de glutation (IG)**, quando processadas as amplitudes absolutas médias dos espectros eletroencefalográficos (atividade hipersíncrona)..... 133
- Tabela 25 - Média ( $\mu\text{V}$ )  $\pm$  erro padrão da média (E.P.M.) em  $\mu\text{V}$  dos espectros de frequência do EEG processados a partir das amplitudes absolutas médias do exame eletrofisiológico de dois grupos pares de animais: **Isquemia** (obstrução das carótidas comuns) e **Infusão de glutation** (obstrução das carótidas comuns e infusão intracarotídea de glutation  $0,12 \text{ mM}$ ). Apenas a atividade hipersíncrona foi analisada. Foi considerado  $n=7$ ..... 135
- Tabela 26 - Média ( $\mu\text{V}$ )  $\pm$  erro padrão da média (E.P.M.) em  $\mu\text{V}$  dos espectros de frequência do EEG processados a partir das amplitudes absolutas médias do exame eletrofisiológico de dois grupos pares de animais: **Isquemia** (obstrução das carótidas comuns) e **Infusão de glutation** (obstrução das carótidas comuns e infusão intracarotídea de glutation  $0,12 \text{ mM}$ ). Apenas a atividade hipersíncrona foi analisada. Foi considerado  $n=3$ ..... 135

- Tabela 27 – Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) do espectro alfa processadas do eletroencefalograma de oito ratos Wistar-Kyoto anestesiados e com obstrução das artérias carótidas comuns, cada um deles fazendo parte dos grupos controle e tratamento (infusão intracarotídea esquerda, a 43,67  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , de solução 1,2 mM de glutation reduzido). ..... 141
- Tabela 28 – Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) dos espectros beta da região frontal esquerda processadas do eletroencefalograma de oito ratos Wistar-Kyoto anestesiados e com obstrução das artérias carótidas comuns, cada um deles fazendo parte dos grupos controle e tratamento (infusão intracarotídea esquerda, a 43,67  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , de solução 1,2 mM de glutation reduzido). ..... 141
- Tabela 29 – Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) dos espectros beta da região frontal direita processadas do eletroencefalograma de oito ratos Wistar-Kyoto anestesiados e com obstrução das artérias carótidas comuns, cada um deles fazendo parte dos grupos controle e tratamento (infusão intracarotídea esquerda, a 43,67  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , de solução 1,2 mM de glutation reduzido). ..... 141
- Tabela 30 – Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) das faixas de frequência beta da região parietal esquerda processadas do eletroencefalograma de oito ratos Wistar-Kyoto anestesiados com uretana e com obstrução das artérias carótidas comuns, cada um deles fazendo parte dos grupos controle e tratamento (infusão intracarotídea esquerda, a 43,67  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , de solução 1,2 mM de glutation reduzido). ..... 142
- Tabela 31 – Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) das faixas de frequência beta da região parietal direita processadas do eletroencefalograma de oito ratos Wistar-Kyoto anestesiados com uretana e com obstrução das artérias carótidas comuns, cada um deles fazendo parte dos grupos controle e tratamento (infusão intracarotídea esquerda, a 43,67  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , de solução 1,2 mM de glutation reduzido). ..... 142
- Tabela 32 – Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) da faixa de frequência delta processadas do eletroencefalograma de oito ratos Wistar-Kyoto anestesiados com uretana, e com obstrução das artérias carótidas comuns, cada um deles fazendo parte dos grupos controle e tratamento (infusão intracarotídea esquerda, a 43,67  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , de solução 1,2 mM de glutation reduzido). ..... 143
- Tabela 33 – Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) da faixa de frequência teta processadas do eletroencefalograma de oito ratos Wistar-Kyoto anestesiados com uretana, e com obstrução das artérias carótidas comuns, cada um deles fazendo parte dos grupos controle e tratamento (infusão intracarotídea esquerda, a 43,67  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , de solução 1,2 mM de glutation reduzido). ..... 143
- Tabela 34 – Média das amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ )  $\pm$  erro padrão da média ( $\mu\text{V}$ ) dos espectros de frequência do EEG processados a partir das amplitudes absolutas médias do exame eletrofisiológico de dois grupos pares de animais: **Isquemia** (obstrução das carótidas comuns) e **Infusão de glutation** (obstrução das carótidas comuns e infusão intracarotídea de solução 1,2 mM de glutation reduzido). ..... 144

- Tabela 35 – Nível de significância (P) com relação a aumento da amplitude dos potenciais do eletroencefalograma induzido por infusão intracaotídea esquerda de GSH (1,2 mM) em ratos Wistar-Kyoto com obstrução das carótidas comuns..... 144
- Tabela 36 - Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) da faixa de frequência alfa processadas do eletroencefalograma de nove ratos Wistar-Kyoto anestesiados com uretana, cada um deles fazendo parte dos grupos **Isquemia** (obstrução das carótidas comuns) e **Infusão de salina** (obstrução das carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda, durante 60 minutos, de solução salina a 43,70  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ ). Apenas a atividade não hipersíncrona foi analisada. .... 151
- Tabela 37 - Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) da faixa de frequência  $\beta_1$  processadas do eletroencefalograma de nove ratos Wistar-Kyoto anestesiados com uretana, cada um deles fazendo parte dos grupos **Isquemia** (obstrução das carótidas comuns) e **Infusão de salina** (obstrução das carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda, durante 60 minutos, de solução salina a 43,70  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ ). Apenas a atividade não hipersíncrona foi analisada. .... 152
- Tabela 38 - Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) da faixa de frequência  $\beta_2$  processadas do eletroencefalograma de nove ratos Wistar-Kyoto anestesiados com uretana, cada um deles fazendo parte dos grupos **Isquemia** (obstrução das carótidas comuns) e **Infusão de salina** (obstrução das carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda, durante 60 minutos, de solução salina a 43,70  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ ). Apenas a atividade não hipersíncrona foi analisada. .... 152
- Tabela 39 - Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) da faixa de frequência  $\beta_3$  processadas do eletroencefalograma de nove ratos Wistar-Kyoto anestesiados com uretana, cada um deles fazendo parte dos grupos **Isquemia** (obstrução das carótidas comuns) e **Infusão de salina** (obstrução das carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda, durante 60 minutos, de solução salina a 43,70  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ ). Apenas a atividade não hipersíncrona foi analisada. .... 153
- Tabela 40 - Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) da faixa de frequência delta processadas do EEG de nove ratos Wistar-Kyoto anestesiados com uretana, cada um deles fazendo parte dos grupos **Isquemia** (obstrução das carótidas comuns) e **Infusão de salina** (obstrução das carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda, durante 60 minutos, de solução salina a 43,70  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ ). Apenas a atividade não hipersíncrona foi analisada. .... 153
- Tabela 41 - Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) da faixa de frequência teta processadas do eletroencefalograma de nove ratos Wistar-Kyoto anestesiados com uretana, cada um deles fazendo parte dos grupos **Isquemia** (obstrução das carótidas comuns) e **Infusão de salina** (obstrução das carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda, durante 60 minutos, de solução salina a 43,70  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ ). Apenas a atividade não hipersíncrona foi analisada. .... 154

- Tabela 42 - Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) da faixa de frequência alfa processadas do eletroencefalograma de nove ratos Wistar-Kyoto anestesiados com uretana, cada um deles fazendo parte dos grupos **Isquemia** (obstrução das carótidas comuns) e **Infusão de salina** (obstrução das carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda, durante 60 minutos, de solução salina a 43,70  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ ). A atividade hipersíncrona foi analisada. .... 154
- Tabela 43 - Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) da faixa de frequência  $\beta_1$  processadas do eletroencefalograma de nove ratos Wistar-Kyoto anestesiados com uretana, cada um deles fazendo parte dos grupos **Isquemia** (obstrução das carótidas comuns) e **Infusão de salina** (obstrução das carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda, durante 60 minutos, de solução salina a 43,70  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ ). A atividade hipersíncrona foi analisada. .... 155
- Tabela 44 - Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) da faixa de frequência  $\beta_2$  processadas do eletroencefalograma de nove ratos Wistar-Kyoto anestesiados com uretana, cada um deles fazendo parte dos grupos **Isquemia** (obstrução das carótidas comuns) e **Infusão de salina** (obstrução das carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda, durante 60 minutos, de solução salina a 43,70  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ ). A atividade hipersíncrona foi analisada. .... 155
- Tabela 45 - Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) da faixa de frequência  $\beta_3$  processadas do eletroencefalograma de nove ratos Wistar-Kyoto anestesiados com uretana, cada um deles fazendo parte dos grupos **Isquemia** (obstrução das carótidas comuns) e **Infusão de salina** (obstrução das carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda, durante 60 minutos, de solução salina a 43,70  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ ). A atividade hipersíncrona foi analisada. .... 156
- Tabela 46 - Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) da faixa de frequência delta processadas do eletroencefalograma de nove ratos Wistar-Kyoto anestesiados com uretana, cada um deles fazendo parte dos grupos **Isquemia** (obstrução das carótidas comuns) e **Infusão de salina** (obstrução das carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda, durante 60 minutos, de solução salina a 43,70  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ ). A atividade hipersíncrona foi analisada. .... 156
- Tabela 47 - Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) da faixa de frequência teta processadas do eletroencefalograma de nove ratos Wistar-Kyoto anestesiados com uretana, cada um deles fazendo parte dos grupos **Isquemia** (obstrução das carótidas comuns) e **Infusão de salina** (obstrução das carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda, durante 60 minutos, de solução salina a 43,70  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ ). A atividade hipersíncrona foi analisada. .... 157
- Tabela 48 - Significância estatística (P) entre os grupos pares **Isquemia** e **Infusão de salina**, quando comparada a amplitude absoluta média dos espectros eletroencefalográficos da atividade não hipersíncrona. .... 157
- Tabela 49 - Amplitude média ( $\mu\text{V}$ )  $\pm$  erro padrão da média (E.P.M.) em  $\mu\text{V}$  dos espectros de frequência do EEG processados a partir das amplitudes absolutas médias do exame eletrofisiológico de dois grupos pares de animais: **Isquemia** (obstrução das carótidas comuns) e **Infusão de salina** (obstrução das carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda de salina). Apenas a atividade não hipersíncrona foi analisada. .... 158

- Tabela 50 – Amplitude média ( $\mu\text{V}$ )  $\pm$  erro padrão da média (E.P.M.) em  $\mu\text{V}$  dos espectros de frequência do EEG processados a partir das amplitudes absolutas médias do exame eletrofisiológico de dois grupos pares de animais: **Isquemia** (obstrução das carótidas comuns) e **Infusão de salina** (obstrução das carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda de salina). Apenas a atividade não hipersíncrona foi analisada. .... 158
- Tabela 51 – Significância estatística (P) entre os grupos pares com isquemia e isquemia com infusão de salina, quando comparada a amplitude absoluta média dos espectros eletroencefalográficos da atividade hipersíncrona..... 159
- Tabela 52 - Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) do espectro alfa do eletroencefalograma de ratos Wistar-Kyoto anestesiados, distribuídos em três grupos de estudo: SO – sem obstrução de carótidas; CE – com obstrução da carótida comum esquerda; CEG – com obstrução da carótida comum esquerda e infusão a  $41.50 \mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$  de glutathione reduzido (1,2 mM) em seu segmento distal, durante 60 minutos. A atividade não hipersíncrona foi analisada..... 166
- Tabela 53 - Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) do espectro  $\beta_1$  do eletroencefalograma de ratos Wistar-Kyoto anestesiados, distribuídos em três grupos de estudo: SO – sem obstrução de carótidas; CE – com obstrução da carótida comum esquerda; CEG – com obstrução da carótida comum esquerda e infusão a  $41.50 \mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$  de glutathione reduzido (1,2 mM) em seu segmento distal, durante 60 minutos. A atividade não hipersíncrona foi analisada..... 167
- Tabela 54 - Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) do espectro  $\beta_2$  do eletroencefalograma de ratos Wistar-Kyoto anestesiados, distribuídos em três grupos de estudo: SO – sem obstrução de carótidas; CE – com obstrução da carótida comum; CEG – com obstrução da carótida comum esquerda e infusão a  $41.50 \mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$  de solução de glutathione reduzido (1,2 mM) em seu segmento distal, durante 60 minutos. A atividade não hipersíncrona foi analisada..... 167
- Tabela 55 - Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) do espectro  $\beta_3$  do eletroencefalograma de ratos Wistar-Kyoto anestesiados, distribuídos em três grupos de estudo: SO – sem obstrução de carótidas; CE – com obstrução da carótida comum esquerda; CEG – com obstrução da carótida comum esquerda e infusão a  $41,50 \mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$  de solução de glutathione reduzido (1,2 mM) em seu segmento distal, durante 60 minutos. A atividade não hipersíncrona foi analisada. .... 168
- Tabela 56 - Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) do espectro delta do eletroencefalograma de ratos Wistar-Kyoto anestesiados, distribuídos em três grupos de estudo: SO – sem obstrução de carótidas; CE – com obstrução da carótida comum; CEG – com obstrução da carótida comum esquerda e infusão a  $41.50 \mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$  de solução de glutathione reduzido (1,2 mM) em seu segmento distal, durante 60 minutos. A atividade não hipersíncrona foi analisada..... 168
- Tabela 57 - Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) do espectro teta do eletroencefalograma de ratos Wistar-Kyoto anestesiados, distribuídos em três grupos de estudo: SO – sem obstrução de carótidas; CE – com obstrução da carótida comum esquerda; CEG – com obstrução da carótida comum esquerda e infusão a  $41.50 \mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$  de solução de glutathione reduzido (1,2 mM) em seu segmento distal, durante 60 minutos. A atividade não hipersíncrona foi analisada. .... 169

- Tabela 58 - Média das amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ )  $\pm$  erro padrão da média ( $\mu\text{V}$ ) dos espectros alfa, delta e teta do eletroencefalograma de ratos Wistar-Kyoto. Grupos: ratos sem obstrução da carótida comum esquerda; ratos com obstrução da artéria carótida comum esquerda; ratos com obstrução da artéria carótida comum esquerda e infusão no segmento distal da mesma, a  $41.50 \mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , de solução de glutation reduzido ( $1,2 \text{ mM}$ ), durante 60 minutos. A atividade não hipsíncrona foi analisada..... 169
- Tabela 59 - Média das amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ )  $\pm$  erro padrão da média ( $\mu\text{V}$ ) dos espectros  $\beta_1$ ,  $\beta_2$  e  $\beta_3$  do eletroencefalograma de ratos Wistar-Kyoto. Grupos: ratos sem obstrução da carótida comum esquerda; ratos com obstrução da artéria carótida comum esquerda; ratos com obstrução da artéria carótida comum esquerda e infusão no segmento distal da mesma infusão, a  $41.50 \mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , de solução de glutation reduzido ( $1,2 \text{ mM}$ ), durante 60 minutos. A atividade não hipsíncrona foi analisada..... 170
- Tabela 60 - Valores de P resultantes da comparação das amplitudes absolutas médias entre os grupos controle (SO) de tratamento (CE e CEG) e de pares de grupos de tratamento (ANOVA "ONE WAY" RM). Somente os grupos com valores de  $P < 0,05$  foram comparados. Este estudo foi feito a partir de épocas de EEG sem atividade hipsíncrona..... 171
- Tabela 61 - Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) do espectro alfa do eletroencefalograma de ratos Wistar-Kyoto distribuídos em três grupos de estudo: SO - sem obstrução de carótidas; CE - com obstrução da carótida comum; CEG - com obstrução da carótida comum esquerda e infusão, a  $41,50 \mu\text{l}/100 \text{ g} \cdot \text{min}^{-1}$ , durante 60 minutos, de solução de glutation reduzido ( $1,2 \text{ mM}$ ) em seu segmento distal. Na análise foram utilizados períodos com atividade hipsíncrona..... 175
- Tabela 62 - Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) do espectro  $\beta_1$  do eletroencefalograma de ratos Wistar-Kyoto distribuídos em três grupos de estudo: SO - sem obstrução de carótidas; CE - com obstrução da carótida comum; CEG - com obstrução da carótida comum esquerda e infusão, a  $41,50 \mu\text{l}/100 \text{ g} \cdot \text{min}^{-1}$ , durante 60 minutos, de solução de glutation reduzido ( $1,2 \text{ mM}$ ) em seu segmento distal. Na análise foram utilizados períodos com atividade hipsíncrona..... 175
- Tabela 63 - Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) do espectro  $\beta_2$  do eletroencefalograma de ratos Wistar-Kyoto distribuídos em três grupos de estudo: SO - sem obstrução de carótidas; CE - com obstrução da carótida comum; CEG - com obstrução da carótida comum esquerda e infusão, a  $41,50 \mu\text{l}/100 \text{ g} \cdot \text{min}^{-1}$ , durante 60 minutos, de solução de glutation reduzido ( $1,2 \text{ mM}$ ) em seu segmento distal. Na análise foram utilizados períodos com atividade hipsíncrona..... 176

- Tabela 64 - Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) do espectro  $\beta_3$  do eletroencefalograma de ratos Wistar-Kyoto distribuídos em três grupos de estudo: SO – sem obstrução de carótidas; CE – com obstrução da carótida comum; CEG – com obstrução da carótida comum esquerda e infusão, a  $41,50 \mu\text{l}/100 \text{ g}\cdot\text{min}^{-1}$ , durante 60 minutos, de solução de glutation reduzido (1,2 mM) em seu segmento distal. Na análise foram utilizados períodos com atividade hipersíncrona..... 176
- Tabela 65 - Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) do espectro delta do eletroencefalograma de ratos Wistar-Kyoto distribuídos em três grupos de estudo: SO – sem obstrução de carótidas; CE – com obstrução da carótida comum; CEG – com obstrução da carótida comum esquerda e infusão, a  $41,50 \mu\text{l}/100 \text{ g}\cdot\text{min}^{-1}$ , durante 60 minutos, de solução de glutation reduzido (1,2 mM) em seu segmento distal. Na análise foram utilizados períodos com atividade hipersíncrona..... 177
- Tabela 66 - Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) do espectro teta do eletroencefalograma de ratos Wistar-Kyoto distribuídos em três grupos de estudo: SO – sem obstrução de carótidas; CE – com obstrução da carótida comum; CEG – com obstrução da carótida comum esquerda e infusão, a  $41,50 \mu\text{l}/100 \text{ g}\cdot\text{min}^{-1}$ , durante 60 minutos, de solução de glutation reduzido (1,2 mM) em seu segmento distal. Na análise foram utilizados períodos com atividade hipersíncrona..... 177
- Tabela 67 - Média das amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ )  $\pm$  Erro Padrão da Média ( $\mu\text{V}$ ) dos espectros alfa, delta e teta do eletroencefalograma de ratos Wistar-Kyoto. Grupos: animais sem obstrução da carótida comum esquerda; animais com obstrução da artéria carótida comum esquerda; animais com obstrução da artéria carótida comum esquerda e infusão no segmento distal da mesma, a  $41,50 \mu\text{l}/100 \text{ g}\cdot\text{min}^{-1}$ , durante 60 minutos, de solução de glutation reduzido (1,2 mM). Na análise foram utilizados períodos com atividade hipersíncrona. .... 178
- Tabela 68 - Média das amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ )  $\pm$  Erro Padrão da Média ( $\mu\text{V}$ ) dos espectros  $\beta_1$ ,  $\beta_2$  e  $\beta_3$  do eletroencefalograma de ratos Wistar-Kyoto. Grupos: animais sem obstrução da carótida comum esquerda; animais com obstrução da artéria carótida comum esquerda; animais com obstrução da artéria carótida comum esquerda e infusão no segmento distal da mesma, a  $41,50 \mu\text{l}/100 \text{ g}\cdot\text{min}^{-1}$ , durante 60 minutos, de solução de glutation reduzido (1,2 mM). Na análise foram utilizados períodos com atividade hipersíncrona. .... 178
- Tabela 69 – Comparação das medianas (quando o teste de normalidade falhou) e das médias das amplitudes absolutas médias entre os grupos controle (SO) e de tratamento (CE) e (CEG) e de pares de grupos de tratamento (ANOVA “ONE WAY” RM): valores de P. Somente os grupos com valores de  $P < 0,05$  foram comparados. Na análise foram utilizados períodos com atividade hipersíncrona. 179
- Tabela 70 – Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) do espectro alfa do EEG de animais, cada um deles participando de dois grupos: **Isquemia** (obstrução das artérias carótidas comuns) e **Infusão de L-cistina** (obstrução bilateral das artérias carótidas comuns e infusão intracarótidea esquerda, a  $43,31 \mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , durante sessenta minutos, de solução 2,1 mM de L-cistina). .... 185

- Tabela 71 – Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) do espectro  $\beta_1$  do EEG de animais, cada um deles participando de dois grupos: **Isquemia** (obstrução das artérias carótidas comuns) e **Infusão de L-cistina** (obstrução bilateral das artérias carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda, a 43,31  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , durante sessenta minutos, de solução 2,1 mM de L-cistina). ..... 185
- Tabela 72 – Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) do espectro  $\beta_2$  do EEG de animais, cada um deles participando de dois grupos: **Isquemia** (obstrução das artérias carótidas comuns) e **Infusão de L-cistina** (obstrução bilateral das artérias carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda, a 43,31  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , durante sessenta minutos, de solução 2,1 mM de L-cistina). ..... 186
- Tabela 73 – Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) do espectro  $\beta_3$  do EEG de animais, cada um deles participando de dois grupos: **Isquemia** (obstrução das artérias carótidas comuns) e **Infusão de L-cistina** (obstrução bilateral das artérias carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda, a 43,31  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , durante 60 minutos, de solução 2,1 mM de L-cistina). ..... 186
- Tabela 74 – Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) do espectro delta do EEG de animais, cada um deles participando de dois grupos: **Isquemia** (obstrução das artérias carótidas comuns) e **Infusão de L-cistina** (obstrução bilateral das artérias carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda, a 43,31  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , durante sessenta minutos, de solução 2,1 mM de L-cistina). ..... 187
- Tabela 75 – Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) do espectro teta do EEG de animais, cada um deles participando de dois grupos: **Isquemia** (obstrução das artérias carótidas comuns) e **Infusão de L-cistina** (obstrução bilateral das artérias carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda, a 43,31  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , durante sessenta minutos, de solução 2,1 mM de L-cistina). ..... 187
- Tabela 76 – Média ( $\mu\text{V}$ )  $\pm$  erro padrão da média ( $\mu\text{V}$ ) das amplitudes absolutas médias dos diversos espectros de frequência do eletroencefalograma de dois grupos pares de animais ( $n=9$ ): **Isquemia** (obstrução das artérias carótidas comuns) e **Infusão de L-cistina** (obstrução bilateral das artérias carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda, a 43,31  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , durante sessenta minutos, de solução 2,1 mM de L-cistina). ..... 188
- Tabela 77 – Valores de P; grupos comparados: (I) – **Isquemia** (obstrução bilateral das artérias carótidas comuns); (IC) – **Infusão de L-cistina** (obstrução das artérias carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda, a 43,31  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , durante sessenta minutos, de solução 2,1 mM de L-cistina).. ..... 188
- Tabela 78 – Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) do espectro alfa do EEG de animais, cada um deles participando de dois grupos: **Isquemia** (obstrução das artérias carótidas comuns) e **Infusão de L-glutamina** (obstrução bilateral das artérias carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda de solução 1,2 mM de L-glutamina, a 42,94  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , durante sessenta minutos). ..... 194
- Tabela 79 – Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) do espectro  $\beta_1$  do EEG de animais, cada um deles participando de dois grupos: **Isquemia** (obstrução das artérias carótidas comuns) e **Infusão de L-glutamina** (obstrução bilateral das artérias carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda de solução 1,2 mM de L-glutamina, a 42,94  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , durante sessenta minutos). ..... 194

- Tabela 80 – Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) do espectro  $\beta_2$  do EEG de animais, cada um deles participando de dois grupos: **Isquemia** (obstrução das artérias carótidas comuns) e **Infusão de L-glutamina** (obstrução bilateral das artérias carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda de solução 1,2 mM de L-glutamina a, a 42,94  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , durante sessenta minutos)..... 195
- Tabela 81 – Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) do espectro  $\beta_3$  do EEG de animais, cada um deles participando de dois grupos: **Isquemia** (obstrução das artérias carótidas comuns) e **Infusão de L-glutamina** (obstrução bilateral das artérias carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda de solução 1,2 mM de L-glutamina, a 42,94  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , durante sessenta minutos). ..... 195
- Tabela 82 – Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) do espectro delta do EEG de animais, cada um deles participando de dois grupos: **Isquemia** (obstrução das artérias carótidas comuns) e **Infusão de L-glutamina** (obstrução bilateral das artérias carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda de solução 1,2 mM de L-glutamina, a 42,94  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , durante sessenta minutos). ..... 196
- Tabela 83 – Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) do espectro teta do EEG de animais, cada um deles participando de dois grupos: **Isquemia** (obstrução das artérias carótidas comuns) e **Infusão de L-glutamina** (obstrução bilateral das artérias carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda de solução 1,2 mM de L-glutamina, a 42,94  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , durante sessenta minutos). ..... 196
- Tabela 84 – Média ( $\mu\text{V}$ )  $\pm$  erro padrão da média ( $\mu\text{V}$ ) calculados a partir das amplitudes absolutas médias dos diversos espectros de frequência do eletroencefalograma de dois grupos pares de animais ( $n=9$ ): **Isquemia** (obstrução das artérias carótidas comuns) e **Infusão de L-glutamina** (obstrução bilateral das artérias carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda de solução 2,1 mM de L-glutamina, a 42,94  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , durante sessenta minutos). ..... 197
- Tabela 85 – Valores de P; grupos comparados: (I) – **Isquemia** (obstrução bilateral das artérias carótidas comuns); (IGlm) – **Infusão de L-glutamina** (obstrução das artérias carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda de solução 1,2 mM de L-glutamina, a 42,94  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , durante sessenta minutos). ..... 197
- Tabela 86 – Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) do espectro alfa (frontal esquerdo e direito) do EEG de animais, cada um deles participando de dois grupos: **Isquemia** (obstrução das artérias carótidas comuns) e **Infusão de ácido  $\alpha$ -lipóico** (obstrução bilateral das artérias carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda, a 41,91  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , durante trinta minutos, de solução 3,03 mM de ácido  $\alpha$ -lipóico). Períodos iniciais, intermediários e finais da infusão foram estudados separadamente..... 206
- Tabela 87 – Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) do espectro alfa (parietal esquerdo e direito) do EEG de animais, cada um deles participando de dois grupos: **Isquemia** (obstrução das artérias carótidas comuns) e **Infusão de ácido  $\alpha$ -lipóico** (obstrução bilateral das artérias carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda, a 41,91  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , durante trinta minutos, de solução 3,03 mM de ácido  $\alpha$ -lipóico). Períodos iniciais, intermediários e finais da infusão foram estudados separadamente..... 206

- Tabela 88 – Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) do espectro  $\beta_1$  (frontal esquerdo e direito) do EEG de animais, cada um deles participando de dois grupos: **Isquemia** (obstrução das artérias carótidas comuns) e **Infusão de ácido  $\alpha$ -lipóico** (obstrução bilateral das artérias carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda, a 41,91  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , durante trinta minutos, de solução 3,03 mM de ácido  $\alpha$ -lipóico). Períodos iniciais, intermediários e finais da infusão foram estudados separadamente..... 207
- Tabela 89 – Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) do espectro  $\beta_1$  (parietal esquerdo e direito) do EEG de animais, cada um deles participando de dois grupos: **Isquemia** (obstrução das artérias carótidas comuns) e **Infusão de ácido  $\alpha$ -lipóico** (obstrução bilateral das artérias carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda, a 41,91  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , durante trinta minutos, de solução 3,03 mM de ácido  $\alpha$ -lipóico). Períodos iniciais, intermediários e finais da infusão foram estudados separadamente..... 207
- Tabela 90 – Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) do espectro  $\beta_2$  (frontal esquerdo e direito) do EEG de animais, cada um deles participando de dois grupos: **Isquemia** (obstrução das artérias carótidas comuns) e **Infusão de ácido  $\alpha$ -lipóico** (obstrução bilateral das artérias carótidas comuns e infusão intracarotídea, a 41,91  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , durante trinta minutos, de solução 3,03 mM de ácido  $\alpha$ -lipóico). Períodos iniciais, intermediários e finais da infusão foram estudados separadamente..... 208
- Tabela 91 – Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) do espectro  $\beta_2$  (parietal esquerdo e direito) do EEG de animais, cada um deles participando de dois grupos: **Isquemia** (obstrução das artérias carótidas comuns) e **Infusão de ácido  $\alpha$ -lipóico** (obstrução bilateral das artérias carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda, a 41,91  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , durante trinta minutos, de solução 3,03 mM de ácido  $\alpha$ -lipóico). Períodos iniciais, intermediários e finais da infusão foram estudados separadamente..... 208
- Tabela 92 – Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) do espectro  $\beta_3$  (frontal esquerdo e direito) do EEG de animais, cada um deles participando de dois grupos: **Isquemia** (obstrução das artérias carótidas comuns) e **Infusão de ácido  $\alpha$ -lipóico** (obstrução bilateral das artérias carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda, a 41,91  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , durante trinta minutos, de solução 3,03 mM de ácido  $\alpha$ -lipóico). Períodos iniciais, intermediários e finais da infusão foram estudados separadamente..... 209
- Tabela 93 – Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) do espectro  $\beta_3$  (parietal esquerdo e direito) do EEG de animais, cada um deles participando de dois grupos: **Isquemia** (obstrução das artérias carótidas comuns) e **Infusão de ácido  $\alpha$ -lipóico** (obstrução bilateral das artérias carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda, a 41,91  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , durante trinta minutos, de solução 3,03 mM de ácido  $\alpha$ -lipóico). Períodos iniciais, intermediários e finais da infusão foram estudados separadamente..... 209

- Tabela 94 – Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) do espectro delta (frontal esquerdo e direito) do EEG de animais, cada um deles participando de dois grupos: **Isquemia** (obstrução das artérias carótidas comuns) e **Infusão de ácido  $\alpha$ -lipóico** (obstrução bilateral das artérias carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda, a 41,91  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , durante trinta minutos, de solução 3,03 mM de ácido  $\alpha$ -lipóico). Períodos iniciais, intermediários e finais da infusão foram estudados separadamente..... 210
- Tabela 95 – Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) do espectro delta (parietal esquerdo e direito) do EEG de animais, cada um deles participando de dois grupos: **Isquemia** (obstrução das artérias carótidas comuns) e **Infusão de ácido  $\alpha$ -lipóico** (obstrução bilateral das artérias carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda, a 41,91  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , durante trinta minutos, de solução 3,03 mM de ácido  $\alpha$ -lipóico). Períodos iniciais, intermediários e finais da infusão foram estudados separadamente..... 210
- Tabela 96 – Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) do espectro teta (frontal esquerdo e direito) do EEG de animais, cada um deles participando de dois grupos: **Isquemia** (obstrução das artérias carótidas comuns) e **Infusão de ácido  $\alpha$ -lipóico** (obstrução bilateral das artérias carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda, a 41,91  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , durante trinta minutos, de solução 3,03 mM de ácido  $\alpha$ -lipóico). Períodos iniciais, intermediários e finais da infusão foram estudados separadamente..... 211
- Tabela 97 – Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) do espectro teta (parietal esquerdo e direito) do EEG de animais, cada um deles participando de dois grupos: **Isquemia** (obstrução das artérias carótidas comuns) e **Infusão de ácido  $\alpha$ -lipóico** (obstrução bilateral das artérias carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda, a 41,91  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , durante trinta minutos, de solução 3,03 mM de ácido  $\alpha$ -lipóico). Períodos iniciais, intermediários e finais da infusão foram estudados separadamente..... 211
- Tabela 98 – Média  $\pm$  erro padrão da média das amplitudes médias ( $\mu\text{V}$ ) dos espectros de frequência alfa, teta e delta do EEG nas regiões frontal esquerda, frontal direita, parietal esquerda e parietal direita em grupo controle (isquemia) com obstrução das artérias carótidas comuns e nos períodos inicial, intermediário e final de infusão intracarotídea esquerda, a 41,91  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , durante trinta minutos, de solução 3,03 mM de ácido  $\alpha$ -lipóico..... 212
- Tabela 99 – Média  $\pm$  erro padrão da média das amplitudes médias ( $\mu\text{V}$ ) dos espectros de frequência beta<sub>1</sub>, beta<sub>2</sub> e beta<sub>3</sub> do EEG nas regiões frontal esquerda, frontal direita, parietal esquerda e parietal direita em grupo controle (isquemia) com obstrução das artérias carótidas comuns e nos períodos inicial, intermediário e final de infusão intracarotídea esquerda, a 41,91  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , durante trinta minutos, de solução 3,03 mM de ácido  $\alpha$ -lipóico..... 212
- Tabela 100 – Grupos pares com variação estatisticamente significativa ( $P < 0,05$ ) das amplitudes absolutas médias dos espectros alfa e betas do eletroencefalograma de ratos com isquemia (obstrução das artérias carótidas comuns), e dos mesmos animais com infusão intracarotídea esquerda de ácido  $\alpha$ -lipóico 3,03 mM, a 41,91  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , durante trinta minutos..... 213

- Tabela 101 – Grupos pares com variação estatisticamente significativa ( $P < 0,05$ ) das amplitudes absolutas médias dos espectros delta e teta do eletroencefalograma de ratos com isquemia (obstrução das artérias carótidas comuns), e dos mesmos animais com infusão intracarotídea esquerda de ácido  $\alpha$ -lipóico 3,03 mM, a 41,91  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , durante trinta minutos. .... 214
- Tabela 102 – Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) do espectro alfa do EEG de animais, cada um deles participando de dois grupos: **Isquemia** (obstrução das artérias carótidas comuns) e **Infusão de ácido  $\alpha$ -lipóico** (obstrução bilateral das artérias carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda, a 45,87  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , durante 30 minutos, de solução 6,06 mM de ácido  $\alpha$ -lipóico). .... 220
- Tabela 103 – Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) do espectro beta<sub>1</sub> do EEG de animais, cada um deles participando de dois grupos: **Isquemia** (obstrução das artérias carótidas comuns) e **Infusão de ácido  $\alpha$ -lipóico** (obstrução bilateral das artérias carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda, a 45,87  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , durante trinta minutos, de solução 6,06 mM de ácido  $\alpha$ -lipóico). .... 220
- Tabela 104 – Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) do espectro beta<sub>2</sub> do EEG de animais, cada um deles participando de dois grupos: **Isquemia** (obstrução das artérias carótidas comuns) e **Infusão de ácido  $\alpha$ -lipóico** (obstrução bilateral das artérias carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda, a 45,87  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , durante trinta minutos, de solução 6,06 mM de ácido  $\alpha$ -lipóico). .... 220
- Tabela 105 – Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) do espectro beta<sub>3</sub> do EEG de animais, cada um deles participando de dois grupos: **Isquemia** (obstrução das artérias carótidas comuns) e **Infusão de ácido  $\alpha$ -lipóico** (obstrução bilateral das artérias carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda, a 45,87  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , durante trinta minutos, de solução 6,06 mM de ácido  $\alpha$ -lipóico). .... 221
- Tabela 106 – Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) do espectro delta do EEG de animais, cada um deles participando de dois grupos: **Isquemia** (obstrução das artérias carótidas comuns) e **Infusão de ácido  $\alpha$ -lipóico** (obstrução bilateral das artérias carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda, a 45,87  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , durante trinta minutos, de solução 6,06 mM de ácido  $\alpha$ -lipóico). .... 221
- Tabela 107 – Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) do espectro teta do EEG de animais, cada um deles participando de dois grupos: **Isquemia** (obstrução das artérias carótidas comuns) e **Infusão de ácido  $\alpha$ -lipóico** (obstrução bilateral das artérias carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda, a 45,87  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , durante trinta minutos, de solução 6,06 mM de ácido  $\alpha$ -lipóico). .... 222
- Tabela 108 – Média ( $\mu\text{V}$ )  $\pm$  erro padrão da média ( $\mu\text{V}$ ) das amplitudes absolutas médias dos espectros de frequência do EEG de ratos. Cada animal fez parte de dois grupos: **Isquemia** (obstrução das artérias carótidas comuns) e **Infusão de ácido  $\alpha$ -lipóico** (obstrução bilateral das artérias carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda, a 45,87  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , durante trinta minutos, de solução 6,06 mM de ácido  $\alpha$ -lipóico). .... 222

- Tabela 109 – Valores de P; grupos comparados: (I) – obstrução bilateral das artérias carótidas comuns; (IAL) – obstrução das artérias carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda, a 45,87  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , durante trinta minutos, de solução 6,06 mM de ácido  $\alpha$ -lipóico..... 223
- Tabela 110 – Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) do espectro alfa do EEG de animais, cada um deles participando de dois grupos: **Isquemia** (obstrução das artérias carótidas comuns) e **Infusão de ácido  $\alpha$ -lipóico** (obstrução bilateral das artérias carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda, a 44,84  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , durante trinta minutos, de solução 60,6 mM de ácido  $\alpha$ -lipóico)... 228
- Tabela 111 – Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) do espectro beta<sub>1</sub> do EEG de animais, cada um deles participando de dois grupos: **Isquemia** (obstrução das artérias carótidas comuns) e **Infusão de ácido  $\alpha$ -lipóico** (obstrução bilateral das artérias carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda, a 44,84  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , durante trinta minutos, de solução 60,6 mM de ácido  $\alpha$ -lipóico)... 229
- Tabela 112 – Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) do espectro beta<sub>2</sub> do EEG de animais, cada um deles participando de dois grupos: **Isquemia** (obstrução das artérias carótidas comuns) e **Infusão de ácido  $\alpha$ -lipóico** (obstrução bilateral das artérias carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda, a 44,84  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , durante 30 minutos, de solução 60,6 mM de ácido  $\alpha$ -lipóico). ..... 229
- Tabela 113 – Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) do espectro beta<sub>3</sub> do EEG de animais, cada um deles participando de dois grupos: **Isquemia** (obstrução das artérias carótidas comuns) e **Infusão de ácido  $\alpha$ -lipóico** (obstrução bilateral das artérias carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda, a 44,84  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , durante trinta minutos, de solução 60,6 mM de ácido  $\alpha$ -lipóico)... 229
- Tabela 114 – Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) do espectro delta do EEG de animais, cada um deles participando de dois grupos: **Isquemia** (obstrução das artérias carótidas comuns) e **Infusão de ácido  $\alpha$ -lipóico** (obstrução bilateral das artérias carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda, a 44,84  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , durante trinta minutos, de solução 60,6 mM de ácido  $\alpha$ -lipóico)... 230
- Tabela 115 – Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) do espectro teta do EEG de animais, cada um deles participando de dois grupos: **Isquemia** (obstrução das artérias carótidas comuns) e **Infusão de ácido  $\alpha$ -lipóico** (obstrução bilateral das artérias carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda, a 44,84  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , durante trinta minutos, de solução 60,6 mM de ácido  $\alpha$ -lipóico)... 230
- Tabela 116 – Amplitude média ( $\mu\text{V}$ )  $\pm$  erro padrão da média (E.P.M.) em  $\mu\text{V}$  dos espectros de frequência do EEG processados a partir das amplitudes absolutas médias do exame eletrofisiológico de dois grupos pares de animais: **Isquemia** (obstrução das artérias carótidas comuns) e **Infusão de ácido  $\alpha$ -lipóico** (obstrução bilateral das artérias carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda de solução 60,6 mM de ácido  $\alpha$ -lipóico), durante trinta minutos. .... 231
- Tabela 117 – Valores de P; grupos comparados: (I) – obstrução bilateral das artérias carótidas comuns; (IAL) – obstrução das artérias carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda de 5 ml de solução 60,6 mM de ácido  $\alpha$ -lipóico..... 231

Tabela 118 – Dosagem de glutathion reduzido em fragmentos corticais de ratos Wistar-Kyoto anestesiados com uretana. ....	236
Tabela 119 – Dosagem de glutathion reduzido em fragmentos corticais de ratos Wistar-Kyoto anestesiados com uretana e com obstrução bilateral das artérias carótidas comuns.....	236
Tabela 120 – Dosagem de glutathion reduzido em fragmentos corticais de ratos Wistar-Kyoto anestesiados com uretana, com obstrução bilateral das artérias carótidas comuns e após infusão intracarotídea esquerda, a 43,67 $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , durante 60 minutos, de solução 1,2 mM de glutathion reduzido. ....	236
Tabela 121 – Dosagem de glutathion reduzido em fragmentos corticais de ratos Wistar-Kyoto anestesiados com uretana, com obstrução bilateral das artérias carótidas comuns e após infusão intracarotídea esquerda, a 45,87 $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , durante 30 minutos, de solução 6,06 mM de ácido $\alpha$ -lipóico.....	237
Tabela 122 – Dosagem de glutathion reduzido em fragmentos corticais de ratos Wistar-Kyoto anestesiados com uretana, com obstrução bilateral das artérias carótidas comuns e após infusão intracarotídea esquerda, a 44,84 $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , durante 30 minutos, de solução 60,6 mM de ácido $\alpha$ -lipóico. ....	237
Tabela 123 – Níveis tissulares cerebrais de glutathion reduzido: média da concentração de glutathion reduzido $\pm$ erro padrão da média [( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )/mgT] nos cinco grupos estudados.....	238
Tabela 124 – Níveis tissulares cerebrais de glutathion reduzido: valores de P (teste t-student) entre pares de grupos utilizados no estudo.....	238

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Glicólise (Ebden-Meyerhof).....	14
Figura 2 – Ciclo de Krebs e fosforilação oxidativa.....	15
Figura 3 - Glicólise ao nível do astrócito induzida pelo glutamato durante ativação de uma determinada área cortical.....	18
Figura 4 - Via da pentose-fosfato.....	23
Figura 5 – Reações enzimáticas envolvidas nas reações dos dois sistemas principais da remoção de radicais livres, SOD e GSH-Px.....	24
Figura 6 – Produção de ATP durante o metabolismo aeróbico e anaeróbico de glicose.....	32
Figura 7 – Representação esquemática de receptores de aminoácidos excitadores, principalmente glutamato.....	43
Figura 8 – Mecanismos de fosforilação de receptores de glutamato durante a isquemia cerebral por ação da proteína-quinase C (PKC), quinase II dependente de cálcio/calmodulina (CaMKII) e tirosina-quinase (PTK).....	48
Figura 9 – Produção de mediadores lipídicos, a partir da ação de PLA <sub>2</sub> .....	51
Figura 10 – Vias de reciclagem de antioxidantes em meios biológicos.....	68
Figura 11 – Seqüência de eventos causados pela elevação dos níveis intracelulares de Ca <sup>++</sup> secundária à falência bioenergética devida a uma isquemia cerebral.....	69
Figura 12 – Estrutura química de GSH.....	71
Figura 13 – Síntese e degradação de GSH.....	72
Figura 14 – Ciclo GSH-GSSG.....	73
Figura 15 –GSH no equilíbrio da óxido-redução dos grupos tióis.....	74
Figura 16 – Estrutura química do ácido di-hidrolipóico e $\alpha$ -lipóico.....	77
Figura 17 - Reações de reversão de padrão normal na presença do ácido $\alpha$ -lipóico livre.....	79
Figura 18 – Sistema de captação, análise e armazenamento dos sinais eletroencefalográficos e eletrocardiográficos.....	88
Figura 19 – Sistema de infusão e de captação e análise de sinais eletrofisiológicos utilizados no procedimento experimental.....	91
Figura 20 – Disposição dos eletrodos usados para captação de sinais.....	92
Figura 21 – Artérias carótidas comuns canuladas.....	92
Figura 22 –EEG de rato sem e com isquemia.....	118
Figura 23 – EEG e ECG de ratos Wistar-Kyoto anestesiados, demonstrando modalidades de atividade eletroencefalográfica hipersíncrona.....	139
Figura 24 – EEG e ECG de rato anestesiado com obstrução bilateral das carótidas comuns.....	149
Figura 25 – EEG e ECG de rato anestesiado com obstrução bilateral das carótidas comuns durante infusão de GSH (1,2 mM).....	149

Título: Avaliação eletrofisiológica da ação dos antioxidantes glutathione e ácido  $\alpha$ -lipóico em um modelo animal de isquemia cerebral.

Autor: Otoni Cardoso do Vale

Tese de Doutorado em Farmacologia – UFC, 2000

## RESUMO

Um modelo animal de isquemia cerebral foi desenvolvido. Uma análise eletroencefalográfica das amplitudes absolutas de várias faixas de frequência foi realizada com a finalidade de demonstrar os efeitos na atividade elétrica cerebral, induzidos pela oclusão das artérias carótidas comuns de ratos Wistar-Kyoto anestesiados com uretana. As ondas do eletroencefalograma foram captadas a partir de eletrodos subcutâneos da região frontal esquerda (F3), frontal direita (F4), parietal esquerda (P3), parietal direita (P4), e do vértex (Cz). A análise eletrofisiológica consistiu da avaliação das amplitudes absolutas médias dos vários espectros de frequência (alfa,  $\beta_1$ ,  $\beta_2$ ,  $\beta_3$ , teta e delta). O estudo da atividade elétrica cerebral foi feito com utilização de um sistema computadorizado apropriado para análise eletrofisiológica. Foi verificada uma redução altamente significativa ( $P < 0,015$ ) das amplitudes absolutas médias das ondas espectrais após oclusão de ambas as artérias carótidas comuns. A infusão de solução 1,2 mM de glutathione reduzido no segmento cefálico da artéria carótida comum esquerda de ratos Wistar-Kyoto significativamente reverteu a depressão das amplitudes absolutas das várias frequências espectrais do eletroencefalograma ( $P < 0,05$ ), induzida pela oclusão de ambas as artérias carótidas comuns. A oclusão da artéria carótida comum esquerda de ratos anestesiados com uretana causou redução menos significante da amplitude absoluta do que a oclusão de ambas as artérias carótidas comuns, tendo sido menos evidente a recuperação da amplitude absoluta com infusão intracarotídea de solução 1,2 mM de glutathione reduzido. A infusão intracarotídea esquerda de solução 0,12 mM de glutathione reduzido

em ratos com oclusão bilateral das artérias carótidas comuns reverteu a redução da amplitude absoluta média do espectro  $\beta_1$  frontal direito, quando analisada a atividade hipersíncrona ( $P < 0,05$ ), porém induziu atividade eletrofisiológica de sono NREM ( $P < 0,05$ ). A infusão intracarotídea esquerda de solução 2,1 mM de L-cistina ou 1,2 mM de L-glutamina em ratos com oclusão de ambas as artérias carótidas comuns não produziu modificações consistentes nas amplitudes absolutas dos espectros do eletroencefalograma. A infusão intracarotídea esquerda de ácido  $\alpha$ -lipóico em ratos com oclusão de ambas as artérias carótidas comuns causou uma redução inicial e recuperação parcial final de vários espectros de frequência do eletroencefalograma ( $P < 0,05$ ); a infusão intracarotídea de solução 6,06 mM de ácido  $\alpha$ -lipóico significativamente reverteu a depressão induzida pela isquemia das amplitudes absolutas dos espectros teta das regiões frontais e delta da região parietal direita; a infusão intracarotídea de solução 60,6 mM de ácido  $\alpha$ -lipóico significativamente aumentou a depressão induzida pela isquemia de quase todos os espectros de frequência do eletroencefalograma ( $P < 0,05$ ). Foi finalmente demonstrado que as infusões intracarotídeas de solução 1,2 mM de glutathione reduzido e 6,06 mM de ácido  $\alpha$ -lipóico em ratos com oclusão das artérias carótidas comuns induziram significativo aumento dos níveis cerebrais de glutathione reduzido ( $P < 0,05$ ). Concluiu-se que uma análise eletroencefalográfica adequada de ratos Wistar-Kyoto com oclusão das artérias carótidas comuns é um modelo valioso de estudo de efeitos citotóxicos da isquemia cerebral e pode ser usado para verificar o efeito citoprotetor de glutathione reduzido e ambas ações pró-oxidante ou antioxidante do ácido  $\alpha$ -lipóico, bem como, para estudo de efeitos de outros fármacos no cérebro.

# 1 HISTÓRICO

## 1.1 Da apoplexia aos antioxidantes

De modo geral, os autores antigos se referiam aos episódios de isquemia cerebral, identificando-os como apoplexia, às vezes, como paraplexia ou paralisia. Apoplexia é um termo derivado do grego, que significa ataque com violência e tem sido usado em Medicina desde a época de Hipócrates até a primeira metade do século XX (Pound et al., 1997).

Segundo Stannard (1995), Hipócrates se referiu ao tema, afirmando que “se respirações copiosas se precipitam por todo o corpo, o paciente inteiro é afetado por apoplexia; se as respirações desaparecem, a doença chega ao fim; se permanecem, a doença também permanece”. Outro autor (McHenry Jr., 1981), abordando o tema, relatou que Hipócrates fez menção a várias causas de apoplexia, destacando aquecimento dos vasos sanguíneos da cabeça, que, assim, “atraíam fleuma que causavam fluxo de bile preta na cabeça”. O mesmo autor destacou o pensamento de Galeno que, seguindo o mesmo padrão de pensamento de Hipócrates, sugeriu que o mesmo “fleuma, que se acumulava nas artérias do cérebro, obstruía a passagem dos espíritos animais dos ventrículos” e considerou a rede de vasos sanguíneos da base do cérebro, denominada na época de “rete mirabile” (também enfatizada por Leonardo da Vinci e Andreas Versalius) como essencial para seu funcionamento. Galeno também descreveu as artérias carótidas, bem como alguns dos ramos intracranianos e destacou os seios venosos, conforme destaca McHenry Jr. (1981). Esse autor colecionou vários aspectos marcantes na história da doença vascular cerebral, destacando-se a sugestão de Aretaeus de que o ataque de apoplexia fosse decorrente da congestão do fluxo de sangue, bem como da

falta do mesmo na parte envolvida ou do desvio deste sangue da parte envolvida do cérebro para as partes sadias, sendo esta a primeira menção histórica, embora, de certo modo vaga, de que a isquemia pudesse ser causa de apoplexia e de que o comprometimento unilateral era característica importante de alguns casos de apoplexia: “Em ataques menores de apoplexia é necessário considerar se a convulsão paralítica ocorre no lado esquerdo ou direito”. Convém destacar que alguns conceitos de Hipócrates pertinentes à apoplexia são ainda atuais, quando se estuda isquemia cerebral. Dois destes conceitos merecem destaque: “pessoas são mais susceptíveis de apoplexia entre as idades de quarenta a sessenta anos” e “ataques incomuns de dormência e anestesia são sinais de apoplexia iminente”. O mesmo autor destaca ainda que o comprometimento da linguagem, caracterizado em tempos hodiernos como afasia, observada em alguns casos de infarto no hemisfério cerebral esquerdo, já era uma das manifestações comuns relatadas por Hipócrates em suas observações de casos de apoplexia.

Em seu trabalho, **Doenças da Antiguidade Ocidental**, Stanard (1995), também citando a frase de Santo Isidoro de Sevilha, “apoplexia é uma rápida efusão de sangue, em que aqueles que morrem são sufocados”, destaca a preocupação já dominante na época pertinente à etiologia do processo. Observa-se, a partir da análise deste pensamento, que já havia a preocupação de incluir fatos que foram superpostos às doenças vasculares hemorrágicas descritas mais recentemente. Fazendo referência aos trabalhos de Anulus Cornelius Celsus, em 1938, o mesmo autor assinala que, séculos depois de Hipócrates, a apoplexia era referida como relaxamento dos tendões (*resolutio nervorum*), podendo envolver todo o corpo, como verdadeira apoplexia, ou parte dele e, neste caso, a apoplexia era referida como paralisia.

Referindo-se aos trabalhos de Galeno, Poirier & Derouesné (1995) enfatizam que este estudioso admitia apoplexia como decorrente de comprometimento da substância cerebral, distinguindo-a da epilepsia, a qual representava um distúrbio da função cerebral. Um fato ainda marcante, que diz respeito à documentação histórica da doença vascular cerebral, segundo estes mesmos autores, graças ao desenvolvimento da imprensa, foi a edição de numerosos trabalhos, destacando-se a publicação de Dechembre **Dicctionaire encyclopédique des sciences médicales**, colecionando 150 referências entre 1611 e 1865.

Durante a Idade Média e a Renascença pouco se acrescentou aos conhecimentos da Antiguidade no tocante à apoplexia. No século XVII, contudo, Wepfer apud McHenry Jr. (1981) propiciou as primeiras correlações entre apoplexia e hemorragia, ao mesmo tempo em que já fazia menção aos fatores de risco da doença vascular cerebral, quando afirmou que os indivíduos mais predispostos à apoplexia eram os obesos, que demonstravam furor na face e nas mãos, e cujo pulso era constantemente irregular. Wepfer foi um destacado e brilhante profissional, médico do Duque de Wurtemberg, que realizou meticulosos estudos de circulação em cérebros de pacientes que faleceram com apoplexia. Um dos pacientes ilustres, vítima de doença vascular cerebral, cujo cérebro foi submetido a exame pós-morte, foi o famoso professor de Anatomia, Marcello Malpighi (1628-1694). Wepfer verificou que o ventrículo direito de seu cérebro era repleto de um coágulo escuro de sangue (Pearse, 1997).

Os conceitos de Wepfer pertinentes à apoplexia foram, na maioria, similares aos de Galeno, encerrando, contudo, duas grandes diferenças: a “rete mirabile” não existia no cérebro humano e os ventrículos cerebrais não eram local onde “espíritos animais” tinham participação na elaboração do sensório

ou da locomoção, conforme ressaltam Gurdjian & Gurdjian (1979). Em estudo histórico sobre a doença vascular cerebral, estes autores enfatizam que a doença obstrutiva das carótidas e vertebrais foi descrita por Wepfer em 1658 e por Willis em 1665, e que os estudos de Johan Jacob Wepfer de Schaffhausen, na época, testemunharam notável avanço na análise da apoplexia. O círculo arterial da base do cérebro que leva o nome de Polígono de Willis, de fato, foi descrito pela primeira vez por Gabriel Fallopius (discípulo de Vesalius) em 1561, porém foi Willis quem catalogou importantes observações e experimentações sobre o mesmo (McHenry Jr., 1981). Gurdjian & Gurdjian (1979) enfatizam que Wepfer já mencionava que, se um lado do cérebro fosse acometido durante uma apoplexia, haveria hemiplegia, sem se dar conta de que a hemiplegia ocorria no lado oposto à lesão e, se os dois lados do cérebro fossem envolvidos, haveria inconsciência com possibilidade de êxito letal.

No século XVIII, o conhecimento de apoplexia se resumia basicamente no conjunto de observações de investigadores passados, embora encerrando maior preocupação em considerar hemorragia cerebral como um aspecto de apoplexia à parte.

Um fato marcante que não pode ser olvidado na história da doença vascular cerebral é que a primeira descrição de insuficiência vascular cerebral transitória foi feita por um famoso médico de Londres, em 1802, William Herberden, tendo este advertido que estes ataques podiam preceder paralisia completa (Fields, 1998).

Uma contribuição importante para o conhecimento da apoplexia no século XVIII foi oferecida por um médico suíço, Gaspard Vieusseux, quando ele descreveu, em 18 de dezembro de 1810, à Sociedade Médica e Cirúrgica de Londres sintomas que ele próprio apresentara e que traduziam comprometimento isquêmico do tronco cerebral, predominantemente bulbar

lateral, como desconforto e perda de sensibilidade dolorosa na hemiface esquerda, paralisia facial esquerda, vertigem, vômitos, disartria, disfagia, ptose palpebral esquerda, anidrose hemifacial esquerda, perda da sensibilidade térmica e dolorosa no lado direito do tronco e hemiparesia direita (Fields, 1998). Como se pode depreender, em sua maioria, estas manifestações apresentadas pelo Dr. Vieusseux são supervenientes às manifestações da Síndrome de Wallemborg, secundária à obstrução da artéria cerebelar posterior inferior (De Jong, 1979).

Fields (1998) relata que foi François Bayle (1622-1709) quem primeiro correlacionou arteriosclerose à doença vascular cerebral isquêmica, embora esta patologia tenha sido reportada muito anteriormente. Estudos históricos verificaram que a arteriosclerose não era rara no Egito antigo. O rei Merneptah, o faraó do êxodo hebreu, tinha arteriosclerose, evidenciada também em várias múmias da XVIII e XVII dinastias, através de exames microscópicos, em que artérias calcificadas demonstraram placas de ateromas e úlceras (Sigerist, 1987).

Outros fatos históricos contribuíram para o estado atual de conhecimento das doenças vasculares cerebrais. O estudo levado a efeito por Gurdjian & Gurdjian (1979) destaca o reconhecimento clínico das doenças oclusivas da artéria carótida no pescoço pela associação de paralisia com manifestações visuais, por Virchow em 1856, o sucesso dos estudos angiográficos cerebrais, por Egas Moniz em 1927, as conclusões de Chiari sobre a associação de placas de ateroma na bifurcação da carótida e episódios de embolia de vasos intracranianos. Todos estes aspectos, aliados ao reconhecimento de que a oclusão da artéria carótida era muito mais freqüente do que até então se supunha e era causa reiterada de ataques isquêmicos transitórios (Fisher, 1951), induziram uma verdadeira revolução para mudança

do conceito até então dominante de que 55% dos episódios ictais de doença vascular cerebral eram atribuídos a “espasmo vascular” (Estol, 1996). Fisher foi enfático em dar importância a manifestações prodrômicas como afasia, cegueira unilateral, tonturas, paralisias transitórias, entre outras, na maioria dos casos de trombose de artéria carótida interna, sugerindo que embolia cerebral pudesse ser causada por material originário do seio carotídeo e vislumbrando a possibilidade de intervenção cirúrgica vascular para correção dinâmica da obstrução vascular.

Um fato que determinou um marco na radiologia e, por extensão, contribuiu indubitavelmente para uma reestruturação dos conceitos epidemiológicos e fisiopatológicos da doença vascular cerebral foi a descoberta da tomografia computadorizada, a partir da invenção de G. Hounsfield, que utilizou feixes colimados de raios X na indústria de equipamentos de música (Taveras & Wood, 1976). O desenvolvimento subsequente da ressonância nuclear magnética e da tomografia com emissão de prótons impulsionaram sobremodo a compreensão dos mecanismos estruturais e bioquímicos da isquemia cerebral.

Carrea et al. (1955), em Buenos Aires, reportaram a cirurgia em um caso de trombose espontânea da porção cervical da artéria carótida interna, realizando uma anastomose entre o segmento da carótida interna acima da obstrução com o segmento proximal da carótida externa, após secção da mesma.

A primeira tromboendarterectomia para remover a obstrução da artéria carótida interna foi realizada provavelmente em Nova York (Strully et al., 1953).

Os procedimentos cirúrgicos prosseguiram, logo ficando evidente que uma seleção mais adequada dos candidatos à cirurgia e uma melhoria das

condições técnicas resultariam em queda dos índices de mortalidade e morbidade. Assim, os procedimentos cirúrgicos passaram a assumir uma importância maior no planejamento terapêutico da doença vascular cerebral isquêmica. No campo da neurocirurgia, teve importância histórica a realização da cirurgia de derivação temporal superficial – temporal cortical em paciente com trombose da artéria cerebral média em 1967 (Yasargil et al. apud Chang & Steinberg, 1998). Com a difusão da técnica cirúrgica de “bypass” carótida externa – carótida interna, um estudo cooperativo “randomizado” patrocinado pelo Instituto Nacional de Saúde dos Estados Unidos da América foi iniciado para averiguação do valor terapêutico desta técnica (EC/EI, 1985). Os resultados advindos deste estudo demonstraram que esta técnica não estava trazendo benefício adicional para os pacientes que a ela se submetiam.

Estudos paralelos de busca de procedimentos terapêuticos que pudessem garantir melhor prognóstico em portadores de Doença Vascular Cerebral Isquêmica incluem a identificação e o controle dos chamados fatores de risco como hipertensão arterial, diabetes, anormalidades cardíacas, por um lado, e terapias anticoagulantes específicas e de inibição da adesividade plaquetária, por outro lado.

O tratamento anticoagulante tomou impulso após a descoberta da heparina em 1916, por McLean (McLean, 1959), passando esta a desempenhar importante papel em procedimentos em que se impunha a anticoagulação. Hoje a idéia de que anticoagulantes são muito eficazes no tratamento e na prevenção dos trombos cardíacos e na prevenção de episódios tromboembólicos em pacientes com próteses valvulares cardíacas (Moulin & Bogousslavsky, 1998) é difícil de ser contrariada pelos profissionais que tratam doença vascular cerebral isquêmica. O primeiro teste clínico, envolvendo o uso de heparina como anticoagulante na doença vascular

cerebral isquêmica foi feito por W. M. Rose (Rose, 1950), sem que resultados satisfatórios tenham sido obtidos. O uso de heparina na prevenção da embolia cerebral de origem cardíaca foi documentado na publicação de Wright & McDevitt (1954).

A avaliação dos resultados terapêuticos do uso de anticoagulantes na doença cerebrovascular isquêmica, a partir de então, envolvendo principalmente heparina e dicumarol questionou a utilidade desses anticoagulantes neste aspecto. Algumas destas avaliações, no entanto, foram feitas antes do advento da tomografia computadorizada do encéfalo e, assim, não se pôde afastar a possibilidade de que em alguns casos houvesse hemorragia parenquimatosa de volume não suficiente para que se pudesse detectar sangue num simples exame do líquido.

O uso de inibidores da adesividade plaquetária passou a merecer maior atenção após o uso da aspirina na profilaxia dos eventos cardiovasculares isquêmicos em 1953 (Craven apud Kappelle et al., 1998). Com a melhor compreensão da participação das plaquetas no mecanismo da trombogênese, a aspirina passou a desempenhar papel gradualmente mais importante na profilaxia da doença vascular cerebral isquêmica (Kappelle et al., 1998), embora a dose adequada desse fármaco seja assunto polêmico e se mantenha ainda por ser determinada.

A abordagem cirúrgica em segmentos extracranianos das artérias carótidas na prevenção do infarto isquêmico cerebral teve indicações estabelecidas por um estudo denominado NASCET ou *North American Symptomatic Carotid Endarterectomy Trial* (Beneficial, 1991). Este estudo concluiu que pacientes com obstrução da artéria carótida, maior que 70 % e com sintomas adequados, se beneficiam mais com a cirurgia do que com o tratamento médico sozinho.

Os primeiros estudos com o uso de trombolíticos iniciaram há pouco mais de quarenta anos (Sussman & Fitch, 1958) com utilização da angiografia cerebral e, portanto, num período anterior à disponibilidade da tomografia computadorizada do encéfalo ou da ressonância nuclear magnética (Boysen & Pessin, 1998). A terapêutica trombolítica já foi objeto de estudos-piloto, fase I e fase II. A fase III surgiu com o estudo cooperativo europeu (ECASS, 1995).

O uso de trombolíticos, embora em protocolos terapêuticos bem definidos, exige da estrutura hospitalar onde este vai ser empregado condições mínimas de capacidade de atendimento, como equipes médica e de enfermagem especificamente treinadas, equipamentos de neuroimagem, como tomografia computadorizada e ressonância nuclear magnética, sempre prontos para o paciente em que se pretende empregar a técnica terapêutica.

A recanalização vascular pronta em caso de isquemia cerebral pode induzir uma complicação adicional, a lesão via reperfusão. Este fato abre perspectiva para uma nova atitude terapêutica adicional: o uso de antioxidantes. Numerosos trabalhos experimentais publicados em periódicos internacionais, abordando os efeitos benéficos de antioxidantes em modelos experimentais de isquemia cerebral com reperfusão, testemunham este fato e abrem uma perspectiva real da necessidade da adição compulsória de antioxidantes no arsenal terapêutico da isquemia cerebral.

## **1.2 História da Doença Vasculare Cerebral na Universidade Brasileira**

Até meados do século XIX, no Brasil, as doenças do sistema nervoso não tiveram abordagem científica importante. Em função da insuficiência do conhecimento destas doenças até então em nosso País, a caracterização clínico-epidemiológica dos estados mórbidos do sistema

nervoso não era alvo de concretização adequada. Os sintomas norteavam, na maioria das vezes, a designação das doenças. No século passado, descreveu-se uma encefalopatia diagnosticada como “amolecimento cerebral”, secundária a arteriosclerose, e que encerrava em seu contexto clínico uma redução progressiva das “faculdades intelectuais”, bem como da sensação e da função motora, e que poderia evoluir até uma paralisia total (Santos Filho, 1991a). Em 1818, os naturalistas Johann Baptist von Spix e Carl Friedrich Philip von Martius (Santos Filho, 1991b) fizeram alusão ao “ar-de-estupor”, descrevendo-o como caracterizado por “ataques súbitos de paralisia”, que muitas vezes desapareciam prontamente e que foram tratados com ipecacuanha e tártaro emético, muitas vezes, sem bons resultados. Supostamente alguns destes casos de paralisia encerravam manifestações de doença vascular cerebral.

No século passado, foram publicados alguns trabalhos de autores brasileiros sobre doença vascular cerebral, muitos deles como teses de doutoramento (Santos Filho, 1991a). Entre estes destacam-se:

“Hemorragia espontânea do encéfalo”, Rio de Janeiro, 1840, tese de doutoramento de Antônio José Gonçalves Fontes, sendo o autor agraciado em 29/02/1872 com o título de barão do Rio Doce.

“Do emprego das sangrias na congestão cerebral e na apoplexia”, Bahia, 1870, tese de doutoramento de Sátiro de Oliveira Dias, sendo o autor mais tarde presidente das Províncias do Amazonas, Rio Grande do Norte e Ceará.

“Hemorragia cerebral”, Rio de Janeiro, 1878, tese de doutoramento de Feliciano Pinheiro Bittencourt, gaúcho, nascido em 1854, tendo sido professor do Liceu de Artes e Ofícios e de outros colégios no Rio de Janeiro.

“Apoplexia e histeria”, trabalho publicado em *Boletim Geral de Medicina e Cirurgia*, em 1887, tendo como autor Alfredo Brito, posteriormente professor da Faculdade de Medicina da Bahia.

“Hemorragia cerebral”, Rio de Janeiro, 1889, tese doutoramento de Olímpio Artur Ribeiro da Fonseca (1868-1938), natural de Niterói, Rio de Janeiro, e falecido no Rio de Janeiro, tendo sido o autor secretário geral perpétuo da Academia Nacional de Medicina (1934).

Não podem, finalmente, ser olvidadas algumas obras mais recentes de autores brasileiros ilustres que constituem manuais de pesquisa para os mais jovens que demonstram interesse pela patologia vascular encefálica. Assim, se destacam as publicações **Doenças vasculares do encéfalo** (Melaragno Filho & Sanvito, 1976) e **Doenças cerebrovasculares: condutas**, tendo esta última obra Rubens José Gagliardi (1996) como editor.

## 2 INTRODUÇÃO

### 2.1 Comprometimento bio-energético na Isquemia Cerebral

#### 2.1.1 Generalidades

A isquemia cerebral se traduz por uma redução no fluxo sanguíneo cerebral (FSC) de intensidade suficiente para que se processe uma alteração metabólica ou uma lesão cerebral inquestionável. Em última análise, a redução do fluxo sanguíneo cerebral é secundária à obstrução vascular, ao decréscimo suficientemente importante da pressão arterial ou a um aumento de pressão intracraniana, bem como tissular. Assim sendo, a isquemia cerebral pode ser focal ou regional (obstrução vascular, por exemplo) e global ou sistêmica (parada cardíaca ou hipovolemia transitória, por exemplo). Admite-se que a isquemia cerebral comece a se estabelecer, quando o fluxo sanguíneo cerebral tenha tido uma redução de pelo menos 50 % do controle, segundo Siesjö et al., (1998). Conforme enfatizam estes autores, caso a pressão de perfusão seja inferior a 30 mmHg ou o fluxo sanguíneo cerebral se situe em torno de 20 % do controle, há falha bioenergética importante com redução apreciável dos níveis tissulares de ATP e de fosfocreatina e aumento dos níveis de ADP e AMP. Instalada a isquemia cerebral, ocorre uma sucessão de eventos metabólicos, inflamatórios, estruturais que, evoluindo seqüencialmente em cascata, ameaçam a integridade bioquímica e estrutural da célula, mesmo que o período desta isquemia seja de apenas quatro a seis minutos. É geralmente aceito o fato de que, se a isquemia cerebral for de intensidade suficiente, poderá haver importante falha bioenergética.

### 2.1.2 Metabolismo Energético e Isquemia Cerebral

O aporte de oxigênio e substrato energético é uma exigência constante do tecido cerebral. Excetuando-se condições que possam produzir circunstancialmente aumento dos níveis sanguíneos de corpos cetônicos (fome, por exemplo), glicose é o substrato energético obrigatório utilizado pelo cérebro (Kety, 1957; Edvinsson et al., 1993). Embora tendo apenas 2 % do peso corporal, o cérebro recebe 15 % do volume de sangue ejetado pelo coração, consome 25 % da glicose utilizada pelo corpo e representa 20 % do gasto total de oxigênio (Magistretti et al., 1995). Embora nos tecidos haja uma diversidade de vias metabólicas a partir da glicose, no cérebro esta é quase inteiramente oxidada em  $\text{CO}_2$  e  $\text{H}_2\text{O}$ . Isto é processado através da glicólise anaeróbica, do ciclo tricarboxílico de Krebs e da fosforilação oxidativa a ele associada, e tem como produto metabólico energético importante 38 moléculas de trifosfato de adenosina (ATP) por molécula de glicose. As figuras 1 e 2 resumem os aspectos bioquímicos mais importantes envolvendo a glicólise e a fosforilação oxidativa.

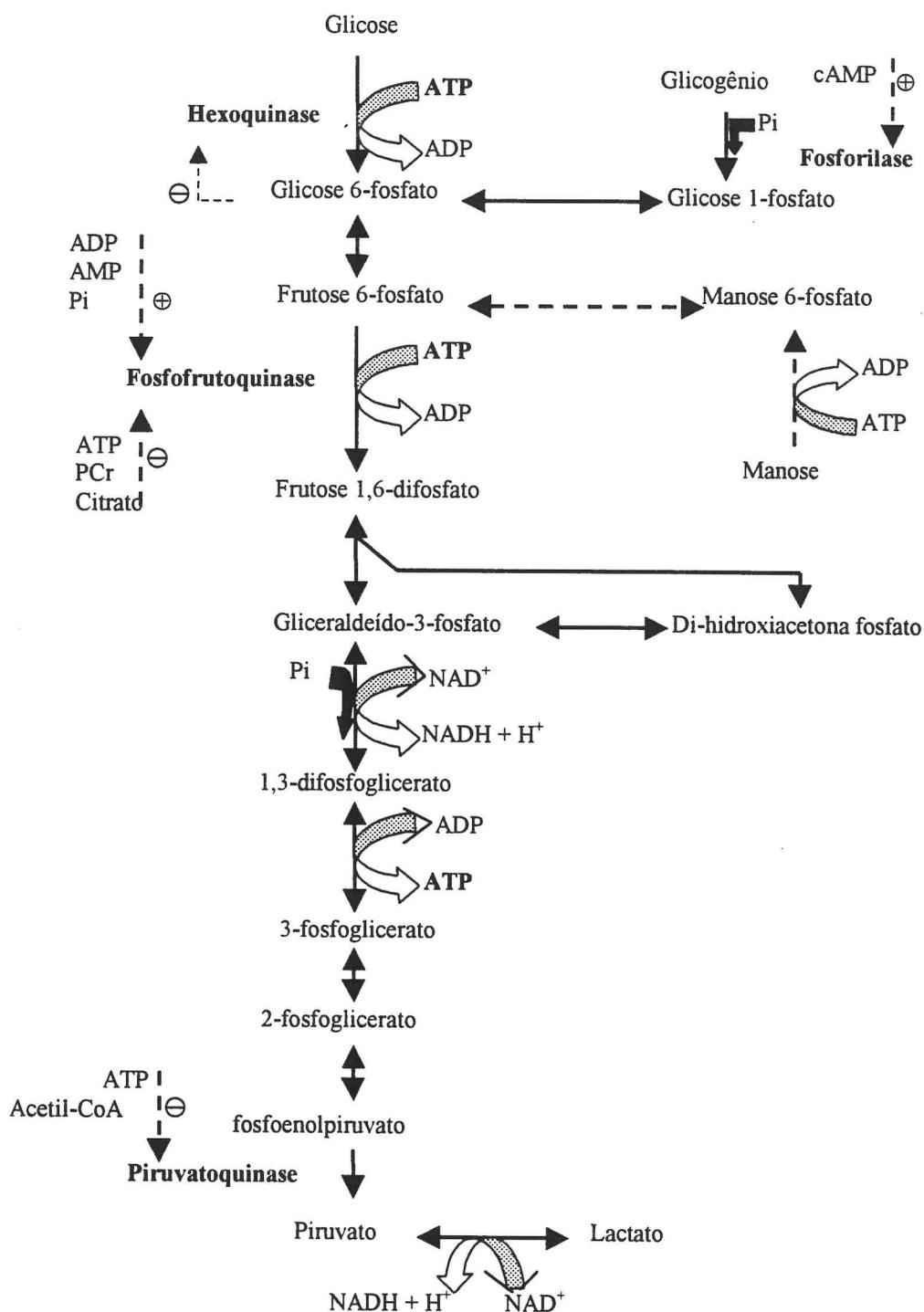


Figura 1 – Glicólise (Ebden-Meyerhof). A fosforilação de glicose é catalisada pela hexoquinase, uma enzima inibida pela glicose 6-fosfato. A glicose deve ser fosforilada para ingressar na glicólise ou ser armazenada como glicogênio. Duas outras etapas na regulação da glicólise são catalisadas pela fosfofrutoquinase e piruvatoquinase. Estas são controladas pelos níveis de fosfato de alta energia, bem como de citrato e acetil-CoA. Piruvato através de lactato desidrogenase está em equilíbrio dinâmico com lactato, sendo esta reação essencial para regenerar  $\text{NAD}^+$ .

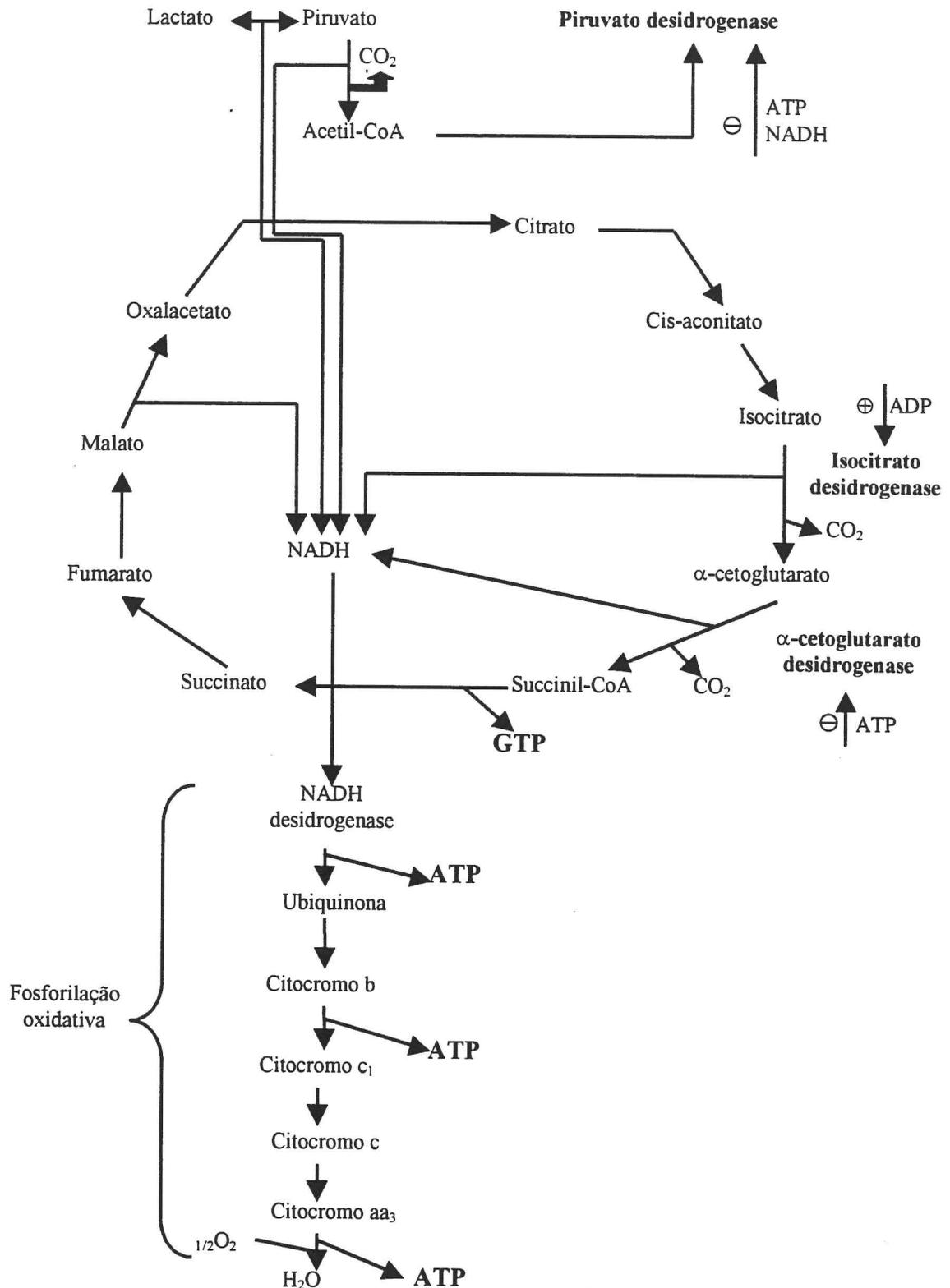


Figura 2 – Ciclo de Krebs e fosforilação oxidativa. O ingresso de piruvato no ciclo é controlado pela atividade da piruvato desidrogenase, que é inibida pelo ATP e NADH. Duas outras etapas reguladoras do ciclo são controladas pela isocitrato e  $\alpha$ -cetoglutarato desidrogenases, que têm atividade controlada pelos níveis de fosfatos de alta energia.

Embora glicose seja substrato energético utilizado pelo cérebro, funções celulares normais são mantidas, mesmo que a concentração plasmática dessa substância seja mantida em torno da metade de seus valores normais (cerca de 6 mM); o metabolismo energético e a homeostase iônica são preservados, mesmo quando a concentração de glicose atinge 1 mM (Lewis et al., 1974; Lewis et al., 1974; Astrup & Norberg, 1979). O que determina o nível de suprimento de glicose ao cérebro é seu transporte no plano da barreira hematoencefálica (BHE), que é suficientemente lento para torná-lo, de certo modo, independente do fluxo sanguíneo (Cunningham, 1986; Robinson & Rapoport, 1986). Glicose é uma molécula hidrófila e sua entrada nas células é facilitada por proteínas transportadoras específicas. Estas proteínas transportadoras contêm 12 domínios transmembrana. São conhecidos sete destes transportadores e são designados GLUT1 a GLUT7 (Edmond, 1992). O processo pelo qual a glicose é captada pelo parênquima cerebral é altamente específico para o tipo de célula envolvida na captação. Assim, o transportador GLUT1 de peso molecular 55-kDa é acionado para captação de glicose pela barreira hematoencefálica e, portanto, está presente na membrana abluminal da célula endotelial; a captação nos astrócitos é promovida por GLUT1 de peso molecular 45-kDa, enquanto a captação da glicose pelos neurônios é mediada por GLUT3 (Bondy et al., 1992). Os astrócitos possuem outro tipo de transportador GLUT2, cuja função parece ser semelhante a do mesmo subtipo de transportador nas células  $\beta$  das ilhotas pancreáticas, qual seja, a de “perceber” glicose (Leloup et al., 1994). Já as células da micróglia demonstram em suas membranas a proteína transportadora GLUT5 (Maher, et al., 1994).

As relações estruturais entre os astrócitos e os outros elementos do sistema nervoso central são de importância fundamental no metabolismo

energético do cérebro. Processos astrocitários envolvendo contactos sinápticos em um extremo e projeções das mesmas células rodeando capilares intraparenquimatosos (podócitos) em outro extremo testemunham a importância dos astrócitos no metabolismo energético do cérebro, possibilitando que o substrato energético glicose seja captado do sangue e metabolizado ao nível destas células (figura 3). Estudo experimental com 2-desoxiglicose (2-DG) marcada radioativamente sugere que a utilização basal de glicose é maior nos astrócitos que nos neurônios, sendo os valores de cerca de 20 e 6 nmol por mg de proteína por minuto, respectivamente (Magistretti & Pellerin, 1996). Técnica auto-radiográfica “in vivo” com utilização de 2-DG verificou na substância cinzenta cortical valores similares (Sokoloff et al. 1977). A preponderância de utilização de glicose pelos astrócitos durante ativação de uma área cortical com neurotransmissor excitatório “in vitro” (glutamato, por exemplo) ainda é mais evidente (Magistretti, 1999). Já é de conhecimento pleno o fato de que a ativação de uma determinada área cortical provoca aumento de concentração de glutamato no espaço extracelular, que, por sua vez, foi liberado a partir dos terminais pré-sinápticos dos neurônios ativados (Fonnum, 1984). O L-glutamato estimula a captação e a fosforilação de 2-DG pelos astrócitos, não através da ação em receptores N-metil-D-aspartato ou não- N-metil-D-aspartato (Figura 3), mas via sistema de captação de glutamato dependente de  $\text{Na}^+$  (Pellerin & Magistretti, 1994; Takahashi et al., 1995). São conhecidos três subtipos de transportadores de glutamato: GLT-1, exclusivamente situado nos astrócitos, EAAC1, exclusivamente neuronal e GLAST, expresso tanto na glia como em neurônios (Kanai et al., 1993; Kanner, 1993). Assim, em decorrência da ativação de uma determinada área cerebral, há liberação de glutamato a partir de terminais pré-sinápticos; este é captado pelos astrócitos por intermédio de transportador dependente de  $\text{Na}^+$  e o aumento intracelular deste ativa o sistema  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -ATPase, que estimula a captação de glicose pelo astrócito, estimulando a glicólise e a

produção de lactato (Pellerin & Magistretti, 1994). Das duas moléculas de ATP produzidas pela glicólise, a partir de cada molécula de glicose, uma é utilizada para ativação da bomba  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -ATPase e a outra empregada na produção de glutamina a partir do glutamato e por ação da glutamina sintetase. O lactato, liberado pelos astrócitos e captados pelos neurônios, é utilizado como substrato energético. A glutamina é liberada pelos astrócitos e captada pelos neurônios, sendo utilizada para síntese de glutamato. A título de ilustração, e para melhor compreensão, estes processos metabólicos são aqui reproduzidos (figura 3).

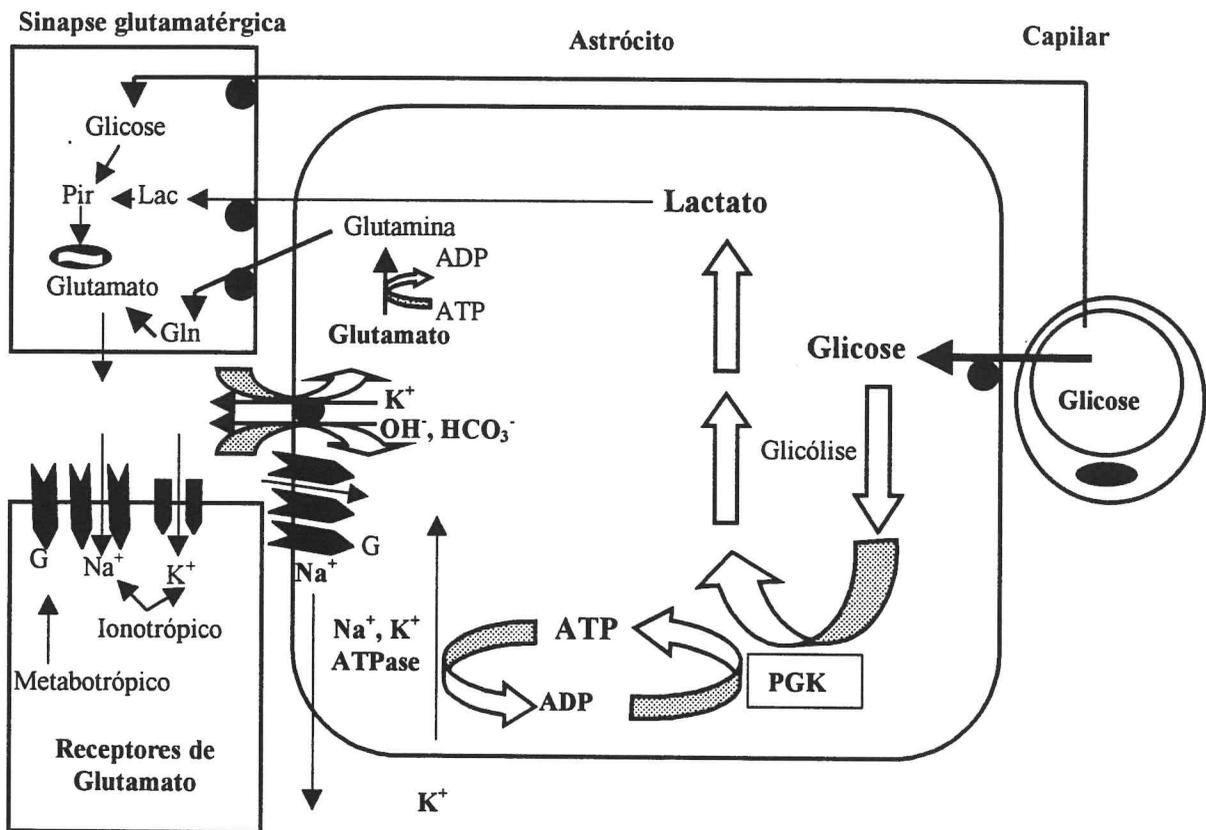


Figura 3 - Glicólise ao nível do astrócito induzida pelo glutamato durante ativação de uma determinada área cortical. Os detalhes desta figura são apresentados no texto. Abreviações: Pir – piruvato; Lac – lactato; G – proteína G; Gln – glutamina, PGK - fosfoglucoquinase. Figura adaptada de MAGISTRETTI, P. *Brain Energy Metabolism*. In: ZIGMOND, M. J., BLOOM, F. E., LANDIS, S. C., ROBERTS, J. L., SQUIRE, L. R. (Eds) *Fundamental Neuroscience*. San Diego: Academic Press, 1999. p. 389-413.

Há, portanto, um verdadeiro tráfego metabólico entre astrócitos e neurônios (figura 3) que define uma compartimentalização metabólica, sendo a glicose captada pelos astrócitos, lá sofrendo glicólise anaeróbica (figura 1) com produção de lactato ou piruvato, os quais são liberados no compartimento extracelular e utilizados como substratos pelos neurônios (Magistretti et al., 1995). Além de piruvato, outros intermediários metabólicos do ciclo tricarboxílico (figura 2), como malato,  $\alpha$ -cetoglutarato e citrato são liberados pelos astrócitos (Selak et al., 1985; Shank et al., 1993; Sonnewald et al., 1991).

A principal fonte de energia utilizada para o trabalho celular é proveniente principalmente de ATP e de outros trifosfatos de nucleosídeos como CTP, UTP ou GTP. A energia necessária para o trabalho celular, assim, é obtida pela hidrólise de ATP, de acordo com a reação química seguinte (Eq. 1):



De uma maneira geral, a hidrólise do ATP é compensada por uma fosforilação do ADP com formação de ATP em nível de cadeia respiratória mitocondrial (figura 2). Com o aumento da concentração de ADP ou acidificação do citosol, há ativação de uma enzima, a creatina quinase (CK), que catalisa uma reação (Eq. 2), havendo a utilização de fosfocreatina (PCr) para síntese de ATP. Isto implicará uma redução dos níveis de PCr.



Para restaurar os níveis de ATP, quando houver um aumento dos níveis de ADP, haverá, também, um desvio na reação de equilíbrio da adenilato quinase (Eq. 3):



O comprometimento bioenergético, tal como ocorre na isquemia, poderá implicar uma redução dos níveis de ATP e PCr, da soma das concentrações de ATP, ADP e AMP e correspondente aumento dos níveis de ADP e AMP; a redução da soma das concentrações de ATP, ADP e AMP é muito gradual. No início e durante períodos breves de isquemia, a redução da concentração de ATP é compensada pelo aumento da concentração de ADP e AMP (Siesjö et al., 1998). Esta compensação é insuficiente na isquemia de longa duração. Assim, numa isquemia focal de duas horas de duração, a redução da concentração de ATP e PCr na área de isquemia (focal e perifocal ou penumbra) não é compensada pelo aumento das concentrações de ADP e de AMP (Folbergrová et al., 1995), de vez que a síntese de nucleotídeos da adenina por atividade das quinases é lenta e o aumento destas concentrações somente ocorre após a recirculação com o restabelecimento da fosforilação oxidativa (Kleihues et al., 1974) ou após a correção do distúrbio metabólico, como em caso de hipoglicemia (Chapman et al., 1981).

É pertinente que se procure esclarecer o mecanismo pelo qual o distúrbio bioenergético caracterizado pela redução dos níveis de ATP e PCr ocorre em resposta a isquemia. Estabelecida esta, o estado de fosforilação permanece normal até que ocorra despolarização de membrana e conseqüente fluxo iônico, principalmente de  $\text{Ca}^{++}$  e  $\text{K}^+$ . Este fluxo iônico (principalmente de  $\text{Ca}^{++}$ ) implica a ativação de ATPases e, conseqüentemente, redução dos níveis de ATP e aumento dos níveis de ADP e AMP. Há, portanto, consumo das reservas de energia. A recuperação de síntese de ATP não se processa, de modo adequado neste estado, por dois motivos: a continuação do fluxo iônico intracelular de  $\text{Ca}^{++}$  e a inibição do transporte de elétrons pela cadeia respiratória mitocondrial ou desacoplamento da fosforilação oxidativa do

consumo de oxigênio decorrentes do aumento dos níveis intracelulares de  $\text{Ca}^{++}$  e da acidose (Siesjö et al., 1998).

Outro aspecto bioenergético importante na patogênese da isquemia diz respeito à lesão via reperfusão que ocorre após restabelecido o fluxo sanguíneo, antes comprometido. Como será enfatizado mais adiante, espécies reativas de oxigênio (ERO) e radicais livres (RL) são produzidos e potencialmente produzem lesões dos componentes da célula, comprometendo sua estrutura e promovendo mutações do DNA, bem como, ativando enzimas como proteases e lipases, seguindo-se, conseqüentemente, uma série de reações em cadeia que podem produzir eventualmente morte celular (Coyle & Puttfarcken, 1993; Greenlund et al., 1995). Estas espécies reativas de oxigênio são geradas pela transferência de elétrons simples a oxigênio molecular ou produtos paralelos decorrentes de processos celulares fisiológicos (Halliwell, 1992). Entre estes se incluem a transferência de elétrons associada à fosforilação oxidativa e certas atividades enzimáticas, como as da monoamino-oxidase, tirosina-hidroxilase, sintetase de óxido nítrico, lipo-oxigenases e ciclo-oxigenases (Pou et al., 1992; Boveris & Chance, 1973; Chan & Fishman, 1980; Cross & Jones, 1991).

Embora ATP seja uma substância de importante estoque de energia no organismo e, principalmente, no cérebro, produtos intermediários de reações de biossíntese, que estão em um estado mais oxidado do que seus produtos finais, necessitam de fontes de energia metabólica proveniente de fontes redutoras. Assim, substâncias redutoras com energia potencial, como a forma reduzida de fosfato de nicotinamida-adenina-dinucleotídeo (NADPH), são importantes não somente para biossíntese de ácidos graxos livres e de componentes da célula nervosa,

principalmente da membrana, mas, também, por constituírem fonte doadora importante de  $H^+$  durante reações enzimáticas, em que participam substâncias removedoras de espécies reativas de oxigênio (Lajtha et al., 1981). A principal fonte metabólica de NADPH é a via da pentose-fosfato (Magistretti, 1999), que constitui uma das vias metabólicas de processamento de glicose (figura 4). Neste ciclo metabólico, a produção de NADPH é catalisada por ação da enzima glicose-6-fosfato desidrogenase, bem como, por ação da glicose-6-fosfogliconato desidrogenase na fase seguinte do ciclo, quando se observa uma reação de descarboxilação oxidativa. É pertinente ainda salientar que o componente não oxidativo da pentose-fosfato fornece uma conexão reversível com a glicólise, de vez que há regeneração de dois intermediários importantes da via glicolítica, quais sejam gliceraldeído-3-fosfato e frutose-6-fosfato. O relacionamento metabólico entre as vias da glicólise e da pentose-fosfato pode ser importante para os mecanismos de adaptação celular a condições de isquemia.

Um dos mais importantes removedores endógenos de espécies reativas de oxigênio é o glutathion reduzido. NADPH é de importância fundamental para manutenção de níveis adequados de glutathion reduzido. Assim, indiretamente a via da pentose fosfato, como fonte de NADPH, tem importância fundamental nos processos metabólicos de defesa do organismo durante a reperfusão após isquemia. Para uma melhor compreensão estes aspectos são resumidos na figura seguinte (figura 4).

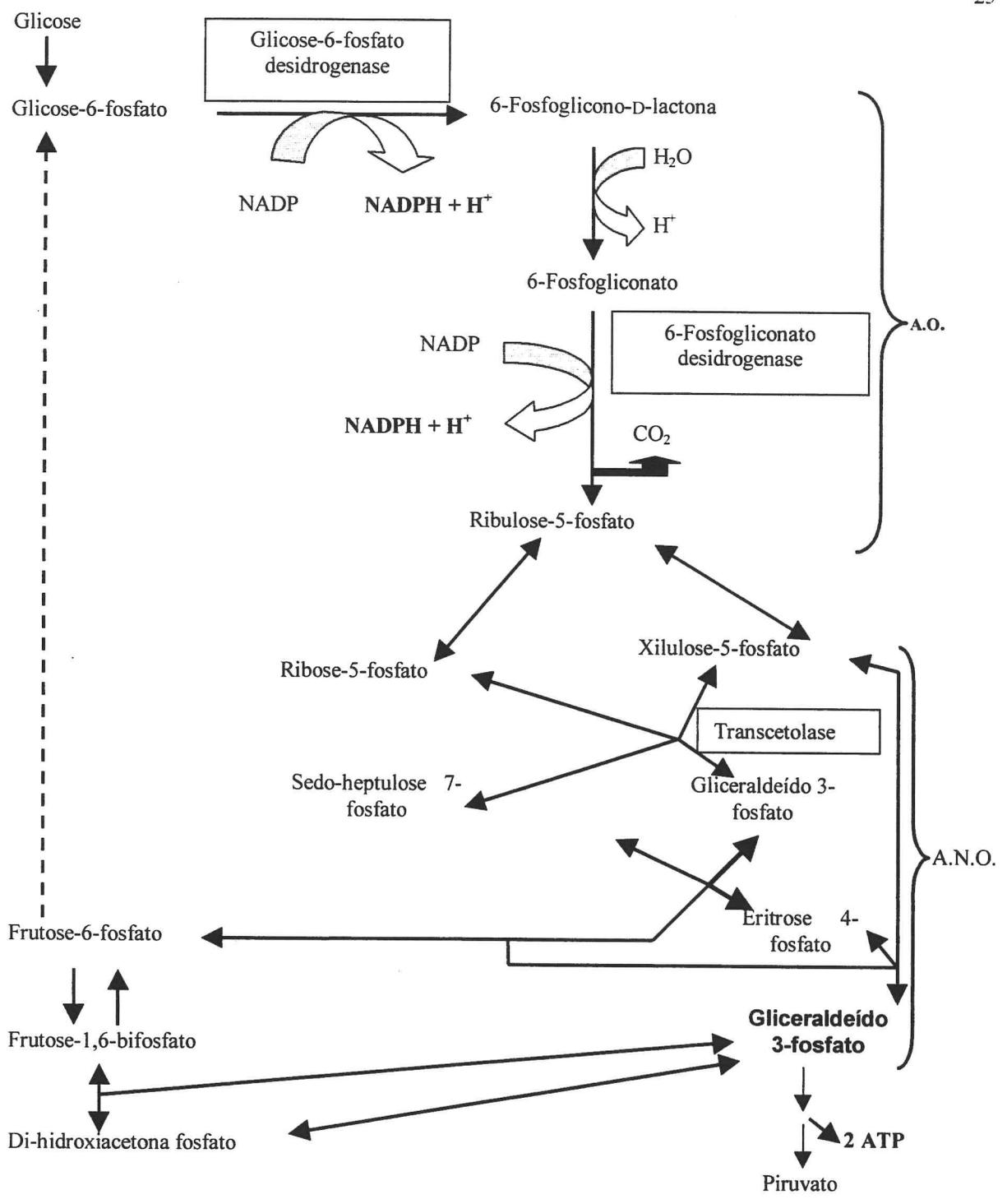


Figura 4 - Via da pentose-fosfato. Geração de NADPH e de intermediários metabólicos (giceraldeído-3-fosfato e frutose-6-fosfato) da glicólise. Figura adaptada de MAGESTRETTI, P. Brain Energy Metabolism. In: ZIGMOND, M. J., BLOOM, F. E., LANDIS, S. C., ROBERTS, J. L., SQUIRE, L. R. (Eds) *Fundamental Neuroscience*. San Diego: Academic Press, 1999. p. 389-413.

Como será visto oportunamente, dois conjuntos enzimáticos de ação removedora endógena de radicais livres, superoxidodismutase (SOD) e glutathion peroxidase (GSH-Px), atuando em conjunto e seqüencialmente, têm importante ação antioxidante. A forma oxidada de glutathion (GSSG) gerada por ação da GSH-Px sofre ação da glutathion redutase (GSSG-R) para restituição da forma reduzida de glutathion (GSH). Esta última reação (figura 5) se processa graças à disponibilidade do cofator NADPH gerado pela via da pentose-fosfato.

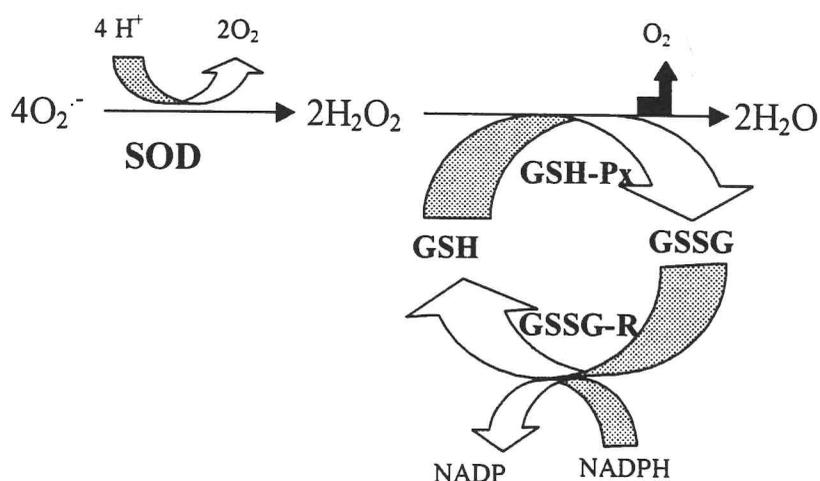


Figura 5 – Reações enzimáticas envolvidas nas reações dos dois sistemas principais da remoção de radicais livres, SOD e GSH-Px. GSSG-R catalisa a redução do glutathion.

## **2.2 Fisiopatogênese da Isquemia Cerebral**

### **2.2.1 Generalidades**

A isquemia cerebral, particularmente quando intensa, determina uma série de eventos complexos, em série, com muitos locais de interação. Estes eventos têm sido estudados em modelos animais de isquemia cerebral. Vários destes modelos têm sido alvo de muitas críticas (Wibers et al., 1990), embora resultados consistentes tenham sido obtidos, principalmente com utilização de roedores, sendo mínima a variação de laboratório para laboratório (Ginsberg & Busto, 1989).

### **2.2.2 Mecanismos bioquímicos**

Já foi mencionado que a isquemia cerebral começa a se estabelecer, quando o fluxo sangüíneo cerebral se reduz a pelo menos 50 % do controle e, nos primatas, quando este fluxo sofre um decremento atingindo as cifras de 10 a 15 ml/100g por minuto (normal 50-60 ml/100g por minuto), o cérebro sofre privação de seu substrato energético (glicose) e do aceptor de elétrons da cadeia mitocondrial no curso da fosforilação oxidativa, ou seja, oxigênio (Pulsinelli, 1992). Quando o fluxo sangüíneo cerebral se reduz, de modo a atingir cifras de 30 a 35 ml/100g por minuto, verifica-se um aumento da concentração extracelular de  $H^+$  e níveis de 20 ml/100 g por minuto são suficientes para abolir os potenciais evocados e o eletroencefalograma (EEG) se torna isoelétrico (Branston et al., 1974; Astrup et al., 1977; Hossmann, 1994; Hossmann, 1998; Hakim, 1998; Hansen et al., 1998).

Instalado o processo isquêmico, a demanda energética supera a capacidade de síntese de ATP a partir de fontes resumidas de glicose e

glicogênio, ainda mantidas em reserva. Assim, como citado aqui, há uma redução dos níveis de ATP e PCr. Conforme ressalta Powers (1992), o insuficiente aporte de oxigênio com a conseqüente redução da fosforilação oxidativa produz aumento da concentração de ácido láctico com decorrente acidose, em função da utilização metabólica das reservas ainda existentes de glicose e glicogênio, desenvolvendo-se, secundariamente, ações tóxicas em que, por exemplo, radicais livres, mediados por íon ferroso, produzem lesão astrogliol. O mesmo autor ainda enfatiza que uma diminuição mais severa do fluxo sanguíneo cerebral (FSC), atingindo, por exemplo, níveis de 10 a 12 ml/100g por min, produz uma perda da integridade da membrana celular com liberação do  $K^+$  intracelular para o ambiente extracelular e influxo citoplasmático de  $Ca^{++}$  extracelular e que esta redução do FSC ocorre com redução da taxa metabólica cerebral de oxigênio ( $TMCO_2$ ); nos primeiros dias, há maior redução do fluxo sanguíneo cerebral (FSC) do que da taxa metabólica cerebral de oxigênio ( $TMCO_2$ ), de modo que a fração de extração do oxigênio (FEO) é elevada, o que pode indicar um estado de perfusão crítica em tecido ainda viável. Posteriormente, há um declínio da fração de extração do oxigênio (FEO) associado a uma redução da taxa metabólica cerebral de oxigênio ( $TMCO_2$ ) e um aumento do fluxo sanguíneo cerebral (FSC) (Frackowiack & Wise, 1983).

Quando o fluxo sanguíneo cerebral (FSC) é inadequado para os requerimentos de oxigênio dos tecidos, como ocorre nos primeiros dias que seguem a uma obstrução isquêmica focal cerebral, o fenômeno se denomina “perfusão pobre” (Baron, et al., 1981; Derdeyn, et al., 1998). Após vários dias, quando as taxas metabólicas do tecido estão reduzidas e o fluxo sanguíneo cerebral (FSC) é mais do que o suficiente para as necessidades do mesmo tecido, ocorre o fenômeno denominado “perfusão de luxo” (Lassen, 1966). Durante do fenômeno de “perfusão pobre”, ocorre aumento da fração de

extração do oxigênio (FEO) e, durante o fenômeno de “perfusão de luxo”, ocorre redução de FEO. Quando de uma isquemia focal, além de uma região central de morte celular, há outra região que se interpõe à região central de necrose e ao tecido normal, denominada “penumbra isquêmica”. Poder-se-ia supor que o fenômeno de “perfusão pobre” ocorreria na região de “penumbra isquêmica”. O aumento da fração de extração de oxigênio (FEO) é consistente com as modificações do fluxo sanguíneo cerebral (FSC) e da taxa metabólica cerebral que ocorrem durante o período de hipoperfusão em animais (Powers, 1992). No entanto, em pacientes, estudos não foram capazes de confirmar a associação entre fração de extração de oxigênio (FEO) e penumbra isquêmica (Wise et al., 1983).

A tomografia com emissão de positrons é uma técnica adequada para estudo do metabolismo durante isquemia cerebral. É relativamente não invasiva, pode ser empregada várias vezes em um paciente com isquemia cerebral, sendo usada para estudo do metabolismo regional no cérebro (Greenberg, 1998). A taxa de utilização ou produção de substâncias pelo cérebro (Eq. 4) é obtida pelo produto do fluxo sanguíneo cerebral (FSC) e diferença da concentração destas no sangue arterial e venoso (Greenberg, 1998). Logo, a taxa metabólica de utilização de  $O_2$  pelo cérebro ( $TMCO_2$ ) pode ser calculada como:

$$TMCO_2 \text{ (mL/g/min)} = FSC \times (A-V)_{O_2} \quad (4)$$

onde FSC é o fluxo sanguíneo cerebral e  $(A-V)_{O_2}$  é a diferença de concentração arterial e venosa de oxigênio. Do mesmo modo, a taxa de utilização de glicose pelo cérebro ( $TMGlu$ ) é calculada conforme a Eq. 5:

$$TMGlu \text{ (mL/g/min)} = FSC \times (A-V)_{Glu} \quad (5)$$

sendo  $(A-V)_{Glu}$  a diferença de concentração arterial e venosa de glicose. Valores regionais para a taxa metabólica de utilização de  $O_2$  pelo cérebro ( $TMCO_2$ ) são medidos por meio desta técnica, com utilização de  $^{15}O$  em

combinação com medidas de fluxo sanguíneo cerebral (FSC) e volume de sangue cerebral (Baron et al., 1989).

Em modelos de isquemia global completa ou parcial, a utilização de técnicas para estudo de alterações metabólicas evidenciou diferenças regionais destas alterações, o que fez sugerir que variações significativas do fluxo sanguíneo residual são observadas em diferentes distribuições arteriais, quando a pressão de perfusão é reduzida a níveis críticos (Welsh, 1998).

Estudando isquemia global, Welsh et al. (1977) identificaram padrões diferentes de modificação metabólica. Assim, durante isquemia leve, as alterações metabólicas foram mais pronunciadas na substância branca do que no córtex cerebral ou no “striatum”. Para explicar esta relativa sensibilidade da substância branca, algumas especulações foram formuladas. Uma delas sugere que isto decorre do fato de que o fluxo sanguíneo na substância branca é normalmente menor que na matéria cinzenta (Ginsberg et al., 1978), sendo este efeito possivelmente acentuado pela localização distal da substância branca ao longo das arteríolas corticais penetrantes (Welsh, 1998). Supõe-se que estas alterações se expressem nas tomografias computadorizadas como áreas de redução de densidade da substância branca periventricular e que são conhecidas como leucoarrose (Hachinski et al., 1987). Este fato lembra o que se encontra na encefalopatia arteriosclerótica subcortical. Nesta doença, as alterações cognitivas podem resultar do espessamento arteriolar difuso em correspondência com a completa rarefação da substância branca subcortical, com exceção das fibras em U (De Reuck et al., 1980; Roman, 1987; Van Gijn, 1998; Bogousslavsky, 1998). Admite-se que esta doença seja análoga à enfermidade de Binswanger, descrita pela primeira vez por um neurologista suíço em 1894 (Van Gijn, 1998).

Em caso de redução mais severa do fluxo sanguíneo cerebral, um tipo incomparável de alteração metabólica regional ocorre na substância

cinzenta cerebral caracterizada por alterações microrregionais na fluorescência de NADH (Welsh et al., 1977a; Welsh et al., 1977b; Welsh et al., 1978). Havendo completa perda de fluxo sanguíneo, há aumento regionalmente difuso de fluorescência de NADH e redução de fosfatos de alta energia (Welsh, et al., 1978).

Durante o período de reperfusão pós-isquêmica, foi demonstrada recuperação dos metabólitos energéticos (Kleihues et al., 1974). Embora haja restauração da razão ATP/ADP, o nível total de ATP, ADP e AMP permanece baixo durante o período inicial de reperfusão (Kleihues et al., 1974; Ljunggren, et al., 1974). Torna-se, assim evidente que, seguindo-se a recirculação adequada, ocorre restabelecimento do metabolismo energético cerebral em extensas áreas do tecido cerebral. Há, contudo, evidência de que, no cérebro, há regiões contendo neurônios vulneráveis, que mais facilmente sofrem necrose, seguindo-se a uma isquemia global (Pulsinelli et al., 1982; Marshall et al., 1975). Foi demonstrado que estas regiões, contendo células nervosas vulneráveis, exibiram comprometimento irreversível do metabolismo energético durante a fase de reperfusão pós-isquêmica (Pulsinelli & Duffy, 1983). Pulsinelli e Duffy verificaram que PCr, ATP e glicose foram muito reduzidos, enquanto que os níveis de lactato foram aumentados no neocórtex paramediano, estriado dorsal-lateral e região CA1 do hipocampo de ratos submetidos a isquemia prosencefálica durante trinta minutos. Instalada a reperfusão, houve recuperação dos níveis controle de PCr, ATP e lactato no neocórtex paramediano e na região CA1 do hipocampo, após 6 a 24 horas. Os níveis destas substâncias foram muito próximos dos valores-controle no estriado, após 6 a 24 horas, e na região CA1 do hipocampo, após 24 a 72 horas. Os níveis de PCr e ATP voltaram a cair e os de lactato voltaram a aumentar no estriado, 6 a 24 horas depois do período de recuperação, e na região CA1 do hipocampo após 24 a 72 horas, o que coincidiu com o início e progressão do

comprometimento morfológico destas regiões cerebrais. Estes dados experimentais comprovam que, em modelos experimentais de isquemia prosencefálica, ocorre comprometimento adicional do metabolismo energético durante a fase de reperfusão pós-isquêmica em regiões cerebrais especificamente vulneráveis, como o estriado e região CA1 do hipocampo. Outros estudos experimentais em modelos de isquemia cerebral também verificaram comportamento similar no tocante à evolução dos parâmetros de comportamento energético metabólico com evidência de vulnerabilidade de determinadas regiões cerebrais, principalmente durante o período de reperfusão pós-isquêmica (Arai et al., 1986; Kirino, 1982).

É de grande importância terapêutica que sejam identificados os fatores que influenciam a recuperação pós-isquêmica do metabolismo energético.

Após instalada a isquemia cerebral e instituída a reperfusão pós-isquêmica, a manutenção de uma atividade metabólica crítica adequada depende do nível de fluxo sanguíneo cerebral. Vários estudos demonstraram paralelismo entre o grau de comprometimento do metabolismo energético e o nível de fluxo sanguíneo durante a reperfusão (Welsh et al., 1978; Ginsberg et al., 1978). Estes dados experimentais encontram paralelismo com a experiência clínica, em que um nível de pressão arterial mantida é importante para garantir um prognóstico melhor em pacientes que sofreram processo isquêmico cerebral. É, pois, importante que se evite nestes pacientes hipotensão arterial absoluta ou relativa (redução muito brusca da pressão arterial em pacientes com hipertensão arterial), a fim de que um fluxo sanguíneo cerebral adequado seja mantido para satisfação das exigências metabólicas básicas do tecido previamente isquêmico.

Outro fator importante pode ser percebido a partir da observação de que paradoxalmente uma isquemia incompleta pode comprometer mais severamente a recuperação do metabolismo energético do que uma isquemia completa (Hossman & Kleihues, 1973; Hossman & Zimmermann, 1974). Durante a isquemia

incompleta, o acúmulo de ácido láctico justifica o comprometimento maior do metabolismo energético em relação a isquemia completa. O fluxo sanguíneo residual durante uma isquemia incompleta continua promovendo um aporte de glicose, cuja transformação metabólica em condições predominantemente anaeróbicas implica maior produção tissular de ácido láctico e de íons  $H^+$ ; concentrações tissulares acima de 30 a 40  $\mu\text{mol/g}$  foram encontradas nestas circunstâncias (Elkof & Siesjö, 1972; Nordström & Siesjö, 1978; Welsh, et al., 1980a). Em isquemia completa, a quantidade de ácido láctico formado é proveniente das reservas tissulares pré-isquêmicas de glicose e glicogênio (Ljunggren, et al., 1974). Em revisão recente sobre o tema, Siesjö et al. (1996) resumem as conclusões de vários trabalhos de pesquisa, enfatizando que hiperglicemia pré-isquêmica agrava lesão secundária a uma densa isquemia transitória. Outras observações importantes têm realce nesta revisão. Assim, instalada uma isquemia ou hipoxia, ocorrerá um bloqueio de transporte de elétrons durante a fosforilação oxidativa, bem como da atividade de enzimas como piruvato desidrogenase e de outras desidrogenases mitocondriais. A falta de oxigênio nos dos citocromos  $a-a_3$  implica o aumento, a montante, de substâncias reduzidas como NADH. O aumento de NADH em comparação com o  $NAD^+$  desencadeia aumento da concentração de piruvato, e, em seqüência, incremento da concentração de lactato e  $H^+$  (figura 6) com desvio de ação da enzima lactato-desidrogenase. Como mencionado, cada molécula de glicose sofre conversão metabólica anaeróbica em duas moléculas de lactato e dois  $H^+$ . A hidrólise de ATP e de outros compostos similares, bem como de fosfolípidios, ocorrendo de modo mais acentuado em situação de isquemia, gera adicionalmente mais  $H^+$ . Torna-se fácil prever e identificar os efeitos que um aumento prévio da glicemia em uma situação de isquemia poderia produzir, sendo o principal deles um aumento da concentração de lactato e de  $H^+$ . Como será realçado mais adiante, em situações de isquemia há uma redução de fosfatos ricos em energia, como ATP, ficando a célula incapaz de manter a polaridade de sua membrana. Isto, aliado a

outras alterações, determina, em última análise, um maior influxo celular de  $\text{Ca}^{++}$ . As mitocôndrias funcionam como tampão, seqüestrando o  $\text{Ca}^{++}$  citosólico, principalmente em caso de aumento patológico de seus níveis, como ocorre em situações de isquemia (Carafoli, 1987; Nicholls, 1985).

Não há dúvida de que uma elevação de glicose antes de instalado um insulto isquêmico provocará maior acúmulo de ácido láctico durante a isquemia. Secundariamente, há comprometimento da recuperação do metabolismo energético durante a fase de reperfusão (Welsh et al., 1980b; Rehnrona et al., 1981). Oportunamente, serão discutidos os possíveis mecanismos de envolvimento da acidose na excitotoxicidade imposta pela isquemia nos microvasos, das células gliais, dos neurônios e do DNA.

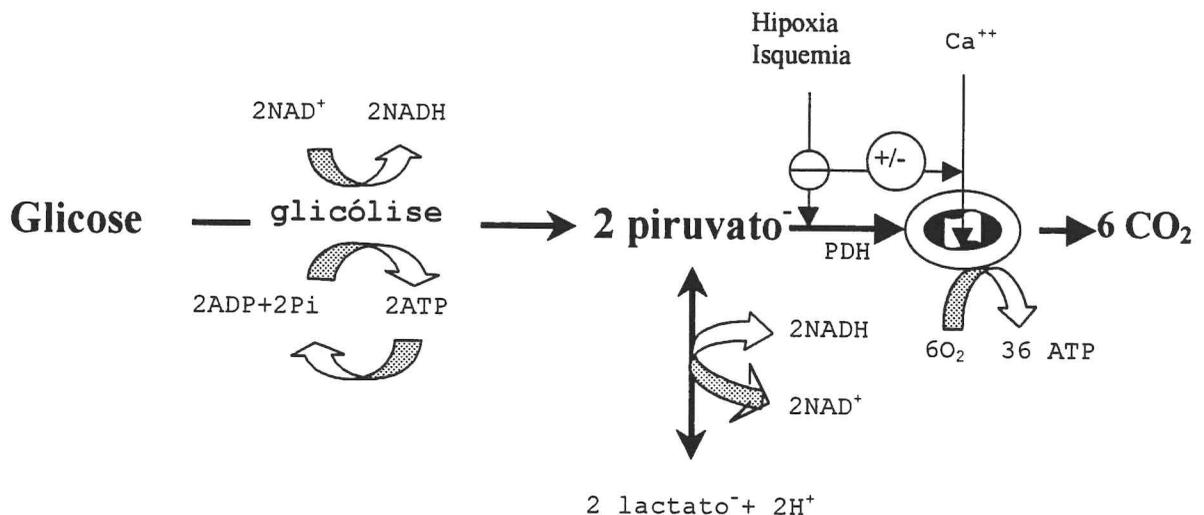


Figura 6 – Produção de ATP durante o metabolismo aeróbico e anaeróbico de glicose. A ação da piruvato desidrogenase (PDH) é bloqueada ou reduzida pelo processo isquêmico, havendo, em consequência, redução de piruvato a lactato e H<sup>+</sup>. O ATP formado durante a glicólise é logo consumido, o que contribui para mais aumento de H<sup>+</sup>. Enquanto a mitocôndria mantém o potencial de sua membrana, ela seqüestra uma parte do Ca<sup>++</sup>, que excessivamente fluiu para o citosol em razão da isquemia. Com a lesão mitocondrial, haverá liberação do Ca<sup>++</sup> de seu interior. Figura adaptada de SIESJÖ, B. K., KATSURA, K., KRISTLIÁN, T. Acidosis-Related Damage. In: SIESJÖ, B. K., WIELOCH, T. (Eds.) *Advances in neurology: cellular and molecular mechanisms of ischemic brain damage*. Philadelphia: Lippincot-Raven, 1996. v. 71, p 210.

### 2.2.3 Efeitos da temperatura sobre as lesões secundárias à isquemia cerebral

O estudo da ação da temperatura em vários órgãos, como rim (Fonteles & Karow, 1975; Fonteles & Karow, 1976), fígado (Leducq et al., 1998; Delmas et al., 1992) e coração (Winegard, 1997; Kuwabara et al., 1997) justifica a considerável atenção devotada à hipotermia como medida citoprotetora.

É a temperatura fator importante no grau de comprometimento energético durante uma isquemia cerebral. Moderada hipotermia é capaz de atenuar lesão isquêmica, mesmo que aplicada em período pós-isquêmico, enquanto que hipertermia pode acentuá-la (Ginsberg et al., 1992). Estudos têm demonstrado que pequenas reduções de temperatura (1 a 2 °C) produzem significativa redução da lesão cerebral (Busto et al., 1987; Minamisawa et al., 1990). A utilização em modelos animais experimentais de terapêutica citoprotetora deve ser levada a efeito sob controle rigoroso da temperatura corporal e tissular do animal, de vez que uma redução de temperatura pode induzir a obtenção de resultados falsos. Assim é que os trabalhos experimentais recentes de utilização de substâncias, para estudo de sua possível ação citoprotetora, são realizados sob controle cuidadoso da temperatura, para que se assegure que uma redução calórica não possa interferir nos resultados experimentais (Cramer & Toorop, 1998; Britton et al., 1997; Asakura et al., 1997; Dogan et al., 1997). Há alguma polêmica com relação ao efeito protetor induzido por hipotermia em isquemia cerebral, porquanto alguns investigadores não conseguiram demonstrá-lo em modelos animais experimentais em seguida à recirculação pós-isquêmica (Welsh, 1998). No entanto, um importante número de observações clínicas e

experimentais demonstram o efeito protetor de hipotermia, principalmente após trauma do sistema nervoso central (Clifton et al., 1991; Clifton et al., 1993; Dietrich et al., 1994; Marion et al., 1993; Safar, 1986; Sakamoto et al., 1990).

Em estudo recente de isquemia focal transitória em modelo de oclusão da artéria cerebral média de ratos espontaneamente hipertensos, seus autores sugeriram que a hipotermia cerebral constitui a medida terapêutica mais eficaz de reduzir a lesão cerebral isquêmica (Barone et al., 1997). Huang e colaboradores (1998a), trabalhando também em modelo de oclusão da artéria cerebral média de ratos, ampliaram suas observações, incluindo avaliação das alterações da barreira hemato-encefálica. Estes autores verificaram que a hiperperfusão pós-isquêmica aguda e a hipoperfusão protraída na área de “penumbra” isquêmica, bem como a hipoperfusão sustentada no centro da isquemia foram inibidas pela hipotermia e, nestes, as alterações da barreira hemato-encefálica foram significativamente menores; em todos os casos, a ação protetora foi maior nos grupos em que reperfusão foi incluída. Uma revisão recente do assunto (Ginsberg & Busto, 1998) sugere que já há suficiente evidência disponível para que se justifique o controle assíduo da febre em pacientes vítimas de doença vascular cerebral isquêmica ou trauma, e que a temperatura do paciente seja mantida, pelo menos, entre 36,7 a 37 graus Celsius, pelo menos nos primeiros dias que se seguem à fase aguda da isquemia cerebral ou do traumatismo craniano.

Os mecanismos que norteiam a possível citoproteção induzida por hipotermia ainda não são bem conhecidos. A sugestão de que a hipotermia possa reduzir as conseqüências metabólicas da isquemia cerebral pode ser aceitável. Dietrich e colaboradores (1996), em revisão recente sobre o assunto, sugerem que, embora não podendo prevenir a eventual depleção de ATP ou

acúmulo de lactato durante uma isquemia prolongada, a hipotermia pode postergar este efeito e, assim, ter importante papel na proteção cerebral durante períodos breves de isquemia. Foi demonstrado que hipotermia moderada reduziu o aumento de glutamato, aspartato e glicina induzido por isquemia global no “striatum” e no hipocampo (Baker, et al., 1991; Busto, et al., 1989; Mitani & Kataoka, 1991; Huang et al., 1998b). A hipotermia pode também atuar no plano da barreira hemato-encefálica, inibindo as alterações de permeabilidade desta pelo processo isquêmico. Assim, Dempsey e colaboradores (1987) comprovaram que moderada hipotermia inibiu formação de edema após isquemia. O acúmulo intracelular hipocampal de cálcio dependente de temperatura foi bem documentado por Mitani et al. (1991). De posse dos resultados experimentais, estes estudiosos sugeriram uma correlação entre o atraso no acúmulo de cálcio induzido por hipotermia e a redução da lesão isquêmica. A redução do aumento dos níveis de cálcio citosólico induzido por isquemia, poderia ser, pois, um dos mecanismos através dos quais a hipotermia exerce efeito citoprotetor (Dietrich et al., 1996). A translocação e a inibição de proteína quinase C são fenômenos que se seguem a uma isquemia cerebral transitória (Busto et al., 1994), e foi verificado que a hipotermia, durante isquemia, aboliu a translocação e inibição da proteína quinase C (Cardell et al., 1991). A inibição precoce e permanente da atividade da proteína quinase II dependente de cálcio/calmodulina (CaM quinase II) foi observada em isquemia (Taft et al., 1988). Esta enzima é importante para manutenção de muitas funções importantes da célula nervosa, como liberação de neurotransmissores, modulação sináptica, função citoesquelética, além de outras. A hipotermia previne a inibição da CaM quinase II durante o processo isquêmico (Churn et al., 1990) e inibe a redução da proteína 2 associada a microtúbulos (MAP-2) induzida pela isquemia (Miyasawa et al., 1993)

podendo, assim, ser considerada citoprotetora, de vez que a MAP-2 é um constituinte importante do citoesqueleto do neurônio, sendo indispensável para sua viabilidade. A relação entre temperatura e produção de radicais livres durante a isquemia cerebral passou a ser observada a partir da análise de dados, indicando que a indução de modificações do nível de temperatura altera o perfil temporal de acúmulo de leucócitos no tecido cerebral isquêmico (Dietrich et al., 1991). Evidências experimentais levaram a concluir que o aumento de temperatura no foco isquêmico aumentou a frequência de células sanguíneas neste *locus*, enquanto a hipotermia reduziu significativamente o acúmulo de leucócitos (Dietrich et al., 1966). A partir destas observações, passou-se a investigar a correlação entre a produção de radicais livres, em parte decorrente da participação de leucócitos na fisiopatologia do infarto isquêmico, e a temperatura. O uso de método de captação de radicais hidroxila após administração de salicilato comprovou um aumento significativo de ácido 2,3- e 2,5-di-hidroxibenzóico (compostos resultantes da reação de radicais livres hidroxila com o salicilato administrado), após hipertermia durante a isquemia (Globus et al., 1995).

#### 2.2.4 Isquemia focal: fluxo sanguíneo e requerimentos energéticos

Como ocorre com isquemia global, o estudo da correlação entre o fluxo sanguíneo e os requerimentos energéticos em isquemia focal é pertinente para compreensão da fisiopatologia desta. Em alguns aspectos, o comportamento do metabolismo energético durante isquemia focal se difere do mesmo em caso de isquemia global, principalmente com relação à evolução das alterações e à distribuição regional das alterações metabólicas. Foi verificado, por exemplo, que a captação de glicose é suprimida no foco

isquêmico e elevada em áreas a este vizinhas, onde a glicólise é elevada, sugerindo aumento da glicólise anaeróbica nas últimas regiões (Ratcheson & Ferrendelli, 1980; Welsh et al., 1980a; Ginsberg et al., 1977). Selman e colaboradores (1987) descreveram uma técnica de identificação visual para análise das alterações metabólicas regionais em um modelo animal de obstrução da artéria cerebral média. Estes autores não só confirmaram, através da utilização de corantes vitais, a região de “penumbra metabólica” como o local em torno do núcleo isquêmico, mas também fizeram uma análise do comportamento metabólico, através da dosagem de fosfatos de alta energia (ATP e PCr) e de metabólitos da glicose, demonstrando um gradiente de alteração metabólica nesta região. Com utilização de método idêntico, verificou-se que esta região de “penumbra” demonstrou uma gradual deterioração, passando a ser incorporada ao setor de falha metabólica total, 24 horas após a instalação da isquemia (Selman et al., 1990).

Uma correlação entre hiperglicemia, fosforilação oxidativa e infarto cortical em modelo experimental de isquemia focal foi encontrada em um estudo de avaliação de mudanças dos níveis de potássio extracelular (Nedergaard & Astrup, 1986). Este estudo estabelece relação entre o infarto cortical e as mudanças recorrentes no potássio extracelular (lembrando o fenômeno de depressão alastrante); a inibição dos aumentos transitórios do potássio extracelular é suficiente para manter o metabolismo normal nas mesmas áreas corticais, evitando, assim, a expansão do volume de falha do metabolismo energético. Há evidência de que estas mudanças recorrentes do potássio extracelular, que, do ponto de vista eletrofisiológico, se expressam como deflexões repetitivas dos potenciais de corrente direta corticais na zona marginal, em torno do infarto, contribuem para expansão dos infartos isquêmicos; substâncias que reduzem a frequência destas despolarizações

recorrentes, como o MK-801, durante a obstrução da artéria cerebral média, também reduzem o volume de tecido com ATP diminuído e, portanto, reduzem o volume de infarto (Ijima et al., 1992).

### **2.3 Sinalização celular na Isquemia Cerebral**

As alterações celulares determinadas por aminoácidos excitadores constituem, no conjunto, o fenômeno denominado excitotoxicidade (Hugon et al., 1996). Muitas doenças do sistema nervoso central, tais como Doença de Alzheimer, Esclerose Lateral Amiotrófica, Doença de Parkinson, Doença de Huntington e Doença Vascular Cerebral Isquêmica têm como fenômeno biomolecular predominante um conjunto de reações e alterações bioquímicas em seqüência, de certo modo específicas, que podem implicar morte celular neuronal.

Com redução do fluxo sanguíneo cerebral e de oxigênio (necessário para o metabolismo oxidativo normal), a necessidade de utilização de energia a partir de ATP supera a capacidade de sua síntese através do metabolismo anaeróbico e a partir de fontes resumidas ainda presentes de glicose e glicogênio (Pulsinelli, 1992). Isto implica aumento de concentração de lactato e de íons hidrogênio não tamponados. A ação tóxica dos íons hidrogênio, principalmente com relação à participação de íon ferroso no mecanismos de produção de radicais livres será posteriormente comentado. Convém, no entanto, enfatizar que a administração de glicose nesta fase e a não correção criteriosa de hiperglicemia implicarão aumento ainda maior da concentração de íons hidrogênio e de lactato e, conseqüentemente, acentuação das alterações bioquímicas e estruturais. Evidências experimentais e clínicas pertinentes à ação da glicose administrada antes de instalada a isquemia, aumentando ou acelerando o infarto cerebral, são bem conhecidas (Ginsberg, 1990).

Como foi ressaltado, a principal consequência da isquemia é a insuficiente “regeneração” do ATP e de outros fosfatos ricos em energia; nesta situação, a única fonte desta “regeneração” é a via glicolítica e esta produz, segundo Hansen et al. (1998), em revisão recente sobre este assunto, apenas 5 a 7 % do que é gerado por combustão de glicose. Em sua revisão, estes autores resumem aspectos importantes sobre os mecanismos de excitotoxicidade que ocorrem na isquemia cerebral e que são apresentados a seguir. Assim, a redução dos níveis de fosfatos ricos em energia como ATP induz uma falha nos mecanismos que necessitam de energia, como os de “bomba iônica”, tais como  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATPase, implicando uma despolarização das membranas secundária a uma queda nos gradientes iônicos entre as faces intra e extracelular das mesmas (despolarização anóxica). Instalada a isquemia, há, inicialmente um aumento da concentração de  $\text{K}^+$  extracelular por provável ativação dos canais de potássio não dependentes de ATP; numa fase seguinte, há um aumento ainda maior deste, envolvendo canais de potássio dependentes de ATP, concomitante a uma redução da concentração extracelular de  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cl}^-$  e  $\text{Ca}^{++}$ . Nesta mesma revisão e, com base em dados experimentais, foi sugerido que as alterações do gradiente iônico que ocorrem na fase de redução da concentração extracelular de sódio, cálcio e aumento da concentração extracelular de potássio são parcialmente a causa e não consequência da redução de ATP. A despolarização da membrana secundária ao fluxo iônico através da mesma determina uma ativação dos canais de cálcio sensitivos a voltagem dos tipos N e P, seguindo-se um influxo de  $\text{Ca}^{++}$  através destes canais (Pulsinelli, 1992). Este influxo celular de  $\text{Ca}^{++}$  está envolvido no mecanismo de liberação pré-sináptica de aminoácidos excitadores, como o glutamato ou aspartato. Isto implica, como será relatado mais adiante, abertura dos canais iônicos e redução ou abolição dos gradientes iônicos. Em resumo, o aporte reduzido de oxigênio e de glicose secundários à isquemia induz, secundariamente, acentuação da via glicolítica, sendo esta incapaz de manter

níveis adequados de ATP. Para reduzir o consumo de energia, em virtude da redução dos níveis de ATP, há fechamento dos canais de  $\text{Na}^+$  e de  $\text{Ca}^{++}$  e o potencial de membrana é inicialmente mantido pela ativação dos canais de  $\text{K}^+$  (Hansen et al., 1998). Na fase seguinte, quando os níveis de ATP são muito baixos, há liberação de neurotransmissores, em virtude do que há uma abertura de canais iônicos e, conseqüentemente, comprometimento da homeostase iônica, havendo ativação de processos enzimáticos em cascata, que podem produzir dano e morte celular. No entanto, a reperfusão, pode, de certo modo, reabilitar a homeostase iônica.

O principal neurotransmissor excitador liberado, nestas condições, é o glutamato. Vários são os mecanismos, sugeridos através de estudo de microdiálise ou de outros estudos experimentais, através dos quais a concentração intersticial de glutamato aumenta em condições de isquemia cerebral. A liberação deste neurotransmissor pode ocorrer a partir de vesículas pré-sinápticas (Nicholls & Attwell, 1990; Barbour et al., 1988). A liberação a partir de fontes citoplasmáticas não vesiculares, através de trânsito reverso ao dos transportadores e de fontes não vesiculares do citoplasma da célula glial e através do mesmo mecanismo também ocorre, conforme ressaltado por Benveniste & Warner (1998). Em sua revisão, estes autores ainda enfatizam que a liberação de glutamato a partir de vesículas pré-sinápticas se faz por processo dependente de cálcio e de ATP e, portanto, ocorre no início do processo isquêmico, quando ainda há fontes energéticas disponíveis e que a liberação a partir de espinhas dendríticas pós-sinápticas não é certa. Uma vez instalada uma redução importante dos níveis de ATP, o que ocorre mais tardiamente durante o processo isquêmico, há liberação de glutamato, imposta pelo gradiente de concentração, do compartimento intracelular ao espaço intersticial, através, portanto, de um processo reverso ao do transportador. Isto é perfeitamente admissível, de vez que, normalmente dentro do neurônio, a concentração de glutamato está em torno de 10 mM, enquanto que, no plano extracelular, a concentração é cerca de 1  $\mu\text{M}$  (Lipton & Rosenberg, 1994).

Concentrações extracelulares de glutamato na faixa de 0,2 a 1,0 mM desencadeiam excitotoxicidade (Leigh & Meldrum, 1996).

A participação dos receptores do glutamato no mecanismo fisiopatológico das lesões celulares tem sido sugerida em algumas doenças do sistema nervoso central. Em destaque, cumpre citar a doença vascular cerebral isquêmica, o trauma, a hipoglicemia, a epilepsia e as doenças degenerativas do sistema nervoso central, tais como, doença de Huntington, esclerose lateral amiotrófica e doença de Parkinson (Choi, 1988a; Rothman & Olney, 1986; Meldrum, 1985; Lipton et al., 1993), complexo demência da síndrome de deficiência imune adquirida, síndromes de dores neuropáticas, atrofia olivo-ponto-cerebelar, síndrome MELAS (miopatia mitocondrial, encefalopatia, acidose láctica e episódios semelhantes a doença vascular cerebral devidas a mutação pontual no DNA mitocondrial), Síndrome MERFF (epilepsia mioclônica com fibras musculares tipo *ragged-red*, também devida a mutação pontual no DNA mitocondrial), doença de Leber, encefalopatia de Wernicke, síndrome de Rett, homocisteinúria, hiperprolinemia, hiperglicinemia não cetótica, aminoacidúria hidroxibutírica, deficiência de sintetase oxibutírica, encefalopatia plúmbica, doença de Alzheimer, encefalopatia hepática, doença de Gilles de La Tourette, bem como, dependência e tolerância a drogas (Lipton & Rosenberg, 1994).

Os receptores do glutamato medeiam a maioria das transmissões excitatórias do sistema nervoso central. São conhecidos vários tipos destes receptores (figura 7). Estes podem ser classificados em receptores ionotrópicos, ligados a canais iônicos, e metabotrópicos, acoplados a segundo mensageiro através de proteína G (Mattson & Mark, 1996; Gasic & Hollman, 1992; Seeburg, 1993). Os receptores ionotrópicos são relativamente grandes e é composto de múltiplas sub-unidades complexas e formam, como já realçado, canais iônicos através das membranas, enquanto que os metabotrópicos são compostos de um simples polipeptídeo (Waxam, 1999). Os receptores ionotrópicos se subdividem em NMDA, tendo como agonista o N-metil-D-aspartato, Cainato, tendo como agonista o ácido

caínico e AMPA, sendo o agonista o ácido  $\alpha$ -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazole-propiónico (Watkins & Evans, 1981).

Detalhes sobre estrutura e função dos receptores dos aminoácidos excitadores, como glutamato, são revistos por Mattson & Mark (1996) e por Waxham (1999). Os receptores NMDA, pelo menos em parte, são responsáveis por aspectos do desenvolvimento, aprendizado e memória. Há dois grupos de receptores NMDA. Um dos grupos é constituído de subunidades NR1, NR2A, NR2B, NR2C e NR2D (formas heteroméricas de NR1 e uma das subunidades NR2) e o outro é formado por uma subunidade ligadora de glutamato de 71 kDa e outra subunidade antagonista ligadora de CPP de 80 kDa. Cada receptor NMDA tem um sítio de ligação de glutamato, um sítio de ligação de glicina, um sítio de ligação de antagonista não competitivo, além dos sítios de ligação de  $\text{Ca}^{++}/\text{Mg}^{++}$ . Formando os receptores AMPA, há a combinação das subunidades GluR1-GluR4, sendo que a expressão da subunidade R2 torna o receptor impermeável ao  $\text{Ca}^{++}$ ; os receptores AMPA sem subunidade GluR2 são francamente permeáveis ao  $\text{Ca}^{++}$ . Os receptores cainato são constituído por subunidades GluR5-GluR7. Há expressão genética de duas outras subunidades de receptores cainato (KA1 e KA2). Glutamato atuando no receptor metabotrópico ativa uma enzima, a fosfolipase C, que catalisa a reação em que o fosfolípido inositol (PIP2) produz trifosfato de inositol (IP3) e diacilglicerol (DAG). Trifosfato de inositol (PIP3) atua em receptores específicos do sistema retículo endoplasmático, liberando o  $\text{Ca}^{++}$ , a partir do mesmo. Diacilglicerol (DAG), por sua vez, ativa a enzima proteína-kinase C. Os receptores metabotrópicos são acoplados também a proteína G, a qual negativamente atua sobre o sistema adenilato ciclase com a conseqüente redução dos níveis intracelulares de AMP.

Choi (1987) sugere, pela primeira vez, que a neurotoxicidade do glutamato se processa em duas etapas sucessivas. A primeira manifestação



Como destacado anteriormente, além do influxo celular de  $\text{Na}^+$  e  $\text{Cl}^-$ , implicando edema citotóxico pelo deslocamento intracelular concomitante de água, entrada de cálcio nas células tem marcada importância como fato preponderante no mecanismo de lesão celular durante uma isquemia, bem como no curso da reperfusão. Vários mecanismos poderiam nortear o influxo celular de cálcio, cumprindo-se destacar o influxo através dos canais de cálcio sensitivos à voltagem, através de canais operados por agonistas ou por meio do sistema de troca  $3 \text{Na}^+/\text{Ca}^{++}$  (Miller, 1987; Miller, 1992). No entanto, como não foi experimentalmente possível bloquear substancialmente a neurotoxicidade tardia do glutamato com Mg ou mantendo cultura de células em solução livre de  $\text{Na}^+$ , chegou-se à conclusão de que os canais de cálcio sensitivos à voltagem não desempenham papel importante na fisiopatologia de lesões celulares secundárias ao influxo de cálcio (Choi, 1987). A redução da fonte energética durante uma isquemia cerebral contribui para outro mecanismo de aumento da concentração intracitoplasmática de  $\text{Ca}^{++}$ . Este é secundário ao comprometimento da extrusão e seqüestro de  $\text{Ca}^{++}$  dependente de ATP. Havendo falha da bomba  $\text{Ca}^{++}$ -ATPase, há um impedimento direto da extrusão; a redução do seqüestro de  $\text{Ca}^{++}$  pelas mitocôndrias (este ocorre normalmente, quando o  $\text{Ca}^{++}$  atinge níveis micromolares de concentração) pode ser observada em condições de isquemia, de vez que o processo de transporte de  $\text{Ca}^{++}$  pela membrana mitocondrial é dependente de ATP (Tymianski, 1998). O mesmo mecanismo pode operar no sistema  $\text{Ca}^{++}$ -ATPase do retículo endoplasmático (Mattson & Mark, 1996). Determinadas proteínas plasmáticas podem desempenhar ação citoprotetora pela capacidade de ligação ao  $\text{Ca}^{++}$  livre (Heizmann & Hunziker, 1991). Uma destas proteínas ligadores de  $\text{Ca}^{++}$  livre é a calbidina e, a propósito, foi experimentalmente

verificado que culturas de neurônios hipocâmpais com expressão de calbidina são resistentes à excitotoxicidade induzida por glutamato (Mattson et al., 1991).

Em condições fisiológicas, a liberação de neurotransmissores excitadores nas fendas sinápticas é efetuada graças à despolarização da membrana pré-sináptica e conseqüente ativação dos canais de cálcio sensíveis à voltagem, principalmente os do tipo N e P (McCormick, 1999). Isto determina a liberação do neurotransmissor excitador, principalmente glutamato e secundariamente ativação de receptores, principalmente NMDA e AMPA. A despolarização da membrana pós-sináptica é, em grande parte, determinada pela ativação de receptores AMPA, fato este que permite um influxo de  $\text{Na}^+$ , seguindo-se de ativação dos canais de cálcio sensíveis à voltagem (Lipton & Rosenberg, 1994) e liberação do bloqueio de  $\text{Mg}^{++}$  nos receptores NMDA (Siesjö et al., 1998). Instala-se secundariamente um influxo de  $\text{Ca}^{++}$  com ativação de processos enzimáticos dependentes de  $\text{Ca}^{++}$ . Estes fenômenos são necessários para que haja tráfego de impulsos de um neurônio para outro.

Em condições patológicas, há acentuação da magnitude destas respostas e (ou) redução de seus mecanismos de modulação. A indisponibilidade de fontes energéticas, em condições de isquemia cerebral, além de propiciar uma liberação sináptica de glutamato a partir de estruturas pré-sinápticas, irá comprometer os mecanismos de recaptação do mesmo neurotransmissor pelos neurônios e por células da glia (Tymianski, 1998). Estes dois fatos produzem um aumento exagerado de glutamato e conseqüente ativação de receptores ionotrópicos e metabotrópicos.

O receptor NMDA, uma vez ativado, permite um influxo de cálcio, sendo isto um aspecto essencial para a implementação de todos os eventos que

compõem a cascata de reações em cadeia que caracteriza a excitotoxicidade (Garthwaite & Meldrum, 1990). Em condições patológicas, como acontece durante isquemia cerebral, o glutamato liberado se liga aos receptores NMDA, os quais têm elevada condutância ao cálcio, produzindo, assim, elevação dos níveis intracelulares deste íon. (Choi, 1987). O aumento do influxo de  $\text{Na}^+$ , determinado, principalmente, pela ação do glutamato sobre os receptores AMPA, provoca despolarização das membranas com abertura dos canais de cálcio sensitivos à voltagem, contribuindo ainda mais para o aumento dos níveis intracelulares de cálcio (Mattson & Mark, 1996). No entanto, como salientado anteriormente, a abertura dos canais de  $\text{Ca}^{++}$  sensitivos à voltagem não tem participação absolutamente necessária para lesão celular tardia induzida pelo glutamato. A ligação do glutamato aos receptores metabotrópicos do grupo 1 (figura 7) provoca ativação da fosfolipase C, a qual atua sobre o fosfolípido inositol de membrana, resultando na liberação de IP3 e DAG (Leigh & Meldrum, 1996). O IP3, por sua vez, se liga a receptores específicos do retículo endoplasmático, liberando  $\text{Ca}^{++}$  do mesmo, assim, promovendo um aumento da concentração do  $\text{Ca}^{++}$  citosólico, enquanto DAG ativa a enzima proteína quinase C (Schulman & Hyman, 1999). Ben-Ari et al. (1992) demonstraram que a proteína quinase C (PKC) dependente de  $\text{Ca}^{++}$ -fosfolípido, uma vez translocada à membrana plasmática e, presumivelmente, por fosforilação do complexo canal-receptor, provoca modulação positiva de correntes através dos canais NMDA, induzindo potenciação de longa duração da transmissão sináptica. Não se sabe ainda se este fenômeno ocorre em resposta à isquemia.

O aumento de fosforilação das proteínas de membrana celular durante a isquemia cerebral (figura 8) tem sido reportado (Wieloch & Kamme, 1998). A fosforilação aumentada da subunidade NR2 do receptor NMDA foi

documentada por alguns pesquisadores durante isquemia (Hu & Wieloch, 1994; Moom et al., 1994; Lau & Haganir, 1995), havendo conseqüente aumento da condutância de cálcio por estes receptores. Sabe-se que tirosina-quinases do tipo src fosforilam subunidades 2A e 2B dos receptores NMDA (Suzuki & Okumura, 1995) e que as correntes de cálcio são aumentadas nesta condição e diminuídas pelos inibidores da tirosina-quinase (Wang et al., 1996; Wang & Salter, 1994). Níveis aumentados de  $Ca^{++}_{(i)}$  podem determinar a translocação da enzima quinase II dependente de cálcio/calmodulina (CaMKII) às regiões de densidade pós-sináptica, provocando fosforilação de receptores de glutamato e provocando aumento da condutância iônica (Wieloch & Kamme, 1998). Evidência aparentemente paradoxal de redução da atividade tirosina-quinase, sem comprometimento da atividade tirosina-fosfatase, durante anoxia foi obtida recentemente por Braunton et al. (1998). Estes autores sugerem que, neste caso, uma nova via de transdução de sinal com atividade citoprotetora é utilizada em contraposição à ação citotóxica induzida pelo glutamato.

Vários trabalhos experimentais identificam o  $Ca^{++}$  como um segundo mensageiro que medeia a lesão e a morte celular (Siesjö, 1981; Choi, 1988b; Murphy et al., 1988; Morley, et al., 1994). Em recente revisão, Siesjö & Siesjö (1996) identificam aspectos importantes da participação do cálcio na lesão cerebral secundária a isquemia, quais sejam: a) alteração da atuação da membrana plasmática na distribuição do  $Ca^{++}$  intra e extracelular, com aumento gradual da concentração do cálcio citosólico livre ( $Ca^{++}_{(i)}$ ) e sobrecarga deste no interior das mitocôndrias; b) diminuição da síntese protéica, havendo redução dos fatores tróficos e enzimas importantes; c) desencadeamento do mecanismo de apoptose celular.

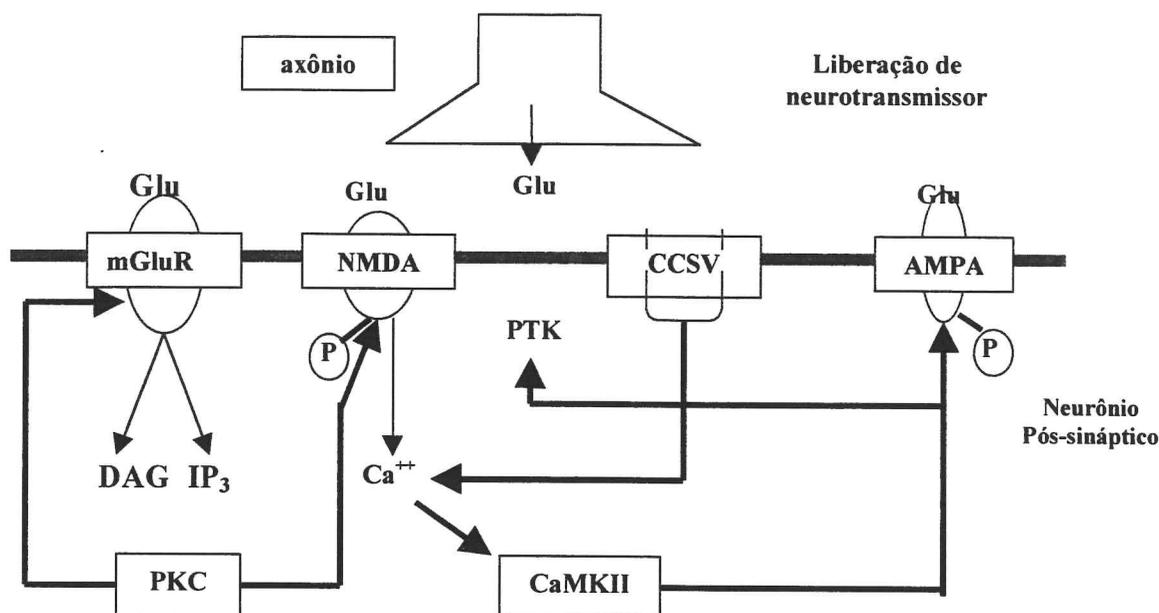


Figura 8 – Mecanismos de fosforilação de receptores de glutamato durante a isquemia cerebral por ação da proteína-quinase C (PKC), quinase II dependente de cálcio/calmodulina (CaMKII) e tirosina-quinase (PTK). Glu – glutamato; CCSV – canais de cálcio sensíveis à voltagem. Maiores detalhes são observados no texto. Esta figura foi adaptada de WIELOCH, T., HU, B-R., BORIS-MÖLLER, A., CARDELL, M., KAMME, F., KURIHARA, J, SAKATA, K Intracellular Signal Transduction in the Postischemic Brain. In: SIESJÖ, B. K. & WIELOCH, T. (Eds.) *Advances in neurology: cellular and molecular mechanisms of ischemic brain damage*. Philadelphia: Lippincott-Raven, 1996. v. 71, p. 371-388.

Em decorrência da isquemia, há, como foi visto, um excessivo influxo celular de Ca<sup>++</sup>. Conseqüentemente, além de alteração funcional dos receptores de membrana, canais iônicos e translocases iônicas por fosforilação secundária a ativação de proteína-quinases, há ativação não fisiológica de proteases, lipases e endonucleases (Siesjö, 1992), bem como, de outros sistemas enzimáticos com a sintetase de óxido nítrico (Dawson et al., 1991; Dawson et al., 1993). A ativação de proteases produz alterações de componentes do esqueleto celular e compromete a ancoragem entre a membrana celular e este esqueleto celular (Seubert et al., 1989; Siman & Noszek, 1988). A partir do momento em que se disponha de inibidores de protease capazes de atravessar a barreira hemato-encefálica, um dispositivo

importante para o tratamento da doença vascular cerebral isquêmica poderá estar à disposição de clínicos e neurologistas.

A ativação de receptores metabotrópicos do glutamato com ativação da fosfolipase C também contribui para o aumento dos níveis citosólicos de cálcio, principalmente em decorrência da liberação deste íon a partir do sistema retículo-endoplasmático.

Níveis aumentados de  $Ca^{++}$  citosólico ativam e translocam outra enzima relacionada com o metabolismo de fosfolipídios, a fosfolipase  $A_2$  ( $PLA_2$ ), que catalisa a clivagem hidrolítica da ligação do radical acil ao segundo carbono da estrutura do glicerol na molécula de fosfolipídios, produzindo ácido araquidônico e fator de ativação plaquetária (PAF), sendo este último obtido a partir de liso-PAF pela ação de uma acetiltransferase (Siesjö, 1992). O acúmulo de fator de ativação plaquetária (PAF ou 1-O-alkil-2-acetil-sn-glicero-3-fosfocolina), proporcionado por estímulos repetidos, nas fendas sinápticas determina sua ligação com receptores pré-sinápticos e, por mecanismo ainda não definido, produz exocitose de glutamato (Bazan & Allan, 1998). Isto foi evidenciado a partir das observações de Clark et al. (1992) que, estudando a transmissão sináptica em cultura de neurônios hipocámpais de ratos, demonstraram que PAF aumentou a transmissão sináptica excitatória. Por este mecanismo PAF, pode participar como mediador de excitotoxicidade durante a isquemia cerebral. Nishida & Markey (1996) obtiveram, através de medida direta de PAF em tecidos neuroniais, evidências de que o PAF está envolvido na fisiopatologia da isquemia cerebral, durante os estágios iniciais de reperfusão. Níveis aumentados de PAF durante a isquemia cerebral resultam da ativação de  $PLA_2$  e de acetiltransferase (Bazan, 1995). Além de promover a ativação de neutrófilos e sua adesão às células

endoteliais (Siesjö, 1992), ativação e agregação plaquetária, PAF é importante mediador da expressão genética neuronal e em células inflamatórias (Bazan & Allan, 1998), sendo isto uma contribuição importante para o comprometimento da microcirculação na isquemia cerebral. PAF pode também estimular receptores acoplados a PLA<sub>2</sub> (Bazan et al., 1991), positivamente retroalimentando a síntese de AA e do próprio PAF.

A utilização de antagonistas do PAF em trabalhos experimentais também comprovam sua participação como mediador de lesões induzidas por isquemia ou isquemia e reperfusão. Matsuo et al. (1996) demonstraram que PAF e tromboxane A<sub>2</sub> participam dos mecanismos de lesão via reperfusão após isquemia cerebral, aumentando a geração de radicais de oxigênio pelos neutrófilos e, para isto, se utilizaram de antagonistas específicos dos radicais. Anteriormente Panetta e colaboradores (1987) empreenderam estudos experimentais semelhantes, em que se utilizando de antagonistas de PAF verificaram redução da lesão via reperfusão. Estudando geração de ânions superóxidos em cobaias, Kato et al. (1993) também sugeriram que a produção de radicais de oxigênio por neutrófilos é mediada por ativação de receptor de PAF e pela produção de tromboxane A<sub>2</sub>.

Em condições de isquemia parcial ou durante a reperfusão pós-isquêmica, os ácidos graxos livres, como o AA, são substratos da ação de ciclo-oxigenases (COX) e lipo-oxigenases, como a 5-lipo-oxigenase (figura 9), com a conseqüente produção de eicosanóides (Siesjö, 1992).

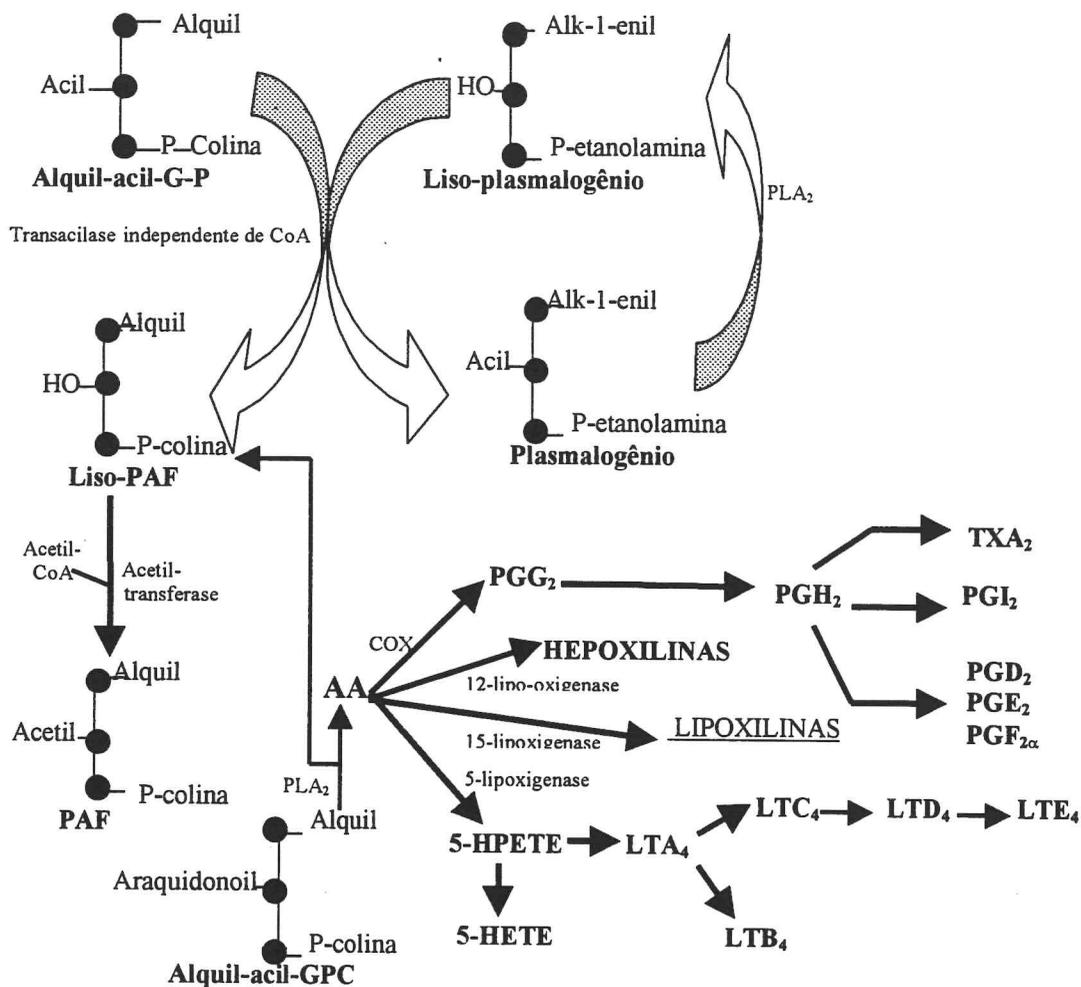


Figura 9 – Produção de mediadores lipídicos, a partir da ação de  $PLA_2$ . Para explicação, veja texto. Abreviações:  $TXA_2$  – tromboxano  $A_2$ ; PG – prostaglandina; HEPETE – ácido hidroxieicosaperoxitetraenóico; HETE – ácido hidroxieicosatetraenóico; LT – leucotrieno. Adaptado de SIESJÓ, B. K. Pathophysiology and treatment of focal cerebral ischemia. Part II: Mechanisms of damage and treatment. *J. Neurosurg.*, v. 77, p. 337-354, 1992.

O conjunto de reações a partir do ácido araquidônico, processando-se durante uma isquemia e reperfusão, ocorre em duas etapas. Durante a primeira fase, ou seja, durante a isquemia, há ativação de fosfolipases, porém, em decorrência dos baixos níveis de energia e de tensão de oxigênio, não se processam, em intensidade adequada, as reações de reacilação dos lipídios de membrana dependentes de energia, havendo acúmulo de AA livre; na segunda

fase (reperfusão), com recuperação do fluxo sanguíneo e aumento da tensão de oxigênio, ocorre um aumento dos níveis de eicosanóides (Bazan & Allan, 1998) e, portanto, de produtos de peroxidação lipídica. Logo, metabólitos do AA podem ser mediadores importantes de lesão tissular durante a reperfusão após isquemia cerebral. Estudos experimentais também comprovaram que microvasos cerebrais são também fontes de eicosanóides em isquemia cerebral (Asano et al., 1985). O produto inicial da alça metabólica da 5-lipo-oxigenase é o ácido 5-hidroperoxi-eicosatetraenóico (5-HPETE), do qual se origina o ácido 5-hidroxi-eicosatetraenóico (5-HETE), que encerra importante propriedade quimiotáctica sobre os leucócitos polimorfonucleares, e leucotrienos, como o leucotrieno B<sub>4</sub>, que também tem ação quimiotáctica sobre os leucócitos (Siesjö, 1992). Os demais leucotrienos (LTC<sub>4</sub>, LTD<sub>4</sub> e LTE<sub>4</sub>) aumentam a permeabilidade vascular (Samuelsson, 1983).

Os produtos derivados da ação da ciclo-oxigenas (COX) sobre o AA têm maior importância na fisiopatologia da isquemia cerebral. O TXA<sub>2</sub> tem ação vasoconstritora e promove agregação plaquetária e de leucócitos; a prostaciclina tem ação vasodilatadora e antiagregante e, durante isquemia, tanto a sintetase de TXA<sub>2</sub> quanto a sintetase de prostaciclina são ativadas, porém os radicais livres inibem a última e, isto explica porque, numa isquemia com reperfusão, há predomínio da ação vasoconstritora e agregadora de plaquetas do TXA<sub>2</sub> (Siesjö, 1992). Kochanek et al. (1988) utilizaram experimentalmente inibidor da COX (indometacina), avaliando o fluxo sanguíneo cerebral, a adesividade das plaquetas ao endotélio vascular e os potenciais evocados somato-sensitivos corticais em cães com isquemia cerebral focal. Estes autores observaram que a administração de indometacina produziu uma melhora

do fluxo sanguíneo cerebral, após quatro horas de reperfusão e uma recuperação não sustentada da amplitude dos potenciais evocados uma hora após reperfusão, sem modificação significativa da adesividade plaquetária ao endotélio. Em experimento similar, foi verificada melhora do fluxo sanguíneo cerebral sem ocorrer modificação do acúmulo de leucócitos, após isquemia (Kochanek et al., 1987). Diferentemente do que estes experimentos possam sugerir, para Chen et al. (1995), inibidores da COX, como a aspirina, são úteis para prevenir a isquemia cerebral, porém não têm qualquer efeito em reduzir as lesões tissulares isquêmicas. Estes autores sugerem que uma inibição da COX, produzindo, em compensação, uma acentuação da via das lipo-oxigenases justificaria a ineficácia dos inibidores da COX em reduzir uma lesão isquêmica. Assim, utilizando um modelo de isquemia focal transitória, Chen et al. (1995) conseguiram reduzir a hipoperfusão pós-isquêmica e a lesão pós-reperfusão, com a utilização de um inibidor da COX e da lipoxigenase (BW755C). Pettigrew et al. (1989) comprovaram o aumento do fluxo sanguíneo cerebral concomitante à redução dos níveis cerebrais de  $TXA_2$  em um modelo de isquemia cerebral transitória, utilizando um inibidor da tromboxane sintetase (1-bezilimidazol).

### 2.3.2 Radicais livres e estresse oxidativo na isquemia cerebral

Muitas doenças resultam da falta ou de um insuficiente aporte de sangue a determinadas regiões do organismo. Em sua atividade cotidiana, os profissionais de saúde se deparam freqüentemente com certas condições, em que a isquemia é o fenômeno determinante de morte ou de seqüelas que limitam a atividade diária dos pacientes, tais como, infarto do miocárdio, doença vascular cerebral isquêmica trombótica ou embólica,

“angina pectoris”, insuficiência vascular periférica, cirurgia cardíaca e transplante de órgãos. Sempre que se dispôs a empreender um estudo epidemiológico nas diversas regiões, onde se possa conseguir resultados confiáveis, a doença vascular cerebral isquêmica tem oferecido uma magna contribuição para os índices de mortalidade e morbidade. O extraordinário avanço dos conhecimentos em Medicina, particularmente em Farmacologia e Cirurgia, tem permitido a reversão cada vez mais precoce do processo isquêmico no sentido de se evitar a necrose tissular. Estudos experimentais, contudo, têm demonstrado outro problema secundário à recirculação de tecidos previamente isquêmicos: o comprometimento estrutural e funcional secundário ao aporte de oxigênio a estes tecidos e que constitui a chamada lesão via reperfusão ou lesão pós-isquêmica (McCord, 1985).

É inegável que a administração de oxigênio seja, talvez, a forma de tratamento mais freqüentemente utilizada em hospitais de todo o mundo. No entanto, também é inegável que o oxigênio contribui para produção de espécies reativas de oxigênio, que são implicadas na fisiopatologia de muitas enfermidades graves. O reverendo Joseph Priestley, que descobriu o oxigênio, já, em primeira mão, chamava a atenção para o fato de que o gás poderia causar reações tóxicas, utilizando a analogia em que uma vela queima muito mais rapidamente em ambiente de oxigênio puro que em ambiente de ar (Beckman, 1998). Uma prova inequívoca dos efeitos adversos do  $O_2$  é que a administração deste gás sob alta pressão causa toxicidade aguda no sistema nervoso, podendo produzir convulsões (Halliwell, 1992). A partir da explosão da primeira bomba atômica durante a Segunda Guerra Mundial, houve um crescente interesse pelo estudo da ação das espécies reativas de oxigênio, alimentado pelo

conhecimento de que o oxigênio aumentava a toxicidade da radiação em organismos anaeróbicos. Os oncologistas logo verificaram que tumores hipóxicos e pouco vascularizados eram muito mais resistentes à radioterapia (Beckman, 1998).

Em relação à isquemia cerebral, dois mecanismos são supostamente responsáveis por lesão cerebral secundária, segundo Siesjö & Siesjö, 1996. O primeiro mecanismo envolve vários aspectos, sendo a maior parte mencionada anteriormente: modificações de transdução de sinais desde a estimulação de receptores de glutamato e de fatores de crescimento com a conseqüente geração de segundos mensageiros, os quais modulam sinalização intracelular e podendo influenciar, deste modo, fatores citosólicos de transcrição, os quais regulam a expressão genética e síntese de proteínas (Wieloch et al., 1996). Assim a inibição de síntese de proteínas, condicionada por este mecanismo alterado de transdução de sinal poderá, em isquemia demorada, induzir a morte celular. O segundo mecanismo é condicionado pelo retorno do aporte de oxigênio durante a fase de reperfusão e envolve a produção de espécies reativas de oxigênio (ERO) e radicais livres.

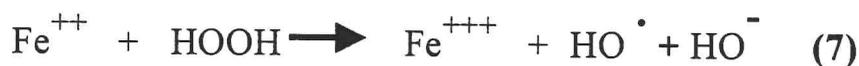
Precedendo comentários sobre os mecanismos de geração de ERO e radicais livres durante e após a isquemia, serão apresentados aspectos conceptuais sobre os mesmos.

Espécies reativas de oxigênio (ERO) são entidades químicas que contém oxigênio em sua composição e que facilmente doam elétrons a outras substâncias ou têm a capacidade de recebê-los de outras estruturas químicas, enquanto espécies químicas que contém um ou mais elétrons não pareados e que têm existência independente são denominadas radicais livres (Halliwell, 1989). A existência de um ou mais elétrons não pareados

e, portanto, de orbitais contendo apenas um elétron, torna os radicais livres muito reativos. Radicais livres podem compartilhar elétron não pareado com elétron de “spin” oposto de outro radical, constituindo uma ligação covalente; podem doar seu elétron não pareado (radical redutor) a um não-radical ou extrair um elétron (radical oxidante) de um não-radical. As espécies reativas de oxigênio (ERO) podem encerrar ou não as características de radicais livres. As principais delas que se comportam como radicais livres são o oxigênio molecular ( $O_2\cdot$ ), ânion superóxido ( $O_2^{\cdot-}$ ), radical hidroxila ( $OH\cdot$ ) e radical óxido nítrico ( $NO\cdot$ ); o oxigênio não molecular (*singlet*) ( $^1O_2$ ), o ácido hipocloroso ( $HOCl$ ), o peróxido de hidrogênio ( $HOOH$ ) e o ânion peroxinitrito ( $ONOO^-$ ) são as principais espécies reativas de oxigênio (ERO) não radicais (Juurlink, 1997). Outros radicais livres incluem moléculas orgânicas, tais como, radicais alcoxi, radicais peroxi (Bowling & Beal, 1995), átomo de hidrogênio ( $H\cdot$ ), triclorometil ( $CCl_3\cdot$ ), glutathion tiil ( $GS\cdot$ ), lipídio peroxil (lipídio- $O_2\cdot$ ) e fenoxil ( $C_5H_5-O\cdot$ ) com elétron deslocado no anel benzênico (Halliwell, 1992).

O oxigênio molecular é um radical livre, tendo dois elétrons não pareados em orbitais diferentes e com o mesmo número quântico do “spin”. O ânion superóxido pode provir da recepção de um elétron de “spin” oposto por um dos orbitais do oxigênio molecular, contendo um elétron. O ânion superóxido pode ser transformado em peróxido de hidrogênio; a metaloenzima superóxido-dismutase (SOD) catalisa esta reação (Tainer et al., 1983). O peróxido de hidrogênio pode reagir com  $Fe^{++}$  para formar  $Fe^{+++}$  e radical hidroxila, sendo este último capaz de

oxidar proteínas, lipídios, RNA e DNA (Puppo & Halliwell, 1988; Wilson, 1997); o íon  $\text{Fe}^{+++}$  pode ser reduzido a  $\text{Fe}^{++}$  pelo íon superóxido (Cross et al., 1987). Além de SOD, outros sistemas antioxidantes endógenos podem modular a concentração de radicais livres, como os sistemas enzimáticos catalase e glutathion-peroxidase (GSH-Px), que atuam, por exemplo, sobre o peróxido de hidrogênio, impedindo a formação de radicais hidroxila (Wilson, 1997). As seguintes reações de interconversão de espécies reativas de oxigênio em outras podem ocorrer freqüentemente em várias condições.



Os radicais livres podem comprometer estruturalmente várias macromoléculas através de reações de oxidação e redução, produzindo, por exemplo, quebra na alça do DNA (Devasagayam, et al., 1991), formação de produtos de quebra do DNA, como 8-hidroxi-2'-desoxiguanosina (Shigenaga & Ames, 1991), peroxidação lipídica (Wilson, 1997; Hall, 1996) e formação de grupos carbonila (Smith et al., 1991).

## **2.4 Fontes de Espécies Reativas de Oxigênio**

### **2.4.1 Cadeia mitocondrial de transporte de elétrons**

Há evidências de que, no processo respiratório mitocondrial normal, 3% do oxigênio utilizado sejam destinados à produção de peróxido de hidrogênio (Chance et al., 1979). Como foi visto, o peróxido de hidrogênio é produzido a partir da reação de ânions superóxido por ação da SOD. O peróxido de hidrogênio, por sua vez, pode ser modificado por ação de metais de transição reduzidos ou da ubi-semiquinona reduzida mitocondrial (Elliot & Koliwad, 1995). A produção de espécies reativas de oxigênio (ERO) é amplificada em situações em que a concentração de oxigênio é aumentada, como na reperfusão pós-isquêmica ou quando a cadeia respiratória é reduzida, em situações de isquemia (Piper apud Maxwell & Lip, 1997). O aumento de produção de espécies reativas de oxigênio (ERO) secundário a ativação de receptores NMDA durante isquemia pode ser bloqueado por inibidores do transporte de elétrons na mitocôndria ou reproduzido por desacoplador deste transporte; estes fatos promovem suporte à possibilidade de que o estresse oxidativo pode ser produzido por desacoplamento do transporte eletrônico mitocondrial dependente de cálcio e mediado por receptor NMDA (Dugan et al., 1995).

### **2.4.2 Xantina oxidase – xantina desidrogenase**

Uma das fontes importantes de espécies reativas de oxigênio (ERO) em tecidos pós-isquêmicos é a atividade da enzima xantina oxidase (McCord, 1985). Como comentado, a queda do aporte de fonte energética aos tecidos isquêmicos, em decorrência da redução do fluxo sanguíneo, provoca uma

redução da fosforilação oxidativa e, portanto, diminuição da síntese de ATP e PCr. Os precursores de ATP são degradados a hipoxantina e xantina, os quais são substratos do complexo enzimático xantina desidrogenase-oxigenase (Maxwell & Lip, 1997). Supõe-se que os níveis intracelulares de  $\text{Ca}^{++}$  elevados durante o processo isquêmico ativem uma protease intracelular capaz de converter a enzima xantina desidrogenase em xantina oxidase, que, por sua vez, transfere elétrons da hipoxantina ao oxigênio molecular, já disponível na fase de reperfusão, transformando-o em ânion peróxido (Southorn & Powis, 1988).

#### 2.4.3 Leucócitos polimorfonucleares

A lesão via reperfusão tem etiologia multifatorial, sendo a infiltração de neutrófilos um dos aspectos determinantes no mecanismo desta lesão. Leucotrieno  $\text{B}_4$  ( $\text{LTB}_4$ ) e fator de ativação plaquetária (PAF) são produzidos a partir dos fosfolípidios de membrana em condições de isquemia. Estas substâncias (Grace, 1994), além de citocinas, como a Inteleucina-1 (Clark, 1997), atuam no processo de ativação dos neutrófilos; segue-se acúmulo e adesão dos mesmos ao endotélio, com liberação de mediadores provenientes de lipídios e espécies reativas de oxigênio (Zimmerman, 1998; Winqvist & Kerr, 1997). O ácido araquidônico (AA) produzido por atividade da  $\text{PLA}_2$ , durante a isquemia, ativa o complexo NADPH-oxidase dos neutrófilos, havendo transferência de um elétron do NADPH ao oxigênio molecular e conseqüente produção de ânion superóxido.

#### 2.4.4 Produtos metabólicos do ácido araquidônico

Já foram reportados os mecanismos, através dos quais há ativação de fosfolipases e de enzimas, como lipoxigenases e ciclo-oxigenase (COX), resultando ácidos graxos livres e outros produtos implicados na fisiopatologia da isquemia cerebral. Produtos metabólicos derivados do ácido araquidônico (AA),

como prostaglandinas, tromboxanos e leucotrienos secundários à ação da ciclo-oxigenase (COX) e das lipo-oxigenases (figura 9), envolvem também intermediários peroxi-lipídios e, portanto, espécies reativas de oxigênio (ERO).

#### 2.4.5 Espécies reativas de oxigênio e catecolaminas

Catecolaminas potencialmente podem sofrer auto-oxidação, sendo possível elevação de seus níveis em caso de isquemia, sendo esta reação importante no mecanismo da cardiopatia (Singal, et al., 1983). Evidência experimental recente demonstra que a toxicidade da 6-hidroxi-dopamina sobre a via dopaminérgica nigro-estriatal envolve a geração de ânion superóxido secundária à auto-oxidação e, ao mesmo tempo, sugere que espécies reativas de oxigênio (ERO) podem constituir determinantes importantes do comprometimento neurodegenerativo em razão das catecolaminas (Asanuma et al., 1998). Já é fato bem conhecido que complicações cardíacas na vigência de hemorragia sub-aracnóide são frequentes e incluem alterações no eletrocardiograma, arritmias, lesão miocárdica e edema pulmonar neurgênico e são decorrentes de desequilíbrio autonômico com liberação aumentada de catecolaminas (Elrifai et al., 1996; Di Pasquale et al., 1998; Randell et al., 1999).

#### 2.4.6 Metais de transição

Metais de transição, como ferro, participam das reações de transferência de elétrons, envolvendo radicais livres. Como mencionado, facilitam a produção de radicais hidroxila, muito tóxicas, a partir de radicais superóxidos, menos tóxicos. Evitar que metais de transição participem da formação de radicais livres constitui uma forma maior de prevenção de formação de radicais livres no plasma humano (Halliwell, 1992). A quelatação de metais como, por exemplo, cobre e ferro, por proteínas específicas plasmáticas constitui um mecanismo natural também de atividade antioxidante. A deficiência de ceruloplasmina, substância endógena queladora de cobre, como ocorre na doença de Wilson, tem como consequência

importância fundamental nas lesões, principalmente do sistema nervoso central, em que o estresse oxidativo constitui aspecto importante no panorama patológico desta enfermidade, em função da participação do cobre na gênese de espécies reativas de oxigênio.

## **2.5 Mecanismos de lesão cerebral a partir da produção de radicais livres**

### **2.5.1 Alterações da barreira hemato-encefálica**

Alteração da barreira hemato-encefálica por comprometimento de membranas endoteliais em decorrência da participação do ácido araquidônico (AA) ou de radicais livres tem sido descrita, ocorrendo secundariamente um edema de origem vascular com aumento da concentração extracelular de aminoácidos excitadores e acentuação da lesão neuronal (Betz, 1996). Abertura da barreira hematoencefálica, neste caso, pode ser secundária ao rompimento da parte externa do lado luminal da membrana da célula endotelial (Wakai et al., 1982).

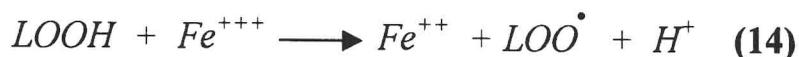
### **2.5.2 Alterações na permeabilidade de membrana**

A peroxidação lipídica altera as propriedades físicas da membrana, modificando as funções das proteínas situadas entre as camadas lipídicas da mesma (Juurlink, 1997). Adicionalmente, os radicais livres inibem a  $\text{Na}^+\text{-K}^+$  ATPase, dissipando o gradiente de  $\text{Na}^+$  e  $\text{K}^+$  através da membrana, com o conseqüente aumento de sua permeabilidade, formação de edema (edema citotóxico) e lise celular (Wilson, 1997).

### **2.5.3 Peroxidação lipídica**

A lesão celular imposta por estresse oxidativo em decorrência de peroxidação lipídica tem sido postulada há cerca de vinte anos. Assim ERO

oxidam facilmente ácidos graxos polinsaturados: o radical hidroxila subtrai um átomo de hidrogênio previamente ligado a carbono “metilênico” do ácido graxo insaturado, havendo formação de um radical livre centrado em um átomo de carbono (equação 10); muito freqüentemente, este radical reage com o oxigênio, originando um radical peroxi (equação 11); este, por sua vez, é transformado em hidroperóxido de lipídio pela subtração de um átomo de hidrogênio de um carbono “metilênico” de um ácido graxo insaturado adjacente, com formação de um novo radical livre lipídico (equação 12); a reação em cadeia prossegue até que dois radicais livres se liguem entre si, ou até que o radical lipídico apresente interação com um antioxidante, como a vitamina E (Hall & Braugher, 1989; Siesjö et al., 1989). O ferro pode participar do processo de peroxidação lipídica. Neste caso, hidroperóxidos reagem com  $Fe^{++}$ , havendo formação de radicais alcóxil, íon hidroxila e  $Fe^{+++}$  (equação 13); hidroperóxidos também reagem com  $Fe^{+++}$  (equação 14) com formação de radicais peroxil e  $Fe^{++}$  (Hall, 1996). As reações seguintes são representativas da peroxidação lipídica.



Ácidos graxos livres podem ser liberados a partir da desesterificação de fosfolipídios de membrana por ação de ERO (Deby & Goutier, 1990).

#### 2.5.4 Redução das reservas de energia

Vários são os mecanismos básicos de redução das reservas de energia por ação de espécies reativas de oxigênio (ERO). O ânion superóxido converte NADH ligada a desidrogenase de lactato a NAD; este interage com oxigênio molecular, originando mais ânions superóxido e causando maior redução dos níveis de NAD (Fridovich, 1986). Espécies reativas de oxigênio, como os radicais hidroxila gerados pela participação de metais de transição, como ferro, causam quebra em uma das alças de DNA (Beckman, 1998). Secundariamente à quebra da alça do DNA e para que se estabeleça a reestruturação do mesmo, há ativação da enzima poli-ADP ribose-sintetase (PARS), a qual adiciona unidades ADP-ribose às proteínas nucleares; a ativação desta enzima implica a depleção de NAD e, conseqüentemente, de ATP, o que pode implicar morte celular (Zhang et al., 1994; De Murcia et al., 1991; Dawson & Dawson, 1995). Espécies reativas de oxigênio (ERO) podem também comprometer a produção de ATP pelas mitocôndrias (Comelli et al., 1998; Mehrotra et al., 1991; Kristián & Siesjö, 1998). Espécies reativas de oxigênio (ERO), como peroxinitrito, ainda podem atuar sobre as mitocôndrias, promovendo saída de  $\text{Ca}^{++}$  mitocondrial para o citoplasma e morte celular ou comprometer a homeostase energética celular com inativação de enzimas importantes para o metabolismo energético como a aconitase (Muijsers et al., 1997).

#### 2.5.5 Necrose e apoptose

Como anteriormente enfatizado, a produção de espécies reativas de oxigênio (ERO) e, conseqüentemente, de radicais livres constitui um processo importante na fisiopatologia da lesão via reperfusão. O excessivo influxo de cálcio em decorrência da hiperatividade de receptores NMDA do glutamato determina

ativação de processos enzimáticos citoplasmáticos iniciadores de eventos citotóxicos (Lipton & Rosenberg, 1994). A sintetase de óxido nítrico (NOS) constitui um dos complexos enzimáticos ativados por este mecanismo, e óxido nítrico (NO) pode atuar como mediador da neurotoxicidade do glutamato (Dawson et al., 1991). O óxido nítrico se difunde muito rapidamente e não pode ser transportado por via vascular, de vez que logo sofre a ação da oxi-hemoglobina (Beckman & Koppenol, 1996); reage com outro radical, o ânion superóxido, para formar peroxinitrito (ONOO<sup>-</sup>), sendo esta reação dependente da difusão dos reagentes (Beckman, 1998). O ânion ONOO<sup>-</sup> é, em grande parte, responsável pela neurotoxicidade mediada por óxido nítrico, embora este também possa desempenhar ação neuroprotetora secundária à inibição da atividade de receptores NMDA decorrente da nitrosilação por íons nitrônio (NO<sup>+</sup>) de grupos tióis presentes nestes receptores (Lipton et al., 1993).

Tanto necrose quanto apoptose (morte celular programada) têm sido imputadas como fenômenos secundários à ação de espécies reativas de oxigênio (ERO), em particular, NO e superóxido (Bonfoco et al., 1995; Linnik et al., 1993). Necrose compreende as alterações estruturais caracterizadas por edema celular inicial, discreta condensação de cromatina, vacuolização citoplasmática, ruptura de organelas e da membrana plasmática com liberação do conteúdo citoplasmático e reação inflamatória secundária, além de redução e perda da cromatina nuclear (Oppenheim, 1999). Kerr et al. (1972) fizeram referência a vários aspectos, inclusive morfológicos, que podem permitir a diferenciação entre necrose e apoptose. A apoptose é um processo ativo em que as células se desidratam com perda do contato entre seus compartimentos, havendo, em seguida, densa condensação de cromatina, fragmentação nuclear, formação de “bolhas” citoplasmáticas, fragmentação celular e formação de corpos de apoptose (Hetts, 1998). A apoptose não desencadeia reação inflamatória (Oppenheim, 1999), de vez que as células, na vigência deste processo,

protegem seu conteúdo intracelular, evitando sua liberação, muitas vezes, utilizando as próprias proteínas de membrana (Bonfoco et al., 1995).

Muijsers e colaboradores (1997) ressaltam que a concentração de peroxinitrito determina o mecanismo de morte celular: altas concentrações determinam necrose, e concentrações relativamente baixas determinam apoptose. Estes autores enfatizam que o início da apoptose causada por peroxinitrito envolve processos como a nitrosilação de resíduos de tirosina ou oxidação de fatores de transcrição, embora possa produzir também quebra da alça de DNA. Há, conseqüentemente, ativação da PARS e utilização de  $\text{NAD}^+$  como substrato (Szabó & Dawson, 1998). A ação tóxica, necrose e possível apoptose, desenvolvidas pela neurotoxina indutora de parkinsonismo 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetraidropiridina (MPTP) e, conseqüentemente, por seu metabólito, 1-metil-4-fenilpiridinium ( $\text{MPP}^+$ ) é, em parte, devida a peroxinitrito (Packer et al., 1996). A participação de  $\text{MPP}^+$  no estresse oxidativo se completa, também, com a geração de radicais hidroxila pelo ciclo redox (Klaidman et al., 1993; Mukherjee et al., 1997). Recentemente, Burke et al. (1998) estudaram o mecanismo através do qual 3,4-di-hiroxifenilglicolaldeído (DOPEGAL), um metabólito da epinefrina e norepinefrina, produzido pela ação da enzima monoamino-oxidase A (MAO-A) mitocondrial, induz apoptose. Estes autores demonstraram a produção de estresse oxidativo e indução de alteração de permeabilidade mitocondrial mediada por  $\text{Ca}^{++}$  com liberação de fatores da matriz mitocondrial, como o fator indutor de apoptose (AIF), e  $\text{Ca}^{++}$ . Estes fatores, em etapas que se seguem, ativam endonucleases. Trabalhos recentes demonstram que na Doença de Huntington caspase 3 especificamente cliva huntingtina de modo dependente da extensão do trinucleotídeo CAG que estaria expandido nesta enfermidade (Wellington et al., 1997) e que inibidores da caspase inibe a progressão da doença e a mortalidade em modelo animal de doença de Huntington (Ona et al., 1999).

## **2.6 Mecanismos celulares de remoção de radicais livres**

### **2.6.1 Enzimas do grupo superóxido-dismutase (SOD)**

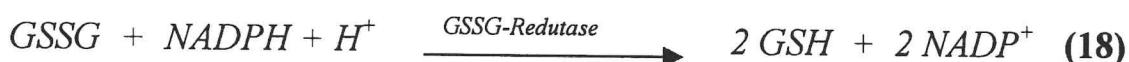
Há mecanismos enzimáticos e não-enzimáticos de remoção de radicais livres. Na linha de frente dos mecanismos enzimáticos está o grupo de enzimas que constituem as superóxido-dismutases. Como ressaltado neste estudo, SOD catalisa a conversão do ânion superóxido em peróxido de hidrogênio, impedindo a formação de oxigênio não molecular. Há duas SOD- Cu/Zn, de expressão constitutiva, sendo uma de localização citosólica e a outra de localização extracelular; outra superóxido-dismutase (SOD) é encontrada nas mitocôndrias, tem expressão induzida em resposta à estimulação por citocinas ou a estresse oxidativo e tem um átomo de Mn em seu segmento catalítico (Fridovich, 1995). Vários estudos demonstraram mutações na superóxido-dismutase como causadoras de formas familiares de esclerose lateral amiotrófica (Kadekawa et al., 1997; Kostic et al., 1997; Watanabe et al., 1997; Ratovitski et al., 1999). A importância da superóxido-dismutase (SOD) como atenuante das lesões induzidas por espécies reativas de oxigênio (ERO), após isquemia cerebral, tem sido testemunhada em vários trabalhos experimentais. Como a superóxido-dismutase (SOD) não atravessa a barreira hemato-encefálica, tem-se usado a enzima quimicamente modificada. Redução do volume de infarto isquêmico cerebral foi experimentalmente verificada com o uso prévio de SOD conjugado a polietilenoglicol (PEG) em modelo de isquemia focal (Liu et al., 1989). Comprovou-se experimentalmente que a atividade da SOD endógena reduz lesão isquêmica (Kinouchi et al., 1991). Estes investigadores verificaram redução da lesão cerebral isquêmica focal em camundongos transgênicos com expressão aumentada de SOD-Cu/Zn. O uso de superóxido-dismutase conjugada ao polietileno-glicol na espécie humana foi bem tolerado e demonstrou ser promissor em pacientes com traumatismo crânio-encefálico severo com pontuação de 8 ou menos na escala de Glasgow (Muizelaar et al., 1993).

### 2.6.2 Catalase, glutation peroxidase (GSH peroxidase) e outros sistemas antioxidantes

Este grupo de enzimas, envolvidas no mecanismo de remoção de radicais livres e que constitui a segunda linha de defesa catalisando a transformação de peróxido de hidrogênio em água e oxigênio, é formado por catalase e GSH peroxidase (Chance et al., 1979). Localizada primariamente nos peroxissomos, a catalase tem relativamente baixa afinidade por peróxido de hidrogênio, enquanto GSH peroxidase transformará qualquer peróxido, e não somente peróxido de hidrogênio (reação 15), ou grupo hidroxila (reação 16), em oxigênio e água (Juurlink, 1997). Esta enzima necessita de glutation reduzido (GSH) para sua atividade. Conforme será reportado, durante esta atividade (reações 15, 16 e 17), GSH é transformado em glutation oxidado ou dissulfeto de glutation (GSSG).



GSH tem maior afinidade por seu substrato que catalase (Simmons & Jamall, 1988) e é localizada no citosol e nas mitocôndrias e não nos peroxissomos (Meister, 1991). A interconversão entre GSSG e GSH (reação 18) tem importância biológica fundamental, sendo muito pertinente ressaltar que o cérebro tem baixas concentrações de GSSG, em decorrência da alta atividade da flavoproteína GSSG redutase (Cooper, 1998). Como será enfatizado, GSH desempenha importante papel na manutenção do estado funcional das proteínas e lipídios celulares, impedindo sua oxidação (Maxwell & Lip, 1997). As células utilizam, como foi visto, o NADPH proveniente da utilização da glicose na via da pentose-fosfato para regeneração de GSH a partir de GSSG.



Um constituinte fisiológico das membranas biológicas, o ácido  $\alpha$ -lipóico e sua forma reduzida, o ácido di-hidrolipóico, participam, também, dos mecanismos antioxidantes e, portanto, da remoção de radicais livres dos tecidos orgânicos (Busse et al., 1992). Vários antioxidantes podem ser consonantes em sua ação removedora de radicais livres (figura 10), e, deste modo, o ácido di-hidrolipóico pode reduzir GSSG (Bast & Haenen, 1988), de-hidroascorbato e radical semide-hidroascorbil (Kagan et al., 1992b;) ou ubiquinona (Kagan et al., 1990). Todos participam da recuperação de vitamina E a partir de seu radical oxidado (Kagan et al., 1992a). As vias de reciclagem dos vários oxidantes nos sistemas biológicos são apresentados na figura 10.

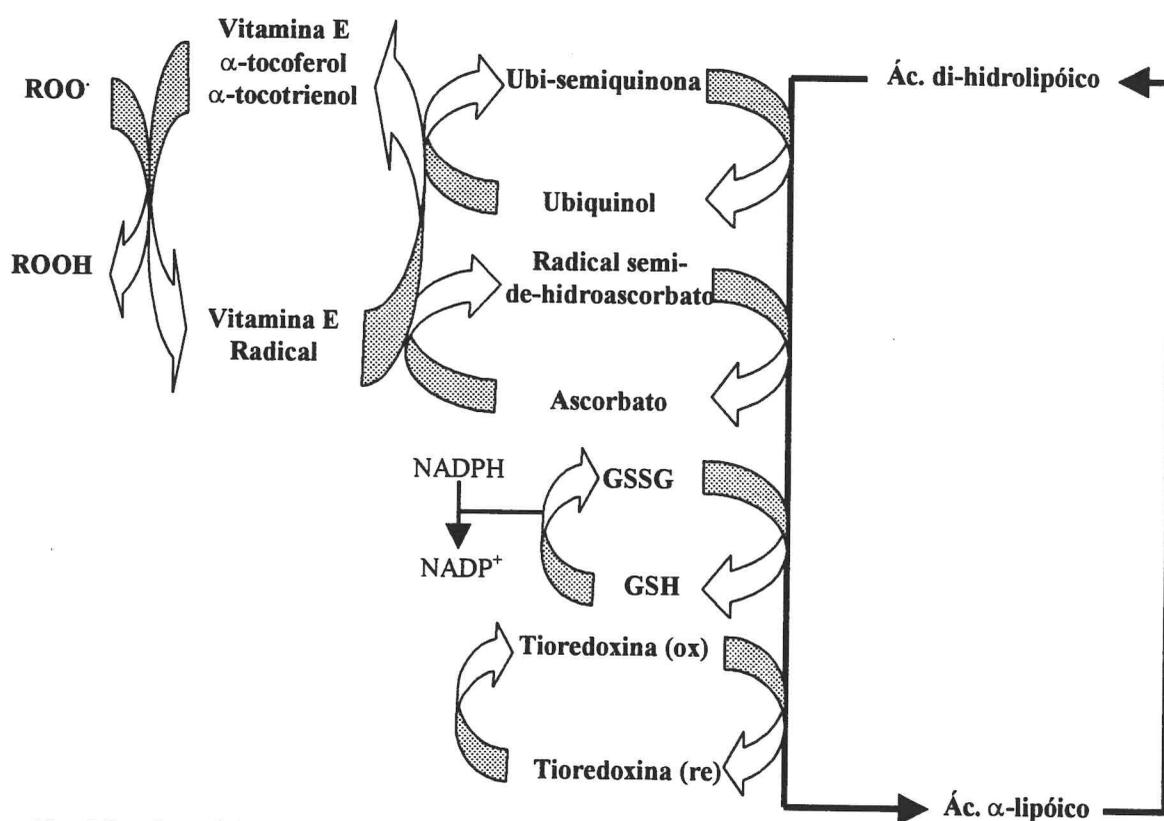


Figura 10 – Vias de reciclagem de antioxidantes em meios biológicos. Detalhes são apresentados no texto;  $ROO\cdot$  – radical livre;  $ROOH$  – radical reduzido; GSSG – dissulfeto de glutation (glutation oxidado); GSH – glutation (reduzido); ox – oxidado; re- reduzido. Modificado de PACKER et al., 1997.

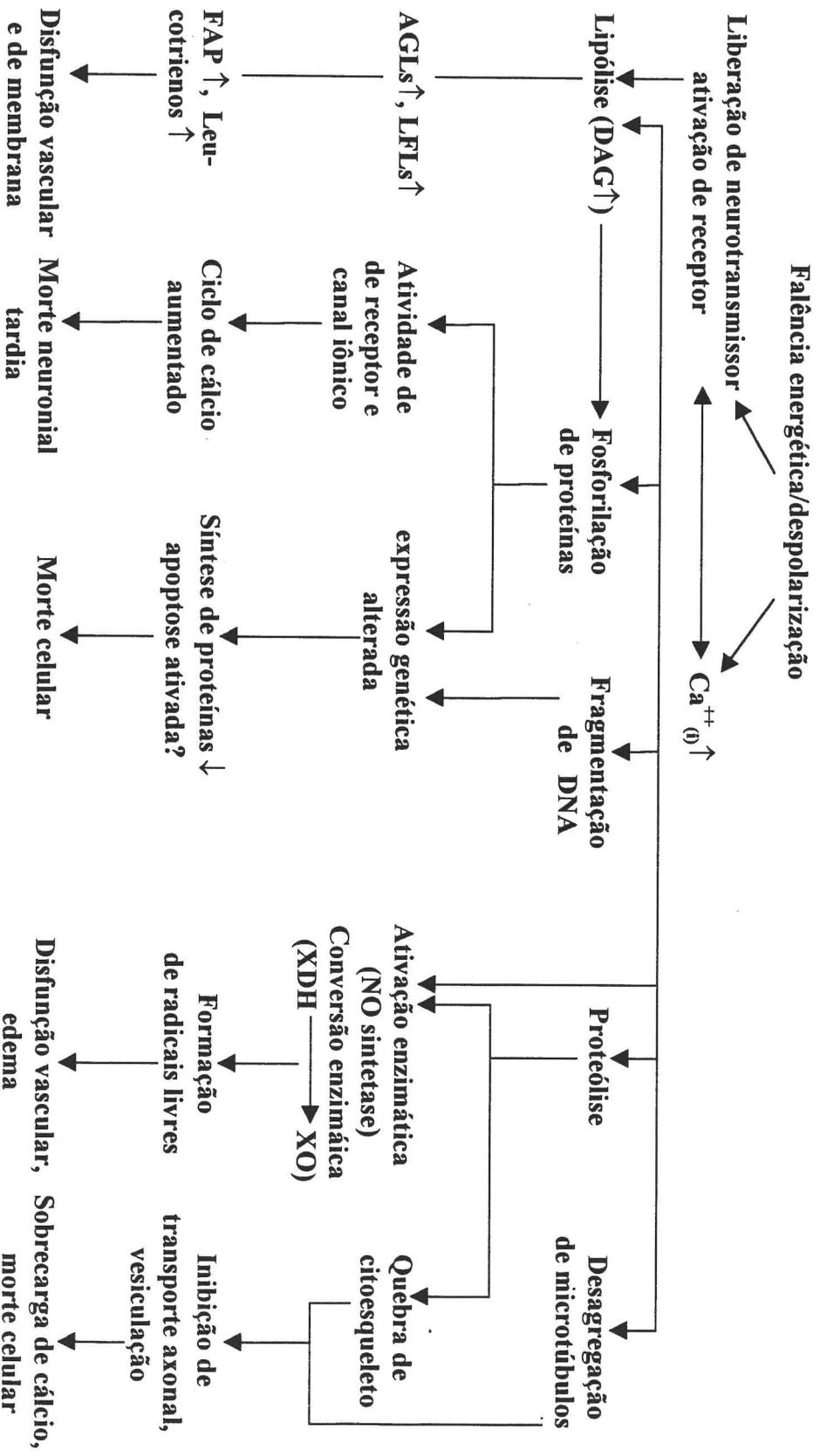


Figura 11 – Sequência de eventos causados pela elevação dos níveis intracelulares de  $Ca^{++}$  secundária à falência bioenergética devida a uma isquemia cerebral. Adaptada de SIESJÖ, B. K., KRISTIAN, T., KATISURA, K-I. Overview of bioenergetic failure and metabolic cascades in brain ischemia. In: GINSBERG, M. D., BOGOUSSLAVSKY, J. (Eds) *Cerebrovascular disease: pathophysiology, diagnosis and management*. Massachusetts: Blackwell Science, 1998, p. 3-13.

## 2.7 Glutation no Sistema Nervoso

### 2.7.1 Generalidades

Glutation é um tripeptídeo natural ( $\gamma$ -L-glutamil-L-cisteinilglicina) que tem, entre outras, a função de proteger as células contra a lesão induzida por estresse oxidativo, existindo sob a forma reduzida (GSH) e como dímero oxidado (GSSG). Foi descoberto há mais de cem anos (De Rey-Pailhade, 1888a,b). Para Wang & Ballatori (1998), glutatión reduzido é “o mais abundante tiol não protéico entre os seres vivos aeróbicos” e suas concentrações extracelulares são cerca de três ou quatro vezes menores do que as concentrações intracelulares. Tentando enfatizar a importância do glutatión para os sistemas biológicos, Holt (1993) sugere que as reações cíclicas que transformam glutatión oxidado em reduzido e glutatión reduzido em oxidado foram necessárias para o surgimento da vida. A estrutura química do GSH é representada na figura 12.

É admitido que a concentração de GSH no cérebro entre as espécies varia entre 1 a 3 mM (Cooper, 1998). Para Cooper et al. (1980), a concentração de GSSG em cérebros de ratos é cerca de 0,2 % da concentração total de glutatión. Slivka et al. (1987) reportaram que os níveis de GSSG em cérebros humanos e de macacos atinge cifras iguais ou menores que 1,2 % dos níveis de glutatión total. Uma pequena parcela de glutatión existe sob a forma de dissulfetos mistos (principalmente GS-S-proteína) e de tioéteres (Cooper, 1997). No cérebro, as maiores concentrações de glutatión se encontram nas células endoteliais e nos astrócitos e, portanto, altas em comparação com as dos neurônios (Yudkoff et al., 1990; Raps et al., 1989). Deste modo, a glia tem

importância fundamental na proteção dos neurônios contra o estresse oxidativo.

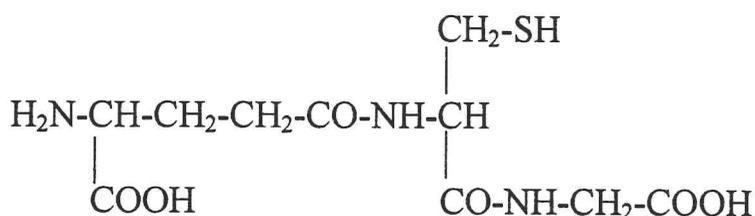


Figura 12 – Estrutura química de GSH

### 2.7.2 Síntese e degradação de glutathion

Glutathion é produzido e degradado em muitos tipos de células do organismo, através de reações em que participam vários complexos enzimáticos (Meister, 1991).

A produção de GSH tem lugar no citosol e a partir de seus aminoácidos constituintes L-glutamato, L-cisteína e glicina em duas etapas distintas, catalisadas respectivamente pelas enzimas  $\gamma$ -glutamil-cisteína-sintetase e GSH sintetase (Reed, 1990). Cada etapa utiliza um mol de ATP para cada mol de GSH produzido. Em trabalhos experimentais e de revisão, Meister (1988 e 1991) estudou os aspectos do metabolismo de glutathion que serviram de parâmetros para futuros estudos sobre o assunto. De acordo com estes estudos a degradação metabólica de GSH ocorre no espaço extracelular. GSH pode ser conjugado no meio intracelular com formação de conjugados -S-cisteína, (ação de enzimas GSH S-transferases), os quais são transportados pela membrana para o espaço extracelular, aí sofrendo ação da  $\gamma$ -glutamyl-transpeptidase ( $\gamma$ -GT) e dipeptidases, havendo liberação dos componentes  $\gamma$ -glutamyl e glicina, respectivamente; o produto, conjugado de cisteína, pode ser transportado de volta ao meio intracelular. Os conjugados de cisteína podem ser acetilados com formação de mercapturatos, ou seja, conjugados N-acetil-S-

cisteína, os quais são eliminados pela urina. Conjugados de cisteína também sofrem ação da  $\gamma$ -glutamil-transpeptidase, com a conseqüente  $\gamma$ -glutamilação. Na superfície das células, sob ação da  $\gamma$ -glutamil-transpeptidase, formam-se  $\gamma$ -glutamil-aminoácidos e cisteinilglicina; estes são convertidos em 5-oxoprolina e aminoácidos correspondentes, já ao nível intracelular, por ação da enzima  $\gamma$ -glutamil-ciclotransferase. Por sua vez, 5-oxoprolina sofre ação da 5-oxoprolinase com produção de glutamato. Entre os  $\gamma$ -glutamil-aminoácidos, a  $\gamma$ -glutamilcisteína, também intracelular, é reduzida a cisteína livre e a  $\gamma$ -glutamilcisteína, sendo esta última substrato da GSH sintetase. Tanto conjugados de cisteína, quanto de glutathion sofrem outras reações que são catalizadas por enzimas envolvidas em outros aspectos do metabolismo.

A figura 13 resume as etapas metabólicas de síntese e degradação de glutathion.

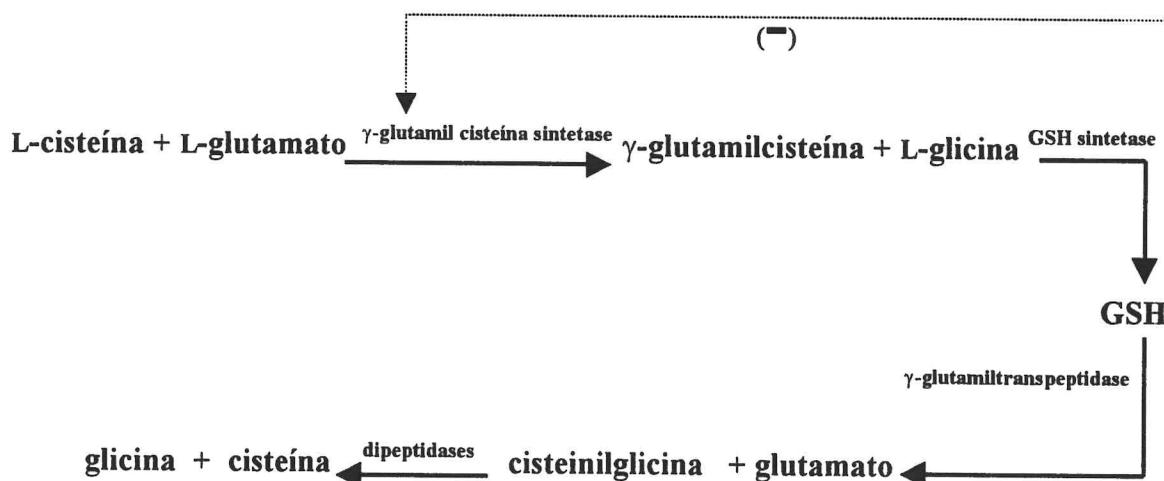


Figura 13 – Síntese e degradação de GSH (para maiores detalhes, consultar MEISTER, 1991).

Como foi visto, o glutathion existe em duas formas - reduzida (GSH) e oxidada (GSSG) -, as quais são interconvertíveis, conforme se demonstra na figura 14. O sistema GSSG-R é muito ativo, mantendo glutathion em seu estado reduzido em níveis superiores a 98 % (Wang & Ballatori, 1998).

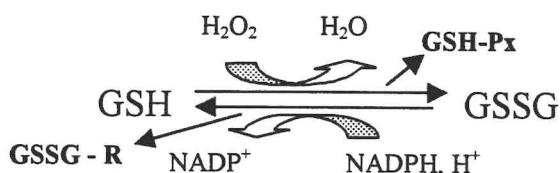


Figura 14 – Ciclo GSH-GSSG

### 2.7.3 Funções biológicas do glutathion

Uma das mais importantes funções do glutathion consiste nas reações de óxido-redução (figura 15). Neste aspecto, o GSH exerce ação protetora contra produtos tóxicos de oxigênio, principalmente os gerados nas mitocôndrias, uma importante fonte de espécies reativas de oxigênio (Deleve & Kaplovitz, 1991). As mitocôndrias importam do citosol o GSH necessário para esta ação, de vez que as mesmas não possuem as enzimas necessárias para sua síntese e, como o sistema catalase é compartimentalizado nos peroxissomos, o sistema GSH-Px dependente de selênio, bem como o sistema independente de ser provido por enzimas do grupo GSH-S transferases, assumem papel fundamental na remoção das espécies reativas de oxigênio (ERO) aí produzidas (Benzi & Moretti, 1998).

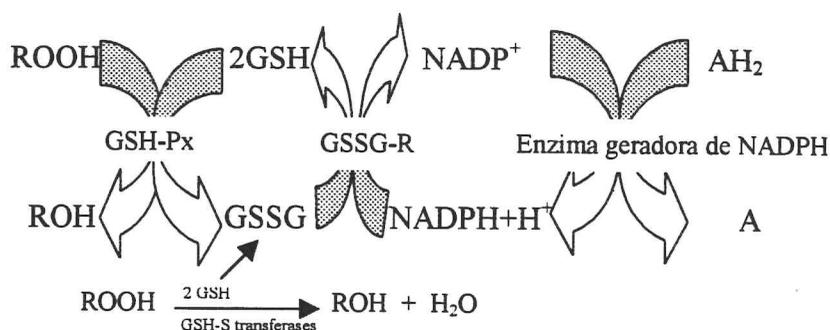
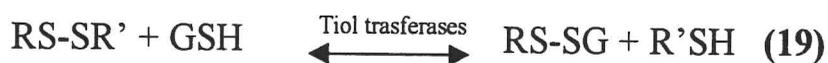


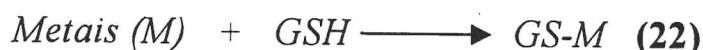
Figura 15 –GSH no equilíbrio da óxido-redução dos grupos tióis. Veja detalhes no texto

Outra função importante do GSH diz respeito à capacidade de redução dos dissulfetos de proteína resultantes da oxidação de seus resíduos cisteínicos, já que os sistemas biológicos dos seres aeróbicos estão sob tensão elevada de oxigênio e, portanto, os grupos sulfidrila de seus componentes estão constantemente susceptíveis de serem comprometidos por estresse oxidativo (Sohal & Weindruch, 1996; Sundquist & Fahey, 1989). A redução de dissulfetos de proteína é catalisada por enzimas do grupo das tiol-transferases (Cooper, 1997) na presença de GSH reversivelmente oxidado a GSSG (reações 19 e 20).



O GSH também tem a função de permitir o estoque, de modo seguro, de cisteína, já que a mesma livre se auto-oxida rapidamente, em cistina, que, por sua vez, é um dissulfeto potencialmente tóxico (Olney et al., 1990).

Glutation pode participar das reações de conjugação de eletrofílicos e de metais (reações 21 e 22) e, portanto, tem importante participação na desintoxicação de xenobióticos eletrofílicos. Em virtude do espectro relativamente grande de substratos que podem participar de reações catalisadas por GSH-S transferases, glutatión pode participar da remoção de compostos químicos variados, envolvendo, por exemplo, ataques nucleofílicos de GSH a carbonos eletrofílicos (Cooper, 1998). Em revisão recente sobre o assunto, Johnson et al. (1993), bem como, Lowndes et al. (1994), chamam a atenção para o fato de que o cérebro contém GSH-S-transferases. GSH pode formar complexos com metais sem participação enzimática, como na mobilização de metais entre ligantes, no transporte de metal através das membranas celulares, como fonte de cisteína para ligação com os mesmos, como cofator nas reações de óxido-redução envolvendo metais (Wang & Ballatori, 1998).



Deve-se salientar ainda que o glutatión pode desempenhar funções metabólicas importantes como: síntese e reparo de DNA, síntese de proteínas, síntese de prostaglandinas, transporte de aminoácidos, metabolismo de toxinas e carcinógenos, ampliação da função imune, prevenção da lesão oxidativa das células, ativação de enzimas, fonte de cisteína, cofator de reações de óxido-redução, transporte de metais através de membranas e liberação de metais entre os ligantes, modificações de níveis de segundos-mensageiros a partir da ativação de receptores

metabotrópicos (Shaw, 1998). Alguns aspectos, envolvendo estado de óxido-redução, podem desempenhar papel importante na função do receptor. Supõe-se que GSH pode controlar correntes iônicas através de receptores NMDA ou outros receptores ionotrópicos (Ogita et al., 1995), reduzindo, deste modo, a produção de radicais livres mediada por cálcio (Orrenius et al., 1992). Uma possível atuação de GSH como neurotransmissor tem sido discutida (Shaw et al., 1996).

#### 2.7.4 GSH e doença neurológica

Em parte anterior deste trabalho, comenta-se que o estresse oxidativo desempenha papel importante em muitas doenças do sistema nervoso, especialmente as doenças degenerativas como doença de Alzheimer, doença de Huntington, doença de Parkinson, esclerose lateral amiotrófica e a isquemia cerebral, entre outras. Nestas enfermidades o estresse oxidativo desempenha papel fundamental na indução de necrose, apoptose e morte celular por excitotoxicidade. A falha de qualquer uma das atividades do GSH no sistema nervoso central pode desempenhar papel fundamental nas determinações das lesões neurológicas observadas nestas enfermidades. Assim, a redução dos níveis de GSH (redução de síntese, atividade da GSH não satisfatória, comprometimento da atividade da GSH-Px) pode comprometer qualquer uma das funções biológicas e metabólicas do glutation, implicando ativação das lesões degenerativas, observáveis em muitas doenças do sistema nervoso central e no envelhecimento fisiológico (Bains & Shaw, 1998).

## 2.8 Ácido $\alpha$ -lipóico

### 2.8.1 Estrutura química e funções

O ácido  $\alpha$ -lipóico (ácido tiótico, ácido 1,2-ditiolane-3-pentanóico, ácido 1,2-ditiolane-3-valérico ou ácido 6,8-tiótico), bem como sua forma reduzida (ácido di-hidrolipóico) são componentes naturais das membranas biológicas, atuando como cofator (lipoamida) de desidrogenases de  $\alpha$ -cetoácidos mitocondriais (Reed & Hackert, 1990; Liu et al., 1995a).

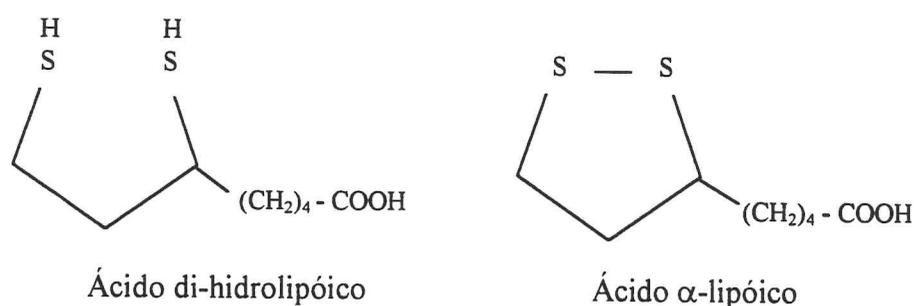
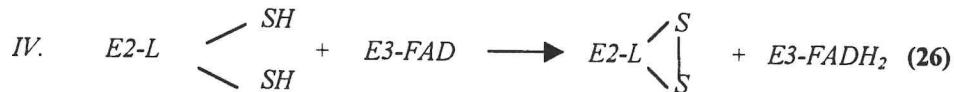
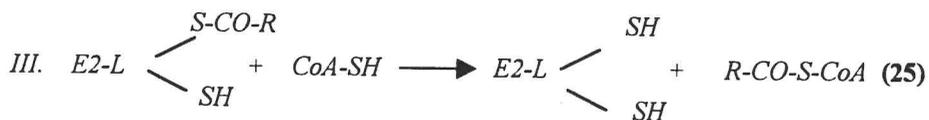
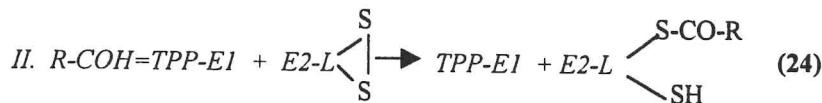


Figura 16 – Estrutura química do ácido di-hidrolipóico e  $\alpha$ -lipóico.

Embora, durante muito tempo, ao ácido  $\alpha$ -lipóico tenha sido atribuída apenas a função de cofator (Schmidt, et al., 1969; Reed & Hackert, 1990; Fujiwara et al., 1992; Liu et al. 1995b; Haramaki et al., 1997), a participação no estado de óxido-redução desse ácido suprido por fontes externas constitui um dos aspectos importantes estudados recentemente. O ácido  $\alpha$ -lipóico obtido de fontes externas é rapidamente absorvido, captado pelas células e, depois, é reduzido a ácido di-hidrolipóico (figura 16), com a utilização de NADH e NADPH; deste modo, o ácido  $\alpha$ -lipóico modula as razões NADH/NAD<sup>+</sup> e NADPH/NADP<sup>+</sup>, sendo as mitocôndrias o principal local de sua ação antioxidante (Haramaki et al., 1997). Foi verificado

recentemente que a redução do ácido  $\alpha$ -lipóico a ácido di-hidrolipóico também ocorre nos eritrócitos na presença de glicose e não de desoxiglicose, o que sugere um processo dependente de NADPH e importante para proteção contra estresse oxidativo na corrente sanguínea (Constatinescu et al., 1995). O ácido di-hidrolipóico formado no compartimento intracelular é liberado no meio extracelular, onde desenvolve atividade antioxidante (Packer et al., 1995). O ácido  $\alpha$ -lipóico atua como cofator no ciclo do ácido cítrico, havendo a participação nas enzimas dos complexos desidrogenase pirúvica (Perham, 1991, Jordan & Cronan, 1997) e  $\alpha$ -cetoglutarato desidrogenase (Jordan & Cronan, 1997). São as seguintes as reações, que se iniciam com cetoácidos como substrato da enzima E1 e das quais participa o lipoato livre com os complexos desidrogenase nas mitocôndrias (equações 23 a 27):



A figura 17 enfatiza as reações IV e V e indicam reversão de seu padrão normal na presença de ácido  $\alpha$ -lipóico livre (equações 26 e 27).

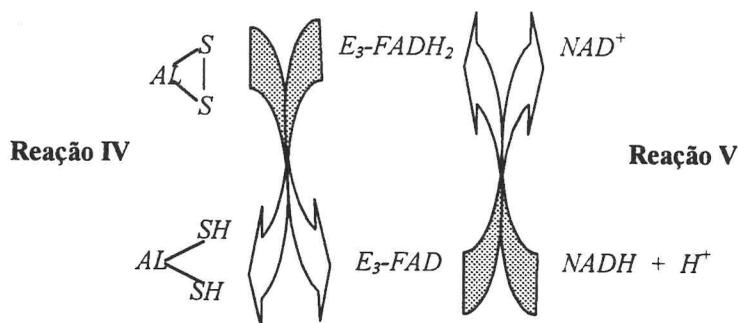


Figura 17 - Reações IV e V (equações 26 e 27) indicam reversão de seu padrão normal na presença de ácido  $\alpha$ -lipóico (AL) livre. O ácido  $\alpha$ -lipóico é o substrato da enzima  $E_2$ ,  $E_3$  - di-hidrolipoamida desidrogenase.

Entre as funções mais importantes do ácido  $\alpha$ -lipóico, destaca-se a remoção de radicais hidroxila, ácido hipocloroso, peróxido de hidrogênio, oxigênio não molecular (Packer et al., 1997), óxido nítrico (Petit et al., 1996) e peroxinitrito (Whitman et al., 1996). O ácido  $\alpha$ -lipóico parece modular níveis de óxido nítrico no cérebro e no tecido nervoso, o que faz aumentar o interesse da pesquisa na participação deste antioxidante em condições patológicas do sistema nervoso central, como lesão via reperfusão, excitotoxicidade e doenças degenerativas (Gross & Wolin, 1995).

Boas perspectivas terapêuticas com ácido  $\alpha$ -lipóico parecem evidentes a partir da constatação experimental de que este é eficaz contra a neuropatia diabética (Cameron et al. 1998), tendo sido usado no tratamento de pacientes com esta enfermidade (Packer et al., 1995). Pesquisadores evidenciaram que o ácido  $\alpha$ -lipóico aumenta a capacidade do sistema de transporte de glicose estimulado por insulina e das vias oxidativa e não oxidativa do metabolismo de glicose em músculo esquelético de ratos resistentes a insulina (Jacob et al., 1996). Mais recentemente, Henriksen et al.

(1997) ratificaram esta ação, demonstrando experimentalmente que o ácido  $\alpha$ -lipóico ativa o transporte de glicose em músculo esquelético por mecanismos dependentes e não dependentes de insulina. Este fato abre boas perspectivas para a inclusão de ácido  $\alpha$ -lipóico no arsenal terapêutico do diabetes melito. Também tem sido dada importância à ação quelante do ácido  $\alpha$ -lipóico sobre cobre, ferro e outros metais de transição, e a ação antioxidante ainda mais potente do ácido di-hidrolipóico, tendo este destacada ação removedora de radicais superóxido e peroxil (Packer et al., 1996).

O ácido  $\alpha$ -lipóico inibe a ativação do fator de transcrição NF- $\kappa$ B (Suzuki et al., 1992) e o ácido di-hidrolipóico tem ação reguladora da ligação do DNA pelo fator NF- $\kappa$ B ativado, ativando as interações proteína-DNA (Suzuki et al. 1995). Estes dados abrem a perspectiva de que o ácido  $\alpha$ -lipóico possa demonstrar eficácia no tratamento da Síndrome de Imunodeficiência Adquirida.

### 2.8.2 Efeito do ácido $\alpha$ -lipóico e di-hidrolipóico na lesão decorrente de isquemia-reperfusão

Vários estudos têm demonstrado que o ácido di-hidrolipóico desenvolve ação neuroprotetora contra lesão causada por hipoxia (Suzuki et al., 1993; Kagan et al., 1992b; Prehn et al., 1992). Durante a reperfusão pós-isquemia, espécies reativas de oxigênio (ERO) participam, como foi visto, dos mecanismos através dos quais as lesões celulares prosseguem. Uma consequência disto é a redução dos níveis de GSH (Shivakumar et al., 1995; Panigrahi et al., 1996). O ácido  $\alpha$ -lipóico, pelas qualidades antioxidantes e pela capacidade de restaurar os níveis intracelulares de glutatión (Busse et al., 1992; Han et al., 1995), pode se oferecer como um importante agente terapêutico nesta condição.

Em modelo animal experimental de isquemia cerebral focal em animais foi demonstrado que ácido di-hidrolipóico e não ácido  $\alpha$ -lipóico foi capaz de reduzir o volume de infarto cerebral (Prehn et al., 1992). Wolz & Krieglstein (1996) verificaram experimentalmente que o ácido  $\alpha$ -lipóico (enantiômeros R e S) foi capaz de exercer atividade neuroprotetora em um modelo experimental de isquemia cerebral focal somente quando administrado por via subcutânea e não por via intraperitoneal ou na cisterna magna. Estes autores sugeriram que o ácido  $\alpha$ -lipóico tem que ser reduzido a ácido di-hidrolipóico para induzir neuroproteção. Anteriormente, Cao & Philis (1995) em um modelo de isquemia global com reperfusão, demonstraram efeito neuroprotetor de ácido  $\alpha$ -lipóico. Estes autores trataram ratos previamente à indução de isquemia e reperfusão com duas injeções por dia de ácido  $\alpha$ -lipóico (20 mg/kg) durante seis dias e confirmaram a ação neuroprotetora, monitorizando a atividade locomotora e estudando as lesões da camada de células piramidais CA<sub>1</sub> do hipocampo, cinco dias após recuperação.

A ação neuroprotetora do ácido  $\alpha$ -lipóico e di-hidrolipóico em caso de lesão via reperfusão pós-isquemia pode ser feita supostamente por vários mecanismos: ação de quelação pelo ácido di-hidrolipóico sobre os íons ferro, sendo esta ação de quelação confirmada recentemente por Ou e colaboradores (1996), bem como, por Dovinová e colaboradores (1999); remoção de óxido nítrico (Vriesman et al., 1997) e de outras espécies reativas de oxigênio, tais como, superóxido, hidroxila e peróxido de hidrogênio pelo ácido  $\alpha$ -lipóico e di-hidrolipóico, bem como, regeneração de vitamina E e de outros antioxidantes pelo ácido di-hidrolipóico (Biewenga et al., 1997); redução de GSSG (Bast & Haenen, 1990), de-hidroascorbato, radical semide-hidroascorbato (Kagan et al., 1992b) e ubiquinona (Götz et al., 1994).

## **2.9 Eletroencefalograma e isquemia cerebral**

### **2.9.1 Generalidades**

O eletroencefalograma é o conjunto de potenciais de membrana dos neurônios corticais, de amplitude flutuante, que na prática clínica são captados a partir de eletrodos aderidos ao couro cabeludo. Estes potenciais de membrana são influenciados por atividade de fibras serotoninérgicas, noradrenérgicas e colinérgicas subcorticais e do tronco cerebral, aferentes difusamente ao córtex, modulando o estado de vigília, bem como, por alças tálamo-corticais provenientes dos núcleos reticulares intratálâmicos, as quais modulam a reatividade cortical (Mauguière, 1998).

A atividade eletroencefalográfica pode ser caracterizada em faixas, de acordo com a frequência. As seguintes faixas de frequência são definidas: delta, com frequência abaixo de 3,5 Hz (geralmente 0,1 a 3,5 Hz); teta, com frequência de 4 a 7 Hz; alfa, com frequência de 8 a 13 Hz; beta, com frequência acima de 13 Hz (Niedermeyer, 1999a). Mais recentemente, ritmo com oscilações de frequência superior a 30 Hz, denominado gama, tem sido caracterizado.

### **2.9.2 Substratos anatômicos dos ritmos do eletroencefalograma**

Boa parte do conhecimento a respeito das estruturas anatômicas cerebrais geradoras dos diversos ritmos eletroencefalográficos ainda está por se completar. Recentemente, Steriade (1999), em revisão sobre o assunto, forneceu noções gerais a respeito dos mecanismos envolvidos na gênese das diversas faixas espectrais dos potenciais eletroencefalográficos. O espectro delta compreende um grupo heterogêneo de ritmos em que os mecanismos e as fontes de gênese são diferentes e que se originam dentro do tálamo ou do neocórtex. O ritmo teta é produzido no hipocampo, sendo polêmicos os mecanismos de sua gênese. Os conhecimentos pertinentes às fontes cerebrais geradores de ritmo beta ainda são muito limitadas. Este ritmo é mais evidente durante estados de atenção

sustentada e durante a fase REM (movimentos oculares rápidos) do sono. Também não há conhecimento satisfatório sobre o local preciso de gênese do ritmo alfa. É aqui ainda pertinente que se faça referência a um ritmo que ocorre nas fases iniciais do sono NREM (não movimento ocular rápido). Trata-se do ritmo sigma ou de fusos de sono, que compreende um ritmo de ondas com frequência de 7-14 Hz de amplitude gradualmente crescente e decrescente, que é gerado no tálamo, porém sua sincronização e forma são influenciadas pelo córtex cerebral. Durante a fase 2 do sono NREM, os fusos de sono ocorrem associados a defleções, constituindo ondas agudas e de frequência menor conhecidas como complexos K. Nesta fase de sono NREM, além do ritmo sigma, observam-se potenciais agudos de vértex. O potencial agudo de vértex é um potencial composto, constituído de uma pequena espícula positiva, seguida de ampla onda aguda negativa e de outra pequena espícula positiva, de localização predominantemente no vértex e que pode traduzir resposta evocada (Niedermeyer, 1999b).

### 2.9.3 EEG como meio experimental de investigação na isquemia cerebral

A lentificação da atividade elétrica cerebral (Caplan & Young, 1972; Adams et al., 1997), bem como reduções de amplitudes das várias faixas espectrais de frequência, ambas averiguados pelo exame eletroencefalográfico como um marcador inicial de isquemia cerebral, constituem um indicadores sensíveis de disfunção cortical (Nuwer et al., 1987; Duffy, 1989; Nagata, 1989; Logar & Boswell, 1991). O EEG tem também sido usado como marcador inicial em estudos experimentais de isquemia cerebral induzida em animais (Dora et al., 1986; Frazee et al., 1990; Zhang & Iadecola, 1992; Dezsi et al., 1994; Zagrean et al., 1995).

## 3 OBJETIVOS

### 3.1 Objetivos gerais

As repercussões funcionais impostas pela isquemia cerebral são passíveis de avaliação por métodos complementares. A monitorização destes métodos pode fornecer dados importantes a respeito da evolução e do prognóstico do processo, além de proporcionar até mesmo uma avaliação dos mecanismos estruturais e bioquímicos operantes ao nível de substratos celulares. Estes métodos podem permitir uma avaliação da atividade citoprotetora ou citotóxica de substâncias diversas em modelos de isquemia cerebral.

O trabalho experimental do pesquisador se fundamenta em três objetivos gerais:

- i. propor um modelo experimental de avaliação eletroencefalográfica em ratos Wistar-Kyoto submetidos a isquemia cerebral, sendo os dados quantitativos, obtidos a partir da análise computadorizada dos diversos espectros de frequência, o alvo principal desta avaliação;
- ii. avaliar, utilizando este modelo, a ação de substâncias reconhecidamente detentoras de atividade citoprotetora ou eventualmente citotóxica no sistema nervoso central;
- iii. verificar possível modificação dos níveis de glutatión reduzido no sistema nervoso central dos animais experimentais utilizados após administração parenteral de substâncias citoprotetoras ou citotóxicas.

### 3.2 Objetivos específicos

Aqui, é proposta uma avaliação funcional da ação do glutathione reduzido e de dois aminoácidos a ele relacionados (L-cistina e L-glutamina), bem como do ácido  $\alpha$ -lipóico, durante isquemia cerebral em ratos, em face da participação do glutathione reduzido e do ácido  $\alpha$ -lipóico como substâncias endógenas nas ações neuroprotetoras, durante a atividade normal ou em condições patológicas. Incluiu-se também o estudo isolado do veículo de infusão (solução salina normal a 0,9 %) nas mesmas condições. Assim sendo, em ratos Wistar-Kyoto, anestesiados com uretana por via intraperitoneal, o presente estudo teve os seguintes objetivos específicos:

- i. em ratos, submetidos a oclusão das artérias carótidas comuns, mensurar as modificações sobre as amplitudes absolutas médias dos espectros de frequência do eletroencefalograma, induzidas por infusão intracarotídea esquerda (segmento cefálico) de solução 0,12 mM e 1,2 mM de glutathione reduzido, 2,1 mM de L-cistina, 1,2 mM de L-glutamina, 0,9 % de salina, 3,03 mM, 6,06 mM e 60,6 mM de ácido  $\alpha$ -lipóico, correlacionando estas modificações com possíveis ações anti-oxidantes ou pró-oxidantes;
- ii. em ratos, submetidos a oclusão da artéria carótida comum esquerda, avaliar possíveis efeitos sobre as amplitudes absolutas médias dos espectros de frequência do eletroencefalograma, induzidos pela infusão intracarotídea esquerda de solução 1,2 mM de glutathione reduzido, procurando-se averiguar a ação desta

substância em condições de pouca ou nenhuma isquemia cerebral;

- iii. dosar glutation reduzido em fragmentos de tecido cerebral dos seguintes grupos de animais: a) ratos anestesiados, b) ratos anestesiados e previamente submetidos a oclusão das artérias carótidas comuns, c) ratos anestesiados após oclusão das artérias carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda de solução 1,2 mM de glutation reduzido, d) ratos anestesiados após oclusão das artérias carótidas comuns e posterior infusão intracarotídea esquerda de solução 6,06 mM de ácido  $\alpha$ -lipóico, e) ratos anestesiados após oclusão das artérias carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda de solução 60,6 mM de ácido  $\alpha$ -lipóico, procurando-se averiguar se o glutation adminstrado por infusão intracarotídea atravessa a barreira hemato-encefálica e que efeitos nos níveis de glutation cerebral produzirá a oclusão das artérias carótidas comuns e a infusão de ácido  $\alpha$ -lipóico em concentrações variadas utilizadas durante avaliação eletroencefalográfica.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 Animais de laboratório utilizados

Foram utilizados, ao todo, 103 ratos Wistar-Kyoto machos em jejum durante as vinte e quatro horas prévias, com livre acesso à água e pesando entre 220-510 gramas (peso médio 450 gramas). Durante todo o procedimento experimental, os animais foram anestesiados com uretana por via intraperitoneal (1,5 g/kg de peso). Cerca de 20 % dos animais faleceram antes da conclusão do experimento, sendo os mesmos substituídos por outros.

### 4.2 Avaliação eletrofisiológica: eletroencefalograma e eletrocardiograma

Para monitorização eletroencefalográfica e eletrocardiográfica, foi usado o sistema EMSA<sup>®</sup>, constituído de um painel de eletrodos (pré-amplificador), amplificadores com as constantes de tempo reajustáveis, conversor analógico-digital com precisão de conversão de 12 bits, e um microcomputador compatível com a marca IBM, além do “software” Braintech<sup>®</sup>, para estudo da atividade espectral e da amplitude absoluta média das diversas faixas de frequência do eletroencefalograma. Este programa calcula os componentes de frequência com precisão de 0,35 Hz e utiliza épocas de 2,84 segundos. Detalhes técnicos sobre este sistema de aquisição de dados poderão ser observados em revisões recentes de Kamp et al. (1999) e Lesser & Weber (1999). A figura 18 esquematiza o aparato de avaliação eletrofisiológica usado.

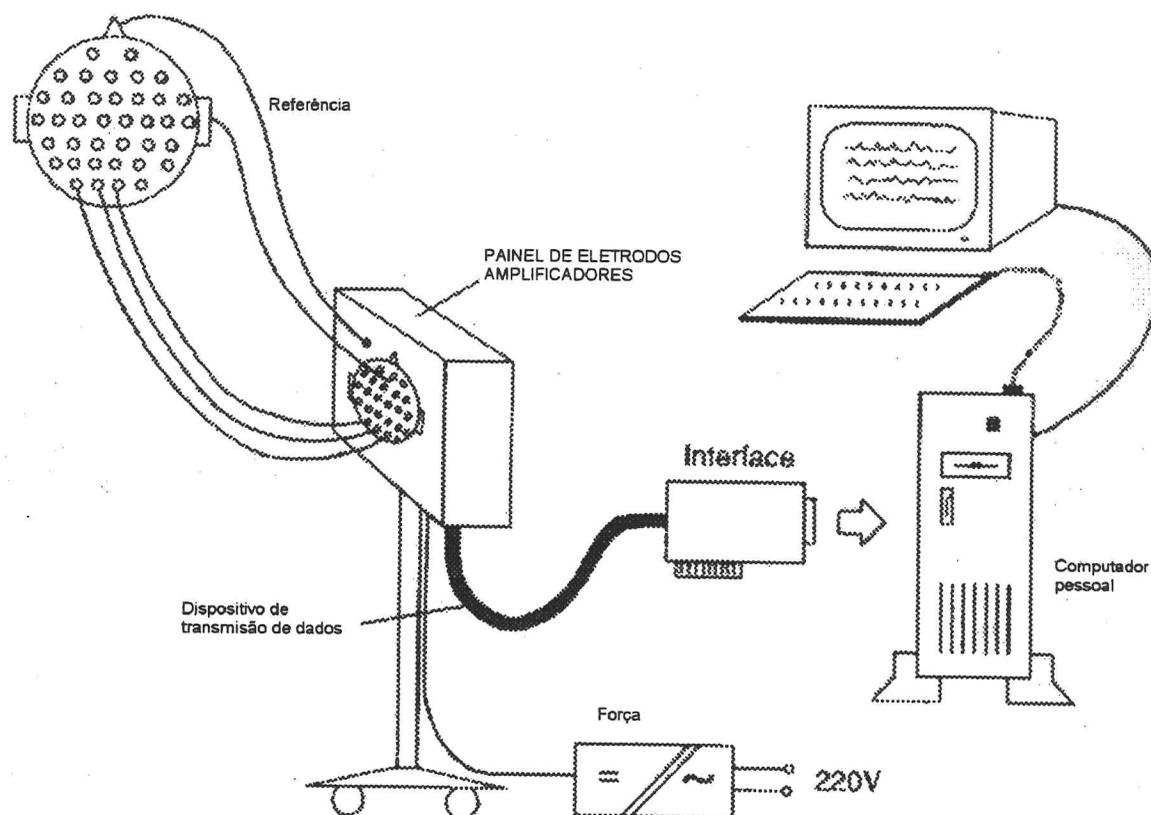


Figura 18 – Sistema de captação, análise e armazenamento dos sinais eletroencefalográficos e eletrocardiográficos. Este sistema originalmente é utilizado para realização de EEG digital em pacientes humanos. Foi adaptado para uso em animais, com utilização de um menor número de eletrodos (dez).

Eletrodos subcutâneos foram inseridos na região frontal direita (F4), frontal esquerda (F3), ambos inseridos em local correspondente à distância de 4 mm posterior às órbitas de cada lado, parietal direita (P4) e parietal esquerda (P3), ambos inseridos em local correspondente à distância de 10 mm posterior à inserção dos eletrodos frontais. Os eletrodos referência (Cz) e terra foram inseridos na região do náseo, separados entre si por um distância aproximada

de 4 mm. Os eletrodos-referência (eletrodos de superfície) A1 e A2 foram aderidos às orelhas esquerda e direita, respectivamente, utilizando-se pastas condutoras especiais. Eletrodos, também de superfície, foram aderidos às patas dianteiras direita e esquerda (T3 e T5) com a utilização da mesma pasta condutora para monitorização eletrocardiográfica. Os eletrodos auriculares e das patas foram confeccionados a partir de pequenas pinças metálicas. Os eletrodos subcutâneos foram confeccionados a partir de eletrodos monopolares utilizados em eletromiografia.

Períodos de cerca de dois em cada dez minutos de registro da atividade eletrofisiológica (EEG e ECG) foram gravados no disco rígido do microcomputador para posterior análise. Períodos adicionais de registro foram eventualmente gravados, caso algum aspecto de interesse fosse detectado durante a visualização da monitorização.

A análise quantitativa das amplitudes absolutas médias das diversas faixas espectrais de frequência eletroencefalográficas foi feita pela escolha de épocas de 2,84 segundos do eletroencefalograma gravado no disco rígido. Épocas contendo artefatos foram rejeitadas. Cinco a quarenta épocas de cada registro por grupo experimental gravado foram escolhidas para o processamento computadorizado das amplitudes absolutas médias regionais de cada faixa de frequência espectral do EEG (alfa,  $\beta_1$ ,  $\beta_2$ ,  $\beta_3$ , teta e delta). Não se incluiu nesta avaliação a atividade eletrocardiográfica captada pelos eletrodos T3 e T4. As seguintes faixas de frequência da atividade eletroencefalográfica foram usadas em nosso estudo: alfa (8,09 a 12,66 Hz),  $\beta_1$  (13,01 a 19,69 Hz),  $\beta_2$  (20,84-26,02 Hz),  $\beta_3$  (26,37 a 32,70 Hz), teta (4,22 a 7,73 Hz) e delta (0,35 a 3,87 Hz).

### **4.3 Oclusão carotídea, monitorização da pressão arterial e infusão intracarotídea de substâncias**

Foram utilizados ratos Wistar-Kyoto machos, pesando, em média, 450g, em jejum com livre acesso à água nas vinte e quatro horas prévias. O procedimento cirúrgico consistiu sumariamente de uma incisão cervical mediana, após limpeza do campo, com exposição da traquéia e identificação das artérias carótidas comuns. Estas foram obliteradas com fio cirúrgico de algodão. Uma cânula de polietileno (PE 50) foi inserida e fixa no segmento cefálico (distal) da artéria carótida comum esquerda e acoplada a uma bomba de infusão, por meio da qual se realizará a infusão da solução das diversas substâncias utilizadas no estudo experimental a 37 °C e a um pH de 7,4; outra cânula similar foi inserida no segmento cefálico (distal) da artéria carótida comum direita, conectada a um transdutor P23 Staham, sendo este, por sua vez, conectado ao fisiógrafo Narco Bio System para registro da pressão intracarotídea ou arterial. Em nosso estudo, um dos grupos de animais se submeteu a obstrução carotídea unilateral (esquerda); neste caso, a cânula utilizada no sistema de mensuração da pressão arterial foi introduzida no segmento proximal da artéria carótida comum esquerda, permitindo avaliação da pressão arterial e a cânula utilizada para infusão da substância estudada foi introduzida em seu segmento cefálico. As figuras 19, 20 e 21 detalham estes diversos aspectos experimentais comentados.

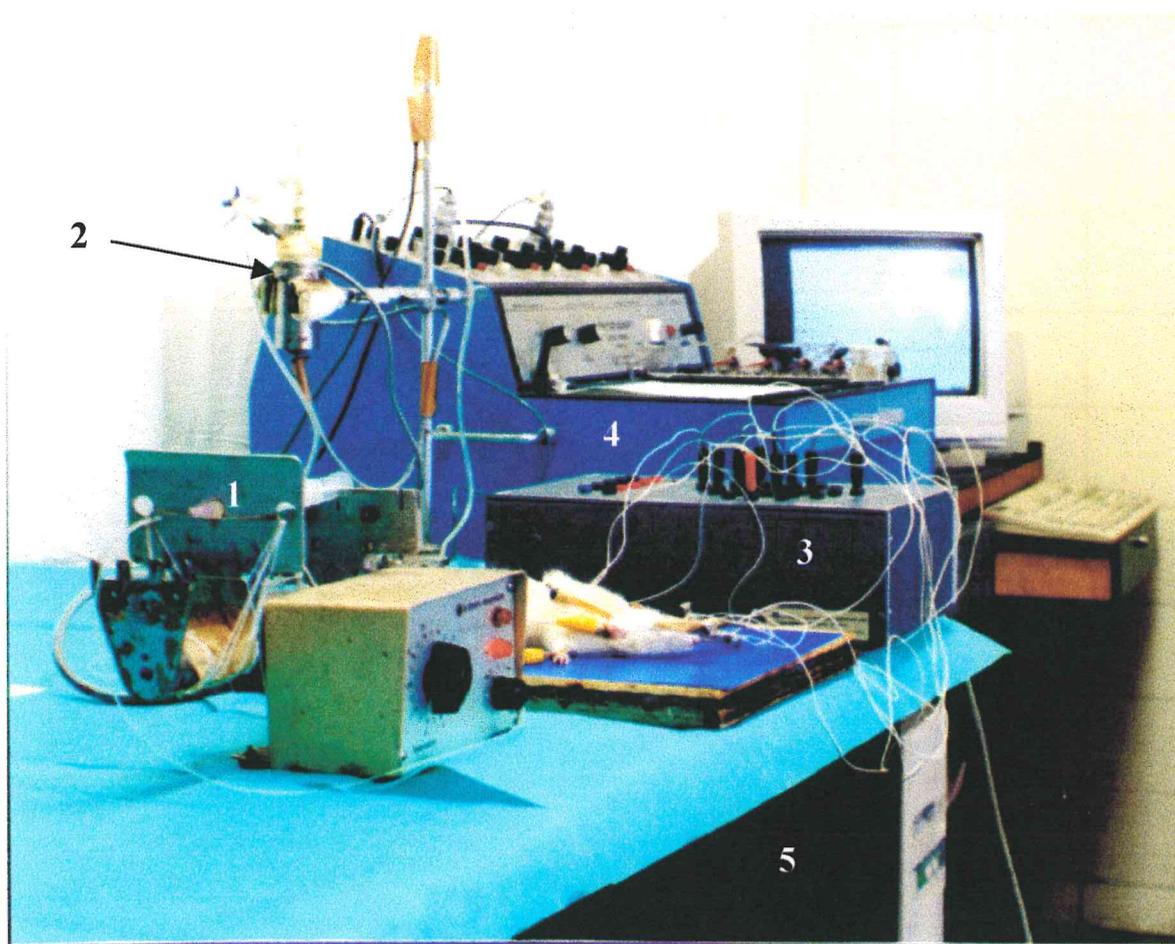


Figura 19 – Sistema de infusão e de captação e análise de sinais eletrofisiológicos utilizados experimentalmente: 1 – bomba de infusão; 2 – transdutor Staham; 3 – painel de captação e pré-amplificador (EMSA), 4 – fisiógrafo Narco Byo-System; 5 – microcomputador com interface com sistema de conversão AD.

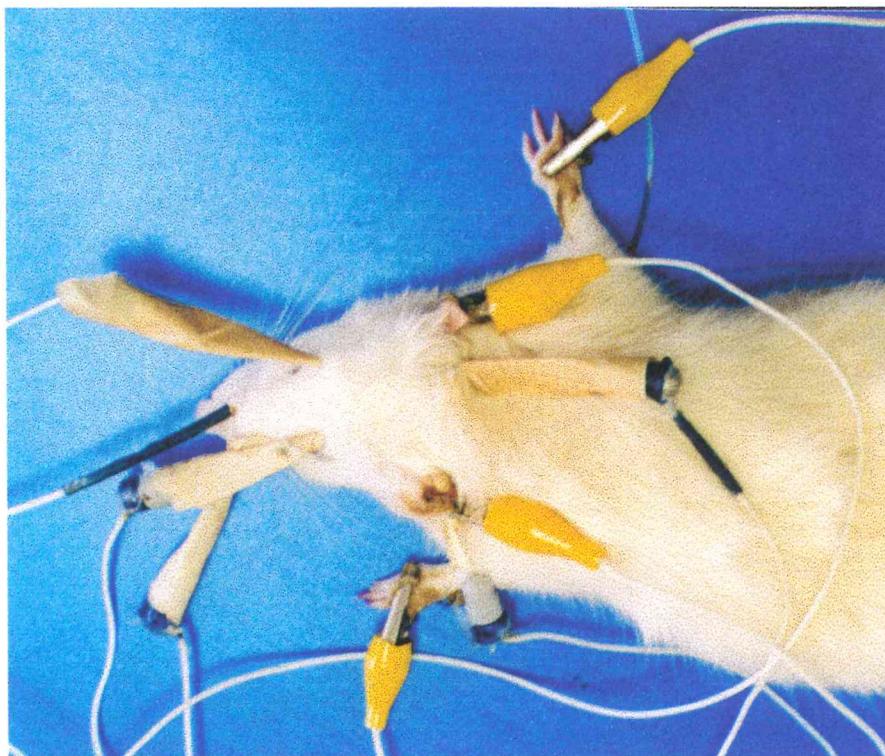


Figura 20 – Disposição dos eletrodos usados para captação de sinais do eletroencefalograma e do eletrocardiograma.

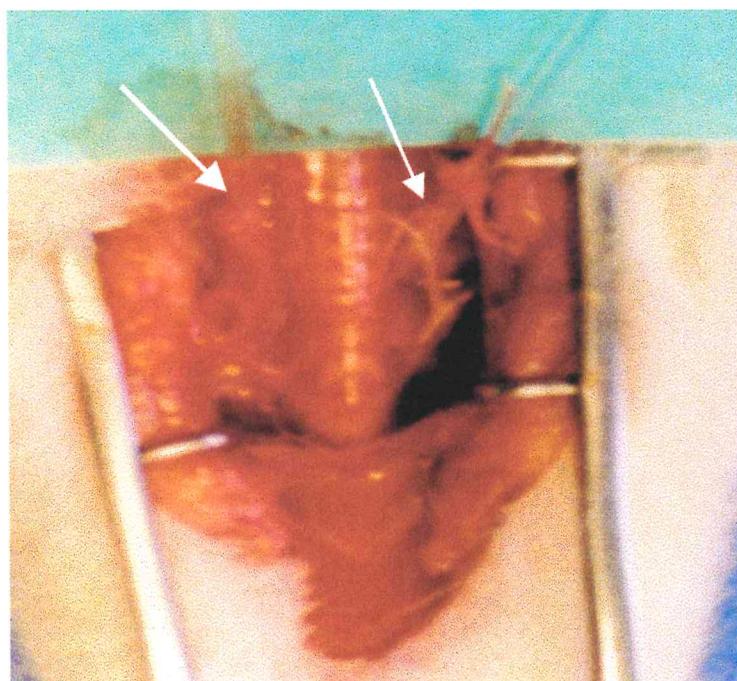


Figura 21 – Artérias carótidas comuns canuladas (setas).

#### **4.4 Efeitos da oclusão carotídea sobre a amplitude absoluta média dos espectros do eletroencefalograma.**

Nesta fase experimental, a isquemia foi induzida por oclusão das artérias carótidas comuns e o exame eletrofisiológico foi realizado concomitante à infusão intracarotídea esquerda, a 44,82  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , de solução salina a 0,9 % durante sessenta minutos.

No grupo controle, constituído por oito ratos, cada animal foi submetido a exame de eletroencefalograma (EEG) e eletrocardiograma (ECG) durante trinta minutos, seguindo-se os mesmos procedimentos descritos no item 4.2.

Os mesmos animais do grupo controle se submeteram à intervenção cirúrgica, após retirada dos eletrodos para o estudo eletrofisiológico, conforme procedimentos descritos no item 4.3, promovendo-se, assim, a obstrução bilateral das carótidas comuns, introdução das cânulas para monitorização da pressão arterial e infusão intracarotídea esquerda de solução salina. Os eletrodos para captação dos sinais eletroencefalográficos e eletrocardiográficos foram reposicionados e o registro eletrofisiológico, bem como da pressão intracarotídea, foram iniciados logo após iniciada a perfusão intracarotídea esquerda da solução salina. A solução salina foi infundida a 166  $\mu\text{l}/\text{min}$  durante sessenta minutos.

Caso a monitorização da pressão intracarotídea ou o registro eletrocardiográfico denotasse instabilidade autonômica (variação importante da pressão ou arritmia cardíaca), o animal era eliminado da análise. Os animais foram sacrificados com dose letal de uretana após o término do experimento.

A análise computadorizada das amplitudes absolutas médias dos espectros do eletroencefalograma a partir da escolha das épocas de registro, tanto no grupo controle, quanto no grupo de tratamento, foi feita, conforme descrito no item 4.2.

Nesta fase experimental do presente estudo, a análise da amplitude da região posterior esquerda não foi incluída, porquanto o programa de computador usado no processamento levou em consideração a atividade regional, e não somente do local usado para inserção do eletrodo. Os eletrodos utilizados para captação eletroencefalográfica desta região (T3 e T5) foram utilizados, em nosso modelo, para captação do eletrocardiograma.

O teste t-Student pareado (Daniel, 1991b) foi usado para comparação dos valores das amplitudes de cada espectro de frequência em cada região entre os grupos-controle e de tratamento. O teste de normalidade, envolvendo os dados de cada dois grupos comparados, foi processado e, havendo falha, processou-se também o teste de Wilcoxon (“Wilcoxon Rank Test”) (Daniel, 1991a). Diferenças significativas foram consideradas quando  $P < 0,05$ .

#### **4.5 Infusão intracarotídea de glutathione reduzido (0,12 mM) e amplitudes absolutas médias dos espectros eletroencefalográficos em ratos com oclusão das artérias carótidas comuns .**

Oito ratos Wistar-Kyoto foram usados nesta fase experimental e distribuídos em dois grupos pareados (n=8), sendo um constituído por animais com obstrução bilateral de carótidas comuns e o outro formado pelos mesmos animais, e infusão intracarotídea esquerda de solução 0,12 mM de glutathione reduzido a 38,99  $\mu$ l/100g/min, durante sessenta minutos, com pH ajustado em 7.4 e temperatura de 37°C. O glutathione reduzido foi adquirido da “Sigma Chemical Company, St. Louis, USA”.

O estudo do grupo-controle, constituído pelo registro eletroencefalográfico, eletrocardiográfico e monitorização da pressão intracarotídea foi feito durante 30 minutos e o do grupo de tratamento foi realizado durante aproximadamente 60 minutos, seguindo-se, em linhas gerais, os mesmos procedimentos descritos no item 4.4, porém, ao invés de salina, foi infundida solução 0,12 mM de glutathione, conforme ressaltado. Os animais foram sacrificados no fim do experimento com dose letal de uretana.

Como já ressaltado, a análise quantitativa do EEG foi feita com a escolha de épocas de 2,84 segundos de duração a partir do EEG gravado no disco rígido; este procedimento matemático permitiu o cálculo da média das amplitudes absolutas de todas as faixas espectrais de frequência do eletroencefalograma. Com a atualização do “software”, estes valores foram específicos para cada região abordada pelo eletrodo correspondente e não representava a média regional, como no item anterior.

Para comparação das médias das amplitudes absolutas médias dos espectros de frequência do eletroencefalograma em cada região entre os grupos controle e de tratamento, seguiu-se o mesmo procedimento estatístico do item anterior.

#### **4.6 Amplitudes absolutas médias dos espectros eletroencefalográficos em ratos com oclusão das carótidas comuns e infusão intracarotídea de solução de solução 1,2 mM de glutathione reduzido**

Oito ratos Wistar-Kyoto foram usados e o mesmo procedimento experimental anterior (item 4.4) foi seguido, no entanto, a concentração de glutathione reduzido usada na infusão intracarotídea esquerda foi 1,2 mM e a velocidade de infusão foi de 43,67  $\mu$ l/100g/min, durante sessenta minutos.

#### **4.7 Amplitudes absolutas médias dos espectros eletroencefalográficos em ratos com oclusão das carótidas comuns e infusão intracarotídea de solução salina**

Nove ratos foram usados e o mesmo procedimento experimental anterior (item 4.6) foi seguido, no entanto, solução salina 0,9 % a 43,70  $\mu\text{l}/100\text{ g}/\text{min}$ , durante sessenta minutos, foi usada para infusão intracarotídea esquerda, ao invés de solução de glutathione.

#### **4.8 Amplitudes absolutas médias dos espectros eletroencefalográficos: ratos sem isquemia; com oclusão da carótida comum esquerda; com oclusão da carótida comum esquerda e infusão intracarotídea esquerda de glutathione 1,2 mM.**

Neste procedimento, foram utilizados oito animais. Diferentemente dos grupos anteriores, apenas a artéria carótida comum esquerda foi obliterada, sendo a monitorização da pressão arterial realizada por meio de uma cânula introduzida no segmento proximal da carótida comum esquerda e a infusão de glutathione reduzido possibilitada pelo acesso de seu segmento cefálico, através de introdução de uma cânula, conforme explicado. Os oito animais participaram de três grupos de estudo: o grupo constituído por animais anestesiados, sem obstrução da artéria carótida (SO), o grupo constituído pelos mesmos animais com obstrução da artéria carótida externa (CE) e o grupo constituído pelos mesmos animais com obstrução da artéria

carótida externa e infusão intracarotídea esquerda de solução 1,2 mM de glutathion reduzido a 41,50  $\mu$ l/100g/min (CEG). O primeiro grupo se submeteu apenas a monitorização com registro eletrocardiográfico e eletroencefalográfico durante quinze minutos; o segundo grupo também se submeteu ao mesmo procedimento durante mais quinze minutos; o terceiro grupo foi mantido sob monitorização da pressão arterial, registro eletroencefalográfico e eletrocardiográfico durante sessenta minutos. A gravação da aquisição dos sinais eletroencefalográficos e eletrocardiográficos em disco rígido obedeceu aos mesmos princípios citados.

A análise quantitativa das amplitudes absolutas médias das diversas faixas espectrais de frequência do EEG foi feita, utilizando-se os mesmos métodos comentados anteriormente.

Análise de Variância (ANOVA "ONE WAY" RM) foi utilizada para estudo das diferenças de amplitude absoluta média das diversas faixas espectrais do eletroencefalograma em cada região entre cada dois dos três grupos (Daniel, 1991c). Quando o teste de normalidade realizado com os dados obtidos de cada três grupos comparados falhou, a Análise de Variância de Medidas Repetidas de Friedman foi realizada (Daniel, 1991a). Quando o valor de P foi menor do que 0,05, foram adotados os procedimentos de comparação de pares múltiplos ou método de Student-Newman-Keuls (Daniel 1991c) para identificação dos grupos pares em que a diferença entre os valores da amplitude absoluta média foi estatisticamente significativa ( $P < 0,05$ ).

#### **4.9 Amplitudes absolutas médias dos espectros eletroencefalográficos em ratos com oclusão das carótidas comuns e infusão intracarotídea de solução de solução 2,1 mM de L-cistina.**

O procedimento experimental adotado foi o mesmo descrito no item 4.5, no entanto, no lugar da solução de glutathion reduzido, solução 2,1 mM de L-cistina foi usada em infusão intracarotídea esquerda a 43,32  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , durante sessenta minutos, em cada animal dos nove utilizados. Para o preparo da solução de L-cistina, procedeu-se do seguinte modo: 50 mg de L-cistina foram dissolvidas em 1 ml de DMSO (dimetilsulfóxido). Esta solução foi dividida igualmente em 10 tubos, contendo aproximadamente 100  $\mu\text{l}$  cada. Em cada tubo foi adicionada solução salina até completar o volume total de 10 ml. O conteúdo do último tubo foi desprezado. O pH de cada solução foi ajustado em 7,4 e a temperatura foi mantida em 37 °C imediatamente antes da infusão. L-cistina e DMSO foram adquiridos da “Sigma Chemical Company, St. Louis, USA”.

A comparação dos valores das amplitudes absolutas médias de cada espectro de frequência, em cada região, entre os grupos controle e de tratamento incluiu o mesmo processamento estatístico comentado no item 4.4.

#### **4.10 Amplitudes absolutas médias dos espectros eletroencefalográficos em ratos com oclusão das carótidas comuns e infusão intracarotídea de solução 1,2 mM de L-glutamina.**

Oito ratos Wistar-Kyoto foram usados e o mesmo procedimento experimental do item 4.9 foi seguido; no entanto, através do segmento cefálico (distal) da artéria carótida comum esquerda de cada animal, foi feita infusão de solução 1,2 mM de L-glutamina, com pH ajustado para 7,4, a 42,94  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , durante sessenta minutos. A temperatura da solução no início da infusão foi 37 °C. A análise matemática das amplitudes absolutas médias dos espectros de frequência do eletroencefalograma, bem como, o processamento estatístico foram os mesmos usados no item anterior. L- glutamina foi adquirida da “Sigma Chemical Company, St. Louis, USA.”

#### **4.11 Amplitudes absolutas médias dos espectros eletroencefalográficos em ratos com oclusão das carótidas comuns e infusão intracarotídea de ácido $\alpha$ -lipóico 3,03 mM.**

Sete ratos Wistar-Kyoto foram usados e o mesmo procedimento experimental do item 4.9 foi seguido; no entanto, através do segmento cefálico (distal) da artéria carótida comum esquerda de cada animal, foi feita infusão de solução 3,03 mM de ácido alfa-lipóico, com pH ajustado em 7,4, a 41,91  $\mu\text{l}/100\text{ g}/\text{min}$ , durante trinta minutos, e a temperatura de 37 °C no início da infusão. Esta infusão foi feita durante cerca de trinta minutos. Foram feitos os registros do eletroencefalograma e eletrocardiograma, bem como, a monitorização da pressão intracarotídea durante quinze minutos antes da

infusão intracarotídea de ácido  $\alpha$ -lipóico (controle) e durante os trinta minutos de infusão do mesmo (tratamento). Seguiram-se os mesmos métodos de registro e gravação do eletroencefalograma e eletrocardiograma no disco rígido do microcomputador. O ácido  $\alpha$ -lipóico foi adquirido da “Sigma chemical company, St. Louis, USA”.

Durante a análise do comportamento das amplitudes absolutas dos espectros eletroencefalográficos, verificou-se um padrão de redução inicial dessas amplitudes e um tendência posterior à recuperação. Assim foram considerados quatro grupos para análise dos resultados: o grupo *Isquemia*, constituído pelos ratos antes da infusão do ácido  $\alpha$ -lipóico, o grupo *Inicial*, constituído pelos mesmos animais no período inicial de infusão intracarotídea do ácido  $\alpha$ -lipóico, o grupo *Intermediário*, constituído pelos mesmos animais na fase intermediária de infusão intracarotídea do ácido  $\alpha$ -lipóico, e o grupo *Final*, constituído pelos mesmos animais na fase final de infusão intracarotídea do ácido  $\alpha$ -lipóico. As fases inicial, intermediária e final de infusão do ácido  $\alpha$ -lipóico tiveram, cada uma, duração de cerca de dez minutos. O exame eletroencefalográfico e eletrocardiográfico correspondente ao grupo *Isquemia* teve duração de quinze minutos.

O estudo estatístico das amplitudes absolutas médias das diversas faixas de frequência do eletroencefalograma dos quatro grupos utilizou a Análise de Variância (ANOVA “One Way”), conforme comentado no item 4.8, sendo consideradas estatisticamente significativas as diferenças das médias das amplitudes absolutas médias entre cada dois grupos, quando  $P < 0,05$ .

#### **4.12 Amplitudes absolutas médias dos espectros eletroencefalográficos em ratos com oclusão das carótidas comuns e infusão intracarotídea de ácido $\alpha$ -lipóico 6,06 mM.**

Seis ratos Wistar-Kyoto foram usados, tendo sido seguido o mesmo procedimento experimental do item anterior; no entanto, a concentração de ácido  $\alpha$ -lipóico usado na infusão intracarotídea esquerda foi 6,06 mM e a velocidade de infusão foi 45,87  $\mu$ l/100g/min, durante trinta minutos.

Como não foi observado o mesmo padrão de evolução das amplitudes absolutas médias durante o registro eletroencefalográfico comentado no item anterior, foram considerados dois grupos para tratamento estatístico dos resultados: *Isquemia*, constituído por animais com obstrução das artérias carótidas comuns e *Infusão de Ácido  $\alpha$ -lipóico*, constituído pelos mesmos animais com obstrução carotídea bilateral e que se submeteram a infusão intracarotídea esquerda de ácido  $\alpha$ -lipóico. O registro eletroencefalográfico e eletrocardiográfico, bem como, a monitorização da pressão arterial no grupo *Isquemia* foram feitos durante quinze minutos, e no grupo *Infusão de Ácido  $\alpha$ -lipóico*, foram procedidos durante trinta minutos.

O teste t-student pareado foi usado na análise estatística dos resultados dos dois grupos estudados, conforme procedimento descrito no item 4.4, sendo consideradas significativas as diferenças das médias das amplitudes absolutas médias, quando  $P < 0,05$ .

#### **4.13 Amplitudes absolutas médias dos espectros eletroencefalográficos em ratos com oclusão das carótidas comuns e infusão intracarotídea de ácido $\alpha$ -lipóico 60,6 mM.**

Seis animais foram utilizados nesta fase experimental. Foram seguidos os mesmos procedimentos experimentais descritos no item anterior; no entanto a concentração do ácido  $\alpha$ -lipóico usado na infusão intracarotídea esquerda foi 60,6 mM, sendo esta realizada a 44,84  $\mu$ l/100g/min, durante trinta minutos. Foram considerados dois grupos para tratamento estatístico dos resultados: *Isquemia*, constituído por animais com obstrução das artérias carótidas comuns e *Infusão de Ácido  $\alpha$ -lipóico*, representado pelos mesmos animais com obstrução carotídea bilateral e que se submeteram a infusão intracarotídea esquerda de ácido  $\alpha$ -lipóico. O registro eletroencefalográfico e eletrocardiográfico, bem como, a monitorização da pressão arterial no grupo *Isquemia* foram feitos durante quinze minutos, e, no grupo *Infusão de Ácido  $\alpha$ -lipóico*, foram realizados durante trinta minutos.

O teste t-student pareado foi usado na análise estatística dos resultados dos dois grupos estudados, conforme procedimento descrito no item 4.4, sendo consideradas significativas as diferenças das médias das amplitudes absolutas médias, quando  $P < 0,05$ .

#### **4.14 Dosagem de glutathion reduzido em fragmentos de córtex cerebral de ratos Wistar-Kyoto**

Este estudo experimental se processou em várias etapas: determinação da curva-padrão de glutathion reduzido, dosagem de glutathion em fragmentos de cortex cerebral de ratos anestesiados; de ratos anestesiados e com obstrução das artérias carótidas comuns; de ratos anestesiados com obstrução das artérias carótidas comuns e após infusão intracarotídea esquerda de solução 1,2 mM de glutathion reduzido a 43,67  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , durante sessenta minutos; de ratos anestesiados com obstrução das artérias carótidas comuns e após infusão intracarotídea esquerda de 5 ml de solução 6,06 mM de ácido  $\alpha$ -lipóico a 45,87  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , durante trinta minutos e de ratos anestesiados com obstrução das artérias carótidas comuns e após infusão intracarotídea esquerda de solução 60,6 mM de ácido  $\alpha$ -lipóico, durante trinta minutos.

Para determinação da curva-padrão de glutathion e dosagem do mesmo em fragmentos corticais cerebrais de ratos Wistar-Kyoto, foram utilizados os seguintes reagentes: DTNB ou ácido 5,5'-ditiobis-(2-nitrobenzóico) adquirido da "Aldrich Chemical Company, Milwaukee, Wis." - 40 mg para 100 ml de citrato de sódio a 1 %; tampão fosfato - 21,3 g de  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  para 500 ml de  $\text{H}_2\text{O}$  destilada; TCA (ácido tricloroacético) diluído a 6 %; solução 1 % de citrato de sódio (1g de citrato de sódio diluído em 100 ml de  $\text{H}_2\text{O}$  destilada).

A dosagem de glutathion em nossos experimentos foi feita por espectrofotometria, sendo usado o método de Beutler et al. (1963) modificado.

#### 4.14.1 Determinação da curva padrão de glutation

O glutation reduzido foi adquirido comercialmente da “Sigma Chemical Corporation”. Foram preparadas soluções de glutation reduzido em H<sub>2</sub>O destilada nas concentrações de 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 e 100 µg/ml.

Foram separados dez tubos de ensaio em condições adequadas de uso e, em cada um destes tubos, realizou-se a mistura de 1 ml da solução de glutation reduzido em cada uma das concentrações a 1 ml de solução de TCA a 6 %. Para calibração do espectrofotômetro, foi utilizada uma mistura denominada “branco”, contendo 500 µl de H<sub>2</sub>O destilada, 500 µl de TCA a 6%, 4 ml da solução-tampão de Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> na concentração citada anteriormente e 500 µl de solução de DTNB em citrato de sódio, também na concentração mencionada. Esta mistura foi levada ao espectrofotômetro e lida a um comprimento de onda de 412 nm, calibrando-se, então, a absorbância em zero. A seguir, misturam-se 500 µl da solução de glutation reduzido provenientes de cada um dos dez tubos e, portanto, com concentração conhecida a uma solução-padrão contendo 500 µl de TCA a 6%, 4 ml da solução-tampão de Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> na concentração citada anteriormente e 500 µl de solução de DTNB, também com concentração citada anteriormente, utilizando-se dez novos tubos de ensaio. O conteúdo de cada novo tubo de ensaio foi levado ao espectrofotômetro e o valor da absorbância foi registrado em correspondência à concentração da solução de glutation utilizada.

A análise estatística dos valores das concentrações de glutation reduzido utilizadas e valores da absorbância obtidos no procedimento experimental, foi feita através do método de regressão linear simples (Daniel, 1991d).

A tabela 1 detalha os valores das concentrações de glutatión reduzido e as absorbâncias correspondentes obtidas por espectrofotometria. A correlação linear entre estas duas variáveis também é observada no gráfico 1.

Concentração de glutatión reduzido ( $\mu\text{g/ml}$ )	Absorbância (nm)
10,00	0,0180
20,00	0,0550
40,00	0,1360
60,00	0,2170
80,00	0,3000
100,00	0,3790
120,00	0,4490
140,00	0,5280
160,00	0,6050
180,00	0,6920
200,00	0,7540

Tabela 1 – Correlação entre as concentrações de glutatión pré-estabelecidas e as densidades ópticas obtidas por espectrofotometria. A análise de regressão destes dados deduziu a equação:  $\text{Conc} = 4,83 + (255,7 \times \text{DO})$ , onde Conc significa concentração de glutatión reduzido ( $\mu\text{g/ml}$ ) e DO, significa densidade óptica ou absorbância (nm).

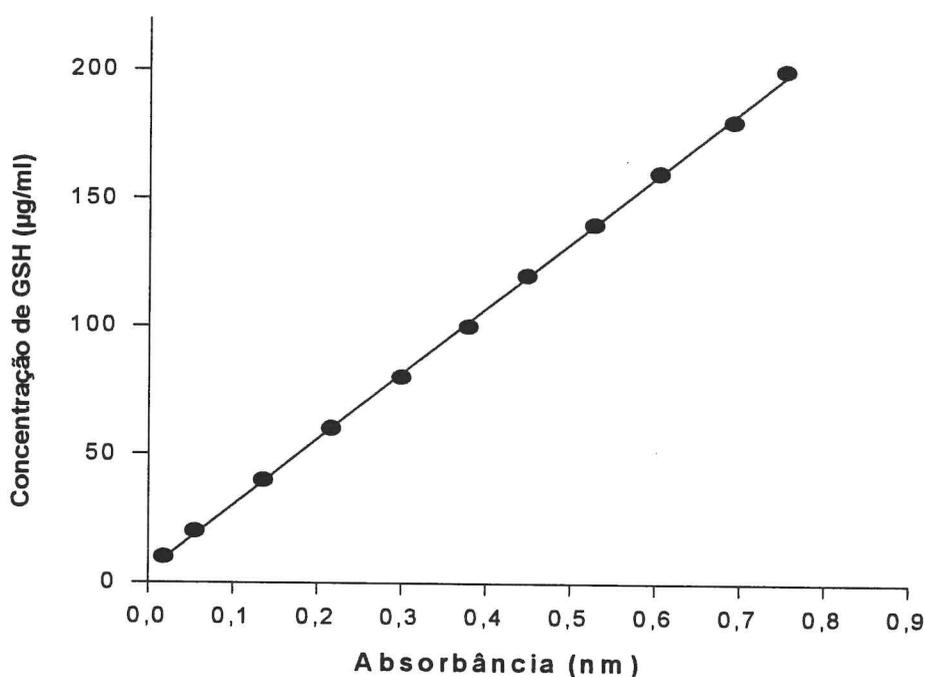


Gráfico 1 – Curva padrão de GSH (glutatión reduzido). Uma correlação linear foi verificada entre os níveis de concentração de GSH pré-estabelecidos e os valores de absorbância obtidos por espectrofotometria ( $R=1,0$ ).

#### 4.14.2 Determinação dos níveis de glutathion reduzido em fragmentos de córtex cerebral de ratos Wistar-Kyoto

Foram estudados cinco grupos de animais anestesiados com uretana: **Controle** (n=4); **Isquemia** (n=5), constituído por ratos com isquemia cerebral induzida por obstrução das artérias carótidas comuns; **Glutathion** (n=5), grupo constituído por ratos com isquemia cerebral induzida por obstrução de ambas as artérias carótidas comuns e posterior infusão intracarotídea esquerda de solução 1,2 mM de glutathion reduzido a 43,67  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , durante sessenta minutos; **Ácido  $\alpha$ -lipóico 6,07 mM** (n=5), grupo composto de animais com obstrução bilateral das artérias carótidas comuns e posterior infusão intracarotídea esquerda de solução 6,07 mM de ácido  $\alpha$ -lipóico a 45,87  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , durante trinta minutos; **Ácido  $\alpha$ -lipóico 60,6 mM** (n=5), grupo composto de animais com obstrução bilateral das artérias carótidas comuns e posterior infusão intracarotídea esquerda de solução 60,6 mM mg/ml de ácido alfa-lipóico a 44,84  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , durante trinta minutos.

Cada animal utilizado nesta fase experimental foi anestesiado com uretana por via intraperitoneal na dose de 1,2 g/kg de peso. O procedimento cirúrgico, em cada animal, para obtenção dos fragmentos de córtex cerebral consistiu em: incisão longitudinal mediana do couro cabeludo a partir do local correspondente ao ponto médio entre as órbitas até a região occipital, exposição do crânio ósseo e limpeza do periósteo com visualização das suturas e fontanelas; cuidadosa retirada do plano ósseo com utilização de uma broca odontológica, exposição e incisão da dura-máter e aracnóide, e exposição dos hemisférios cerebrais; retirada de seis fragmentos de córtex cerebral com auxílio de um bisturi (regiões frontal, central e parietal direitas e esquerdas). Os animais eram posteriormente sacrificados com dose letal de

uretana. Os fragmentos de córtex eram imediatamente, após a retirada, conservados em tubos de ensaio mergulhados em nitrogênio líquido e, posteriormente, pesados para dosagem de glutathion. Os animais de todos os grupos, com exceção dos ratos do grupo **Controle**, previamente, se submeteram a obstrução das artérias carótidas comuns, conforme descrição anterior. Os animais dos grupos **Glutathion**, **Ácido  $\alpha$ -lipóico 6,06 mM** e **Ácido  $\alpha$ -lipóico 60,6 mM** se submeteram, após obstrução das artérias carótidas comuns, à infusão intracarotídea esquerda de solução 1,2 mM de glutathion reduzido, de solução 6,06 mM de ácido  $\alpha$ -lipóico e de solução 60,6 mM de ácido  $\alpha$ -lipóico respectivamente, conforme descrito acima.

A seguir, os fragmentos de córtex cerebral, após pesados, foram macerados e homogeneizados em solução a 6 % de TCA. Para cada 50 mg de tecido cortical foi utilizado 1 ml da solução de TCA. Cada homogeneizado era centrifugado (4.000 r.p.m.) durante dez minutos. De cada tubo foram colhidos 500  $\mu$ l do sobrenadante e reconduzidos a outros tubos aos quais eram adicionados 500  $\mu$ l de TCA a 6 % (no tubo “branco” usado como prova foi usado 1 ml de TCA a 6%, não sendo adicionado sobrenadante). A todos os tubos eram adicionados 4 ml de  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  e 500  $\mu$ l de DTNB. O material de cada tubo era analisado em espectrofotômetro e a absorbância era registrada. A partir destes valores e, com utilização da equação de padronização obtida pela análise de regressão linear (veja item 4.14.1), foi possível calcular as concentrações de glutathion reduzido na solução analisada por espectrofotometria e, conseqüentemente, a concentração do mesmo, obtido de cada mg de córtex cerebral.

O teste t-student para estudo comparativo entre os grupos controle e os diversos grupos de tratamento foi utilizado como instrumento de análise estatística. Diferenças foram consideradas significativas quando  $P < 0,05$ .

## 5 RESULTADOS

### 5.1 Efeito da isquemia induzida por obstrução bilateral das artérias carótidas comuns sobre a amplitude absoluta média dos espectros do EEG

As tabelas 2 a 7 demonstram os valores das amplitudes absolutas médias dos espectros de frequência do EEG (alfa, beta1, beta2, beta3, delta e teta) obtidos a partir de sua avaliação quantitativa no grupo controle (ratos anestesiados) e no grupo isquemia (mesmos ratos anestesiados com obstrução bilateral das artérias carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda de solução salina). As tabelas 8 e 9 demonstram os valores de P e as médias das amplitudes médias absolutas  $\pm$  erro padrão da média respectivamente. Os gráficos 2 a 7 resumem os achados estatísticos e a figura 22 demonstra um EEG no animal controle e com isquemia.

Alfa (região anterior direita)		Alfa (região anterior esquerda)		Alfa (região posterior direita)	
Controle	Isquemia	Controle	Isquemia	Controle	Isquemia
14,58	4,31	24,13	4,60	16,05	3,89
6,26	4,45	15,44	5,06	13,07	3,21
39,16	5,76	24,34	6,37	16,04	6,01
23,00	6,77	22,97	6,56	23,85	6,32
17,95	4,08	18,20	9,44	15,59	2,45
21,27	2,92	20,09	2,06	13,27	2,79
28,40	4,48	32,48	5,63	19,99	3,67
27,55	3,81	13,73	3,08	17,00	3,20

Tabela 2- Amplitudes absolutas médias ( $\mu$ V) da faixa de frequência alfa processadas do eletroencefalograma de oito ratos Wistar-Kyoto anestesiados com uretana: grupos controle e isquemia (oclusão das artérias carótidas comuns).

Beta <sub>1</sub> (região anterior direita)		Beta <sub>2</sub> (região anterior direita)		Beta <sub>3</sub> (região anterior direita)	
Controle	Isquemia	Controle	Isquemia	Controle	Isquemia
22,45	4,39	16,52	2,63	15,61	2,15
7,36	4,63	5,32	3,97	3,48	3,55
28,20	5,35	15,43	3,79	10,26	3,40
22,18	7,64	16,44	8,41	9,48	6,02
15,47	4,04	8,84	2,78	6,09	2,11
21,12	4,77	15,38	3,38	11,16	3,34
39,02	3,96	24,42	2,73	19,26	2,60
22,98	4,23	18,46	5,42	12,95	5,85

Tabela 3- Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) da faixa de frequência beta da região anterior direita processadas do eletroencefalograma de oito ratos Wistar-Kyoto anestesiados com uretana: grupos controle e isquemia (oclusão das artérias carótidas comuns).

Beta <sub>1</sub> (região posterior direita)		Beta <sub>2</sub> (região posterior direita)		Beta <sub>3</sub> (região posterior direita)	
Controle	Isquemia	Controle	Isquemia	Controle	Isquemia
21,99	3,96	17,22	2,41	14,76	1,87
12,77	3,57	6,71	3,42	4,64	3,41
15,08	5,90	12,56	4,55	9,60	4,02
20,79	7,86	16,50	9,54	10,51	6,82
17,60	3,04	10,74	2,59	7,14	2,48
16,83	4,64	13,78	3,90	10,83	3,89
33,76	3,89	31,60	3,71	23,58	3,45
25,56	4,41	17,64	4,47	13,05	6,29

Tabela 4- Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) da faixa de frequência beta da região posterior direita processadas do eletroencefalograma de oito ratos Wistar-Kyoto anestesiados com uretana: grupos controle e isquemia (oclusão das artérias carótidas comuns).

Beta <sub>1</sub> (região anterior esquerda)		Beta <sub>2</sub> (região anterior esquerda)		Beta <sub>3</sub> (região anterior esquerda)	
Controle	Isquemia	Controle	Isquemia	Controle	Isquemia
39,94	5,34	21,83	3,16	16,38	2,60
13,93	6,30	7,51	5,33	4,97	4,50
20,90	5,63	13,65	4,06	10,05	3,91
22,96	7,55	16,75	8,55	9,87	6,16
16,94	8,99	8,54	5,56	5,56	4,06
18,25	2,96	14,31	2,54	10,25	2,76
46,13	5,40	24,54	3,66	19,90	3,27
16,06	4,79	15,41	6,65	10,33	6,77

Tabela 5- Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) da faixa de frequência beta da região anterior esquerda processadas do eletroencefalograma de oito ratos Wistar-Kyoto anestesiados com uretana: grupos controle e isquemia (oclusão das artérias carótidas comuns).

Delta (região anterior direita)		Delta (região anterior esquerda)		Delta (região posterior direita)	
Controle	Isquemia	Controle	Isquemia	Controle	Isquemia
36,28	10,84	72,14	9,89	31,47	10,05
9,83	8,43	26,02	7,05	21,85	6,99
54,83	15,27	41,06	16,08	29,18	14,93
63,31	15,52	58,56	16,24	50,32	15,60
24,93	9,62	35,85	15,73	23,47	8,39
26,49	5,99	27,12	4,94	15,34	5,01
47,23	8,95	50,34	10,54	28,55	8,88
78,55	7,54	59,04	6,05	37,75	6,34

Tabela 6- Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) da faixa de frequência delta processadas do eletroencefalograma de oito ratos Wistar-Kyoto anestesiados com uretana: grupos controle e isquemia (oclusão das artérias carótidas comuns).

Teta (região anterior direita)		Teta (região anterior esquerda)		Teta (região posterior direita)	
Controle	Isquemia	Controle	Isquemia	Controle	Isquemia
18,22	6,78	29,05	7,59	14,59	5,36
9,71	6,53	24,71	8,23	19,91	3,76
45,01	9,90	29,92	10,06	19,24	10,48
33,59	10,77	31,49	10,67	30,32	10,36
20,92	6,17	24,53	14,13	15,82	2,95
28,5	6,96	27,28	3,01	14,33	3,84
45,31	6,42	45,79	9,15	37,34	4,86
44,15	4,83	59,04	6,30	27,64	2,72

Tabela 7- Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) da faixa de frequência teta processadas do eletroencefalograma de oito ratos Wistar-Kyoto anestesiados com uretana: grupos controle e isquemia (oclusão das artérias carótidas comuns).

Região	P					
	Beta <sub>3</sub>	Beta <sub>2</sub>	Beta <sub>1</sub>	Alfa	Teta	Delta
Anterior direita	0,0062	0,0013	0,0011	0,0012	0,0017	0,0038
Posterior direita	0,0143(t) 0,0078(x) 0,0084(st)	0,0034	0,0004	<0,0001	0,0008	0,0003
Anterior esquerda	0,0139	0,0031	0,0143(t) 0,0078(x) 0,0038(st)	0,0001	0,0010	0,0005

Tabela 8 – Nível de significância (P) com relação à redução da amplitude dos potenciais do eletroencefalograma induzida por obstrução bilateral das carótidas comuns de ratos Wistar-Kyoto; (t) significa estatístico; (x), exato; (st), teste t-Student; (x) e (st) se referem ao teste “Wilcoxon Signed Rank”.

Região	Grupos de animais	Beta <sub>3</sub> (média±E.P.M.)	Beta <sub>2</sub> (média±E.P.M.)	Beta <sub>1</sub> (média±E.P.M.)	Alfa (média±E.P.M.)	Teta (média±E.P.M.)	Delta (média±E.P.M.)
Anterior direita	Controle	11,04±1,78	15,10±2,06	22,35±3,24	22,27±3,50	28,75±5,11	42,68±7,99
	Isquemia	3,63±0,54	4,14±0,69	4,88±0,43	4,57±0,42	7,30±0,71	10,27±1,23
Posterior direita	Controle	11,76±2,02	15,84±2,60	20,55±2,37	16,86±1,26	22,40±2,99	29,74±3,78
	Isquemia	4,03±0,61	4,32±0,79	4,66±0,55	3,94±0,51	5,54±1,11	9,52±1,37
Anterior esquerda	Controle	10,91±1,78	15,32±2,07	24,39±4,23	21,42±2,10	33,51±4,30	46,23±5,84
	Isquemia	4,25±0,54	4,94±0,71	5,87±0,64	5,35±0,80	8,64±1,16	10,82±1,66

Tabela 9 – Amplitude média ( $\mu\text{V}$ )  $\pm$  erro padrão da média (E.P.M.) em  $\mu\text{V}$  dos diversos espectros de frequência do eletroencefalograma estatisticamente processados a partir das amplitudes absolutas médias do exame eletrofisiológico de dois grupos pares de animais: grupos controle e isquemia (oclusão das artérias carótidas comuns). (n=8).

## Efeito da obstrução carotídea bilateral sobre a amplitude do espectro alfa

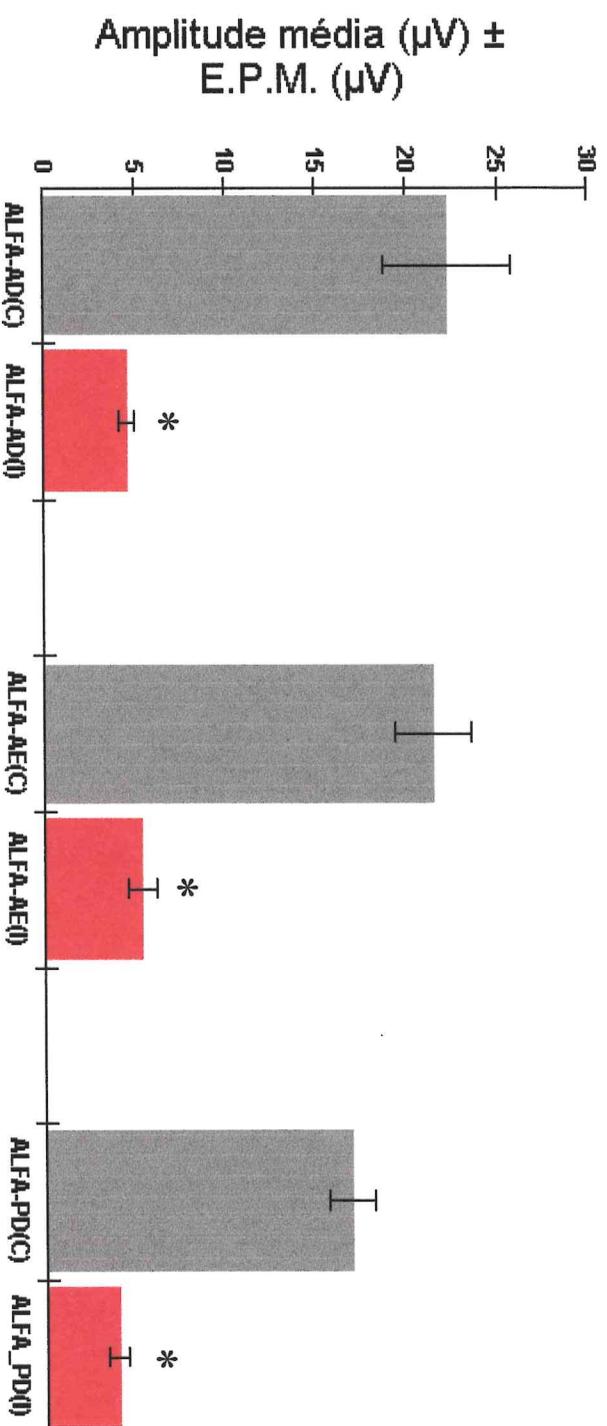


Gráfico 2 – Efeito da obstrução das artérias carótidas comuns sobre a amplitude absoluta do espectro alfa do electroencefalograma de ratos Wistar-Kyoto anestesiados. A isquemia induzida determina redução significativa da amplitude absoluta dos potenciais electroencefalográficos. Obs. \* significa  $P < 0,05$ ; AD, região anterior direita; AE, região anterior esquerda; PD, região posterior direita; C, grupo controle; I, grupo com isquemia por obstrução das artérias carótidas comuns.

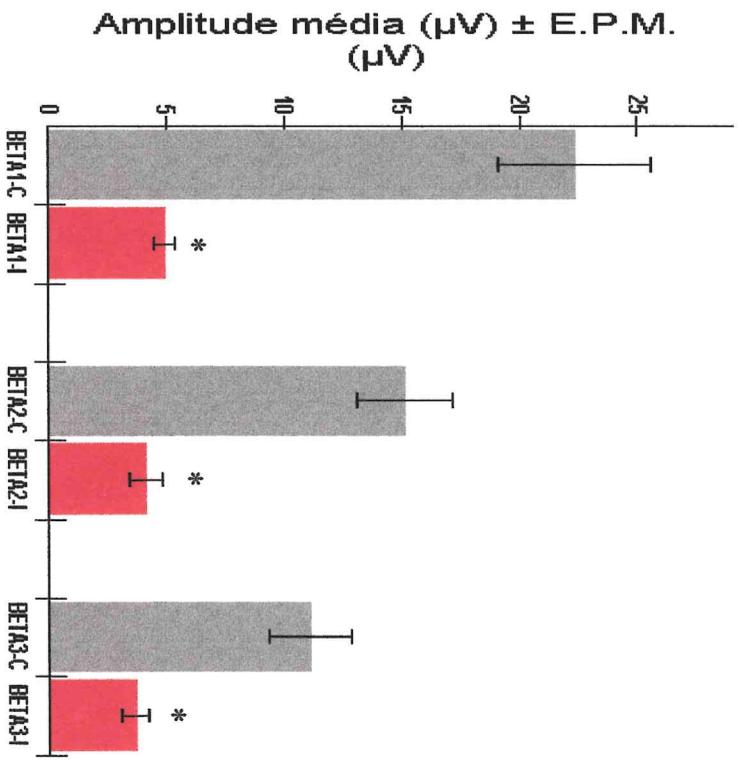


Gráfico 3 – Efeito da obstrução das artérias carótidas comuns sobre a amplitude absoluta dos espectros beta<sub>1</sub>, beta<sub>2</sub> e beta<sub>3</sub> da região anterior direita do eletroencefalograma de ratos Wistar-Kyoto anestesiados. A isquemia induzida determina redução significativa da amplitude absoluta dos potenciais eletroencefalográficos. Obs. \* significa P<0,05; C, grupo controle; I, grupo com isquemia por obstrução das artérias carótidas comuns.

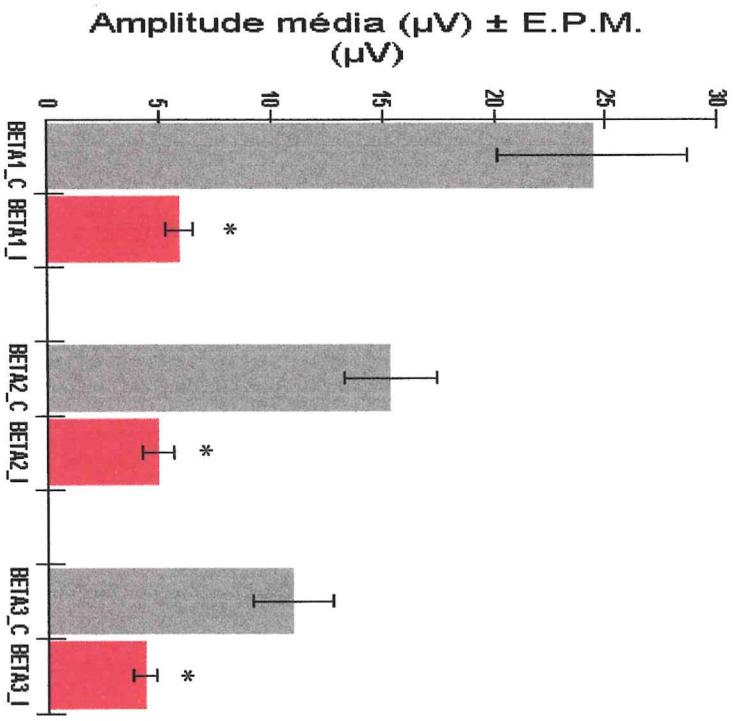


Gráfico 4 – Efeito da obstrução das artérias carótidas comuns sobre a amplitude absoluta dos espectros beta<sub>1</sub>, beta<sub>2</sub> e beta<sub>3</sub> da região anterior esquerda do eletroencefalograma de ratos Wistar-Kyoto anestesiados. A isquemia induzida determina redução significativa da amplitude absoluta dos potenciais eletroencefalográficos. Obs. \* significa P<0,05; C, grupo controle; I, grupo com isquemia por obstrução das artérias carótidas comuns.

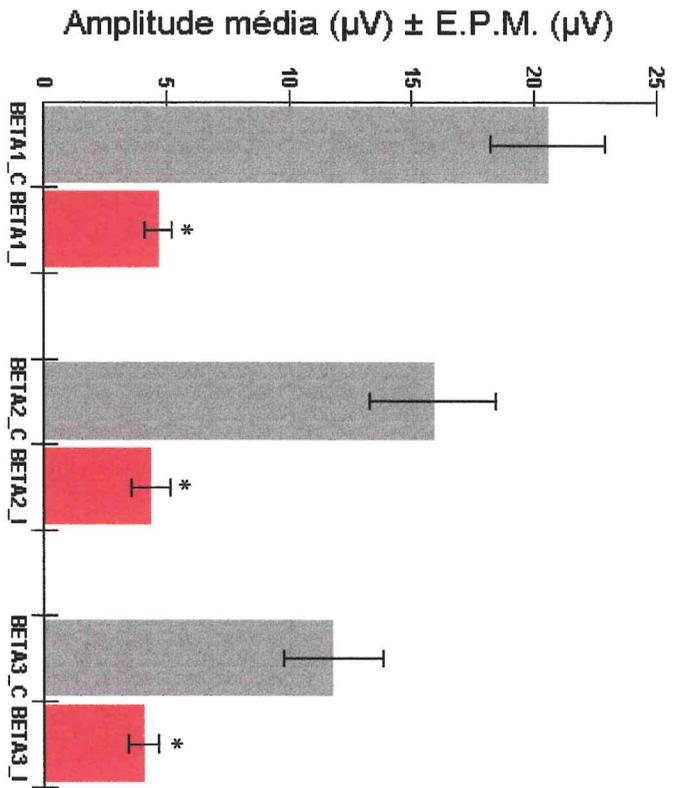


Gráfico 5 – Efeito da obstrução das artérias carótidas comuns sobre a amplitude absoluta dos espectros beta<sub>1</sub>, beta<sub>2</sub> e beta<sub>3</sub> da região posterior direita do electroencefalograma de ratos Wistar-Kyoto anestesiados. A isquemia induzida determina redução significativa da amplitude absoluta dos potenciais electroencefalográficos. Obs. \* significa P<0,05; C, grupo controle; I, grupo com isquemia por obstrução das artérias carótidas comuns.

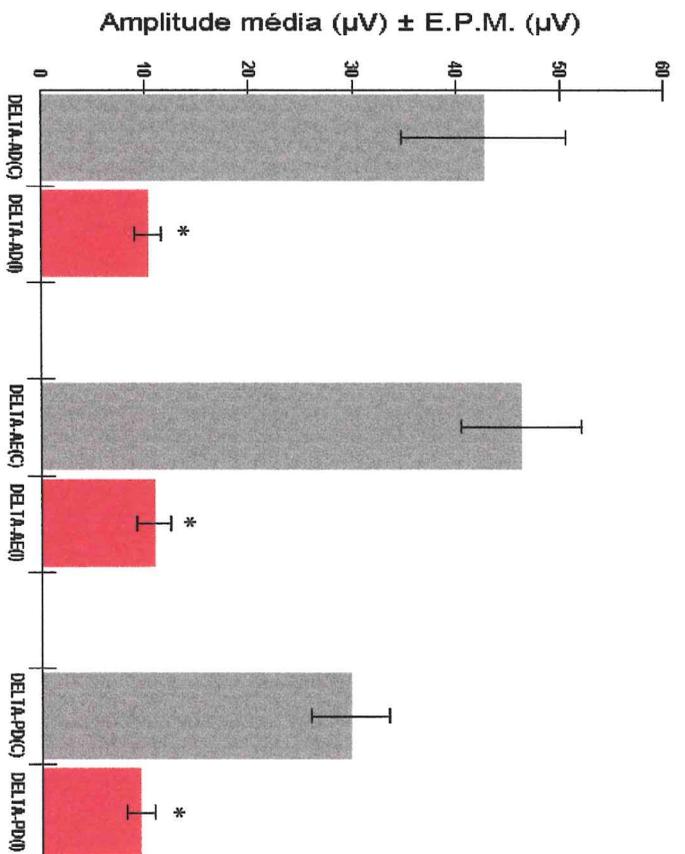


Gráfico 6 – Efeito da obstrução das artérias carótidas comuns sobre a amplitude absoluta do espectro delta do electroencefalograma de ratos Wistar-Kyoto anestesiados. A isquemia induzida determina redução significativa da amplitude absoluta dos potenciais electroencefalográficos. Obs. \* significa P<0,05; AD, região anterior direita; AE, região anterior esquerda; PD, região posterior direita; C, grupo controle; I, grupo com isquemia por obstrução das artérias carótidas comuns.

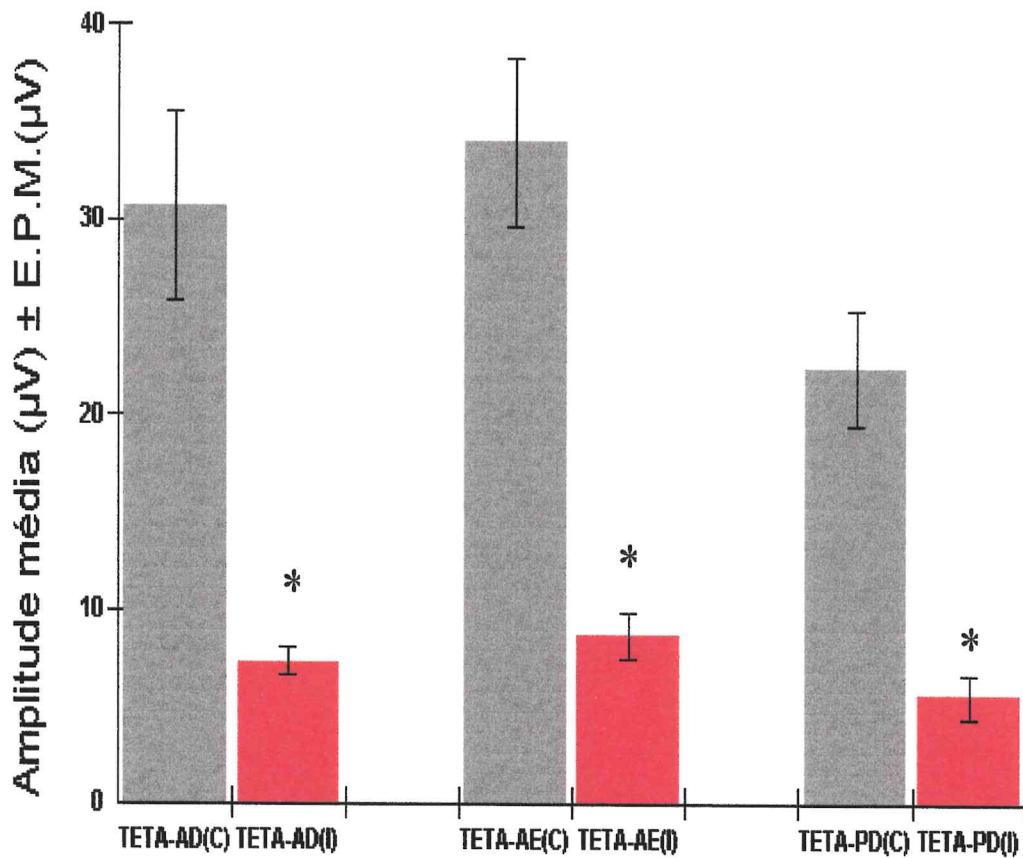
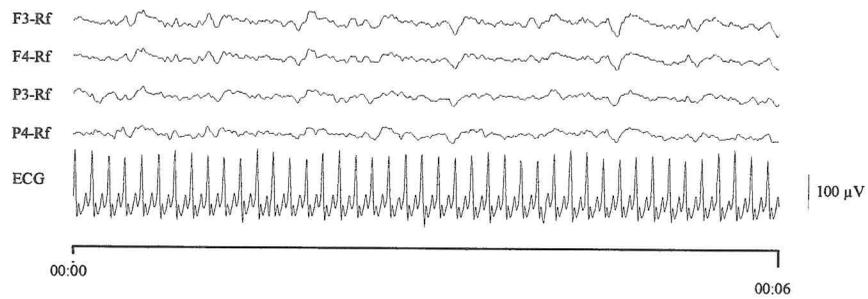
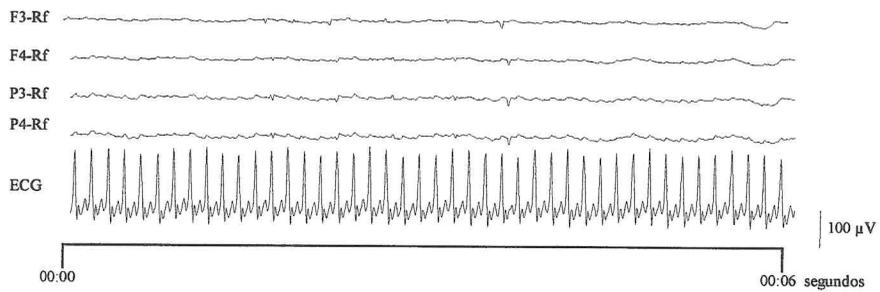


Gráfico 7 – Efeito da obstrução das artérias carótidas comuns sobre a amplitude absoluta do espectro teta do eletroencefalograma de ratos Wistar-Kyoto anestesiados. A isquemia induzida determina redução significativa da amplitude absoluta dos potenciais eletroencefalográficos. Obs. \* significa  $P < 0,05$ ; AD, região anterior direita; AE, região anterior esquerda; PD, região posterior direita; C, grupo controle; I, grupo com isquemia por obstrução das artérias carótidas comuns.



A – Sem isquemia



B – Com isquemia

Figura 22 – EEG de rato sem e com isquemia: observa-se importante redução da amplitude dos potenciais após instalada a isquemia. Obs. F3 e F4 significam frontal esquerdo e parietal esquerdo respectivamente; P3 e P4, parietal esquerdo e direito, respectivamente; Rf, referência.

Foram verificadas diferenças estatisticamente significativas, quando as amplitudes absolutas médias de cada faixa espectral de frequência do EEG (alfa,  $\beta_1$ ,  $\beta_2$ ,  $\beta_3$ , teta e delta) captada nas regiões anterior direita, anterior esquerda e posterior direita do grupo controle e dos mesmos animais, então fazendo parte do grupo isquemia secundária à obstrução das artérias carótidas comuns, foram comparadas (tabela 8, gráficos 2 a 7). Não foi incluída, na análise estatística, a região posterior esquerda. Os eletrodos desta região foram utilizados para a monitorização do eletrocardiograma. A figura 22 representa o registro gráfico de monitorização eletrofisiológica de um dos animais utilizados no estudo, em que, visualmente, se observa a redução da amplitude dos potenciais cerebrais induzida por isquemia. A análise da tabela 8 nos induz a verificar que as faixas espectrais de menor frequência (alfa, teta e delta) ofereceram as mais significativas reduções da amplitude absoluta, quando a isquemia foi experimentalmente induzida ( $P < 0,004$ ). O conjunto das faixas de frequência espectral beta ofereceu reduções menos significativas da amplitude absoluta após isquemia ( $P < 0,02$ ), quando comparadas com as faixas de frequência menor. O estudo estatístico envolvendo os espectros  $\beta_3$  da região posterior direita e  $\beta_1$  da região anterior esquerda revelou falha do teste de normalidade. Neste caso, os valores das medianas foram utilizados para aplicação do teste “Wilcoxon Signed Rank” (Daniel, 1991a) em adição ao estudo estatístico previamente realizado. Os resultados então obtidos com a aplicação deste teste foram similares aos anteriormente obtidos, não alterando as conclusões prévias.

## 5.2 Ação da solução 0,12 mM de glutathione reduzido em infusão intracarotídea a 38,99 $\mu$ l/100g/min, durante sessenta minutos, sobre as amplitudes absolutas médias dos espectros eletroencefalográficos de ratos com oclusão das artérias carótidas comuns

As tabelas 10 a 15 e 18 a 23 demonstram os valores das amplitudes absolutas médias dos espectros de frequência do eletroencefalograma (alfa, beta<sub>1</sub>, beta<sub>2</sub>, beta<sub>3</sub>, delta e teta) obtidos a partir de sua avaliação quantitativa no grupo controle (ratos anestesiados com isquemia induzida por obstrução das artérias carótidas comuns) e no grupo tratamento (mesmos ratos, nos quais se promoveu infusão intracarotídea esquerda de solução 0,12 mM de glutathione reduzido). As tabelas 16, 25 e 26 demonstram os valores das médias das amplitudes médias absolutas  $\pm$  erro padrão da média, e as tabelas 17 e 24 demonstram os valores de P. Os gráficos 8 a 13, expressando a atividade não hipsíncrona, e 14 a 19, expressando a atividade hipsíncrona, resumem os achados estatísticos; a figura 23 demonstra eletroencefalograma com atividade hipsíncrona do animal com isquemia e infusão intracarotídea esquerda de solução de glutathione reduzido.

A análise do eletroencefalograma dos animais desta fase do experimento permitiu a distinção de dois padrões eletrofisiológicos distintos: uma atividade, provavelmente significando atividade cortical secundária à modulação subcortical, similar aos padrões de fusos de sono (ritmo sigma) de potenciais agudos de vértex, e uma atividade de base, igual ao observado nos experimentos anteriores, e se distribuindo nas faixas de frequência já estudadas. A primeira foi considerada pelo pesquisador como **atividade hipsíncrona** e a segunda, como atividade **não hipsíncrona**. A figura 23

demonstra a atividade hipersíncrona. Nem todos os animais apresentaram atividade hipersíncrona, razão por que algumas tabelas apresentam espaços sem dados, e os cálculos estatísticos foram realizados, utilizando-se apenas dos animais em que se pôde realizar comparações pareadas.

Neste estudo foram utilizados nove ratos. As médias das amplitudes absolutas médias dos diversos espectros de ondas do eletroencefalograma, envolvendo atividade não hipersíncrona, são individualmente apresentadas nas tabelas 10 a 15. O teste de normalidade envolvendo os valores médios das amplitudes absolutas médias dos diversos espectros do eletroencefalograma não falhou nas diversas regiões, com exceção dos espectros beta ( $\beta_1$ ,  $\beta_2$  e  $\beta_3$ ) na região frontal direita e do espectro  $\beta_3$  na região parietal esquerda. A análise estatística no último caso também incluiu o teste “Wilcoxon Signed Rank” (já referido).

A tabela 16 e os gráficos 8 a 13 demonstram uma elevação das médias das amplitudes absolutas médias dos diversos espectros do eletroencefalograma em todas as regiões, com exceção do espectro teta nas regiões frontais e parietal esquerda, e do espectro delta nas regiões frontal e parietal direitas com a infusão de glutathione reduzido 0,12 mM (38,99  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ ). Tal elevação não é estatisticamente significativa (tabela 17).

Assim, a infusão intracarotídea de glutathione reduzido 0,12 mM a 38,99  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , durante 60 minutos, em ratos Wistar-Kyoto submetidos previamente a obstrução bilateral das carótidas comuns, não determinou aumento significativo das amplitudes absolutas médias dos diversos espectros do eletroencefalograma.

As médias das amplitudes absolutas médias dos diversos espectros de ondas do eletroencefalograma, envolvendo atividade hipsíncrona, são individualmente apresentadas nas tabelas 18 a 23. Os espaços vazios nestas tabelas indicam que a atividade hipsíncrona não foi obtida. Dos nove animais estudados, seis não apresentaram atividade hipsíncrona, quando constituíram o grupo com isquemia, e apenas dois do grupo com isquemia e durante infusão intracarotídea de glutatión reduzido 0,12 mM não apresentaram atividade hipsíncrona. A tabela 25 relaciona as médias das amplitudes absolutas médias dos diversos espectros, incluindo aqueles que não apresentaram atividade hipsíncrona nos grupos **Isquemia e Infusão de glutatión**. A tabela 26 apresenta as médias das amplitudes absolutas médias dos espectros em que os grupos (**Isquemia e Infusão de glutatión**), em comparação pareada, apresentaram atividade hipsíncrona. Assim, para interpretação dos resultados, apenas a tabela 26, entre as duas últimas, foi levada em consideração.

Observa-se um aumento inconstante da média das amplitudes absolutas médias dos diversos espectros de ondas do eletroencefalograma nos grupos **Isquemia e Infusão de glutatión**; isto não foi verificado com o espectro delta nas regiões frontais e na região parietal esquerda, alfa na região parietal esquerda,  $\beta_1$  na região frontal esquerda e nas regiões parietais,  $\beta_2$  nas regiões parietais e  $\beta_3$  na região parietal esquerda (tabela 26). O aumento da média da amplitude absoluta média do espectro  $\beta_1$  na região frontal direita (**Isquemia e Infusão de glutatión**) é estatisticamente significativo (tabela 24). As modificações das amplitudes absolutas médias, envolvendo este espectro nas outras regiões e os demais espectros, em todas as regiões estudadas nesta fase experimental, não foram estatisticamente significativas.

Alfa (região frontal esquerda)		Alfa (região frontal direita)		Alfa (região parietal esquerda)		Alfa (região parietal direita)	
Isquemia	Infusão de glutatation	Isquemia	Infusão de glutatation	Isquemia	Infusão de glutatation	Isquemia	Infusão de glutatation
9,71	13,78	9,23	12,57	22,89	29,03	23,15	25,73
47,47	45,50	41,34	37,28	46,05	64,15	48,67	53,82
37,14	31,72	57,77	43,98	69,65	52,50	117,60	86,71
23,63	34,00	23,11	25,29	28,16	35,04	26,13	35,76
43,63	63,28	39,65	73,15	40,10	44,68	34,76	60,25
39,50	47,28	52,09	68,00	55,88	64,00	59,84	73,94
35,24	47,88	33,98	38,37	53,86	61,33	49,13	86,90
49,76	52,85	40,98	39,02	39,74	41,02	34,25	35,34
26,47	28,87	17,91	24,88	16,91	31,29	25,45	25,69

Tabela 10- Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) da faixa de frequência alfa processadas do eletroencefalograma de nove ratos Wistar-Kyoto anestesiados com uretana, e com obstrução das artérias carótidas comuns, cada um deles fazendo parte dos grupos controle e tratamento (infusão intracarotídea esquerda a  $38,99 \mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$  de solução  $0,12 \text{ mM}$  de glutatation reduzido). Apenas a atividade não hipersíncrona foi analisada.

Beta <sub>1</sub> (região frontal esquerda)		Beta <sub>1</sub> (região frontal direita)		Beta <sub>1</sub> (região parietal esquerda)		Beta <sub>1</sub> (região parietal direita)	
Isquemia	Infusão de glutatation	Isquemia	Infusão de glutatation	Isquemia	Infusão de glutatation	Isquemia	Infusão de glutatation
11,87	13,42	12,48	14,44	22,19	29,27	25,15	32,07
44,56	43,59	37,36	37,02	46,04	58,30	47,16	52,30
34,72	27,49	44,25	34,32	57,98	43,28	117,60	78,94
20,36	25,39	24,69	25,33	29,31	33,47	32,15	45,55
45,70	69,33	45,36	99,51	38,07	53,08	38,58	59,80
43,32	45,11	54,34	61,13	56,02	59,74	59,53	72,18
39,62	48,85	34,92	41,71	47,58	63,61	55,46	107,40
46,48	51,63	40,39	43,01	47,10	46,19	43,87	43,08
29,75	25,55	20,96	21,45	23,86	28,68	28,17	25,54

Tabela 11 - Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) da faixa de frequência beta<sub>1</sub> processadas do eletroencefalograma de nove ratos Wistar-Kyoto anestesiados com uretana, e com obstrução das artérias carótidas comuns, cada um deles fazendo parte dos grupos controle e tratamento (infusão intracarotídea esquerda a  $38,99 \mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$  de solução  $0,12 \text{ mM}$  de glutatation reduzido). Apenas a atividade não hipersíncrona foi analisada.

Beta <sub>2</sub> (região frontal esquerda)		Beta <sub>2</sub> (região frontal direita)		Beta <sub>2</sub> (região parietal esquerda)		Beta <sub>2</sub> (região parietal direita)	
Isquemia	Infusão de glutatation	Isquemia	Infusão de glutatation	Isquemia	Infusão de glutatation	Isquemia	Infusão de glutatation
9,47	10,04	10,99	11,54	14,38	16,17	17,69	20,84
36,30	30,11	29,79	27,53	34,43	31,58	36,49	36,06
18,43	16,60	21,90	18,10	32,09	22,03	69,92	51,77
13,41	16,19	16,72	15,02	18,56	21,23	20,46	28,56
26,90	38,92	28,91	70,57	26,46	32,52	28,02	36,58
27,59	29,47	28,64	38,78	29,21	35,24	29,49	46,57
27,01	30,98	21,21	26,64	32,76	37,56	35,77	69,87
28,00	33,12	26,19	28,47	28,29	28,20	29,95	27,94
18,46	15,13	10,44	15,58	15,84	18,47	17,55	16,93

Tabela 12 - Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) da faixa de frequência beta<sub>2</sub> processadas do eletroencefalograma de nove ratos Wistar-Kyoto anestesiados com uretana, e com obstrução das artérias carótidas comuns, cada um deles fazendo parte dos grupos controle e tratamento (infusão intracarotídea esquerda a 38,99  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$  de solução 0,12 mM de glutatation reduzido). Apenas a atividade não hipersíncrona foi analisada.

Beta <sub>3</sub> (região frontal esquerda)		Beta <sub>3</sub> (região frontal direita)		Beta <sub>3</sub> (região parietal esquerda)		Beta <sub>3</sub> (região parietal direita)	
Isquemia	Infusão de glutatation	Isquemia	Infusão de glutatation	Isquemia	Infusão de glutatation	Isquemia	Infusão de glutatation
6,82	8,53	6,41	7,45	10,16	12,69	10,36	14,64
20,34	20,10	17,59	18,62	19,17	23,80	19,35	24,16
13,28	10,76	14,74	12,27	22,97	15,37	39,77	35,27
14,22	13,01	14,36	10,24	16,71	14,69	16,24	17,77
17,64	22,96	20,30	46,79	19,71	21,95	21,33	26,77
21,26	23,65	20,81	26,98	24,45	26,80	21,07	31,20
19,48	22,53	15,33	18,74	22,58	26,99	25,24	43,83
20,95	24,47	19,56	19,79	17,98	19,79	21,71	21,06
12,60	10,99	7,21	10,77	12,13	13,15	11,43	12,11

Tabela 13 - Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) da faixa de frequência beta<sub>3</sub> processadas do eletroencefalograma de nove ratos Wistar-Kyoto anestesiados com uretana, e com obstrução das artérias carótidas comuns, cada um deles fazendo parte dos grupos controle e tratamento (infusão intracarotídea esquerda a 38,99  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$  de solução 0,12 mM de glutatation reduzido). Apenas a atividade não hipersíncrona foi analisada.

Delta (região frontal esquerda)		Delta (região frontal direita)		Delta (região parietal esquerda)		Delta (região parietal direita)	
Isquemia	Infusão de glutatation	Isquemia	Infusão de glutatation	Isquemia	Infusão de glutatation	Isquemia	Infusão de glutatation
122,90	172,80	109,00	156,70	89,59	112,40	86,57	111,00
491,70	481,70	450,10	415,60	374,20	370,50	445,40	431,80
165,60	179,90	135,80	123,20	223,20	239,20	269,40	268,90
111,60	180,30	172,10	225,10	189,80	235,00	158,20	199,30
195,70	132,70	208,10	144,70	303,50	193,10	252,60	136,90
88,87	136,40	96,89	141,70	90,75	129,10	96,08	137,60
323,40	283,50	374,80	295,90	291,90	257,90	338,40	296,90
221,10	201,60	170,50	155,90	166,50	154,20	158,20	145,80
84,04	97,79	67,55	84,06	80,85	133,70	55,55	80,84

Tabela 14 - Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) da faixa de frequência delta processadas do eletroencefalograma de nove ratos Wistar-Kyoto anestesiados com uretana, e com obstrução das artérias carótidas comuns, cada um deles fazendo parte dos grupos controle e tratamento (infusão intracarotídea esquerda a  $38,99 \mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$  de solução  $0,12 \text{ mM}$  de glutatation reduzido). Apenas a atividade não hipersíncrona foi analisada.

Teta (região frontal esquerda)		Teta (região frontal direita)		Teta (região parietal esquerda)		Teta (região parietal direita)	
Isquemia	Infusão de glutatation	Isquemia	Infusão de glutatation	Isquemia	Infusão de glutatation	Isquemia	Infusão de glutatation
26,64	51,21	29,21	50,31	39,51	49,35	44,13	53,40
91,41	87,71	77,42	68,94	85,33	102,40	85,77	92,47
52,63	46,14	123,50	70,60	92,61	79,90	112,50	113,70
59,18	35,88	54,92	32,07	60,41	40,64	61,56	45,20
77,77	76,50	63,40	92,39	65,93	60,40	55,08	65,13
44,54	59,08	63,63	79,22	71,17	78,65	73,02	91,10
61,27	59,93	75,53	56,70	89,51	74,65	81,89	91,89
81,10	65,24	67,89	53,65	84,01	61,94	68,15	56,83
37,14	38,66	23,24	27,91	27,56	41,17	26,73	40,11

Tabela 15 - Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) da faixa de frequência teta processadas do eletroencefalograma de nove ratos Wistar-Kyoto anestesiados com uretana, e com obstrução das artérias carótidas comuns, cada um deles fazendo parte dos grupos controle e tratamento (infusão intracarotídea esquerda a  $38,99 \mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$  de solução  $0,12 \text{ mM}$  de glutatation reduzido). Apenas a atividade não hipersíncrona foi analisada.

Grupo		Beta <sub>3</sub>	Beta <sub>2</sub>	Beta <sub>1</sub>	Alfa	Teta	Delta
Frontal esquerdo	Isquemia	16,29 ± 1,63	22,84 ± 2,82	35,15 ± 4,09	34,73 ± 4,27	59,08 ± 7,14	200,55 ± 44,30
	Infusão de glutation	17,44 ± 2,16	24,51 ± 3,35	38,93 ± 5,76	40,57 ± 4,95	57,82 ± 5,69	207,41 ± 38,40
Frontal direito	Isquemia	15,15 ± 1,76	21,64 ± 2,51	34,97 ± 4,43	35,12 ± 5,28	64,30 ± 9,73	198,32 ± 43,40
	Infusão de glutation	19,07 ± 4,01	28,03 ± 6,04	41,99 ± 8,51	40,28 ± 6,57	59,09 ± 7,03	193,65 ± 34,50
Parietal esquerdo	Isquemia	18,43 ± 1,61	25,78 ± 2,54	40,91 ± 4,43	41,47 ± 5,66	68,45 ± 7,58	201,14 ± 35,30
	Infusão de glutation	19,47 ± 1,90	27,00 ± 2,58	46,18 ± 4,48	47,00 ± 4,67	65,46 ± 6,81	202,79 ± 27,50
Parietal direito	Isquemia	20,72 ± 2,89	31,70 ± 5,33	49,74 ± 9,34	46,55 ± 9,81	67,65 ± 8,33	206,71 ± 43,20
	Infusão de glutation	25,20 ± 3,42	37,24 ± 5,54	57,43 ± 8,51	53,79 ± 8,22	72,20 ± 8,56	201,00 ± 37,40

Tabela 16 – Média ( $\mu\text{V}$ )  $\pm$  erro padrão da média ( $\mu\text{V}$ ) das amplitudes absolutas médias dos espectros de frequência do EEG de grupos pares de animais (n=9): **Isquemia** (obstrução bilateral das carótidas comuns) e **Infusão de glutation** (mesmos animais com infusão intracarotídea de glutation 0,12 mM). Apenas a atividade não hipersíncrona foi analisada.

Grupos comparados	P					
	Beta <sub>3</sub>	Beta <sub>2</sub>	Beta <sub>1</sub>	Alfa	Teta	Delta
Frontal E (I) Frontal E (IG)	0,2300	0,3745	0,2422	0,0517	0,7996	0,6522
Frontal D (I) Frontal D (IG)	0,1925(t) 0,2031(x) 0,2278(st)	0,1551(t) 0,1641(x) 0,2070(st)	0,1232(t) 0,1289(x) 0,2841(st)	0,2799	0,5584	0,7812
Parietal E (I) Parietal E (IG)	0,2361(t) 0,2500(x) 0,4324(st)	0,4946	0,1300	0,1317	0,5701	0,9248
Parietal D (I) Parietal D (IG)	0,0809	0,2829	0,3609	0,2858	0,2667	0,7396

Tabela 17 – Significância (P) relativa à modificação da amplitude dos potenciais do EEG induzida por infusão intracarotídea de GSH (0,12 mM) em ratos Wistar-Kyoto com obstrução das carótidas comuns; (t) significa estatístico; (x), exato; (st), teste t-Student; D, direito; E, esquerdo; (I), isquemia; (IG), isquemia e infusão intracarotídea esquerda de GSH (0,12 mM); (x) e (t) se referem ao teste “Wilcoxon Signed Rank”. Apenas a atividade não hipersíncrona foi analisada.

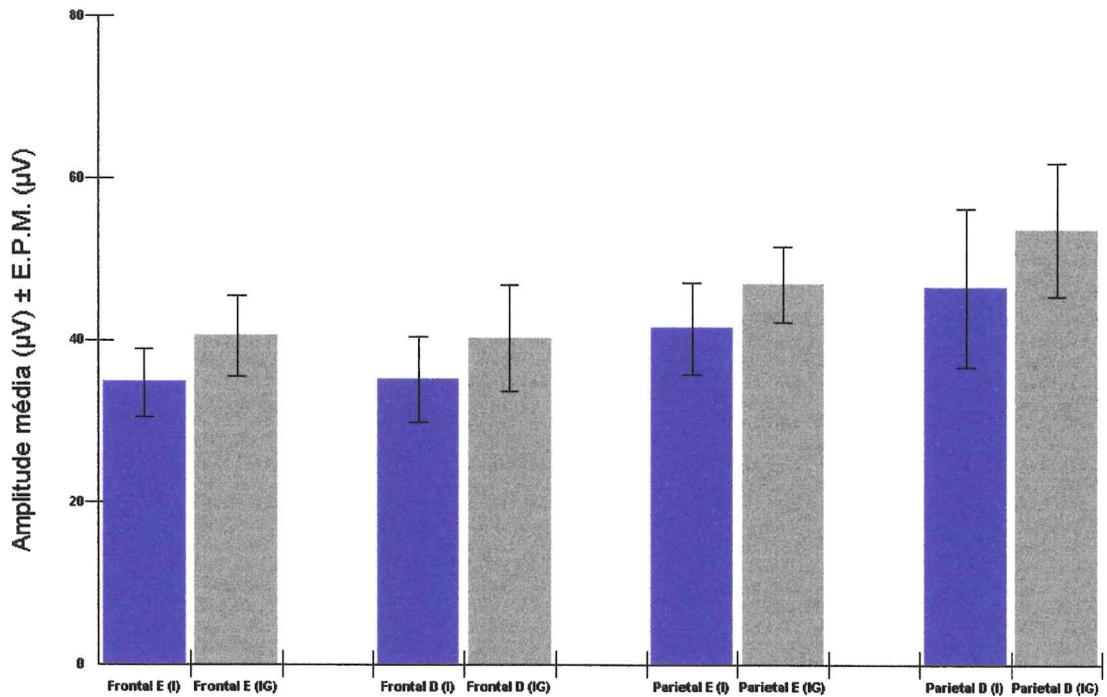


Gráfico 8 – Modificação da amplitude absoluta média do espectro alfa (atividade somente não-hipersíncrona) induzida por infusão intracarotídea esquerda de GSH (0,12 mM). E significa esquerda; D, direita, (I) isquemia devida a obstrução bilateral das artérias carótidas comuns; (IG), infusão intracarotídea esquerda de GSH em animais com isquemia. Não há aumento significativo da amplitude com a infusão de GSH.

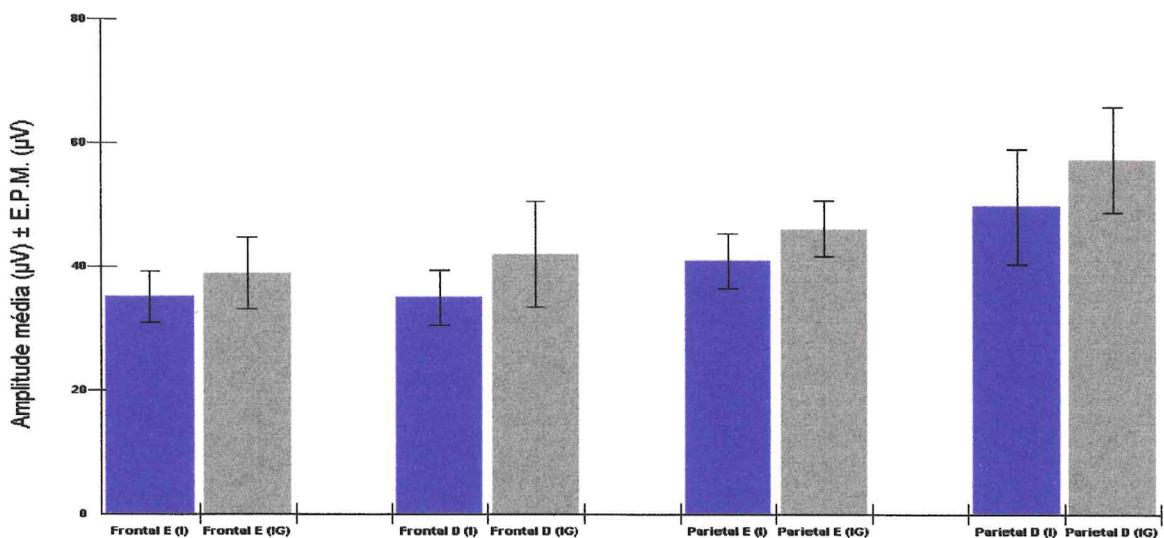


Gráfico 9 – Modificação da amplitude absoluta média do espectro beta<sub>1</sub> (atividade somente não-hipersíncrona) induzida por infusão intracarotídea esquerda de GSH (0,12 mM). E significa esquerda; D, direita, (I) isquemia devida a obstrução bilateral das artérias carótidas comuns; (IG), infusão intracarotídea esquerda de GSH em animais com isquemia. Não há aumento significativo da amplitude com a infusão de GSH.

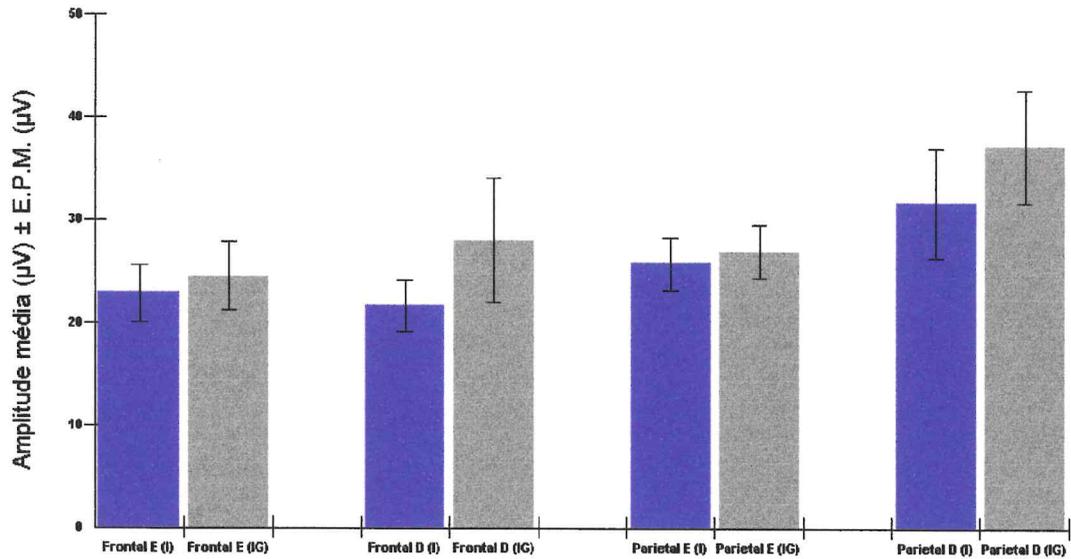


Gráfico 10 – Modificação da amplitude absoluta média do espectro beta<sub>2</sub> (atividade somente não hipersíncrona) induzida por infusão intracarotídea esquerda de GSH (0,12 mM). E significa esquerda; D, direita, (I) isquemia devida a obstrução bilateral das artérias carótidas comuns; (IG), infusão intracarotídea esquerda de GSH em animais com isquemia. Não há aumento significativo da amplitude com a infusão de GSH.

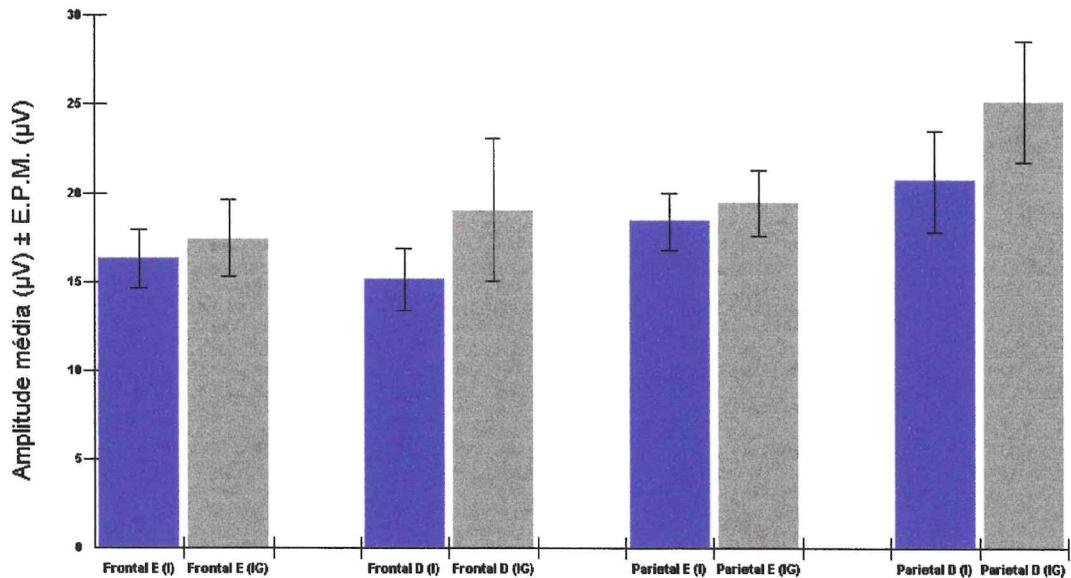


Gráfico 11 – Modificação da amplitude absoluta média do espectro beta<sub>3</sub> EEG (atividade somente não hipersíncrona) induzida por infusão intracarotídea esquerda de GSH (0,12 mM). E significa esquerda; D, direita, (I) isquemia devida a obstrução bilateral das artérias carótidas comuns; (IG), infusão intracarotídea esquerda de GSH em animais com isquemia. Não há aumento significativo da amplitude com a infusão de GSH.

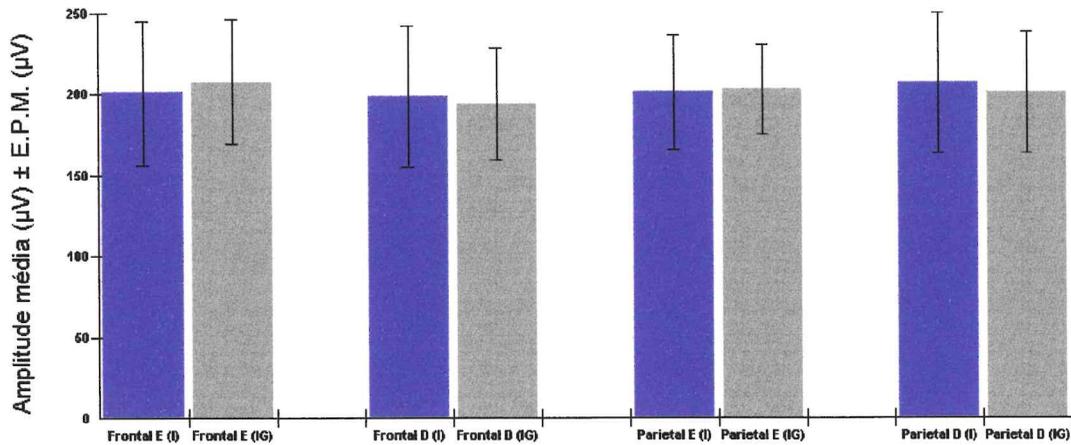


Gráfico 12 – Modificação da amplitude absoluta média do espectro delta (atividade somente não hipersíncrona) induzida por infusão intracarotídea esquerda de GSH (0,12 mM). E significa esquerda; D, direita, (I) isquemia devida a obstrução bilateral das artérias carótidas comuns; (IG), infusão intracarotídea esquerda de GSH em animais com isquemia. Não há modificação significativa da amplitude com a infusão de GSH.

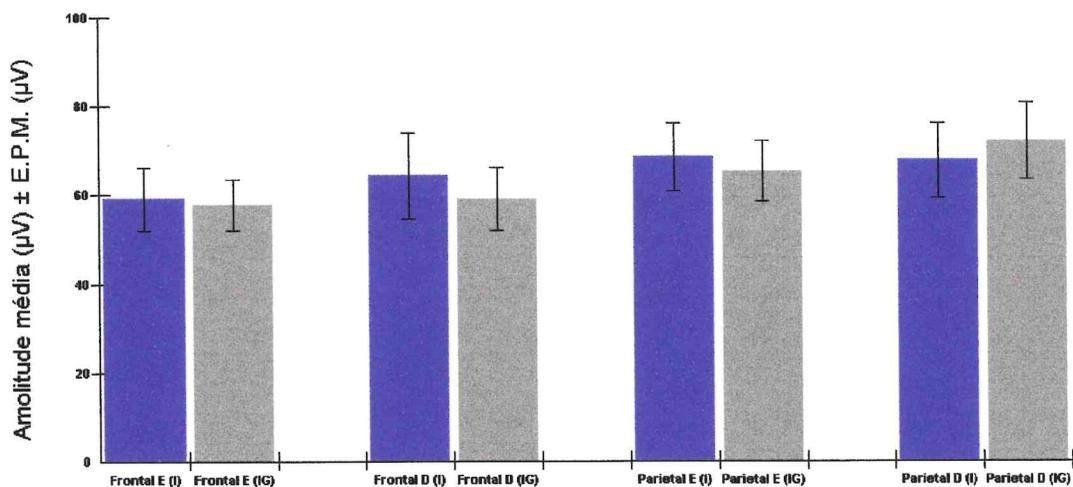


Gráfico 13 – Modificação da amplitude absoluta média do espectro teta (atividade somente não hipersíncrona) induzida por infusão intracarotídea esquerda de GSH (0,12 mM). E significa esquerda; D, direita, (I) isquemia devida a obstrução bilateral das artérias carótidas comuns; (IG), infusão intracarotídea esquerda de GSH em animais com isquemia. Não há modificação significativa da amplitude com a infusão de GSH.

Em conclusão, a infusão intracarotídea esquerda de solução 0,12 mM de glutation, a 38,99  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , durante 60 minutos, determinou no EEG de ratos anestesiados com uretana e com isquemia induzida por obstrução das carótidas comuns um aumento constante, porém não significativo, das amplitudes absolutas médias de todos os espectros de frequência da atividade eletroencefalográfica não hipersíncrona.

Alfa (região frontal esquerda)		Alfa (região frontal direita)		Alfa (região parietal esquerda)		Alfa (região parietal direita)	
Isquemia	Infusão de glutation	Isquemia	Infusão de glutation	Isquemia	Infusão de glutation	Isquemia	Infusão de glutation
134,20	124,20	84,64	116,70	120,70	102,90	134,10	106,50
108,50	141,00	122,80	164,60	134,40	157,10	213,30	244,60
	110,10		129,70		125,70		107,30
	155,80		119,00		141,00		196,80
	251,70		96,53		118,70		104,60
	79,66		79,67		68,21		74,18
145,70	164,20	171,90	264,70	130,10	124,60	131,90	171,50

Tabela 18 - Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) do espectro alfa do eletroencefalograma de ratos Wistar-Kyoto, cada um deles fazendo parte dos grupos **Isquemia** (obstrução das carótidas comuns) e **Infusão de glutation** (obstrução das carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda a 38,99  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$  de solução 0,12 mM de glutation reduzido). Apenas a atividade hipersíncrona foi analisada. Dos nove animais estudados, do grupo com infusão de glutation, sete apresentaram atividade eletroencefalográfica hipersíncrona; apenas três, do grupo em que não se promoveu a infusão de glutation, apresentaram atividade hipersíncrona. Os espaços da tabela sem dados indicam que a atividade hipersíncrona não foi obtida.

Beta <sub>1</sub> (região frontal esquerda)		Beta <sub>1</sub> (região frontal direita)		Beta <sub>1</sub> (região parietal esquerda)		Beta <sub>1</sub> (região parietal direita)	
Isquemia	Infusão de glutatation	Isquemia	Infusão de glutatation	Isquemia	Infusão de glutatation	Isquemia	Infusão de glutatation
113,30	85,43	72,06	95,12	103,80	77,29	106,70	94,73
95,39	103,60	95,87	124,10	108,80	122,00	183,20	193,20
	81,46		104,10		100,80		97,41
	137,70		110,70		153,30		197,90
	188,90		75,50		95,35		87,30
	47,09		48,25		51,93		44,20
121,50	122,00	151,80	175,90	118,70	98,23	128,40	130,60

Tabela 19 - Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) do espectro beta<sub>1</sub> do eletroencefalograma de ratos Wistar-Kyoto, cada um deles fazendo parte dos grupos **Isquemia** (obstrução das carótidas comuns) e **Infusão de glutatation** (obstrução das carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda a 38,99  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$  de solução 0,12 mM de glutatation reduzido). Apenas a atividade hipersíncrona foi analisada. Dos nove animais estudados, do grupo com infusão de glutatation, sete apresentaram atividade eletroencefalográfica hipersíncrona; apenas três, do grupo em que não se promoveu a infusão de glutatation, apresentaram atividade hipersíncrona. Os espaços da tabela sem dados indicam que a atividade hipersíncrona não foi obtida.

Beta <sub>2</sub> (região frontal esquerda)		Beta <sub>2</sub> (região frontal direita)		Beta <sub>2</sub> (região parietal esquerda)		Beta <sub>2</sub> (região parietal direita)	
Isquemia	Infusão de glutatation	Isquemia	Infusão de glutatation	Isquemia	Infusão de glutatation	Isquemia	Infusão de glutatation
43,81	39,94	38,19	36,59	44,28	37,14	50,60	39,74
42,12	51,82	47,53	54,72	50,14	56,53	97,88	93,32
	40,65		50,01		50,48		56,64
	58,93		56,86		70,34		106,80
	77,33		37,00		45,56		40,91
	23,69		28,41		26,98		21,79
51,13	50,44	69,29	68,50	56,24	46,43	62,37	61,29

Tabela 20 - Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) do espectro beta<sub>2</sub> do eletroencefalograma de ratos Wistar-Kyoto, cada um deles fazendo parte dos grupos **Isquemia** (obstrução das carótidas comuns) e **Infusão de glutatation** (obstrução das carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda a 38,99  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$  de solução 0,12 mM de glutatation reduzido). Apenas a atividade hipersíncrona foi analisada. Dos nove animais estudados, do grupo com infusão de glutatation, sete apresentaram atividade eletroencefalográfica hipersíncrona; apenas três, do grupo em que não se promoveu a infusão de glutatation, apresentaram atividade hipersíncrona. Os espaços da tabela sem dados indicam que a atividade hipersíncrona não foi obtida.

Beta <sub>3</sub> (região frontal esquerda)		Beta <sub>3</sub> (região frontal direita)		Beta <sub>3</sub> (região parietal esquerda)		Beta <sub>3</sub> (região parietal direita)	
Isquemia	Infusão de Glutation	Isquemia	Infusão de glutatation	Isquemia	Infusão de glutatation	Isquemia	Infusão de glutatation
51,13	50,44	69,29	68,50	56,24	46,43	62,37	61,29
20,44	28,46	26,31	32,19	34,47	31,12	54,94	53,26
	24,67		28,41		29,44		34,67
	29,41		27,42		35,82		59,73
	44,51		24,17		27,25		26,78
	13,79		16,87		17,75		13,99
28,82	30,31	32,81	35,82	32,04	32,42	29,44	38,31

Tabela 21 - Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) do espectro beta<sub>3</sub> do eletroencefalograma de ratos Wistar-Kyoto, cada um deles fazendo parte dos grupos **Isquemia** (obstrução das carótidas comuns) e **Infusão de glutatation** (obstrução das carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda a 38,99  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$  de solução 0,12 mM de glutatation reduzido). Apenas a atividade hipersíncrona foi analisada. Dos nove animais estudados, do grupo com infusão de glutatation, sete apresentaram atividade eletroencefalográfica hipersíncrona; apenas três, do grupo em que não se promoveu a infusão de glutatation, apresentaram atividade hipersíncrona. Os espaços da tabela sem dados indicam que a atividade hipersíncrona não foi obtida.

Delta (região frontal esquerda)		Delta (região frontal direita)		Delta (região parietal esquerda)		Delta (região parietal direita)	
Isquemia	Infusão de glutatation	Isquemia	Infusão de glutatation	Isquemia	Infusão de glutatation	Isquemia	Infusão de glutatation
543,90	424,30	450,10	344,00	374,20	322,90	445,40	417,70
216,20	256,90	190,80	266,70	350,60	368,00	387,60	463,50
	180,30		225,10		235,00		199,30
	375,50		298,00		365,10		386,10
	382,70		215,50		229,70		217,90
	193,40		195,80		182,20		178,90
303,80	297,90	334,60	348,20	259,30	275,10	263,90	286,50

Tabela 22 - Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) do espectro delta do eletroencefalograma de ratos Wistar-Kyoto, cada um deles fazendo parte dos grupos **Isquemia** (obstrução das carótidas comuns) e **Infusão de glutatation** (obstrução das carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda a 38,99  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$  de solução 0,12 mM de glutatation reduzido). Apenas a atividade hipersíncrona foi analisada. Dos nove animais estudados, do grupo com infusão de glutatation, sete apresentaram atividade eletroencefalográfica hipersíncrona; apenas três, do grupo em que não se promoveu a infusão de glutatation, apresentaram atividade hipersíncrona. Os espaços da tabela sem dados indicam que a atividade hipersíncrona não foi obtida.

Teta (região frontal esquerda)		Teta (região frontal direita)		Teta (região parietal esquerda)		Teta (região parietal direita)	
Isquemia	Infusão de glutatation	Isquemia	Infusão de glutatation	Isquemia	Infusão de glutatation	Isquemia	Infusão de glutatation
192,90	160,20	125,00	116,40	175,20	141,00	179,70	136,70
137,20	164,00	202,90	189,70	168,40	223,70	254,40	330,70
	134,20		193,90		195,10		164,20
	273,30		159,90		274,70		298,30
	331,90		153,20		175,80		159,10
	146,00		116,50		114,90		135,50
147,60	206,90	226,80	295,40	130,10	163,80	161,20	208,30

Tabela 23 - Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) do espectro teta do eletroencefalograma de ratos Wistar-Kyoto, cada um deles fazendo parte dos grupos **Isquemia** (obstrução das carótidas comuns) e **Infusão de glutatation** (obstrução das carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda a  $38,99 \mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$  de solução  $0,12 \text{ mM}$  de glutatation reduzido). Apenas a atividade hipersíncrona foi analisada. Dos nove animais estudados, do grupo com infusão de glutatation, sete apresentaram atividade eletroencefalográfica hipersíncrona; apenas três, do grupo em que não se promoveu a infusão de glutatation, apresentaram atividade hipersíncrona. Os espaços da tabela sem dados indicam que a atividade hipersíncrona não foi obtida.

Grupos comparados	Beta <sub>3</sub>	Beta <sub>2</sub>	Beta <sub>1</sub>	Alfa	Teta	Delta
Frontal E (I) Frontal E (IG)	0,3780	0,7165	0,6193	0,3885	0,5767	0,6129
Frontal D (I) Frontal D (IG)	0,2970	0,6259	0,0039*	0,0983	0,6161	0,9269
Parietal E (I) Parietal E (IG)	0,2887	0,5554	0,4583	0,9882	0,5680	0,8148
Parietal D (I) Parietal D (IG)	0,6120	0,1946	0,9916	0,5655	0,5632	0,5128

Tabela 24 - Significância estatística (P) entre os grupos pares **Isquemia** (I) e **Infusão de glutatation** (IG), quando processadas as amplitudes absolutas médias dos espectros eletroencefalográficos (atividade hipersíncrona); \* significa  $P < 0,05$ .

	Grupo	Beta <sub>3</sub>	Beta <sub>2</sub>	Beta <sub>1</sub>	Alfa	Teta	Delta
Frontal esquerdo	Isquemia	33,46 ± 9,16	45,69 ± 2,77	110,06 ± 7,71	129,50 ± 11,0	159,20 ± 17,10	354,60 ± 98,00
	Infusão de glutatation	31,66 ± 4,64	48,97 ± 6,37	109,45 ± 17,29	146,70 ± 20,60	202,40 ± 28,00	301,60 ± 36,40
Frontal direito	Isquemia	42,80 ± 13,38	51,67 ± 9,21	106,60 ± 23,63	126,40 ± 25,30	184,90 ± 30,70	325,17 ± 75,00
	Infusão de glutatation	33,34 ± 6,28	47,44 ± 5,30	104,80 ± 15,13	138,70 ± 23,30	175,00 ± 23,20	270,50 ± 23,30
Parietal esquerdo	Isquemia	40,92 ± 7,69	50,22 ± 345	110,40 ± 4,38	128,40 ± 4,05	157,90 ± 14,00	328,03 ± 35,00
	Infusão de glutatation	31,46 ± 3,29	47,64 ± 5,22	99,80 ± 12,13	119,70 ± 10,70	184,10 ± 20,10	282,60 ± 27,10
Parietal direito	Isquemia	48,92 ± 9,97	70,28 ± 14,21	139,43 ± 22,76	159,80 ± 26,80	198,40 ± 28,50	365,60 ± 53,50
	Infusão de glutatation	41,15 ± 6,71	60,07 ± 11,49	120,76 ± 21,55	143,60 ± 23,30	204,70 ± 30,00	307,10 ± 43,50

Tabela 25 – Média ( $\mu V$ )  $\pm$  erro padrão da média (E.P.M.) em  $\mu V$  dos espectros de frequência do EEG processados a partir das amplitudes absolutas médias do exame eletrofisiológico de dois grupos pares de animais (n=9): **Isquemia** (obstrução das carótidas comuns) e **Infusão de glutatation** (obstrução das carótidas comuns e infusão intracarotídea de glutatation 0,12 mM). Apenas a atividade hiperincrona foi analisada. Foi considerado n=7 (veja texto).

	Grupo	Beta <sub>3</sub>	Beta <sub>2</sub>	Beta <sub>1</sub>	Alfa	Teta	Delta
Frontal esquerdo.	Isquemia	33,46 ± 9,16	45,69 ± 2,77	110,06 ± 7,71	129,50 ± 11,0	159,20 ± 17,10	354,60 ± 98,00
	Infusão de glutatation	36,40 ± 7,04	47,40 ± 3,75	103,68 ± 10,56	143,10 ± 11,60	177,00 ± 15,00	326,40 ± 50,40
Frontal direito	Isquemia	42,80 ± 13,38	51,67 ± 9,21	106,60 ± 23,63	126,40 ± 25,30	184,90 ± 30,70	325,17 ± 75,00
	Infusão de glutatation	45,50 ± 11,55	53,27 ± 9,24	131,70 ± 23,63	182,00 ± 43,60	200,50 ± 52,00	319,63 ± 26,50
Parietal esquerdo	Isquemia	40,92 ± 7,69	50,22 ± 345	110,40 ± 4,38	128,40 ± 4,05	157,90 ± 14,00	328,03 ± 35,00
	Infusão de glutatation	36,66 ± 4,90	46,70 ± 5,60	99,20 ± 12,92	128,20 ± 15,75	176,20 ± 24,70	322,00 ± 26,80
Parietal direito	Isquemia	48,92 ± 9,97	70,28 ± 14,21	139,43 ± 22,76	159,80 ± 26,80	198,40 ± 28,50	365,60 ± 53,50
	Infusão de glutatation	50,95 ± 6,73	64,78 ± 15,57	139,51 ± 28,77	174,20 ± 39,90	225,20 ± 56,60	389,20 ± 53,00

Tabela 26 – Média ( $\mu V$ )  $\pm$  erro padrão da média (E.P.M.) em  $\mu V$  dos espectros de frequência do EEG processados a partir das amplitudes absolutas médias do exame eletrofisiológico de dois grupos pares de animais (n=9): **Isquemia** (obstrução das carótidas comuns) e **Infusão de glutatation** (obstrução das carótidas comuns e infusão intracarotídea de glutatation 0,12 mM). Apenas a atividade hiperincrona foi analisada. Foi considerado n=3 (veja texto).

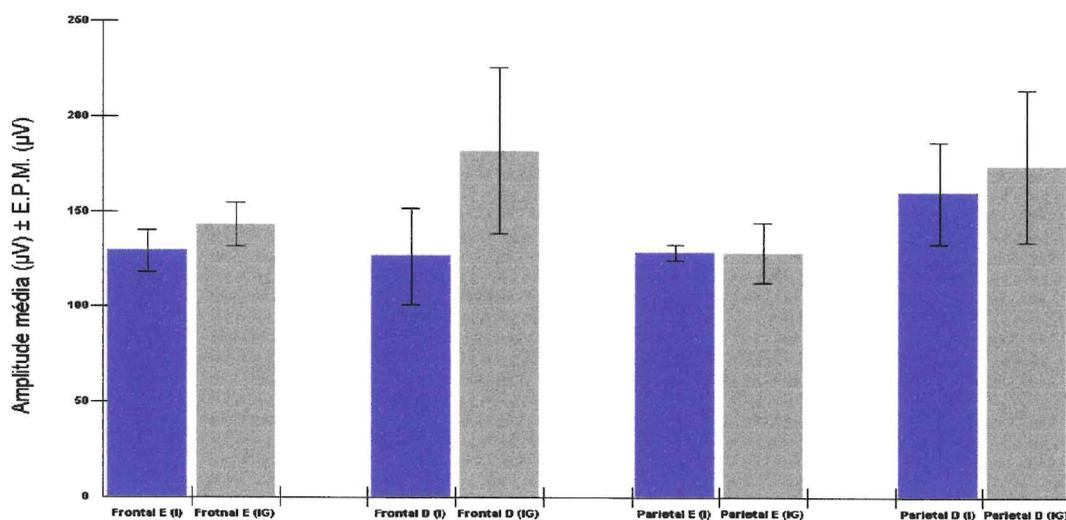


Gráfico 14 – Modificação das amplitudes absolutas médias do espectro alfa do EEG com atividade hipersíncrona de ratos com obstrução bilateral das carótidas comuns induzida por infusão intracarotídea esquerda de GSH (0,12 mM). E significa esquerda; D, direita, (I) isquemia devida a obstrução bilateral das artérias carótidas comuns; (IG), infusão intracarotídea esquerda de GSH em animais com obstrução das artérias carótidas comuns. Não há aumento significativo da amplitude com a infusão de GSH.

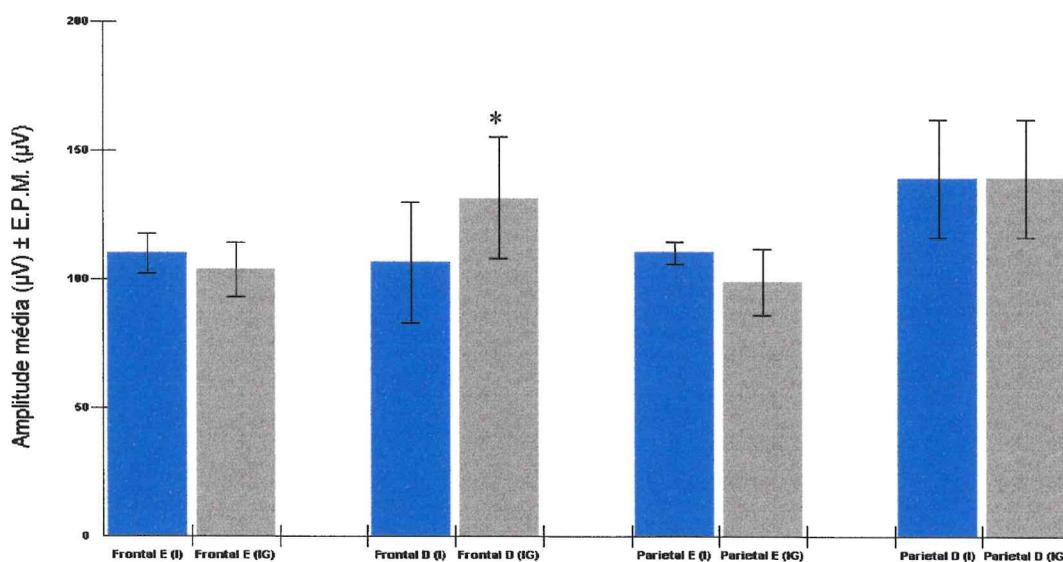


Gráfico 15 – Modificação das amplitudes absolutas médias do espectro beta<sub>1</sub> do EEG com atividade hipersíncrona de ratos com obstrução bilateral das carótidas comuns induzida por infusão intracarotídea esquerda de GSH (0,12 mM). E significa esquerda; D, direita, (I) isquemia devida a obstrução bilateral das artérias carótidas comuns; (IG), infusão intracarotídea esquerda de GSH em animais com obstrução das carótidas comuns. Na região frontal direita, há aumento significativo da amplitude com a infusão de GSH; \* significa  $P < 0,05$ .

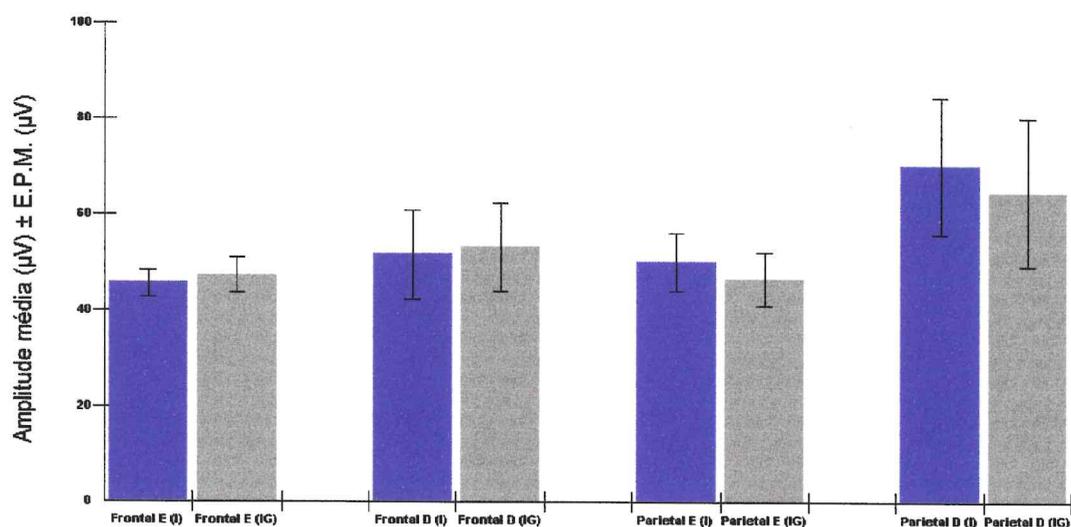


Gráfico 16 – Modificação das amplitudes absolutas médias do espectro beta<sub>2</sub> do EEG com atividade hipersíncrona de ratos com obstrução bilateral das carótidas comuns induzida por infusão intracarotídea esquerda de GSH (0,12 mM). E significa esquerda; D, direita, (I) isquemia devida a obstrução bilateral das artérias carótidas comuns; (IG), infusão intracarotídea esquerda de GSH em animais com obstrução das artérias carótidas comuns. Não há aumento significativo da amplitude com a infusão de GSH.

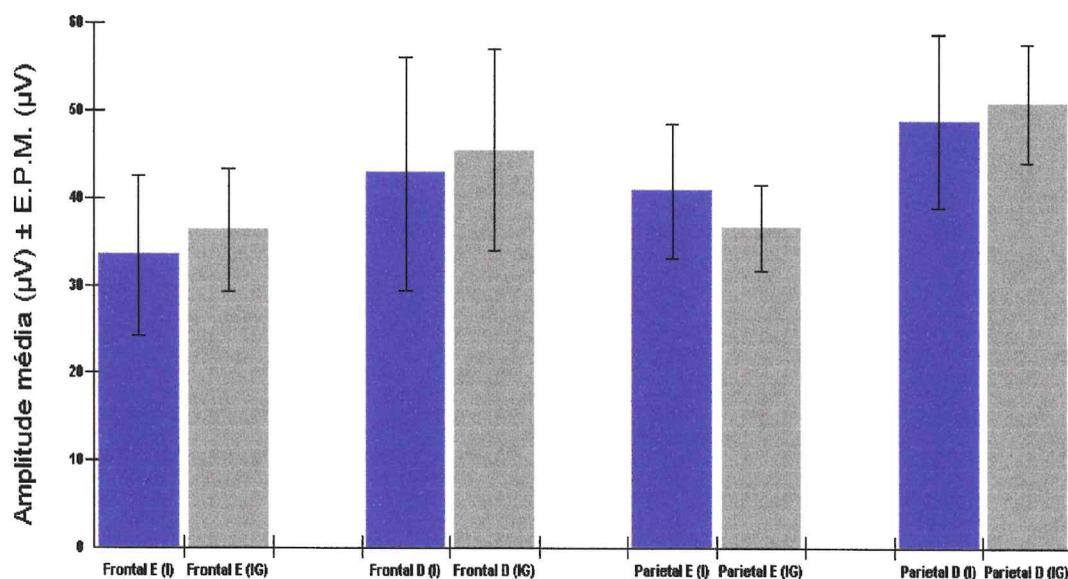


Gráfico 17 – Modificação das amplitudes absolutas médias do espectro beta<sub>3</sub> do EEG com atividade hipersíncrona de ratos com obstrução bilateral das carótidas comuns induzida por infusão intracarotídea esquerda de GSH (0,12 mM). E significa esquerda; D, direita, (I) isquemia devida a obstrução bilateral das artérias carótidas comuns; (IG), infusão intracarotídea esquerda de GSH em animais com obstrução das artérias carótidas comuns. Não há aumento significativo da amplitude com a infusão de GSH.

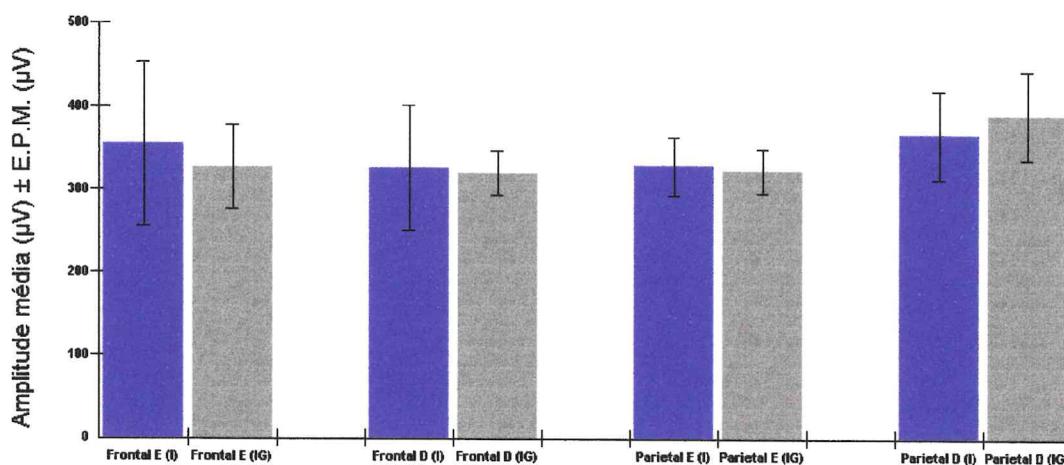


Gráfico 18 – Modificação das amplitudes absolutas médias do espectro delta do EEG com atividade hipersíncrona de ratos com obstrução bilateral das carótidas comuns induzida por infusão intracarotídea esquerda de GSH (0,12 mM). E significa esquerda; D, direita, (I) isquemia devida a obstrução bilateral das artérias carótidas comuns; (IG), infusão intracarotídea esquerda de GSH em animais com obstrução das artérias carótidas comuns. Não há aumento significativo da amplitude com a infusão de GSH.

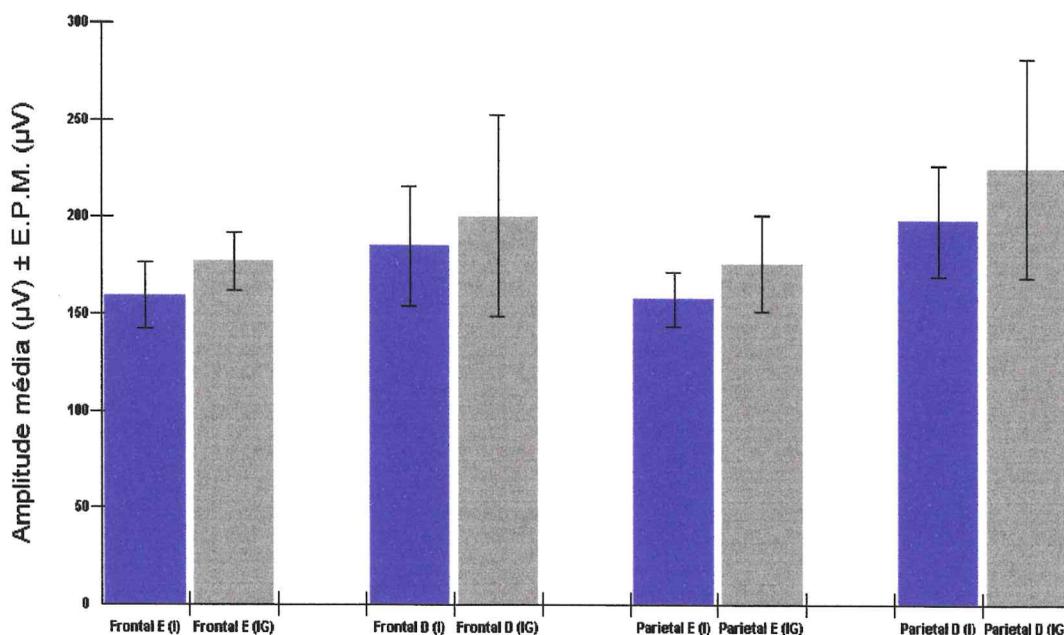


Gráfico 19 – Modificação das amplitudes absolutas médias do espectro teta do EEG com atividade hipersíncrona de ratos com obstrução bilateral das carótidas comuns induzida por infusão intracarotídea esquerda de GSH (0,12 mM). E significa esquerda; D, direita, (I) isquemia devida a obstrução bilateral das artérias carótidas comuns; (IG), infusão intracarotídea esquerda de GSH em animais com obstrução das artérias carótidas comuns. Não há aumento significativo da amplitude com a infusão de GSH.

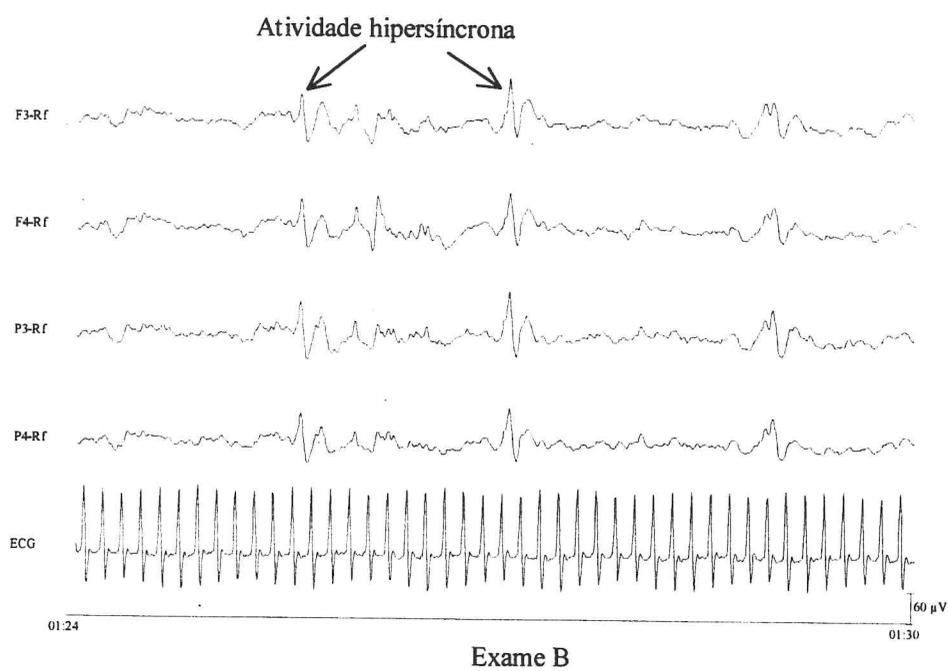
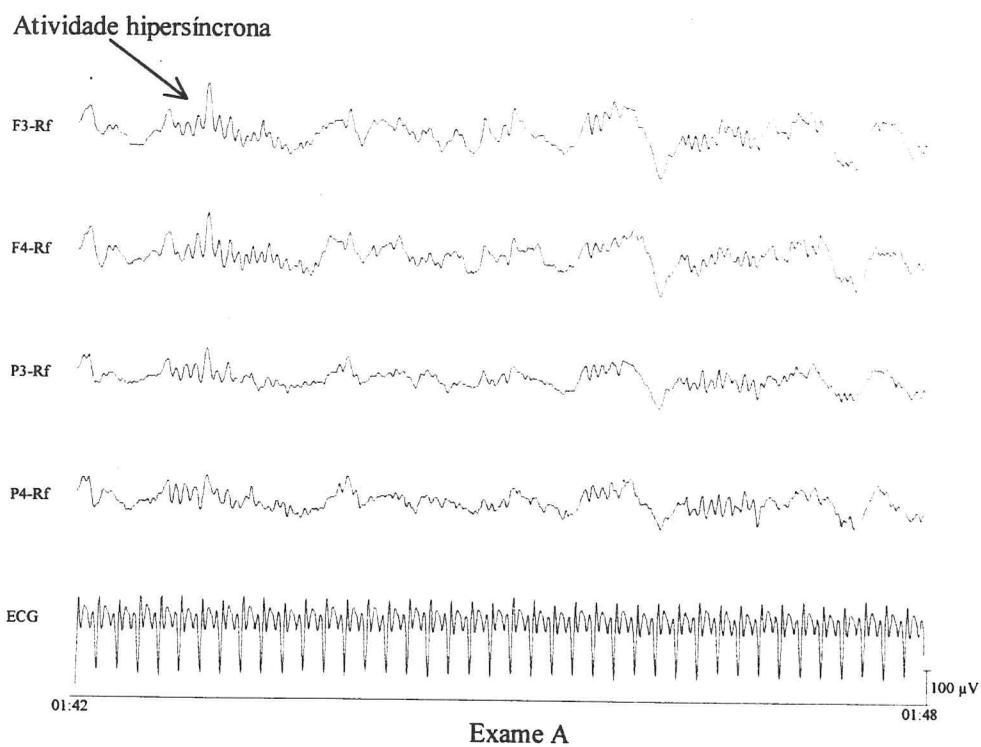


Figura 23 – EEG e ECG de ratos Wistar-Kyoto anestesiados, demonstrando modalidades de atividade eletroencefalográfica hipersíncrona. F3 significa frontal esquerda; F4, frontal direito; P3, parietal esquerdo; P4, parietal direito; Rf, referência.

A infusão intracarotídea esquerda de solução 0,12 mM de glutathione em salina, a 38,99  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , durante 60 minutos, não causou no EEG de ratos anestesiados com obstrução bilateral das carótidas comuns alterações significativas das amplitudes absolutas médias da maioria dos espectros de frequência da atividade eletroencefalográfica hipersíncrona. A amplitude absoluta média do espectro  $\beta_1$  frontal direito, contudo, aumentou significativamente ( $P=0,0039$ ). Dos nove animais utilizados no experimento, o exame de três do grupo em que não se promoveu a infusão intracarotídea de glutathione demonstrou atividade hipersíncrona. Ao se promover a infusão intracarotídea esquerda de glutathione, sete dos nove animais apresentaram eletroencefalograma com atividade hipersíncrona.

### **5.3 Estudo das amplitudes absolutas médias dos espectros eletroencefalográficos em ratos com oclusão das carótidas comuns e infusão intracarotídea de solução de solução 1,2 mM de glutathione reduzido**

As tabelas 27 a 33 demonstram os valores das amplitudes absolutas médias dos espectros de frequência do eletroencefalograma (alfa,  $\beta_1$ ,  $\beta_2$ ,  $\beta_3$ , delta e teta) obtidos a partir de sua avaliação quantitativa no grupo controle (ratos anestesiados com isquemia induzida por obstrução das artérias carótidas comuns) e no grupo tratamento (mesmos ratos, nos quais se promoveu infusão intracarotídea esquerda a 43,67  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , durante sessenta minutos, de solução 1,2 mM de glutathione reduzido). As tabelas 34 e 35 demonstram os valores das médias das amplitudes absolutas  $\pm$  erro padrão da média e de P respectivamente. Os gráficos 20 a 26 resumem os achados estatísticos, e as figuras 24 e 25 demonstram um eletroencefalograma do animal com isquemia e do mesmo animal com infusão intracarotídea esquerda de solução de glutathione reduzido.

Alfa (região frontal esquerda)		Alfa (região frontal direita)		Alfa (região parietal esquerda)		Alfa (região parietal direita)	
Isquemia	Infusão de glutatation	Isquemia	Infusão de glutatation	Isquemia	Infusão de glutatation	Isquemia	Infusão de glutatation
45,66	53,70	45,23	54,98	44,17	57,18	49,10	56,71
36,03	52,43	55,42	65,62	36,88	50,19	55,01	74,21
18,06	33,22	21,09	41,66	15,47	26,27	22,12	41,00
18,33	39,99	21,89	38,26	25,77	51,62	49,16	76,86
33,59	34,03	36,66	39,24	33,74	38,08	40,52	44,76
12,44	17,12	13,30	18,89	24,10	28,70	19,76	25,33
7,73	12,66	8,13	13,20	10,24	27,82	16,08	35,65
10,32	25,08	12,95	32,62	16,94	31,57	16,63	31,33

Tabela 27 – Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) do espectro alfa processadas do eletroencefalograma de oito ratos Wistar-Kyoto anestesiados e com obstrução das artérias carótidas comuns, cada um deles fazendo parte dos grupos controle e tratamento (infusão intracarotídea esquerda, a 43,67  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , de solução 1,2 mM de glutatation reduzido).

Beta <sub>1</sub> (região frontal esquerda)		Beta <sub>2</sub> (região frontal esquerda)		Beta <sub>3</sub> (região frontal esquerda)	
Isquemia	Infusão de glutatation	Isquemia	Infusão de glutatation	Isquemia	Infusão de glutatation
42,02	50,25	37,63	41,94	31,98	34,60
38,53	50,11	29,62	36,67	22,13	27,06
25,42	26,08	16,04	17,62	12,37	13,38
19,19	32,02	14,49	18,72	12,39	14,20
31,89	40,51	21,30	26,11	14,44	17,12
14,22	20,99	10,71	14,29	9,27	12,33
12,44	16,04	6,19	7,70	4,28	6,41
14,88	26,48	11,52	16,55	8,45	10,52

Tabela 28 – Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) dos espectros beta da região frontal esquerda processadas do eletroencefalograma de oito ratos Wistar-Kyoto anestesiados e com obstrução das artérias carótidas comuns, cada um deles fazendo parte dos grupos controle e tratamento (infusão intracarotídea esquerda, a 43,67  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , de solução 1,2 mM de glutatation reduzido).

Beta <sub>1</sub> (região frontal direita)		Beta <sub>2</sub> (região frontal direita)		Beta <sub>3</sub> (região frontal direita)	
Isquemia	Infusão de glutatation	Isquemia	Infusão de glutatation	Isquemia	Infusão de glutatation
40,70	47,75	36,39	37,69	30,72	31,69
56,86	57,74	45,16	50,03	39,65	44,66
28,65	29,78	18,17	19,77	13,39	14,12
21,98	29,79	13,88	15,66	11,16	12,83
33,95	44,10	25,65	29,01	15,83	18,75
16,28	23,55	13,35	17,90	9,54	13,08
14,20	17,52	8,32	9,13	5,91	6,56
14,82	23,12	9,47	15,43	5,22	9,84

Tabela 29 – Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) dos espectros beta da região frontal direita processadas do eletroencefalograma de oito ratos Wistar-Kyoto anestesiados e com obstrução das artérias carótidas comuns, cada um deles fazendo parte dos grupos controle e tratamento (infusão intracarotídea esquerda, a 43,67  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , de solução 1,2 mM de glutatation reduzido).

Beta <sub>1</sub> (região parietal esquerda)		Beta <sub>2</sub> (região parietal esquerda)		Beta <sub>3</sub> (região parietal esquerda)	
Isquemia	Infusão de glutathion	Isquemia	Infusão de glutathion	Isquemia	Infusão de glutathion
43,12	56,36	38,04	37,67	32,66	33,31
40,60	44,39	29,62	36,57	26,28	31,09
23,24	19,29	13,12	12,14	10,98	10,79
33,34	49,59	23,76	28,98	16,18	18,89
30,50	39,94	19,06	23,05	15,13	18,27
26,09	37,79	15,57	24,81	11,58	16,31
18,29	32,43	9,57	16,83	5,82	13,33
26,79	35,05	20,86	24,40	15,53	18,25

Tabela 30 – Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) das faixas de frequência beta da região parietal esquerda processadas do eletroencefalograma de oito ratos Wistar-Kyoto anestesiados com uretana e com obstrução das artérias carótidas comuns, cada um deles fazendo parte dos grupos controle e tratamento (infusão intracarotídea esquerda, a 43,67  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , de solução 1,2 mM de glutathion reduzido).

Beta <sub>1</sub> (região parietal direita)		Beta <sub>2</sub> (região parietal direita)		Beta <sub>3</sub> (região parietal direita)	
Isquemia	Infusão de glutathion	Isquemia	Infusão de glutathion	Isquemia	Infusão de glutathion
49,29	58,58	46,32	48,26	39,46	40,30
66,94	65,64	60,00	71,24	69,90	63,62
36,61	31,05	23,73	22,64	17,46	16,50
41,51	56,16	24,72	31,40	17,88	23,46
38,22	57,48	27,44	35,69	17,10	24,66
24,28	34,11	20,71	29,00	15,12	21,84
33,81	49,79	17,56	25,05	12,86	19,75
23,36	31,88	15,12	23,95	9,89	15,49

Tabela 31 – Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) das faixas de frequência beta da região parietal direita processadas do eletroencefalograma de oito ratos Wistar-Kyoto anestesiados com uretana e com obstrução das artérias carótidas comuns, cada um deles fazendo parte dos grupos controle e tratamento (infusão intracarotídea esquerda, a 43,67  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , de solução 1,2 mM de glutathion reduzido).

Delta (região frontal esquerda)		Delta (região frontal direita)		Delta (região parietal esquerda)		Delta (região parietal direita)	
Isquemia	Infusão de Glutation	Isquemia	Infusão de glutatation	Isquemia	Infusão de glutatation	Isquemia	Infusão de glutatation
66,37	101,30	63,17	96,11	68,86	97,38	65,66	100,00
67,00	63,04	61,13	50,85	62,63	51,77	48,87	59,59
35,07	45,34	43,76	48,01	26,35	35,90	35,80	40,88
45,40	85,15	32,98	66,81	49,89	106,60	50,62	109,80
60,26	65,43	62,30	66,44	41,62	52,68	52,03	60,40
32,12	43,94	25,85	46,54	50,77	66,22	38,85	45,38
11,65	28,01	10,45	25,37	16,17	43,59	19,79	42,39
19,91	31,79	20,82	23,21	25,06	38,08	23,41	40,20

Tabela 32 – Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) da faixa de frequência delta processadas do eletroencefalograma de oito ratos Wistar-Kyoto anestesiados com uretana, e com obstrução das artérias carótidas comuns, cada um deles fazendo parte dos grupos controle e tratamento (infusão intracarotídea esquerda, a 43,67  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , de solução 1,2 mM de glutatation reduzido).

Teta (região frontal esquerda)		Teta (região frontal direita)		Teta (região parietal esquerda)		Teta (região parietal direita)	
Isquemia	Infusão de glutatation	Isquemia	Infusão de glutatation	Isquemia	Infusão de glutatation	Isquemia	Infusão de glutatation
59,35	110,70	61,15	107,60	57,30	104,60	69,32	119,30
58,98	58,17	86,73	80,87	59,49	57,99	96,16	93,91
28,91	44,30	39,41	52,97	26,99	33,39	49,83	57,82
16,56	59,21	31,78	54,15	33,20	73,75	83,23	114,10
34,84	51,74	48,49	64,92	43,05	55,18	69,71	83,90
22,98	28,87	29,30	38,78	44,07	50,15	40,23	45,67
17,32	23,00	17,31	24,87	27,23	44,50	34,07	54,08
23,68	27,03	20,41	29,51	32,44	35,41	23,56	41,34

Tabela 33 – Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) da faixa de frequência teta processadas do eletroencefalograma de oito ratos Wistar-Kyoto anestesiados com uretana, e com obstrução das artérias carótidas comuns, cada um deles fazendo parte dos grupos controle e tratamento (infusão intracarotídea esquerda, a 43,67  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , de solução 1,2 mM de glutatation reduzido).

Grupo		Beta <sub>3</sub>	Beta <sub>2</sub>	Beta <sub>1</sub>	Alfa	Teta	Delta
Região frontal esquerda	Isquemia	14,41 ± 3,11	18,44 ± 3,73	24,82 ± 4,08	22,77 ± 4,90	32,80 ± 6,11	42,20 ± 7,46
	Infusão de glutatión	16,95 ± 3,30	22,45 ± 4,12	32,81 ± 4,57	33,53 ± 5,32	50,40 ± 9,98	58,00 ± 9,10
Região frontal direita	Isquemia	16,43 ± 4,36	21,30 ± 4,73	28,43 ± 5,29	26,83 ± 6,03	41,80 ± 8,19	40,10 ± 7,30
	Infusão de glutatión	18,94 ± 4,54	24,33 ± 4,83	34,17 ± 4,98	38,06 ± 6,09	56,70 ± 9,76	52,90 ± 8,40
Região parietal esquerda	Isquemia	16,77 ± 3,07	21,20 ± 3,27	30,25 ± 3,00	25,90 ± 4,13	40,50 ± 4,51	42,70 ± 6,66
	Infusão de glutatión	20,03 ± 2,84	25,56 ± 3,12	39,36 ± 3,99	38,90 ± 4,36	56,90 ± 8,21	61,50 ± 9,49
Região parietal direita	Isquemia	25,00 ± 7,16	29,45 ± 5,51	39,25 ± 4,98	33,50 ± 5,84	58,30 ± 8,96	41,90 ± 5,46
	Infusão de glutatión	28,20 ± 5,74	35,90 ± 5,83	48,09 ± 4,86	48,20 ± 6,81	76,30 ± 10,89	62,30 ± 9,75

Tabela 34 – Média das amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ )  $\pm$  erro padrão da média ( $\mu\text{V}$ ) dos espectros de frequência do EEG processados a partir das amplitudes absolutas médias do exame eletrofisiológico de dois grupos pares de animais ( $n=8$ ): **Isquemia** (obstrução das carótidas comuns) e **Infusão de glutatión** (obstrução das carótidas comuns e infusão intracarotídea de solução 1,2 mM de glutatión reduzido).

Grupos comparados	P					
	Beta <sub>3</sub>	Beta <sub>2</sub>	Beta <sub>1</sub>	Alfa	Teta	Delta
Frontal E (I) Frontal E (IG)	0,0004	0,0004	0,0011	0,0041	0,0365	0,0188
Frontal D (I) Frontal D (IG)	0,0049	0,0030	0,0023	0,0025	0,0272	0,0525
Parietal E (I) Parietal E (IG)	0,0070	0,0048	0,0206	0,0011	0,0365	0,0294
Parietal D (I) Parietal D (IG)	0,1415(t) 0,1484 (x) 0,1042(st)	0,0027	0,0216	0,0015	0,0171	0,0165

Tabela 35 – Nível de significância (P) com relação a aumento da amplitude dos potenciais do eletroencefalograma induzido por infusão intracarotídea esquerda de GSH (1,2 mM) em ratos Wistar-Kyoto com obstrução das carótidas comuns; (t) significa estatístico; (x), exato; (st), teste t-Student; D, direito; E, esquerdo; (I), isquemia; (IG), obstrução das carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda de GSH (1,2 mM); (x) e (t) se referem ao teste “Wilcoxon Signed Rank”.

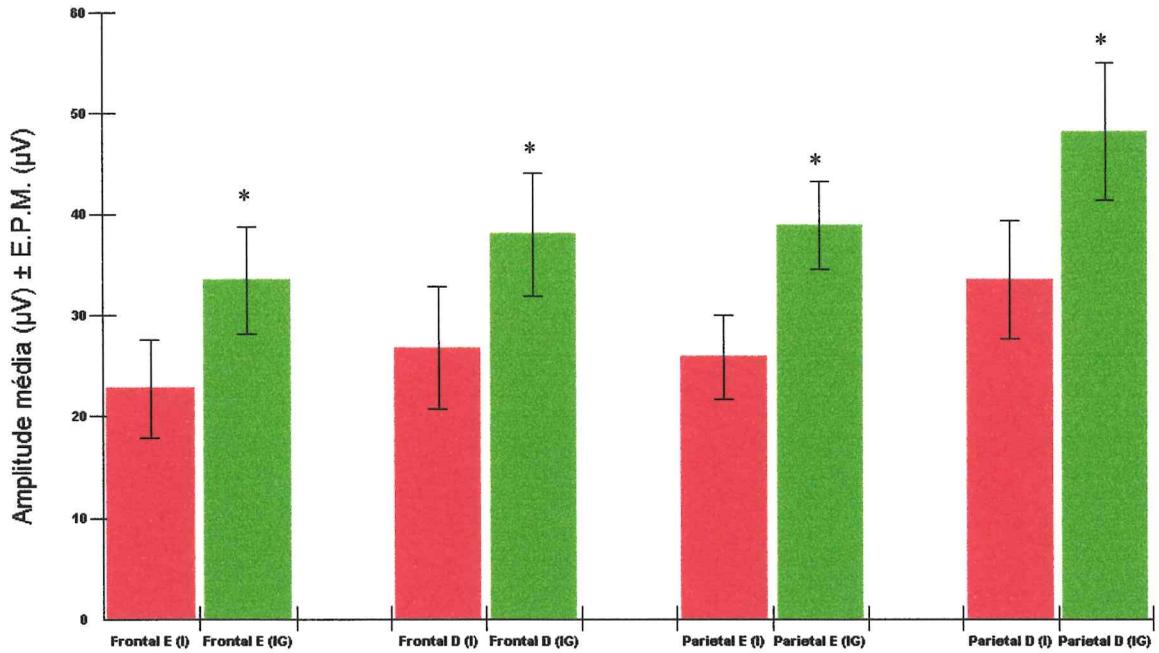


Gráfico 20 – Aumento da amplitude média absoluta do espectro alfa induzido por infusão intracarotídea esquerda de GSH (1,2 mM). E significa esquerda; D, direita, (I) isquemia devida a obstrução bilateral das artérias carótidas comuns; (IG), infusão intracarotídea esquerda de GSH em animais com obstrução das artérias carótidas comuns; \*,  $P < 0,05$ .

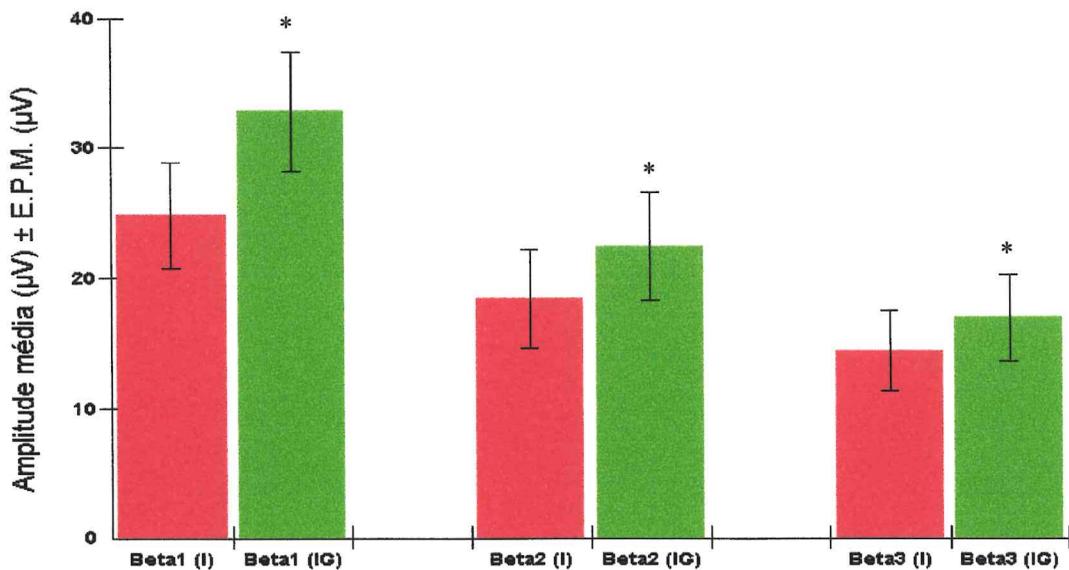


Gráfico 21 – Aumento da amplitude média absoluta do espectro beta frontal esquerdo induzido por infusão intracarotídea esquerda de GSH (1,2 mM). (I) significa isquemia devida a obstrução bilateral das artérias carótidas comuns; (IG), infusão intracarotídea esquerda de GSH em animais com obstrução das artérias carótidas comuns; Beta1, beta<sub>1</sub>, Beta2, beta<sub>2</sub>, Beta3, beta<sub>3</sub>, \*,  $P < 0,05$ .

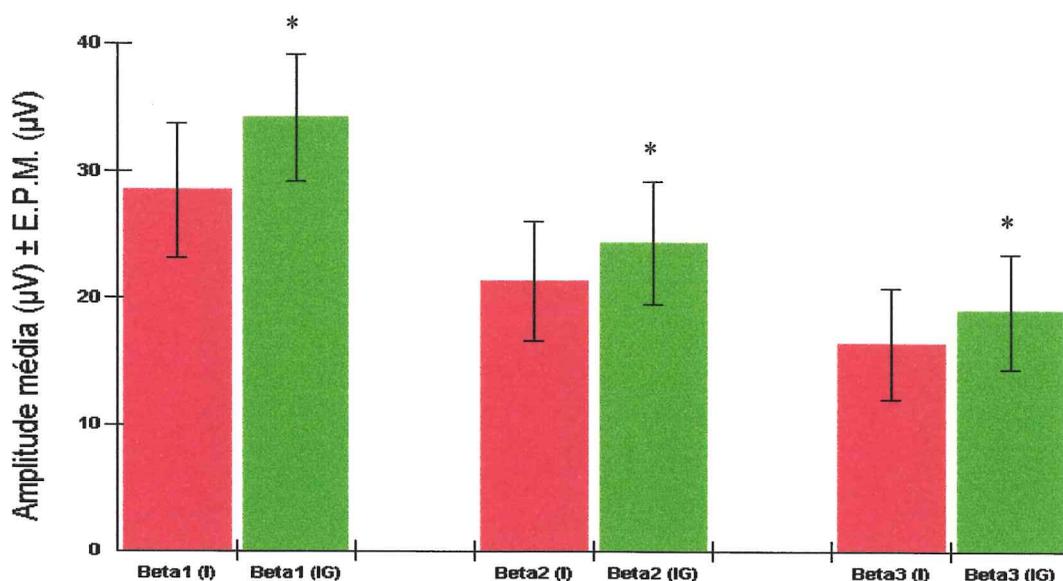


Gráfico 22 - Aumento da amplitude média absoluta do espectro beta frontal direito induzido por infusão intracarotídea esquerda de GSH (1,2 mM). (I) significa isquemia devida a obstrução bilateral das artérias carótidas comuns; (IG), infusão intracarotídea esquerda de GSH em animais com obstrução das artérias carótidas comuns; Beta1, beta<sub>1</sub>, Beta2, beta<sub>2</sub>, Beta3, beta<sub>3</sub>, \*, P<0,05.

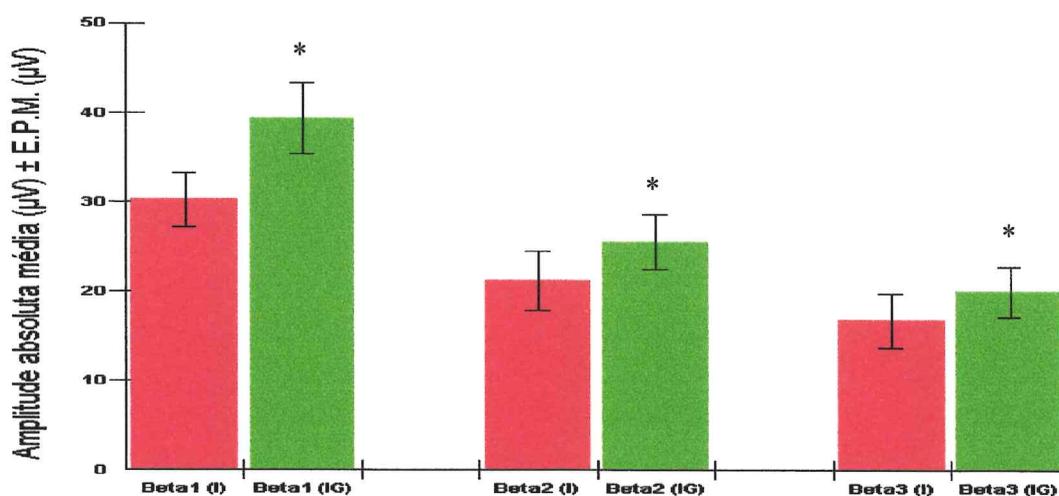


Gráfico 23 - Aumento da amplitude média absoluta do espectro beta parietal esquerdo induzido por infusão intracarotídea esquerda de GSH (1,2 mM). (I) significa isquemia devida a obstrução bilateral das artérias carótidas comuns; (IG), infusão intracarotídea esquerda de GSH em animais com obstrução das artérias carótidas comuns; Beta1, beta<sub>1</sub>, Beta2, beta<sub>2</sub>, Beta3, beta<sub>3</sub>, \*, P<0,05.

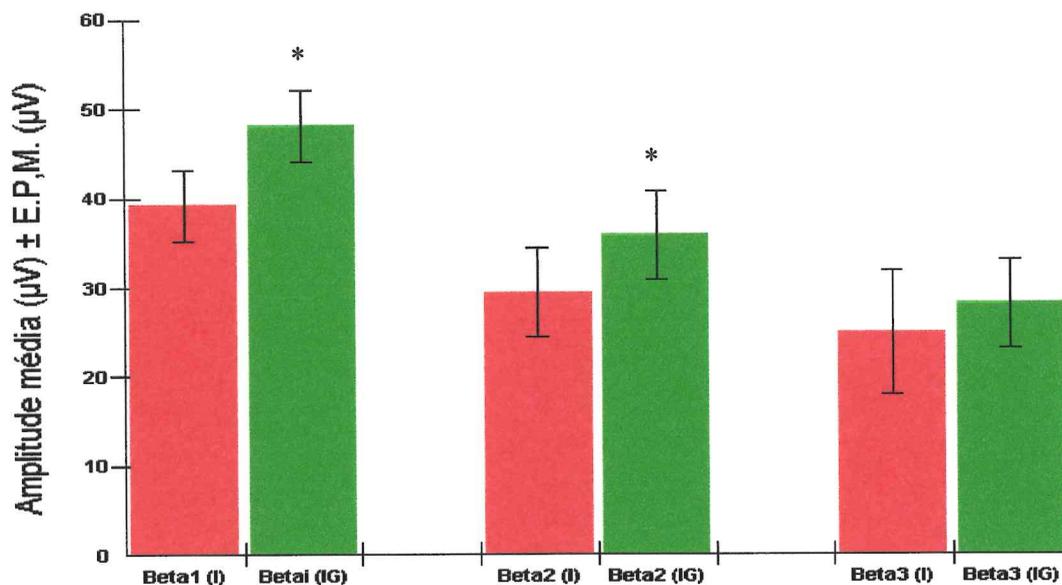


Gráfico 24 - Aumento da amplitude média absoluta do espectro beta parietal direito induzido por infusão intracarotídea esquerda de GSH (1,2 mM). (I) significa isquemia devida a obstrução bilateral das artérias carótidas comuns; (IG), infusão intracarotídea esquerda de GSH em animais com obstrução das artérias carótidas comuns; Beta1, beta<sub>1</sub>, Beta2, beta<sub>2</sub>, Beta3, beta<sub>3</sub>, \*, P<0,05.

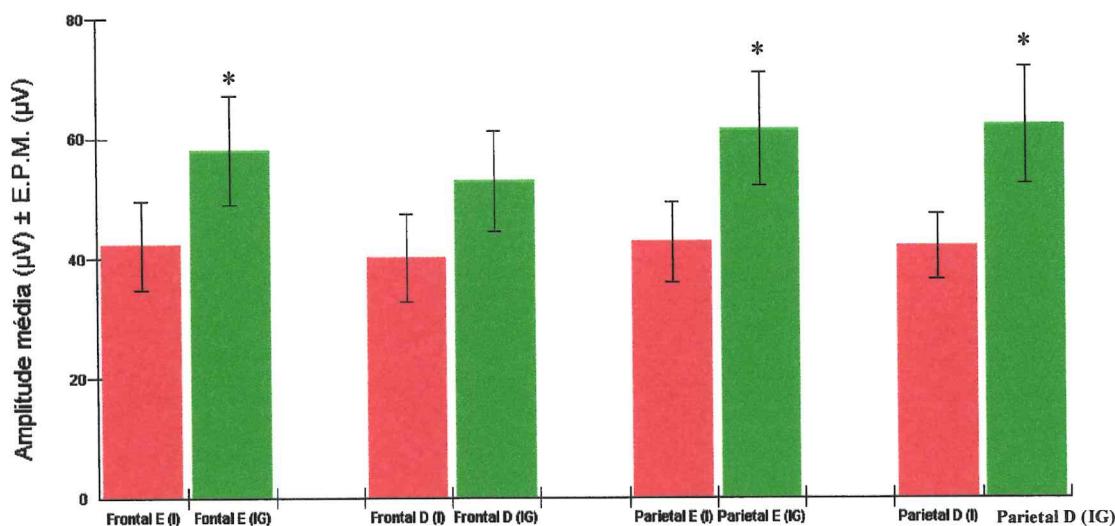


Gráfico 25 – Aumento da amplitude média absoluta do espectro delta induzido por infusão intracarotídea esquerda de GSH (1,2 mM). E significa esquerda; D, direita, (I) isquemia devida a obstrução bilateral das artérias carótidas comuns; (IG), infusão intracarotídea esquerda de GSH em animais com obstrução das artérias carótidas comuns; \*, P<0,05.

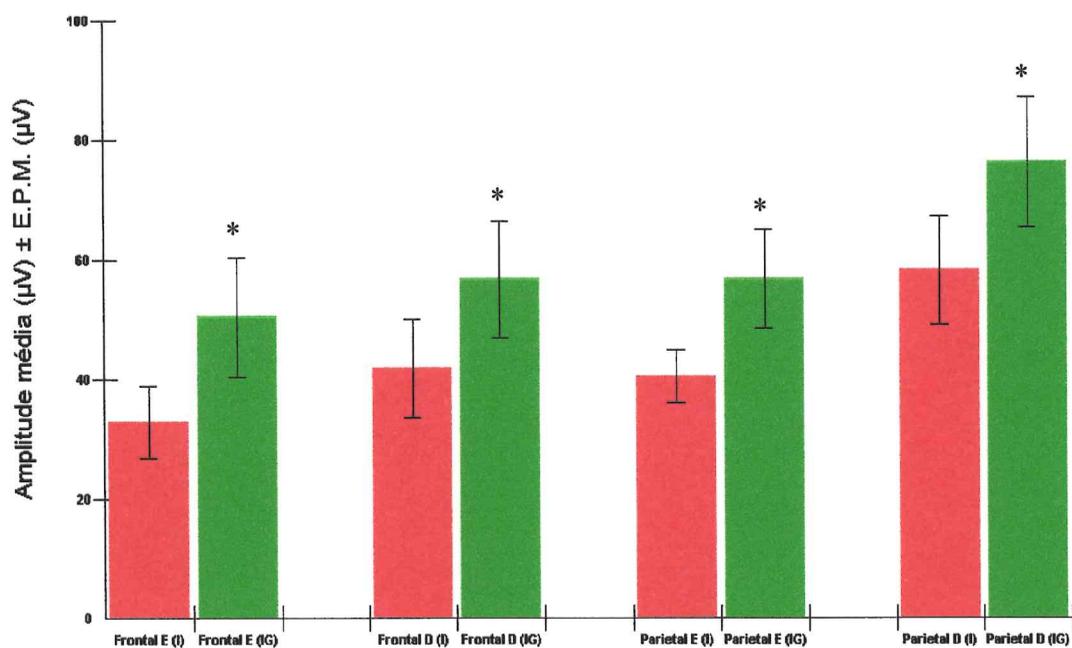


Gráfico 26 – Aumento da amplitude média absoluta do espectro teta induzido por infusão intracarotídea esquerda de GSH (1,2 mM). E significa esquerda; D, direita, (I) isquemia devida a obstrução bilateral das artérias carótidas comuns; (IG), infusão intracarotídea esquerda de GSH em animais com obstrução das artérias carótidas comuns; \*,  $P < 0,05$ .

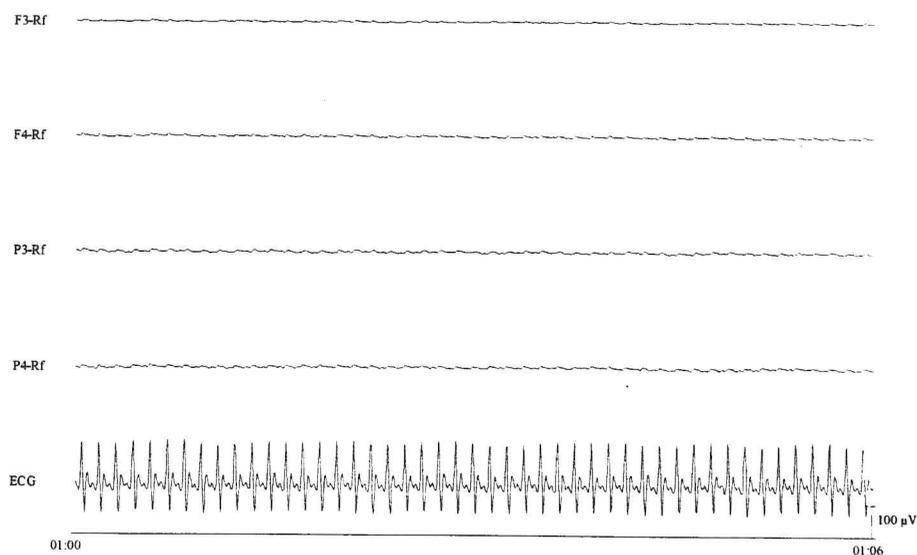


Figura 24 – EEG e ECG de rato anestesiado com obstrução bilateral das carótidas comuns. F3 significa frontal esquerdo; F4, frontal direito; P3, parietal esquerdo; P4, parietal direito; Rf, referência; ECG, eletrocardiograma.

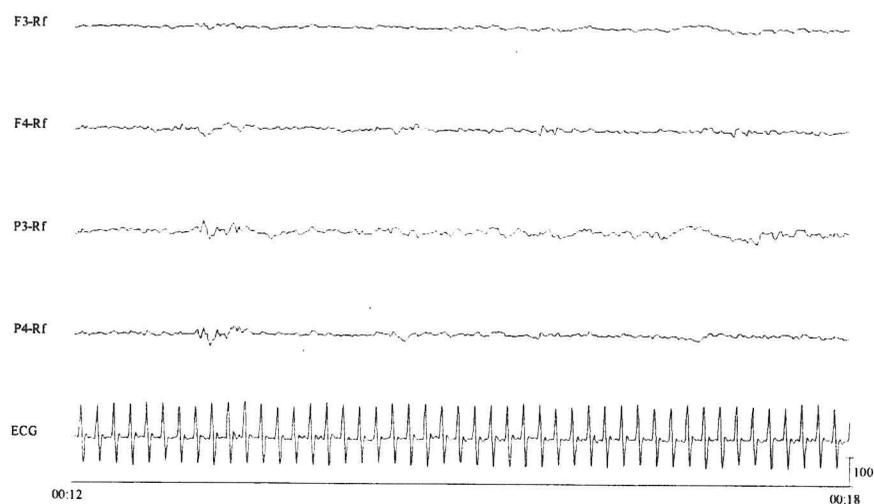


Figura 25 – EEG e ECG do mesmo animal da figura anterior durante infusão de GSH (1,2 mM).

A avaliação estatística dos dados apresentados nas tabelas 27 a 33 detectou uma falha do teste de normalidade na avaliação das amplitudes absolutas médias do espectro  $\beta_3$  na região parietal direita. A análise estatística, neste caso, incluiu o teste “Wilcoxon Signed Rank” (tabela 35). As tabelas 34 e 35 e os gráficos 20 a 26 demonstram um aumento da média das amplitudes absolutas médias de todos os espectros de frequência do eletroencefalograma nos grupos **Infusão de glutathione** em todas as regiões estudadas. Somente os espectros  $\beta_3$  da região parietal direita e delta da região parietal direita apresentaram variações não significativas das médias das amplitudes absolutas médias. O aumento da média das amplitudes absolutas médias nos grupos com infusão de glutathione reduzido 1,2 mM foi estatisticamente significativo em todos os demais espectros de todas as demais regiões (tabela 35, gráficos 20 a 26). As variações mais significativas foram observadas com os espectros  $\beta_1$ ,  $\beta_2$  e  $\beta_3$  na região frontal esquerda,  $\beta_1$  na região frontal direita e alfa nas regiões parietais e frontal direita (tabela 35).

#### **5.4. Estudo das amplitudes absolutas médias dos espectros eletroencefalográficos em ratos com oclusão das carótidas comuns e infusão intracarotídea de solução salina**

As tabelas 36 a 47 demonstram os valores das amplitudes absolutas médias dos espectros de frequência do eletroencefalograma (alfa,  $\beta_1$ ,  $\beta_2$ ,  $\beta_3$ , delta e teta) obtidos a partir de sua avaliação quantitativa no grupo controle (ratos anestesiados com isquemia induzida por obstrução das artérias carótidas comuns) e no grupo tratamento (mesmos ratos, nos quais se promoveu infusão intracarotídea esquerda de solução salina 0,9 %, a 43,70  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , durante sessenta minutos). As tabelas 49 e 50 demonstram os valores das médias das

amplitudes absolutas médias  $\pm$  erro padrão da média, e as tabelas 48 e 51 demonstram os valores de P. Os gráficos 27 a 38 resumem os achados estatísticos.

A análise do eletroencefalograma dos animais nesta fase experimental permitiu a distinção de dois padrões eletrofisiológicos distintos: atividade **hipersíncrona** e atividade **não hipersíncrona**. Dos nove animais estudados, oito apresentaram atividade hipersíncrona, tanto no grupo **Isquemia**, quanto no grupo **Infusão de salina**.

Como observado nas tabelas 49 e 50 e nos gráficos 27 a 38, as variações das médias das amplitudes absolutas médias nos grupos controle (isquemia) e de tratamento (isquemia e infusão intracarotídea de solução salina) foram mínimas e não obedeceram a uma padronização definida. Quando a análise das variações das médias das amplitudes absolutas médias dos espectros levou em consideração a atividade não hipersíncrona, não houve nenhuma diferença estatisticamente significativa envolvendo os grupos controle e de tratamento (tabela 48). Observa-se aumento significativo da amplitude absoluta média do espectro delta da região frontal esquerda, durante a infusão de solução salina (tabela 51, gráfico 37).

Alfa (região frontal esquerda)		Alfa (região frontal direita)		Alfa (região parietal esquerda)		Alfa (região parietal direita)	
Isquemia	Infusão de Salina	Isquemia	Infusão de salina	Isquemia	Infusão de salina	Isquemia	Infusão de salina
61,73	54,05	65,26	55,41	46,41	36,89	46,02	36,18
34,97	42,24	52,67	46,09	39,46	45,93	41,60	39,43
26,56	21,19	38,59	19,75	35,27	28,54	41,40	23,32
88,33	79,07	85,01	95,85	52,47	65,92	47,24	61,01
8,76	11,30	5,52	10,30	18,43	19,46	16,81	15,84
70,73	74,97	49,84	60,31	46,32	53,30	31,72	32,55
5,66	6,78	4,05	6,03	8,45	12,96	8,93	12,57
59,86	68,43	54,72	57,03	74,65	94,43	97,10	102,90
30,42	125,90	22,60	93,74	27,02	105,70	21,41	95,21

Tabela 36 - Amplitudes absolutas médias ( $\mu$ V) da faixa de frequência alfa processadas do eletroencefalograma de nove ratos Wistar-Kyoto anestesiados com uretana, cada um deles fazendo parte dos grupos **Isquemia** (obstrução das carótidas comuns) e **Infusão de salina** (obstrução das carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda, durante 60 minutos, de solução salina a 43,70  $\mu$ l/100g/min). Apenas a atividade não hipersíncrona foi analisada.

Beta <sub>1</sub> (região frontal esquerda)		Beta <sub>1</sub> (região frontal direita)		Beta <sub>1</sub> (região parietal esquerda)		Beta <sub>1</sub> (região parietal direita)	
Isquemia	Infusão de Salina	Isquemia	Infusão de salina	Isquemia	Infusão de salina	Isquemia	Infusão de salina
58,21	65,78	63,75	63,45	52,34	55,22	43,88	52,16
34,30	49,50	60,05	56,46	40,66	55,14	42,88	49,20
35,23	28,04	48,43	25,84	40,13	39,27	59,10	36,00
66,80	66,56	67,90	64,84	61,07	65,88	54,36	67,42
10,63	19,51	9,11	15,96	22,30	30,50	16,68	22,33
65,71	71,71	52,14	56,11	58,01	59,72	42,08	41,80
20,17	13,69	16,65	10,54	31,81	26,20	36,21	24,79
59,01	56,93	65,86	51,92	73,40	72,55	91,53	97,04
36,47	44,99	30,56	35,56	43,66	53,16	31,04	41,54

Tabela 37 - Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) da faixa de frequência beta<sub>1</sub> processadas do eletroencefalograma de nove ratos Wistar-Kyoto anestesiados com uretana, cada um deles fazendo parte dos grupos **Isquemia** (obstrução das carótidas comuns) e **Infusão de salina** (obstrução das carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda, durante 60 minutos, de solução salina a 43,70  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ ). Apenas a atividade não hipersíncrona foi analisada.

Beta <sub>2</sub> (região frontal esquerda)		Beta <sub>2</sub> (região frontal direita)		Beta <sub>2</sub> (região parietal esquerda)		Beta <sub>2</sub> (região parietal direita)	
Isquemia	Infusão de Salina	Isquemia	Infusão de salina	Isquemia	Infusão de salina	Isquemia	Infusão de salina
39,00	41,63	43,15	41,23	40,98	38,37	37,63	37,87
23,21	35,15	34,64	42,50	29,21	35,79	28,63	34,12
22,48	22,70	34,38	21,19	31,96	34,42	46,10	31,72
39,83	35,03	31,31	29,18	31,72	37,56	28,25	34,32
8,00	13,71	10,57	18,24	12,07	18,26	12,73	19,40
34,87	34,57	27,28	28,90	29,43	30,11	24,27	23,04
7,82	9,84	9,53	11,78	11,47	15,35	13,95	19,47
41,54	30,68	42,83	27,64	41,97	33,62	61,02	48,99
27,52	34,79	25,75	29,07	33,77	36,10	29,92	31,06

Tabela 38 - Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) da faixa de frequência beta<sub>2</sub> processadas do eletroencefalograma de nove ratos Wistar-Kyoto anestesiados com uretana, cada um deles fazendo parte dos grupos **Isquemia** (obstrução das carótidas comuns) e **Infusão de salina** (obstrução das carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda, durante 60 minutos, de solução salina a 43,70  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ ). Apenas a atividade não hipersíncrona foi analisada.

Beta <sub>3</sub> (região frontal esquerda)		Beta <sub>3</sub> (região frontal direita)		Beta <sub>3</sub> (região parietal esquerda)		Beta <sub>3</sub> (região parietal direita)	
Isquemia	Infusão de Salina	Isquemia	Infusão de salina	Isquemia	Infusão de salina	Isquemia	Infusão de salina
24,33	27,12	27,27	25,32	23,32	27,57	20,09	24,59
17,63	30,06	26,18	33,83	23,57	31,96	23,49	32,24
17,14	18,95	26,02	17,47	22,72	24,42	39,05	22,66
34,23	30,57	27,69	27,74	30,47	28,46	25,41	26,48
5,72	12,06	7,83	13,43	9,26	17,87	12,18	11,65
25,83	27,89	18,62	20,56	22,65	23,94	16,32	17,70
6,24	6,80	8,19	9,15	8,63	10,82	11,20	14,00
26,92	18,27	30,63	18,96	31,63	23,12	43,53	34,81
18,21	21,72	15,19	17,27	21,73	24,43	17,73	18,74

Tabela 39 - Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) da faixa de frequência beta<sub>3</sub> processadas do eletroencefalograma de nove ratos Wistar-Kyoto anestesiados com uretana, cada um deles fazendo parte dos grupos **Isquemia** (obstrução das carótidas comuns) e **Infusão de salina** (obstrução das carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda, durante 60 minutos, de solução salina a 43,70  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ ). Apenas a atividade não hipersíncrona foi analisada.

Delta (região frontal esquerda)		Delta (região frontal direita)		Delta (região parietal esquerda)		Delta (região parietal direita)	
Isquemia	Infusão de Salina	Isquemia	Infusão de salina	Isquemia	Infusão de salina	Isquemia	Infusão de salina
164,00	135,80	127,60	118,40	73,42	64,59	74,57	70,17
146,70	115,70	136,90	100,90	82,30	69,83	78,57	65,28
162,00	78,10	192,40	71,57	120,90	50,11	110,50	48,66
105,80	147,70	109,40	126,40	65,65	77,07	73,20	82,76
30,84	26,80	19,70	14,26	67,78	35,40	31,27	38,29
136,40	149,80	120,90	113,60	77,23	77,33	59,78	48,27
24,34	21,79	23,79	22,50	22,07	24,07	28,70	31,00
262,90	256,10	203,70	199,80	187,90	186,30	175,80	218,80
148,60	113,60	146,30	126,50	99,95	89,30	117,00	87,67

Tabela 40 - Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) da faixa de frequência delta processadas do EEG de nove ratos Wistar-Kyoto anestesiados com uretana, cada um deles fazendo parte dos grupos **Isquemia** (obstrução das carótidas comuns) e **Infusão de salina** (obstrução das carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda, durante 60 minutos, de solução salina a 43,70  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ ). Apenas a atividade não hipersíncrona foi analisada.

Teta (região frontal esquerda)		Teta (região frontal direita)		Teta (região parietal esquerda)		Teta (região parietal direita)	
Isquemia	Infusão de Salina	Isquemia	Infusão de salina	Isquemia	Infusão de salina	Isquemia	Infusão de salina
85,50	83,30	84,14	83,18	62,62	53,79	57,83	54,42
42,82	51,13	52,67	63,18	49,74	52,10	43,53	46,34
43,43	30,69	57,99	30,58	36,07	36,73	47,63	38,44
89,37	96,65	109,20	101,50	68,10	75,82	75,11	77,35
16,74	29,23	12,68	13,91	18,43	24,71	23,78	27,76
92,05	87,94	75,04	81,86	66,94	66,83	52,63	46,85
27,37	25,38	17,80	21,77	19,76	38,31	48,30	50,96
139,90	103,70	91,84	86,43	120,80	113,80	114,10	113,20
41,63	45,20	43,20	43,48	44,47	60,10	45,20	49,93

Tabela 41 - Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) da faixa de frequência teta processadas do eletroencefalograma de nove ratos Wistar-Kyoto anestesiados com uretana, cada um deles fazendo parte dos grupos **Isquemia** (obstrução das carótidas comuns) e **Infusão de salina** (obstrução das carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda, durante 60 minutos, de solução salina a 43,70  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ ). Apenas a atividade não hipersíncrona foi analisada.

Alfa (região frontal esquerda)		Alfa (região frontal direita)		Alfa (região parietal esquerda)		Alfa (região parietal direita)	
Isquemia	Infusão de Salina	Isquemia	Infusão de salina	Isquemia	Infusão de salina	Isquemia	Infusão de salina
150,20	244,30	193,30	222,80	107,70	145,60	104,00	142,50
103,50	221,90	104,50	176,10	109,80	143,70	88,27	123,30
285,40	170,90	184,80	150,70	157,10	122,90	145,80	107,20
357,40	360,80	272,30	233,40	164,10	183,50	148,80	146,40
29,28	36,71	9,70	88,94	50,82	51,00	37,62	62,50
266,00	282,40	134,10	141,60	86,68	119,20	55,15	65,10
98,23	215,20	93,80	165,20	96,78	221,60	130,20	186,50
49,90	125,90	47,35	93,74	53,43	105,70	48,63	95,21

Tabela 42 - Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) da faixa de frequência alfa processadas do eletroencefalograma de nove ratos Wistar-Kyoto anestesiados com uretana, cada um deles fazendo parte dos grupos **Isquemia** (obstrução das carótidas comuns) e **Infusão de salina** (obstrução das carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda, durante 60 minutos, de solução salina a 43,70  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ ). A atividade hipersíncrona (obtida de oito dos nove ratos examinados) foi analisada.

Beta <sub>1</sub> (região frontal esquerda)		Beta <sub>1</sub> (região frontal direita)		Beta <sub>1</sub> (região parietal esquerda)		Beta <sub>1</sub> (região parietal direita)	
Isquemia	Infusão de Salina	Isquemia	Infusão de salina	Isquemia	Infusão de salina	Isquemia	Infusão de salina
125,70	197,80	154,60	184,60	92,91	139,70	89,96	128,50
58,68	132,30	69,75	134,90	67,17	115,40	66,06	104,10
167,20	133,90	105,70	106,70	103,30	96,09	102,80	86,90
264,70	265,20	209,90	170,40	148,10	138,50	138,40	117,60
21,48	35,32	10,44	64,18	38,65	42,87	24,74	40,31
216,50	191,70	88,00	107,00	94,92	99,12	58,81	64,23
77,90	104,00	77,68	93,27	84,69	121,00	115,10	125,00
64,12	85,10	57,78	64,78	70,68	92,71	62,83	71,76

Tabela 43 - Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) da faixa de frequência beta<sub>1</sub> processadas do eletroencefalograma de nove ratos Wistar-Kyoto anestesiados com uretana, cada um deles fazendo parte dos grupos **Isquemia** (obstrução das carótidas comuns) e **Infusão de salina** (obstrução das carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda, durante 60 minutos, de solução salina a 43,70  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ ). A atividade hipersíncrona (obtida de oito dos nove ratos examinados) foi analisada.

Beta <sub>2</sub> (região frontal esquerda)		Beta <sub>2</sub> (região frontal direita)		Beta <sub>2</sub> (região parietal esquerda)		Beta <sub>2</sub> (região parietal direita)	
Isquemia	Infusão de Salina	Isquemia	Infusão de salina	Isquemia	Infusão de salina	Isquemia	Infusão de salina
59,24	75,20	59,29	81,71	54,37	61,46	45,69	57,08
24,82	56,93	30,46	60,63	32,93	54,00	32,82	50,00
63,73	49,33	58,75	41,13	52,84	49,07	64,23	44,41
109,70	115,20	91,51	68,89	73,26	65,32	64,39	55,06
8,12	17,44	11,48	26,90	13,48	27,99	15,84	23,80
79,52	74,94	38,96	48,73	47,13	58,41	29,31	36,20
44,85	42,22	44,21	40,02	43,55	53,92	58,88	63,77
37,15	40,96	38,22	33,39	45,99	46,95	41,10	37,67

Tabela 44 - Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) da faixa de frequência beta<sub>2</sub> processadas do eletroencefalograma de nove ratos Wistar-Kyoto anestesiados com uretana, cada um deles fazendo parte dos grupos **Isquemia** (obstrução das carótidas comuns) e **Infusão de salina** (obstrução das carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda, durante 60 minutos, de solução salina a 43,70  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ ). A atividade hipersíncrona (obtida de oito dos nove ratos examinados) foi analisada.

Beta <sub>3</sub> (região frontal esquerda)		Beta <sub>3</sub> (região frontal direita)		Beta <sub>3</sub> (região parietal esquerda)		Beta <sub>3</sub> (região parietal direita)	
Isquemia	Infusão de Salina	Isquemia	Infusão de salina	Isquemia	Infusão de salina	Isquemia	Infusão de salina
27,54	42,34	29,49	41,55	28,16	35,37	23,01	31,17
19,06	38,29	24,67	42,02	25,04	40,03	22,79	39,72
33,22	31,49	38,95	27,10	33,57	32,77	46,89	30,60
60,67	24,64	45,56	41,70	44,14	40,58	38,87	32,98
5,66	12,06	7,73	13,43	10,51	17,87	11,68	16,30
39,84	44,53	24,42	29,33	31,17	35,52	21,09	22,64
34,60	22,15	34,88	22,60	35,73	27,15	45,44	38,63
27,78	25,09	24,18	20,00	28,55	31,32	26,91	24,49

Tabela 45 - Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) da faixa de frequência beta<sub>3</sub> processadas do eletroencefalograma de nove ratos Wistar-Kyoto anestesiados com uretana, cada um deles fazendo parte dos grupos **Isquemia** (obstrução das carótidas comuns) e **Infusão de salina** (obstrução das carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda, durante 60 minutos, de solução salina a 43,70  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ ). A atividade hipersíncrona (obtida de oito dos nove ratos examinados) foi analisada.

Delta (região frontal esquerda)		Delta (região frontal direita)		Delta (região parietal esquerda)		Delta (região parietal direita)	
Isquemia	Infusão de Salina	Isquemia	Infusão de salina	Isquemia	Infusão de salina	Isquemia	Infusão de salina
237,10	289,30	217,20	279,40	132,10	162,20	131,40	165,60
278,80	431,70	192,80	305,40	135,80	176,70	125,20	158,50
349,40	337,20	426,80	322,60	239,90	215,80	235,00	204,90
483,90	637,70	397,60	359,60	344,20	319,70	268,30	274,40
63,34	72,04	23,35	117,40	151,20	108,50	89,26	148,10
266,60	283,20	195,60	222,10	138,70	181,20	104,80	116,80
289,80	340,90	259,10	242,30	239,90	306,60	238,60	278,30
170,00	253,20	157,70	164,30	116,70	172,70	182,40	140,00

Tabela 46 - Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) da faixa de frequência delta processadas do eletroencefalograma de nove ratos Wistar-Kyoto anestesiados com uretana, cada um deles fazendo parte dos grupos **Isquemia** (obstrução das carótidas comuns) e **Infusão de salina** (obstrução das carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda, durante 60 minutos, de solução salina a 43,70  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ ). A atividade hipersíncrona (obtida de oito dos nove ratos examinados) foi analisada.

Teta (região frontal esquerda)		Teta (região frontal direita)		Teta (região parietal esquerda)		Teta (região parietal direita)	
Isquemia	Infusão de Salina	Isquemia	Infusão de salina	Isquemia	Infusão de salina	Isquemia	Infusão de salina
273,60	305,60	292,50	286,50	172,40	176,50	168,80	175,50
160,60	355,50	118,40	264,90	122,50	178,30	100,60	173,90
274,60	296,40	341,90	264,40	196,20	187,30	211,00	170,50
386,70	448,30	394,60	300,20	235,90	229,90	268,30	211,00
46,19	78,86	15,69	112,00	117,90	92,04	91,45	100,80
301,00	293,40	176,10	204,60	115,70	142,60	82,31	89,22
164,80	103,70	147,10	86,43	149,40	113,80	163,40	113,20
66,75	125,90	68,70	129,90	75,23	132,40	76,29	137,80

Tabela 47 - Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) da faixa de frequência teta processadas do eletroencefalograma de nove ratos Wistar-Kyoto anestesiados com uretana, cada um deles fazendo parte dos grupos **Isquemia** (obstrução das carótidas comuns) e **Infusão de salina** (obstrução das carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda, durante 60 minutos, de solução salina a 43,70  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ ). A atividade hipersíncrona (obtida de oito dos nove ratos examinados) foi analisada.

Grupos comparados	Beta <sub>3</sub>	Beta <sub>2</sub>	Beta <sub>1</sub>	Alfa	Teta	Delta
Frontal E (I) Frontal E (IS)	0,3595	0,5107	0,2269	0,6356(t) 0,6523(x) 0,3480 (st)	0,5764	0,2343
Frontal D (I) Frontal D (IS)	0,8403	0,7044	0,2711	0,5536(t) 0,5703(x) 0,4170 (st)	0,5887	0,0580(t) 0,0547(x) 0,1595(st)
Parietal E (I) Parietal E (IS)	0,2680	0,2751	0,1011	0,1551(t) 0,1641(x) 0,1849(st)	0,2389	0,1551(t) 0,1641(x) 0,1341(st)
Parietal D (I) Parietal D (IS)	0,5536(t) 0,5703(x) 0,7921(st)	0,9180	0,5536(t) 0,5703(x) 0,6896(st)	0,7223(t) 0,7344(x) 0,4253(st)	0,8488	0,5173

Tabela 48 – Significância estatística (P) entre os grupos pares **Isquemia** e **Infusão de salina**, quando comparada a amplitude absoluta média dos espectros eletroencefalográficos da atividade não hipersíncrona; (I) significa isquemia (obstrução das carótidas comuns); (IS), obstrução das carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda de solução salina a 43,70  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , durante 60 minutos; E, esquerda; D, direita; (t), estatístico; (x), exato; (st), teste t-Student; D, direito; E, esquerdo; (I), isquemia; (x) e (t) se referem ao teste “Wilcoxon Signed Rank”.

Grupo	Beta <sub>3</sub>		Beta <sub>2</sub>		Beta <sub>1</sub>		Alfa		Teta		Delta				
	Frontal	esquerdo	Frontal	esquerdo	Frontal	esquerdo	Frontal	esquerdo	Frontal	esquerdo	Frontal	esquerdo			
Frontal	Isquemia	19,58 ± 3,14	27,14 ± 4,32	42,95 ± 6,79	43,00 ± 9,51	64,31 ± 13,23	131,30 ± 24,20	Frontal	Isquemia	21,49 ± 2,76	28,68 ± 3,61	46,30 ± 7,14	53,80 ± 12,75	61,47 ± 10,45	116,20 ± 23,70
	Infusão de salina	20,85 ± 2,90	28,83 ± 4,06	46,05 ± 7,35	42,00 ± 9,04	60,51 ± 10,93	120,10 ± 21,30								
Frontal	Isquemia	20,85 ± 2,90	28,83 ± 4,06	46,05 ± 7,35	42,00 ± 9,04	60,51 ± 10,93	120,10 ± 21,30	Frontal	Isquemia	20,41 ± 2,51	27,75 ± 3,32	42,30 ± 6,93	49,40 ± 10,95	58,43 ± 10,64	99,30 ± 19,00
	Infusão de salina	21,55 ± 2,66	29,18 ± 3,62	47,04 ± 5,25	38,70 ± 6,53	54,10 ± 10,39	88,60 ± 15,30								
Parietal	Isquemia	23,62 ± 2,07	31,06 ± 2,82	50,85 ± 5,24	51,50 ± 10,72	58,02 ± 8,75	74,90 ± 15,60	Parietal	Isquemia	23,20 ± 3,77	31,39 ± 5,08	46,40 ± 6,99	39,10 ± 8,55	56,46 ± 8,49	83,27 ± 15,31
	Infusão de salina	22,50 ± 2,62	31,11 ± 3,17	48,00 ± 7,66	46,60 ± 11,02	56,14 ± 8,40	76,77 ± 18,89								

Tabela 49 – Amplitude média ( $\mu V$ )  $\pm$  erro padrão da média (E.P.M.) em  $\mu V$  dos espectros de frequência do EEG processados a partir das amplitudes absolutas médias do exame eletrofisiológico de dois grupos pares de animais (n=9): **Isquemia** (obstrução das carótidas comuns) e **Infusão de salina** (obstrução das carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda de salina). Apenas a atividade não hipersíncrona foi analisada. Detalhes são considerados no texto.

Grupo	Beta <sub>3</sub>		Beta <sub>2</sub>		Beta <sub>1</sub>		Alfa		Teta		Delta				
	Frontal	esquerdo	Frontal	esquerdo	Frontal	esquerdo	Frontal	esquerdo	Frontal	esquerdo	Frontal	esquerdo			
Frontal	Isquemia	31,05 ± 5,64	53,39 ± 11,34	124,50 ± 30,10	167,50 ± 42,60	209,30 ± 42,20	267,40 ± 43,60	Frontal	Isquemia	30,07 ± 3,94	59,03 ± 10,44	143,20 ± 25,70	207,30 ± 34,80	251,00 ± 47,00	330,70 ± 22,30
	Infusão de salina	28,74 ± 4,06	46,61 ± 8,40	96,70 ± 21,70	130,00 ± 30,00	194,40 ± 47,70	233,80 ± 45,90								
Frontal	Isquemia	29,72 ± 3,90	50,18 ± 6,63	115,70 ± 15,80	159,10 ± 18,60	206,10 ± 30,20	251,60 ± 29,00	Frontal	Isquemia	29,61 ± 3,42	45,44 ± 6,11	87,60 ± 11,26	103,30 ± 14,80	148,15 ± 18,20	187,30 ± 28,20
	Infusão de salina	32,58 ± 2,62	52,14 ± 4,07	105,70 ± 11,03	136,70 ± 18,10	156,61 ± 15,80	205,40 ± 25,80								
Parietal	Isquemia	29,59 ± 4,48	44,03 ± 6,26	82,34 ± 12,82	94,80 ± 15,70	145,27 ± 24,60	171,90 ± 24,30	Parietal	Isquemia	29,57 ± 2,84	46,00 ± 4,62	92,30 ± 11,26	116,10 ± 15,00	146,49 ± 15,20	185,80 ± 21,60
	Infusão de salina														

Tabela 50 – Amplitude média ( $\mu V$ )  $\pm$  erro padrão da média (E.P.M.) em  $\mu V$  dos espectros de frequência do EEG processados a partir das amplitudes absolutas médias do exame eletrofisiológico de dois grupos pares de animais (n=8): **Isquemia** (obstrução das carótidas comuns) e **Infusão de salina** (obstrução das carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda de salina). Apenas a atividade não hipersíncrona foi analisada. Detalhes são considerados no texto.

Grupos comparados	Beta <sub>3</sub>	Beta <sub>2</sub>	Beta <sub>1</sub>	Alfa	Teta	Delta
Frontal E (I) Frontal E (IS)	0,8785	0,2966	0,2231	0,1949	0,1524	0,0249
Frontal D (I) Frontal D (IS)	0,8049	0,6107	0,1415	0,1239	0,7136	0,5047
Parietal E (I) Parietal E (IS)	0,2885	0,0919	0,0657	0,0778	0,5172	0,2621
Parietal D (I) Parietal D (IS)	0,9960	0,6590	0,2338	0,0916	0,9457	0,3560

Tabela 51 –Significância estatística (P) entre os grupos pares com isquemia e isquemia com infusão de salina, quando comparada a amplitude absoluta média dos espectros eletroencefalográficos da atividade hipersíncrona; \* significa  $P < 0,05$ ; (I), **Isquemia** (obstrução das carótidas comuns); (IS), **Infusão de salina** (obstrução das carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda de salina); E, esquerda; D, direita.

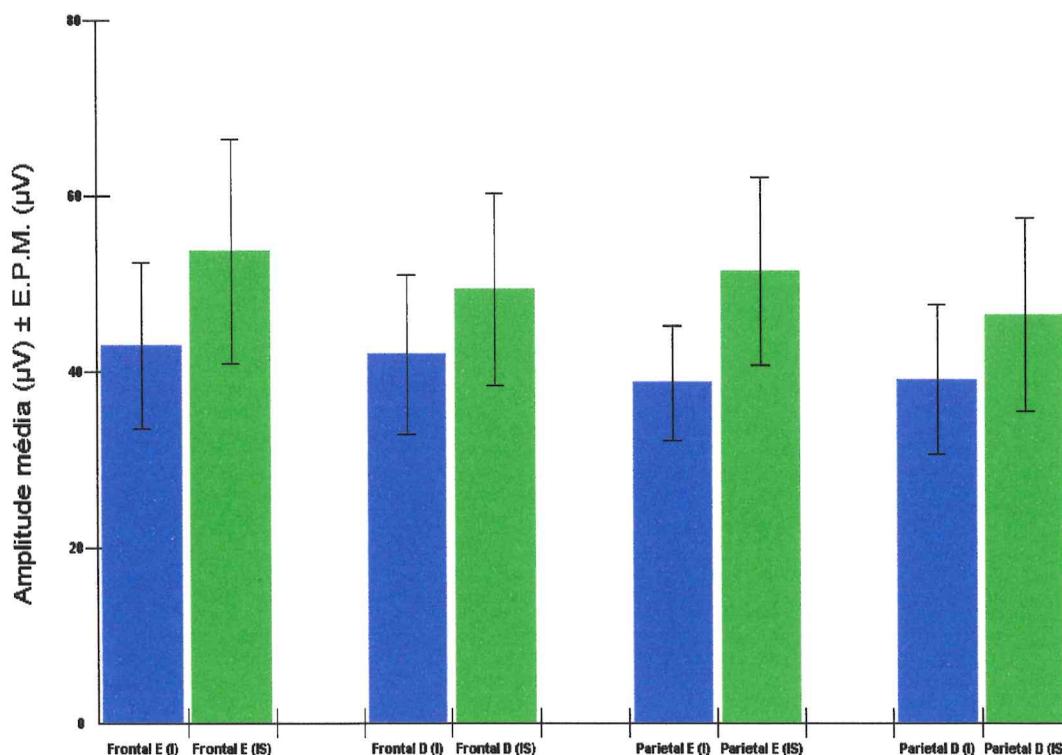


Gráfico 27 – Amplitude absoluta média do espectro alfa do EEG com atividade não hipersíncrona de ratos com obstrução bilateral das carótidas comuns e com infusão intracarotídea esquerda de salina. E significa esquerda; D, direita, (I), **Isquemia** (obstrução das carótidas comuns); (IS), **Infusão de salina** (obstrução das carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda de salina). Não há modificação significativa das amplitudes absolutas médias com a infusão de salina.

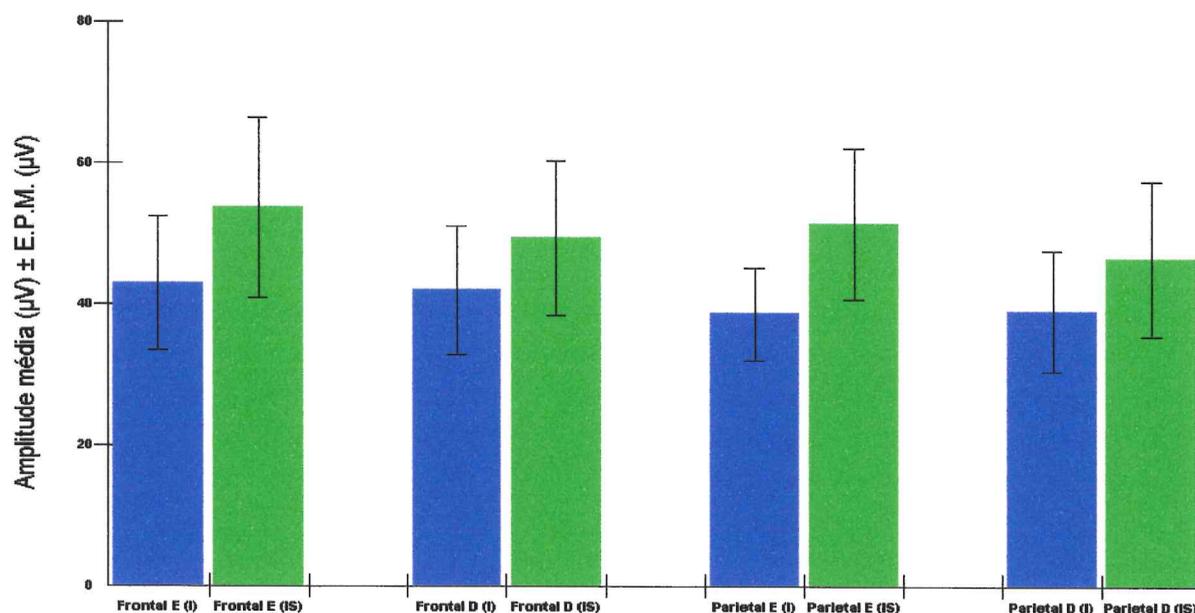


Gráfico 28 – Amplitudes absolutas médias do espectro  $\beta_1$  do EEG com atividade não hipersíncrona de ratos com obstrução bilateral das carótidas comuns e com infusão intracarotídea esquerda de salina. E significa esquerda; D, direita, (I), **Isquemia** (obstrução das carótidas comuns); (IS), **Infusão de salina** (obstrução das carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda de salina). Não há modificação significativa das amplitudes absolutas médias com a infusão de salina.

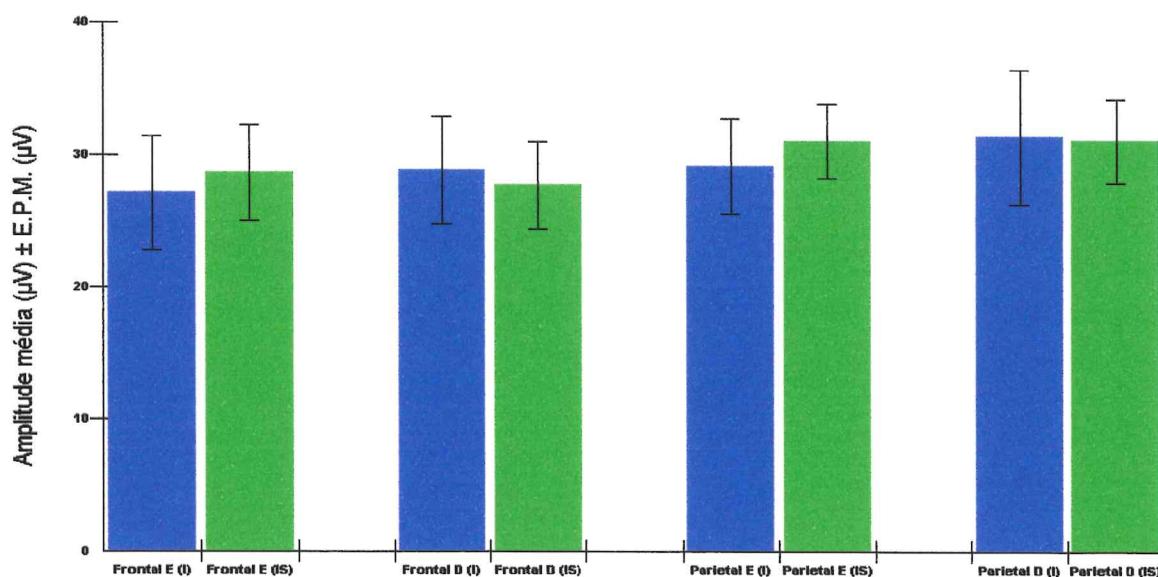


Gráfico 29 – Amplitudes absolutas médias do espectro  $\beta_2$  do EEG com atividade não hipersíncrona de ratos com obstrução bilateral das carótidas comuns e com infusão intracarotídea esquerda de salina. E significa esquerda; D, direita, (I), **Isquemia** (obstrução das carótidas comuns); (IS), **Infusão de salina** (obstrução das carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda de salina). Não há modificação significativa das amplitudes absolutas médias com a infusão de salina.

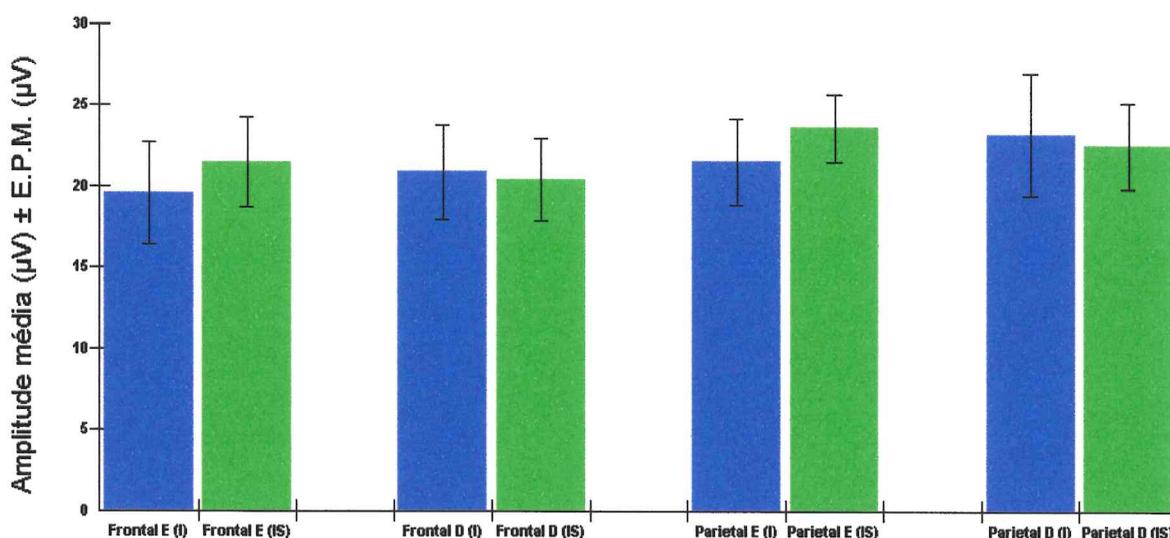


Gráfico 30 – Amplitudes absolutas médias do espectro beta<sub>3</sub> do EEG com atividade não hipersíncrona de ratos com obstrução bilateral das carótidas comuns e com infusão intracarotídea esquerda de salina. E significa esquerda; D, direita, (I), **Isquemia** (obstrução das carótidas comuns); (IS), **Infusão de salina** (obstrução das carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda de salina). Não há modificação significativa das amplitudes absolutas médias com a infusão de salina.

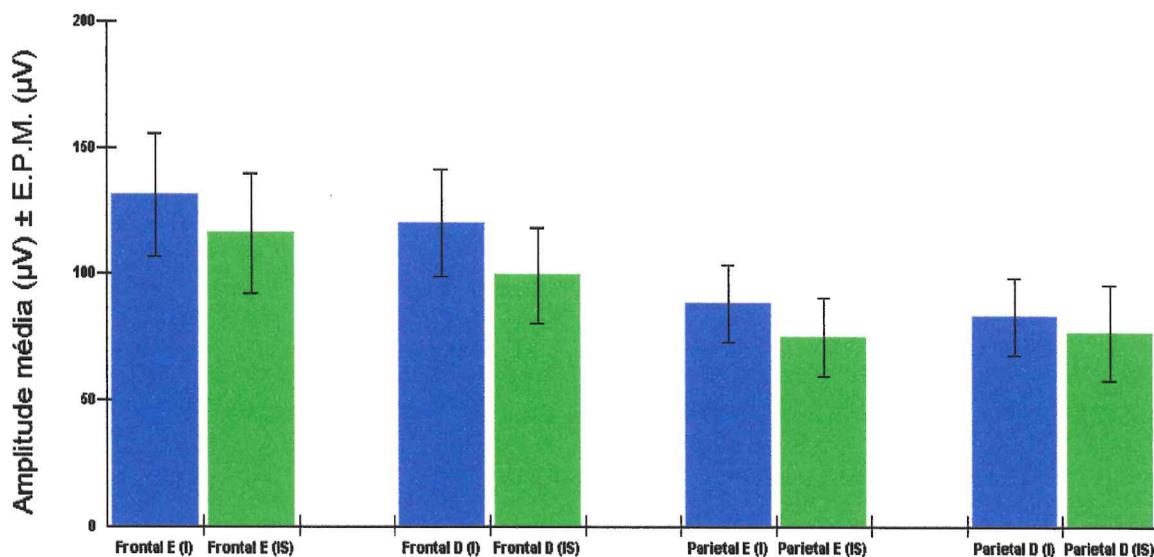


Gráfico 31 – Amplitudes absolutas médias do espectro delta do EEG com atividade não hipersíncrona de ratos com obstrução bilateral das carótidas comuns e com infusão intracarotídea esquerda de salina. E significa esquerda; D, direita, (I), **Isquemia** (obstrução das carótidas comuns); (IS), **Infusão de salina** (obstrução das carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda de salina). Não há modificação significativa das amplitudes absolutas médias com a infusão de salina.

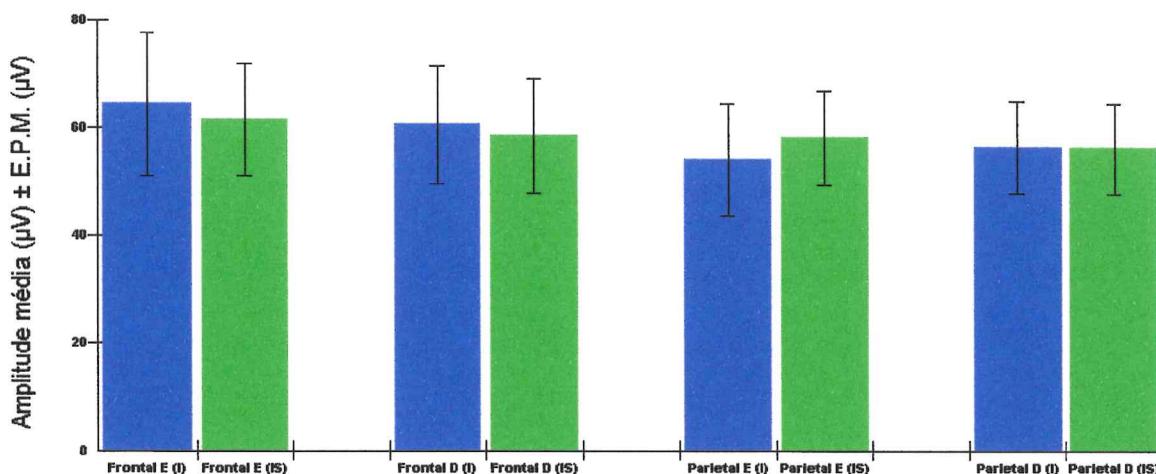


Gráfico 32 – Amplitudes absolutas médias do espectro teta do do EEG com atividade não hipersíncrona de ratos com obstrução bilateral das carótidas comuns e com infusão intracarotídea esquerda de salina. E significa esquerda; D, direita, (I), **Isquemia** (obstrução das carótidas comuns); (IS), **Infusão de salina** (obstrução das carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda de salina). Não há modificação significativa das amplitudes absolutas médias com a infusão de salina.

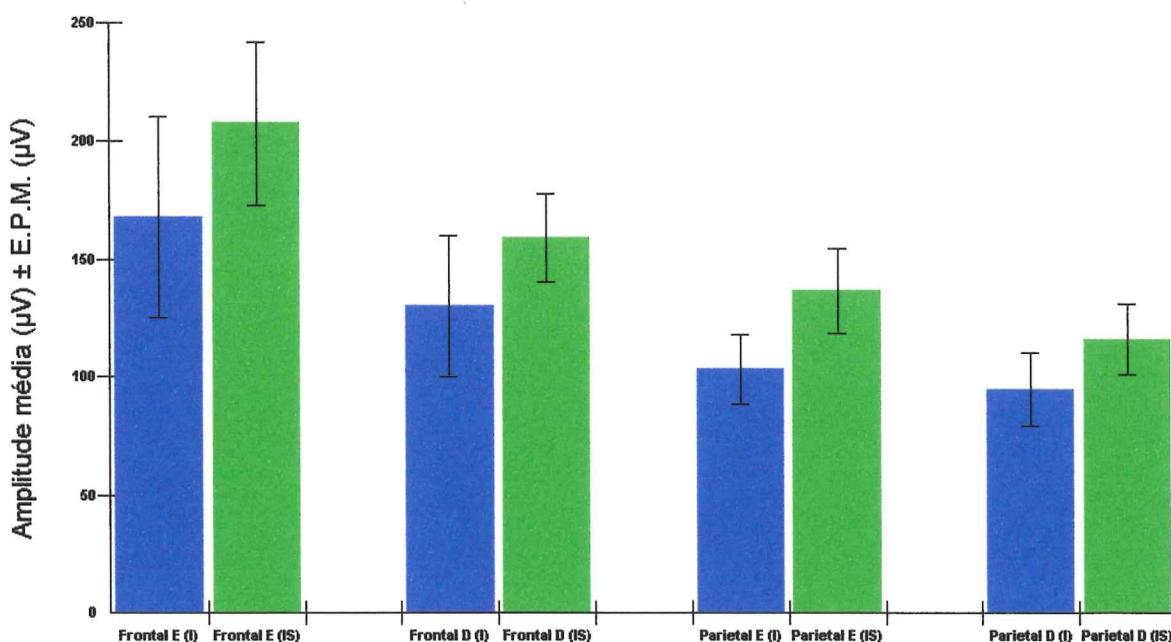


Gráfico 33 – Amplitudes absolutas médias do espectro alfa do EEG com atividade hipersíncrona de ratos com obstrução bilateral das carótidas comuns e com infusão intracarotídea esquerda de salina. E significa esquerda; D, direita, (I), **Isquemia** (obstrução das carótidas comuns); (IS), **Infusão de salina** (obstrução das carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda de salina). Não há modificação significativa das amplitudes absolutas médias com a infusão de salina.

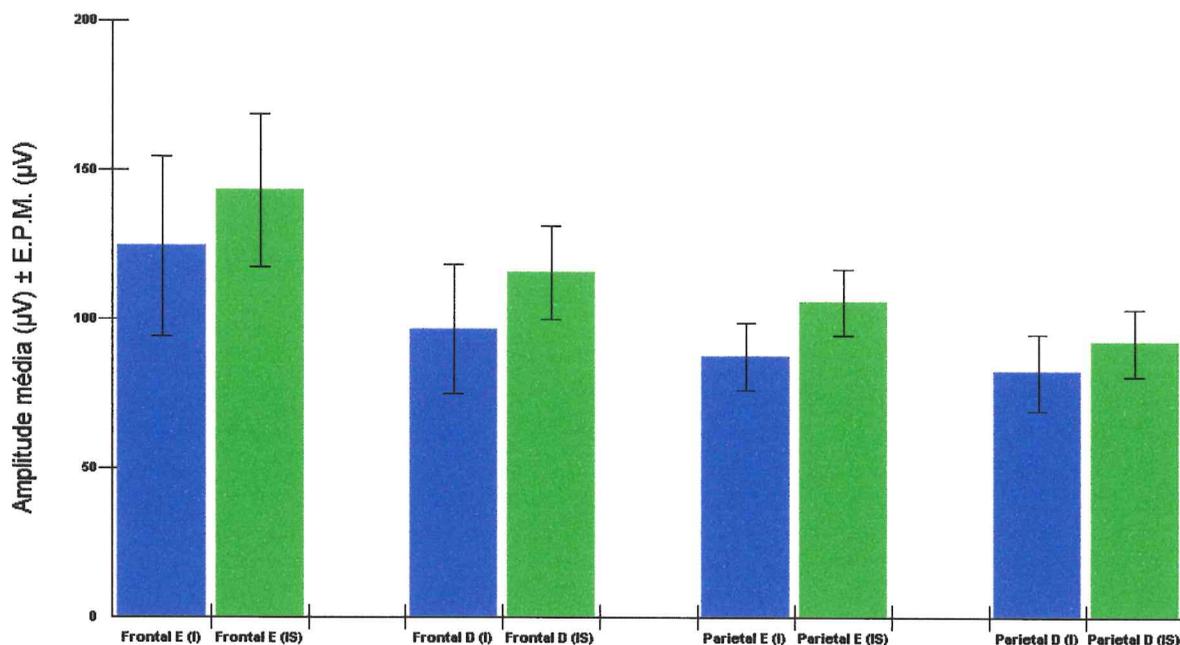


Gráfico 34 – Amplitudes absolutas médias do espectro beta<sub>1</sub> EEG com atividade hipersíncrona de ratos com obstrução bilateral das carótidas comuns e com infusão intracarotídea esquerda de salina. E significa esquerda; D, direita; (I), **Isquemia** (obstrução das carótidas comuns); (IS), **Infusão de salina** (obstrução das carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda de salina). Não há modificação significativa das amplitudes absolutas médias com a infusão de salina.

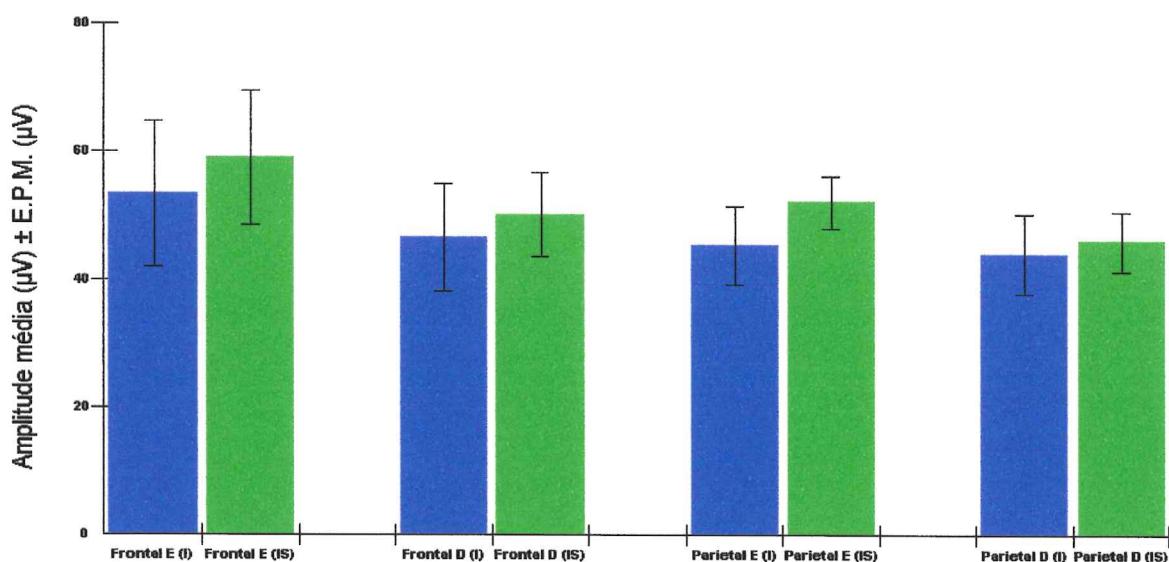


Gráfico 35 – Amplitudes absolutas médias do espectro beta<sub>2</sub> EEG com atividade hipersíncrona de ratos com obstrução bilateral das carótidas comuns e com infusão intracarotídea esquerda de salina. E significa esquerda; D, direita; (I), **Isquemia** (obstrução das carótidas comuns); (IS), **Infusão de salina** (obstrução das carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda de salina). Não há modificação significativa das amplitudes absolutas médias com a infusão de salina.

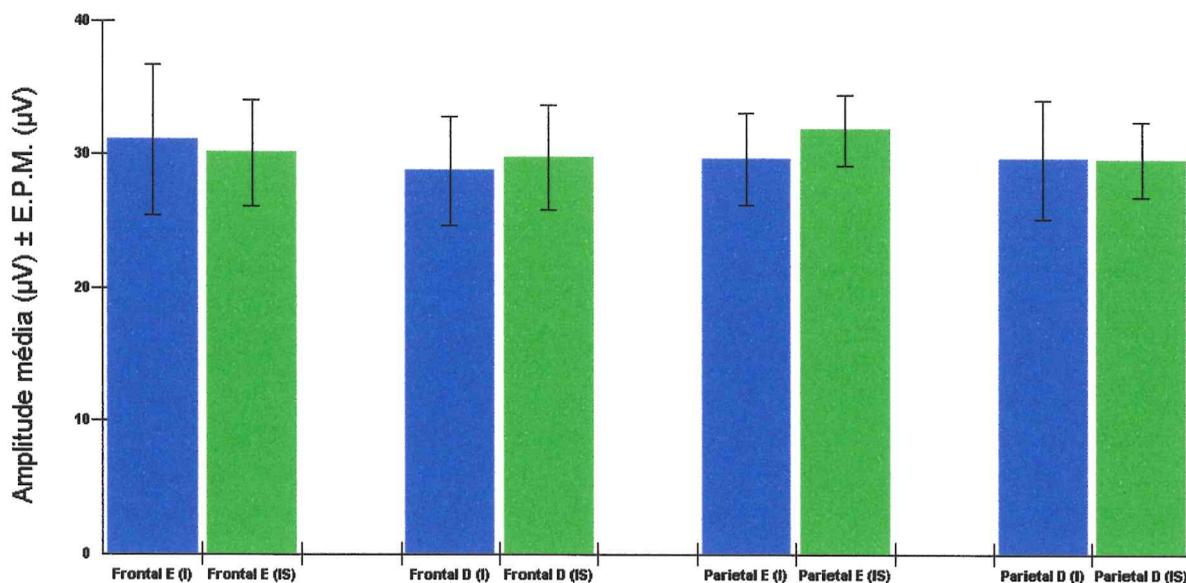


Gráfico 36 – Amplitudes absolutas médias do espectro  $\beta_3$  do EEG com atividade hipersíncrona de ratos com obstrução bilateral das carótidas comuns e com infusão intracarotídea esquerda de salina. E significa esquerda; D, direita, (I), **Isquemia** (obstrução das carótidas comuns); (IS), **Infusão de salina** (obstrução das carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda de salina). Não há modificação significativa das amplitudes absolutas médias com a infusão de salina.

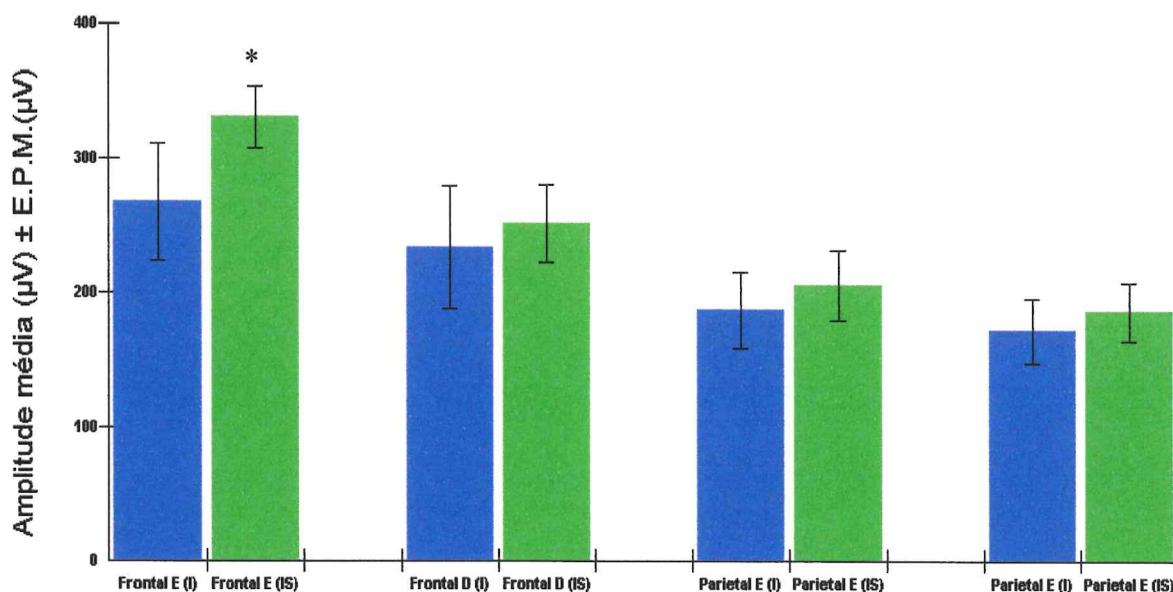


Gráfico 37 – Amplitudes absolutas médias do espectro delta do EEG com atividade hipersíncrona de ratos com obstrução bilateral das carótidas comuns e com infusão intracarotídea esquerda de salina. E significa esquerda; D, direita, (I), **Isquemia** (obstrução das carótidas comuns); (IS), **Infusão de salina** (obstrução das carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda de salina); \*,  $P < 0,05$ . Somente na região frontal E, a infusão de salina determinou aumento significativo da amplitude absoluta média.

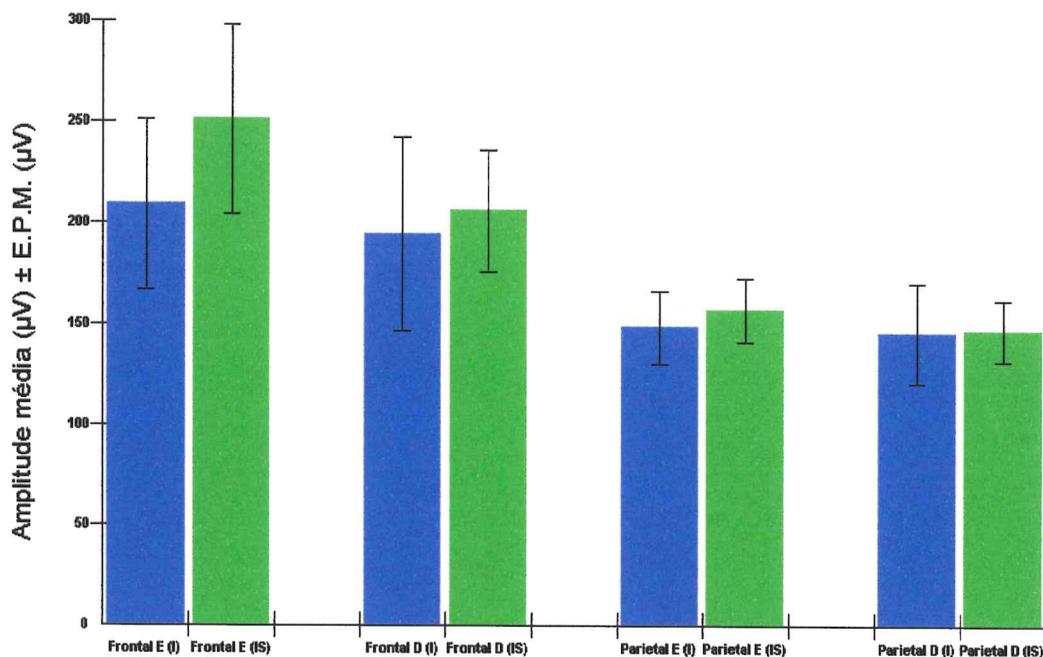


Gráfico 38 – Amplitudes absolutas médias do espectro teta do EEG com atividade hipersíncrona de ratos com obstrução bilateral das carótidas comuns e com infusão intracarotídea esquerda de salina. E significa esquerda; D, direita, (I), **Isquemia** (obstrução das carótidas comuns); (IS), **Infusão de salina** (obstrução das carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda de salina). Não há modificação significativa das amplitudes absolutas médias com a infusão de salina.

Dos nove animais utilizados no experimento, sete (tanto do grupo com obstrução das carótidas comuns, como do grupo com obstrução das carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda de solução salina) demonstraram, ao exame eletroencefalográfico, atividade hipersíncrona.

Havendo falha dos testes de normalidade na comparação entre os grupos envolvendo o espectro delta nas regiões frontal direita e parietal esquerda, alfa em todas as regiões, beta<sub>1</sub> e beta<sub>3</sub> na região parietal direita, as medianas foram utilizadas na análise com utilização adicional do teste “Wilcoxon Signed Rank”.

## 5.5 Estudo das amplitudes absolutas médias dos espectros eletroencefalográficos de ratos sem isquemia, com oclusão da carótida comum esquerda e com oclusão da carótida comum esquerda seguida de infusão intracarotídea esquerda de solução 1,2 mM glutation reduzido.

As tabelas 52 a 57 e 61 a 66 demonstram os valores das amplitudes absolutas médias dos espectros de frequência do eletroencefalograma (alfa,  $\beta_1$ ,  $\beta_2$ ,  $\beta_3$ , delta e teta) obtidos a partir de sua avaliação quantitativa em três grupos (ratos anestesiados, ratos anestesiados com isquemia induzida por obstrução da artéria carótida comum esquerda e ratos anestesiados com obstrução da artéria carótida comum esquerda e infusão intracarotídea esquerda, a 41.50  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , de solução 1,2 mM de glutation reduzido durante sessenta minutos). As tabelas 58 e 59, 67 e 68 demonstram os valores das médias das amplitudes absolutas médias  $\pm$  erro padrão da média e as tabelas 60 e 69 demonstram os valores de P. Detalhes individuais são apresentados nos gráficos 39 a 50. Foram analisadas épocas contendo atividade hipersíncrona e sem atividade hipersíncrona.

Alfa (região frontal esquerda)			Alfa (região frontal direita)			Alfa (região parietal esquerda)			Alfa (região parietal direita)		
SO	CE	CEG	SO	CE	CEG	SO	CE	CEG	SO	CE	CEG
133,00	113,10	209,00	164,10	78,89	179,50	132,70	81,59	131,40	153,60	73,77	148,80
112,90	33,30	55,89	153,50	35,55	53,93	101,30	37,27	43,88	113,50	31,53	40,45
72,59	43,86	70,66	96,65	51,36	77,60	94,09	65,17	85,82	90,05	55,91	74,65
229,10	74,52	107,70	353,40	71,61	100,90	151,50	49,90	77,48	165,80	58,82	68,70
61,96	45,51	49,28	62,87	32,84	44,67	20,08	32,94	34,49	32,14	29,98	42,49
9,30	17,47	14,91	8,91	16,86	14,50	12,38	25,64	23,32	13,29	25,21	22,78
17,03	12,17	16,32	17,14	11,85	16,06	27,32	17,37	18,83	24,50	13,08	18,09
26,43	15,66	19,97	20,55	13,24	21,46	25,37	11,71	18,38	19,58	17,40	19,57

Tabela 52 - Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) do espectro alfa do eletroencefalograma de ratos Wistar-Kyoto anestesiados, distribuídos em três grupos de estudo: SO – sem obstrução de carótidas; CE – com obstrução da carótida comum esquerda; CEG – com obstrução da carótida comum esquerda e infusão a 41.50  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$  de glutation reduzido (1,2 mM) em seu segmento distal, durante 60 minutos. A atividade não hipersíncrona foi analisada.

Beta <sub>1</sub> (região frontal esquerdo)			Beta <sub>1</sub> (região frontal direita)			Beta <sub>1</sub> (região parietal esquerda)			Beta <sub>1</sub> (região parietal direita)		
SO	CE	CEG	SO	CE	CEG	SO	CE	CEG	SO	CE	CEG
112,70	82,41	142,70	157,80	63,42	142,40	121,30	70,66	125,60	139,10	63,82	148,80
103,20	40,08	58,92	124,30	45,84	58,71	90,32	37,27	62,34	91,17	42,10	53,70
54,42	43,05	56,43	75,82	49,88	67,39	74,67	50,03	72,44	66,67	49,48	59,60
297,30	82,35	97,87	176,80	72,81	103,00	145,50	66,17	91,52	164,90	65,74	82,22
51,44	37,36	50,89	44,91	34,24	48,39	26,06	33,37	40,23	32,55	31,55	58,28
18,32	27,18	21,76	19,49	28,32	22,47	23,46	33,79	30,36	26,56	33,10	29,75
20,56	16,49	20,12	20,61	13,70	18,55	34,59	26,90	31,12	30,71	19,86	27,48
26,57	15,55	18,55	18,18	12,81	23,35	18,27	15,88	23,81	14,57	19,90	27,54

Tabela 53 - Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) do espectro beta<sub>1</sub> do eletroencefalograma de ratos Wistar-Kyoto anestesiados, distribuídos em três grupos de estudo: SO – sem obstrução de carótidas; CE – com obstrução da carótida comum esquerda; CEG – com obstrução da carótida comum esquerda e infusão a 41.50  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$  de glutathion reduzido (1,2 mM) em seu segmento distal, durante 60 minutos. A atividade não hipersíncrona foi analisada.

Beta <sub>2</sub> (região frontal esquerda)			Beta <sub>2</sub> (região frontal direita)			Beta <sub>2</sub> (região parietal esquerda)			Beta <sub>2</sub> (região parietal direita)		
SO	CE	CEG	SO	CE	CEG	SO	CE	CEG	SO	CE	CEG
61,63	43,29	65,35	69,97	37,15	72,84	86,47	45,17	67,46	99,95	44,19	82,52
49,54	27,16	36,87	56,00	29,27	36,03	54,51	30,85	38,61	53,05	27,80	35,78
29,93	26,47	34,40	41,26	28,73	35,27	34,73	28,36	42,21	35,02	25,94	34,34
112,10	53,76	70,39	73,20	43,79	57,29	78,86	48,86	70,13	89,22	52,11	49,74
26,34	19,90	28,83	17,96	19,30	27,38	14,73	20,02	26,11	20,26	18,91	38,16
15,15	26,42	23,12	17,24	28,36	24,79	19,22	35,26	31,35	24,04	34,38	30,67
14,95	11,80	11,80	14,17	9,59	10,43	29,07	19,63	18,12	25,27	14,76	16,13
20,27	9,06	11,69	14,41	9,30	12,66	14,76	9,37	12,27	12,66	14,89	18,74

Tabela 54 - Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) do espectro beta<sub>2</sub> do eletroencefalograma de ratos Wistar-Kyoto anestesiados, distribuídos em três grupos de estudo: SO – sem obstrução de carótidas; CE – com obstrução da carótida comum; CEG – com obstrução da carótida comum esquerda e infusão a 41.50  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$  de solução de glutathion reduzido (1,2 mM) em seu segmento distal, durante 60 minutos. A atividade não hipersíncrona foi analisada.

Beta <sub>3</sub> (região frontal esquerda)			Beta <sub>3</sub> (região frontal direita)			Beta <sub>3</sub> (região parietal esquerda)			Beta <sub>3</sub> (região parietal direita)		
SO	CE	CEG	SO	CE	CEG	SO	CE	CEG	SO	CE	CEG
30,45	22,91	35,63	32,54	20,99	38,49	51,12	25,08	46,08	61,51	26,21	55,78
34,07	15,97	21,20	33,59	18,36	21,94	33,63	18,26	22,50	33,70	16,16	35,78
21,67	16,96	20,50	30,60	17,24	19,17	25,40	17,36	25,99	24,37	16,18	21,38
68,70	32,35	49,01	39,96	24,05	35,25	50,06	29,41	49,79	56,77	31,21	36,84
26,77	12,28	17,39	22,13	13,59	16,54	19,75	13,77	16,46	20,92	14,19	26,21
11,03	19,19	15,03	11,69	20,62	16,14	14,05	24,49	19,93	15,67	23,75	19,43
11,95	9,81	9,23	9,80	6,40	6,29	22,37	16,57	15,13	19,55	10,94	10,35
13,16	6,33	8,54	9,08	4,72	9,11	10,26	6,85	9,74	9,20	9,75	10,55

Tabela 55 - Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) do espectro beta<sub>3</sub> do eletroencefalograma de ratos Wistar-Kyoto anestesiados, distribuídos em três grupos de estudo: SO – sem obstrução de carótidas; CE – com obstrução da carótida comum esquerda; CEG – com obstrução da carótida comum esquerda e infusão a 41,50  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$  de solução de glutathione reduzido (1,2 mM) em seu segmento distal, durante 60 minutos. A atividade não hipersíncrona foi analisada.

Delta (região frontal esquerda)			Delta (região frontal direita)			Delta (região parietal esquerda)			Delta (região parietal direita)		
SO	CE	CEG	SO	CE	CEG	SO	CE	CEG	SO	CE	CEG
461,20	344,30	134,00	330,10	211,10	157,40	336,40	205,00	83,95	317,10	206,10	89,17
275,20	101,40	134,00	412,20	118,80	157,40	245,80	74,04	83,95	260,50	86,11	89,17
121,20	80,17	148,40	173,60	67,17	137,50	130,90	75,53	94,61	137,70	68,22	114,00
542,40	173,40	224,50	570,50	201,70	225,30	330,30	127,60	140,70	359,60	150,70	137,70
207,30	102,20	128,70	244,90	131,20	144,30	82,81	73,41	88,97	113,90	82,52	99,17
68,17	13,65	13,76	42,58	27,15	25,17	31,28	15,24	20,33	28,78	14,78	20,08
23,26	22,82	18,21	21,86	30,28	22,11	30,17	26,13	18,63	47,81	23,78	19,38
61,11	83,00	73,76	34,35	48,07	55,21	29,83	50,27	49,47	44,53	62,40	61,95

Tabela 56 - Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) do espectro delta do eletroencefalograma de ratos Wistar-Kyoto anestesiados, distribuídos em três grupos de estudo: SO – sem obstrução de carótidas; CE – com obstrução da carótida comum; CEG – com obstrução da carótida comum esquerda e infusão a 41,50  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$  de solução de glutathione reduzido (1,2 mM) em seu segmento distal, durante 60 minutos. A atividade não hipersíncrona foi analisada.

Teta (região frontal esquerda)			Teta (região frontal direita)			Teta (região parietal esquerda)			Teta (região parietal direita)		
SO	CE	CEG	SO	CE	CEG	SO	CE	CEG	SO	CE	CEG
168,20	123,40	239,30	222,40	85,54	223,10	165,20	109,60	144,60	182,90	98,63	180,60
163,80	62,47	82,28	206,70	62,67	85,16	158,40	60,17	69,70	155,10	56,60	68,56
99,38	63,61	105,40	126,50	68,85	127,40	126,30	93,89	120,50	108,90	82,18	101,10
313,70	85,89	116,30	276,10	91,27	126,10	176,50	75,86	95,92	219,30	88,91	101,10
77,45	60,78	72,09	71,21	47,24	58,98	39,23	45,31	51,16	37,39	39,37	51,52
20,59	26,51	26,02	17,24	28,55	25,96	22,35	40,31	41,51	24,55	40,08	41,28
18,86	27,31	26,28	16,78	26,05	22,22	29,99	38,97	33,26	28,50	28,23	25,28
34,15	47,54	40,79	28,18	31,36	41,97	29,54	32,66	42,40	23,57	32,98	37,51

Tabela 57 - Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) do espectro teta do eletroencefalograma de ratos Wistar-Kyoto anestesiados, distribuídos em três grupos de estudo: SO – sem obstrução de carótidas; CE – com obstrução da carótida comum esquerda; CEG – com obstrução da carótida comum esquerda e infusão a  $41.50 \mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$  de solução de glutation reduzido (1,2 mM) em seu segmento distal, durante 60 minutos. A atividade não hipersíncrona foi analisada.

Região	Alfa			Delta			Teta		
	Sem obstrução da carótida comum	Obstrução da carótida comum esquerda e salina	Obstrução da carótida comum esquerda e GSH	Sem obstrução da carótida comum	Obstrução da carótida comum esquerda e salina	Obstrução da carótida comum esquerda e GSH	Sem obstrução da carótida comum	Obstrução da carótida comum esquerda e salina	Obstrução da carótida comum esquerda e GSH
Frontal esquerda	82,80 ± 26,10	44,40 ± 12,20	68,00 ± 23,10	220,00 ± 68,40	115,10 ± 37,20	109,40 ± 25,00	112,00 ± 35,60	62,20 ± 11,20	88,60 ± 24,70
Frontal direita	109,60 ± 40,82	39,00 ± 9,21	63,60 ± 19,78	228,80 ± 70,60	104,40 ± 26,00	115,50 ± 25,80	120,60 ± 36,46	55,20 ± 9,12	88,90 ± 24,05
Parietal esquerda	70,60 ± 19,71	40,20 ± 8,49	54,20 ± 14,32	152,20 ± 47,10	80,90 ± 21,50	72,60 ± 14,50	93,40 ± 24,40	62,10 ± 10,00	74,90 ± 14,60
Parietal direita	76,60 ± 22,11	38,20 ± 7,73	54,40 ± 15,47	163,70 ± 46,30	86,80 ± 22,50	78,80 ± 15,00	97,50 ± 28,26	58,40 ± 9,79	75,90 ± 17,99

Tabela 58 - Média das amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ )  $\pm$  erro padrão da média ( $\mu\text{V}$ ) dos espectros alfa, delta e teta do eletroencefalograma de ratos Wistar-Kyoto. Grupos: ratos sem obstrução da carótida comum esquerda; ratos com obstrução da artéria carótida comum esquerda; ratos com obstrução da artéria carótida comum esquerda e infusão no segmento distal da mesma, a  $41.50 \mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , de solução de glutation reduzido (1,2 mM), durante 60 minutos. A atividade não hipersíncrona foi analisada. Observação:  $n = 8$ .

Região Espectro	Beta <sub>1</sub>			Beta <sub>2</sub>			Beta <sub>3</sub>		
	Sem obstrução da carótida comum	Obstrução da carótida comum esquerda e salina	Obstrução da carótida comum esquerda e GSH	Sem obstrução da carótida comum	Obstrução da carótida comum esquerda e salina	Obstrução da carótida comum esquerda e GSH	Sem obstrução da carótida comum	Obstrução da carótida comum esquerda e salina	Obstrução da carótida comum esquerda e GSH
<b>Frontal esquerda</b>	85,60 ± 32,80	43,10 ± 9,30	58,40 ± 15,31	41,20 ± 11,70	27,20 ± 5,32	35,30 ± 7,83	27,20 ± 6,68	17,00 ± 2,88	22,10 ± 4,88
<b>Frontal direita</b>	79,70 ± 23,01	40,10 ± 7,74	60,50 ± 15,41	38,00 ± 9,02	25,70 ± 4,34	34,60 ± 7,55	23,70 ± 4,31	15,70 ± 2,47	20,40 ± 4,03
<b>Parietal esquerda</b>	66,80 ± 17,27	41,80 ± 6,74	59,70 ± 12,59	41,50 ± 10,10	29,70 ± 4,72	38,30 ± 7,51	28,30 ± 5,46	19,00 ± 2,53	25,70 ± 5,16
<b>Parietal direita</b>	70,80 ± 19,88	40,70 ± 6,34	60,90 ± 14,29	44,90 ± 11,67	29,10 ± 4,83	38,30 ± 7,37	30,20 ± 6,79	18,50 ± 2,71	27,00 ± 5,41

Tabela 59 - Média das amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ )  $\pm$  erro padrão da média ( $\mu\text{V}$ ) dos espectros beta<sub>1</sub>, beta<sub>2</sub> e beta<sub>3</sub> do eletroencefalograma de ratos Wistar-Kyoto. Grupos: ratos sem obstrução da carótida comum esquerda; ratos com obstrução da artéria carótida comum esquerda; ratos com obstrução da artéria carótida comum esquerda e infusão no segmento distal da mesma infusão, a 41.50  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , de solução de glutation reduzido (1,2 mM), durante 60 minutos. A atividade não hipersíncrona foi analisada. Observação: n=8.

Processando-se a Análise de Variância (ANOVA “One Way RM”) e a Análise de Variância de Medidas Repetidas de Friedman (Daniel, 1991), quando o teste de normalidade falhou, os grupos comparados em que se estudou a atividade não hipersíncrona e que ofereceram diferenças de amplitudes absolutas médias estatisticamente significativas ( $P < 0,05$ ) são apresentados na tabela 60. A comparação múltipla de todos os pares foi feita através do método de Student-Newman-Keuls ou pelo método de Dunnet, quando o valor de P entre todos os grupos de tratamento foi menor que 0,05 e o método de Student-Newman-Keuls não identificou os pares de grupos com  $P < 0,05$ . Detalhes individuais são apresentados nos gráficos 39 a 44.

Pares de grupos comparados (P<0,05)	Valor de P entre os grupos de tratamento < 0,05
AF4 (SO) e AF4 (CE)	0,0302*
AF4 (CE) e AF4 (CEG)	( $\chi^2 = 7,00$ com 2 graus de liberdade)
AP3 (SO) e AP3 (CE)	0,0480
AP4 (SO) e AP4 (CE)	0,0378
B1F3 (SO) e B1F3 (CE)	0,0302*
B1F3 (CEG) e B1F3 (CE)	( $\chi^2 = 7,00$ com 2 graus de liberdade)
B1F4 (SO) e B1F4 (CE)	0,0223
B1P3 (SO) e B1P3 (CE)	0,0386
B2F4 (SO) e B2F4 (CE)	0,0463
B3F3 (SO) e B3F3 (CE)	0,0343** 0,0439*
	( $\chi^2 = 6,25$ com 2 graus de liberdade)
B3F4 (SO) e B3F4 (CE)	0,0254
B3P3 (SO) e B3P3 (CE)	0,0297
B3P4 (SO) e B3P4 (CE)	0,0326
DF3 (CEG) e DF3 (SO) ***	
DF3 (CE) e DF3 (SO) ***	0,0347
DF4 (SO) e DF4 (CE)	0,0139**
DF4 (SO) e DF4 (CEG)	0,1969*
	( $\chi^2 = 3,25$ com 2 graus de liberdade)
DP3 (SO) e DP3 (CE)	
DP3 (SO) e DP3 (CEG)	0,0311
DP4 (SO) e DP4 (CE)	
DP4 (SO) e DP4 (CEG)	0,0182
TF4 (SO) e TF4 (CE)	0,0404

Tabela 60 – Valores de P resultantes da comparação das amplitudes absolutas médias entre os grupos controle (SO) de tratamento (CE e CEG) e de pares de grupos de tratamento (ANOVA “ONE WAY” RM) (\*\*). Somente os grupos com valores de P<0,05 foram comparados. A Análise de Variância de Medidas Repetidas de Friedman foi também processada (\*), quando houve falha do teste de normalidade. A comparação múltipla de todos os pares foi feita através do método de Student-Newman-Keuls ou pelo método de Dunnet (\*\*\*), quando o valor de P entre todos os grupos de tratamento foi menor que 0,05 e o método de Student-Newman-Keuls não identificou os pares de grupos com P<0,05. A significa alfa; B1, beta<sub>1</sub>; B2, beta<sub>2</sub>; B3, beta<sub>3</sub>, D, delta; T, teta; (SO), sem obstrução da artéria carótida comum; (CE), com obstrução da carótida comum esquerda; (CEG), obstrução da carótida comum esquerda e infusão intracarotídea esquerda de solução 1,2 mM de glutatión reduzido a 41,50 µl/100g/min, durante 60 minutos. Este estudo foi feito a partir de épocas de EEG sem atividade hipersíncrona.

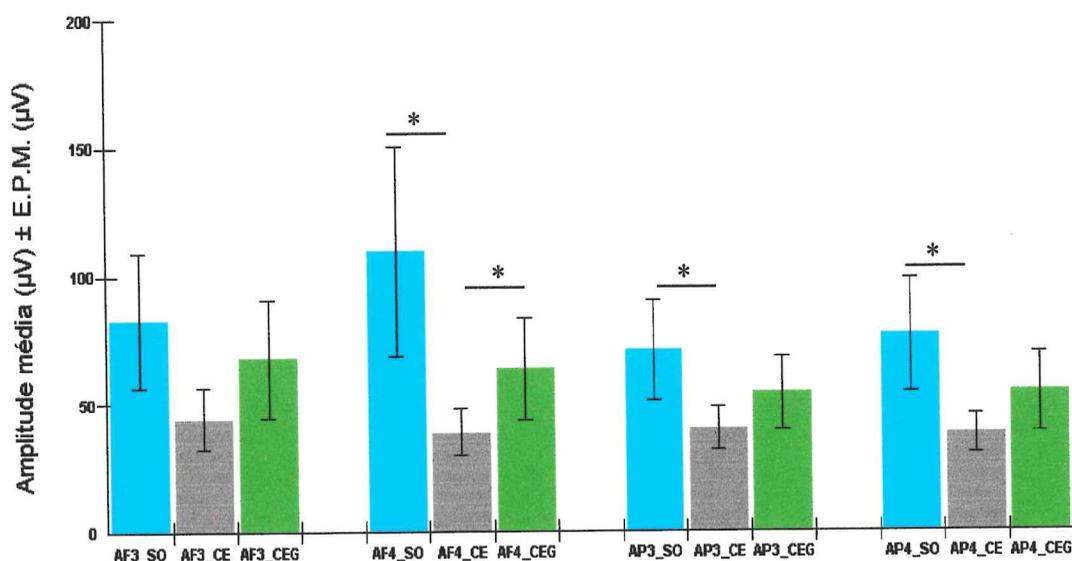


Gráfico 39 – Amplitudes absolutas médias do espectro alfa do EEG sem atividade hipersíncrona de ratos sem obstrução de carótida comum (\_SO), com obstrução da carótida comum esquerda (\_CE), com obstrução da carótida comum esquerda e infusão intracarotídea esquerda de GSH (\_CEG). AF3 significa alfa frontal esquerdo; AF4, alfa frontal direito; AP3, alfa parietal esquerdo; AP4, alfa parietal direito; \*,  $P < 0,05$ .

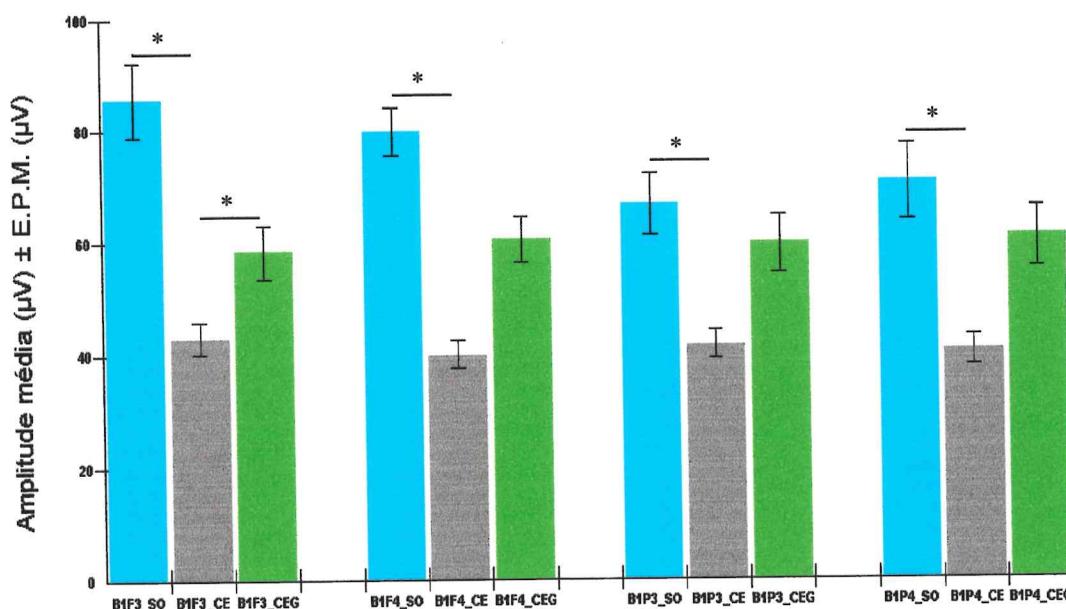


Gráfico 40 – Amplitudes absolutas médias do espectro beta<sub>1</sub> do EEG sem atividade hipersíncrona de ratos sem obstrução de carótida comum (\_SO), com obstrução da carótida comum esquerda (\_CE), com obstrução da carótida comum esquerda e infusão intracarotídea esquerda de GSH (\_CEG). B1F3 significa beta<sub>1</sub> frontal esquerdo; B1F4, beta<sub>1</sub> frontal direito; B1P3, beta<sub>1</sub> parietal esquerdo; B1P4, beta<sub>1</sub> parietal direito; \*,  $P < 0,05$ .

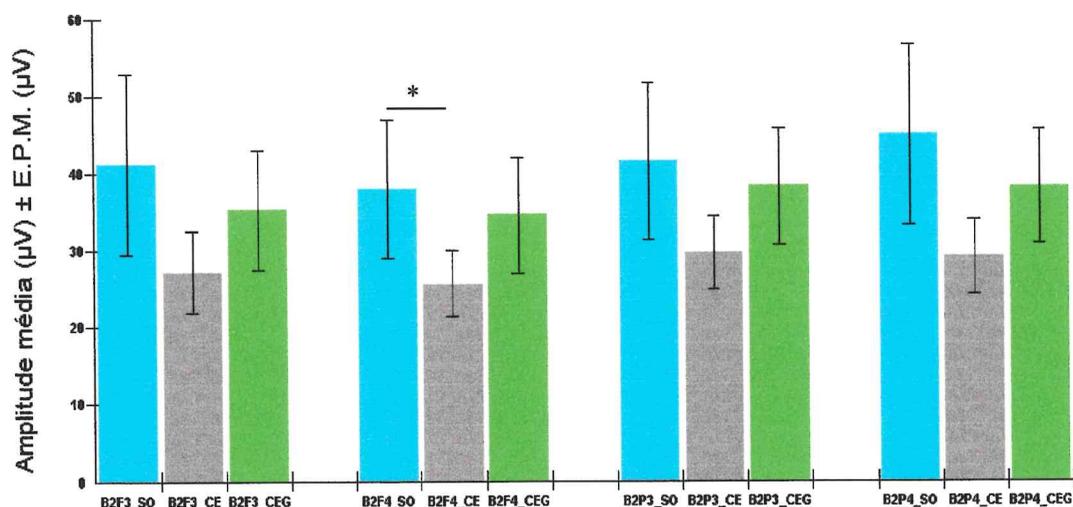


Gráfico 41 – Amplitudes absolutas médias do espectro beta2 do EEG sem atividade hipsíncrona de ratos sem obstrução de carótida comum (\_SO), com obstrução da carótida comum esquerda (\_CE), com obstrução da carótida comum esquerda e infusão intracarotídea esquerda de GSH (\_CEG). B2F3 significa beta2 frontal esquerdo; B2F4, beta2 frontal direito, B2P3, beta2 parietal esquerdo; B2P4, beta2 parietal direito; \*,  $P < 0,05$ .

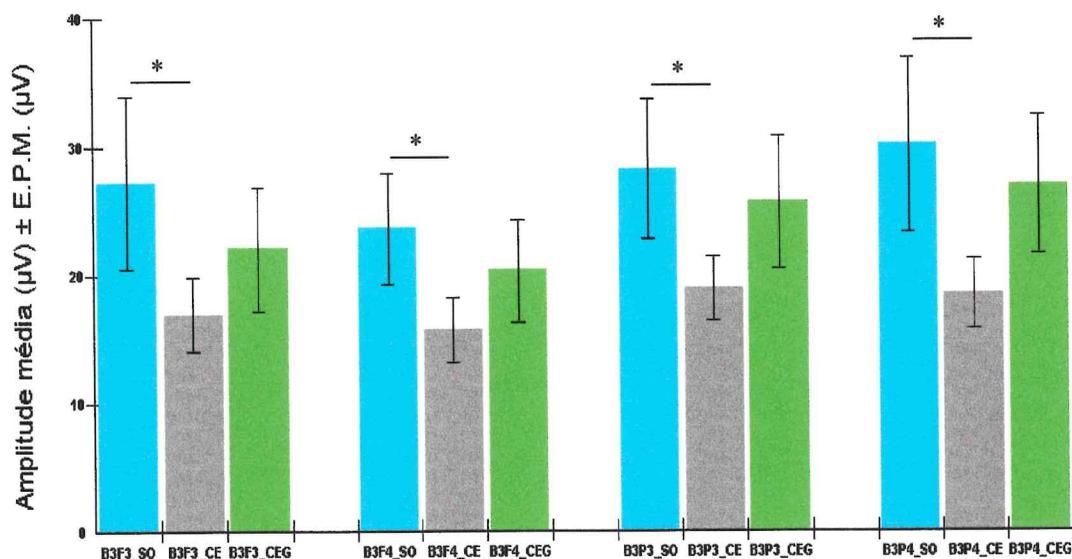


Gráfico 42 – Amplitudes absolutas médias do espectro beta3 do EEG sem atividade hipsíncrona de ratos sem obstrução de carótida comum (\_SO), com obstrução da carótida comum esquerda (\_CE), com obstrução da carótida comum esquerda e infusão intracarotídea esquerda de GSH (\_CEG). B3F3 significa beta3 frontal esquerdo; B3F4, beta3 frontal direito, B3P3, beta3 parietal esquerdo; B3P4, beta3 parietal direito; \*,  $P < 0,05$ .

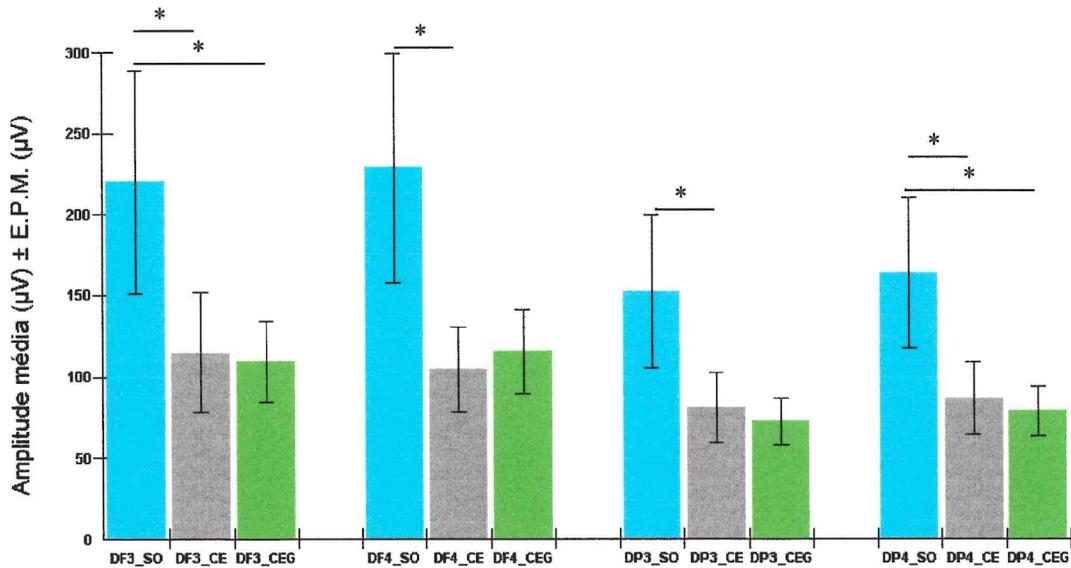


Gráfico 43 – Amplitudes absolutas médias do espectro delta do EEG sem atividade hipersíncrona de ratos sem obstrução de carótida comum (\_SO), com obstrução da carótida comum esquerda (\_CE), com obstrução da carótida comum esquerda e infusão intracarotídea esquerda de GSH (\_CEG). DF3 significa delta frontal esquerdo; DF4, delta frontal direito, DP3, delta parietal esquerdo; DP4, delta parietal direito; \*,  $P < 0,05$ .

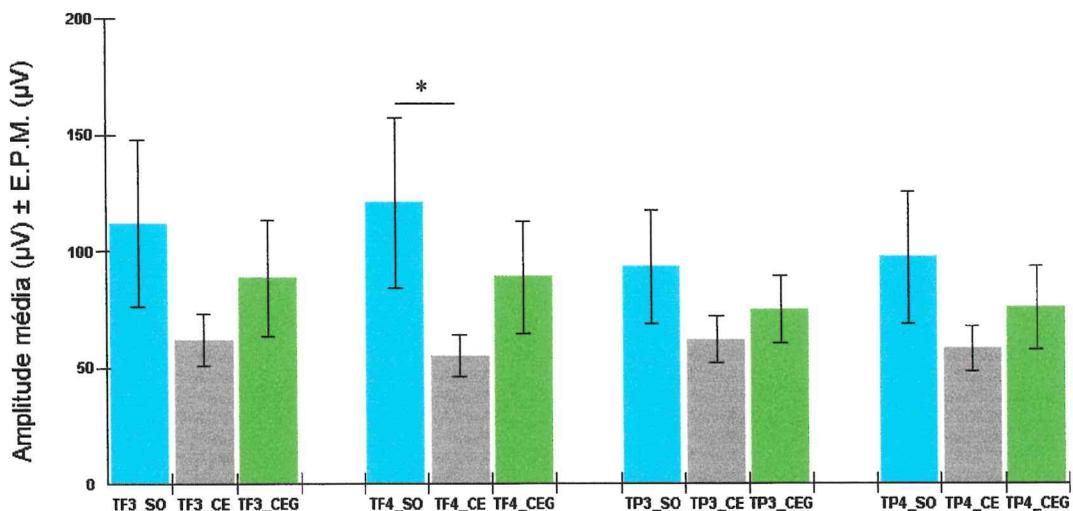


Gráfico 44 – Amplitudes absolutas médias do espectro teta do EEG sem atividade hipersíncrona de ratos sem obstrução de carótida comum (\_SO), com obstrução da carótida comum esquerda (\_CE), com obstrução da carótida comum esquerda e infusão intracarotídea esquerda de GSH (\_CEG). TF3 significa teta frontal esquerdo; TF4, teta frontal direito, TP3, teta parietal esquerdo; TP4, teta parietal direito; \*,  $P < 0,05$ .

Alfa (região frontal esquerda)			Alfa (região frontal direita)			Alfa (região parietal esquerda)			Alfa (região parietal direita)		
SO	CE	CEG	SO	CE	CEG	SO	CE	CEG	SO	CE	CEG
230,90	194,40	246,20	500,00	140,80	230,20	172,10	139,40	179,40	195,90	133,80	201,60
171,00	129,00	203,80	218,50	131,70	226,30	132,70	95,97	143,40	133,60	96,81	146,60
102,00	121,90	179,20	177,50	136,30	201,40	133,30	137,90	193,40	115,40	126,00	169,40
498,20	257,80	204,10	338,90	214,80	199,10	220,40	156,80	150,50	254,90	159,60	141,10
286,80	141,80	170,20	218,30	129,90	167,80	83,20	103,70	111,00	114,90	124,20	128,10
30,34			34,65			48,01			32,31		
59,15	39,75	60,04	62,07	131,00	222,10	91,53	51,12	97,73	81,23	39,99	66,77
90,25	166,00	253,10	76,09	84,88	144,40	52,28	75,74	132,00	46,23	89,69	138,70

Tabela 61 - Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) do espectro alfa do eletroencefalograma de ratos Wistar-Kyoto distribuídos em três grupos de estudo: SO – sem obstrução de carótidas; CE – com obstrução da carótida comum; CEG – com obstrução da carótida comum esquerda e infusão, a  $41,50 \mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , durante 60 minutos, de solução de glutathion reduzido (1,2 mM) em seu segmento distal. Na análise foram utilizados períodos com atividade hipersíncrona. Em um dos exames não se encontrou atividade hipersíncrona nos grupos CE e CEG (espaços da tabela sem dados).

Beta <sub>1</sub> (região frontal esquerda)			Beta <sub>1</sub> (região frontal direita)			Beta <sub>1</sub> (região parietal esquerda)			Beta <sub>1</sub> (região parietal direita)		
SO	CE	CEG	SO	CE	CEG	SO	CE	CEG	SO	CE	CEG
169,80	140,90	174,80	416,20	101,50	167,50	178,00	107,70	161,00	218,40	95,50	179,50
135,60	121,50	148,70	154,50	123,30	162,00	122,30	95,40	114,20	118,80	93,62	113,90
80,29	95,95	124,70	121,60	107,80	141,20	98,98	107,80	142,10	84,95	95,66	119,20
375,50	207,00	185,20	230,40	174,00	202,00	184,00	159,30	253,20	214,90	159,00	153,40
195,40	105,70	132,20	157,40	126,40	137,40	61,54	80,88	93,10	84,22	104,80	114,70
29,29			18,34			21,46			23,78		
56,48	49,78	65,62	50,50	143,60	173,30	86,40	60,71	88,73	73,08	33,90	55,21
97,45	189,20	179,80	54,50	92,42	132,00	46,51	101,50	111,00	36,10	87,55	116,50

Tabela 62 - Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) do espectro beta<sub>1</sub> do eletroencefalograma de ratos Wistar-Kyoto distribuídos em três grupos de estudo: SO – sem obstrução de carótidas; CE – com obstrução da carótida comum; CEG – com obstrução da carótida comum esquerda e infusão, a  $41,50 \mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , durante 60 minutos, de solução de glutathion reduzido (1,2 mM) em seu segmento distal. Na análise foram utilizados períodos com atividade hipersíncrona.. Em um dos exames não se encontrou atividade hipersíncrona nos grupos CE e CEG (espaços da tabela sem dados).

Beta <sub>2</sub> (região frontal esquerda)			Beta <sub>2</sub> (região frontal direita)			Beta <sub>2</sub> (região parietal esquerda)			Beta <sub>2</sub> (região parietal direita)		
SO	CE	CEG	SO	CE	CEG	SO	CE	CEG	SO	CE	CEG
73,24	57,87	69,09	161,30	49,64	75,23	98,31	53,33	81,14	113,70	50,90	95,77
63,76	57,74	69,27	69,49	58,34	76,53	66,93	48,30	58,88	67,48	45,87	58,46
46,69	48,03	61,64	61,96	50,40	64,24	55,67	52,41	68,15	49,63	45,26	54,82
144,60	94,51	111,30	95,40	75,48	99,89	100,60	81,50	113,00	110,60	77,92	87,47
71,82	50,24	58,72	58,98	59,98	64,47	22,08	41,44	45,70	32,54	57,77	67,55
15,81			18,34			21,46			23,78		
32,92	34,45	35,55	24,05	95,02	88,17	57,76	44,88	46,11	48,02	22,34	30,51
45,64	83,32	78,30	30,64	53,88	61,21	23,31	47,41	51,84	21,72	48,68	62,21

Tabela 63 - Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) do espectro beta<sub>2</sub> do eletroencefalograma de ratos Wistar-Kyoto distribuídos em três grupos de estudo: SO – sem obstrução de carótidas; CE – com obstrução da carótida comum; CEG – com obstrução da carótida comum esquerda e infusão, a 41,50  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , durante 60 minutos, de solução de glutathion reduzido (1,2 mM) em seu segmento distal. Na análise foram utilizados períodos com atividade hipersíncrona. Em um dos exames não se encontrou atividade hipersíncrona nos grupos CE e CEG (espaços da tabela sem dados).

Beta <sub>3</sub> (região frontal esquerda)			Beta <sub>3</sub> (região frontal direita)			Beta <sub>3</sub> (região parietal esquerda)			Beta <sub>3</sub> (região parietal direita)		
SO	CE	CEG	SO	CE	CEG	SO	CE	CEG	SO	CE	CEG
44,68	34,29	35,33	63,01	29,01	39,37	59,28	32,97	47,42	70,98	35,94	60,67
35,94	28,36	36,98	33,68	33,00	39,67	36,33	24,71	31,34	37,73	23,25	29,42
26,58	28,42	38,62	37,35	29,36	37,58	31,35	29,07	39,02	29,68	25,31	31,28
82,58	59,17	62,57	52,88	38,83	53,98	56,44	46,21	75,05	63,55	44,91	55,02
40,43	22,53	29,99	28,21	29,10	32,37	17,03	19,59	23,60	17,04	30,00	34,57
11,09			12,00			14,56			15,56		
20,64	15,00	21,17	14,66	29,74	51,46	35,02	25,50	27,81	28,79	14,40	17,89
18,72	30,38	43,08	13,72	14,63	26,80	13,62	17,86	28,17	11,43	18,70	31,10

Tabela 64 - Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) do espectro beta<sub>3</sub> do eletroencefalograma de ratos Wistar-Kyoto distribuídos em três grupos de estudo: SO – sem obstrução de carótidas; CE – com obstrução da carótida comum; CEG – com obstrução da carótida comum esquerda e infusão, a 41,50  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , durante 60 minutos, de solução de glutathion reduzido (1,2 mM) em seu segmento distal. Na análise foram utilizados períodos com atividade hipersíncrona. Em um dos exames não se encontrou atividade hipersíncrona nos grupos CE e CEG (espaços da tabela sem dados).

Delta (região frontal esquerda)			Delta (região frontal direita)			Delta (região parietal esquerda)			Delta (região parietal direita)		
SO	CE	CEG	SO	CE	CEG	SO	CE	CEG	SO	CE	CEG
612,10	607,30	804,00	507,00	309,40	694,40	415,80	307,10	456,80	408,50	291,60	504,30
289,40	358,40	449,20	459,00	369,10	449,40	287,00	223,20	272,40	293,80	216,50	256,20
258,60	207,00	346,10	403,30	193,10	313,50	270,70	165,20	250,60	241,20	151,50	219,80
597,30	475,60	476,30	597,40	497,80	584,80	301,60	282,70	465,10	373,80	318,00	281,10
418,60	220,03	323,70	490,20	212,10	274,70	117,90	146,00	185,00	208,90	176,10	212,90
81,67			76,94			87,72			69,52		
183,40	431,60	431,20	177,00	189,20	241,70	95,93	224,70	230,70	118,80	191,70	231,40
99,04	61,47	81,47	69,89	204,10	463,60	144,70	85,16	107,60	171,80	61,42	98,07

Tabela 65 - Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) do espectro delta do eletroencefalograma de ratos Wistar-Kyoto distribuídos em três grupos de estudo: SO – sem obstrução de carótidas; CE – com obstrução da carótida comum; CEG – com obstrução da carótida comum esquerda e infusão, a  $41,50 \mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , durante 60 minutos, de solução de glutathion reduzido (1,2 mM) em seu segmento distal. Na análise foram utilizados períodos com atividade hipersíncrona. Em um dos exames não se encontrou atividade hipersíncrona nos grupos CE e CEG (espaços da tabela sem dados).

Teta (região frontal esquerda)			Teta (região frontal direita)			Teta (região parietal esquerda)			Teta (região parietal direita)		
SO	CE	CEG	SO	CE	CEG	SO	CE	CEG	SO	CE	CEG
276,90	323,50	375,00	433,50	218,40	314,60	230,50	204,50	231,50	282,80	206,20	254,10
218,00	243,60	316,90	351,00	224,70	346,40	220,80	171,40	233,30	229,60	170,70	234,40
186,30	230,20	304,50	257,10	260,70	340,00	212,20	239,80	296,30	186,60	221,10	259,00
501,90	382,70	352,30	343,80	320,50	326,70	221,70	223,90	273,20	261,90	226,40	246,00
305,70	286,20	264,50	374,80	222,80	233,00	113,80	189,90	157,30	163,80	221,00	171,10
46,81			59,70			85,45			48,78		
75,65	52,36	78,11	74,62	156,90	360,30	127,40	74,34	123,00	119,10	44,75	85,50
143,70	342,60	345,00	113,20	138,70	210,00	74,59	171,30	189,60	71,45	149,90	190,50

Tabela 66 - Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) do espectro teta do eletroencefalograma de ratos Wistar-Kyoto distribuídos em três grupos de estudo: SO – sem obstrução de carótidas; CE – com obstrução da carótida comum; CEG – com obstrução da carótida comum esquerda e infusão, a  $41,50 \mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , durante 60 minutos, de solução de glutathion reduzido (1,2 mM) em seu segmento distal. Na análise foram utilizados períodos com atividade hipersíncrona. Em um dos exames não se encontrou atividade hipersíncrona nos grupos CE e CEG (espaços da tabela sem dados).

Região	Alfa			Delta			Teta		
	Sem obstrução da carótida comum	Obstrução da carótida comum esquerda	Obstrução da carótida comum esquerda e GSH	Sem obstrução da carótida comum	Obstrução da carótida comum esquerda	Obstrução da carótida comum esquerda e GSH	Sem obstrução da carótida comum	Obstrução da carótida comum esquerda	Obstrução da carótida comum esquerda e GSH
Frontal esquerda	205,50 ± 57,60	150,10 ± 25,50	188,10 ± 24,30	351,20 ± 75,20	337,30 ± 70,40	416,00 ± 81,80	244,00 ± 52,10	265,90 ± 41,00	290,90 ± 38,00
Frontal direita	227,30 ± 57,70	138,50 ± 14,50	198,80 ± 12,20	386,30 ± 72,30	282,10 ± 44,30	431,70 ± 63,30	278,30 ± 51,70	220,40 ± 23,10	304,40 ± 22,20
Parietal esquerda	126,50 ± 21,60	108,70 ± 38,10	143,90 ± 34,40	233,40 ± 44,30	204,90 ± 29,50	281,20 ± 50,60	171,60 ± 24,30	182,20 ± 20,40	214,90 ± 23,40
Parietal direita	134,60 ± 26,60	110,00 ± 14,60	141,80 ± 15,60	259,50 ± 39,90	201,00 ± 32,70	257,70 ± 46,50	187,90 ± 28,90	177,20 ± 24,60	205,80 ± 23,70

Tabela 67 - Média das amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ )  $\pm$  Erro Padrão da Média ( $\mu\text{V}$ ) dos espectros alfa, delta e teta do eletroencefalograma de ratos Wistar-Kyoto. Grupos: animais sem obstrução da carótida comum esquerda; animais com obstrução da artéria carótida comum esquerda; animais com obstrução da artéria carótida comum esquerda e infusão no segmento distal da mesma, a 41,50  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , durante 60 minutos, de solução de glutation reduzido (1,2 mM). N = 7 (número de animais analisados que formaram grupos pareados possíveis entre os oito analisados). Na análise foram utilizados períodos com atividade hipersíncrona.

Região	Beta <sub>1</sub>			Beta <sub>2</sub>			Beta <sub>3</sub>		
	Sem obstrução da carótida comum	Obstrução da carótida comum esquerda	Obstrução da carótida comum esquerda e GSH	Sem obstrução da carótida comum	Obstrução da carótida comum esquerda	Obstrução da carótida comum esquerda e GSH	Sem obstrução da carótida comum	Obstrução da carótida comum esquerda	Obstrução da carótida comum esquerda e GSH
Frontal esquerda	158,60 ± 40,60	130,00 ± 20,60	144,40 ± 15,90	64,80 ± 13,90	60,90 ± 7,91	69,10 ± 8,67	38,50 ± 8,23	31,20 ± 5,22	38,20 ± 4,84
Frontal direita	169,30 ± 47,46	124,10 ± 10,53	159,30 ± 9,32	71,70 ± 17,46	63,20 ± 6,23	75,70 ± 5,37	34,80 ± 6,94	29,10 ± 2,76	40,20 ± 3,67
Parietal esquerda	111,10 ± 20,30	101,90 ± 11,50	137,60 ± 21,60	60,70 ± 11,92	52,80 ± 5,04	66,40 ± 9,13	35,60 ± 6,62	28,00 ± 3,61	38,90 ± 6,74
Parietal direita	118,60 ± 26,90	95,70 ± 13,80	121,80 ± 14,60	63,40 ± 13,71	49,80 ± 6,26	65,30 ± 8,17	37,00 ± 8,50	27,50 ± 3,94	37,10 ± 5,73

Tabela 68 - Média das amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ )  $\pm$  Erro Padrão da Média ( $\mu\text{V}$ ) dos espectros beta<sub>1</sub>, beta<sub>2</sub> e beta<sub>3</sub> do eletroencefalograma de ratos Wistar-Kyoto. Grupos: animais sem obstrução da carótida comum esquerda; animais com obstrução da artéria carótida comum esquerda; animais com obstrução da artéria carótida comum esquerda e infusão no segmento distal da mesma, a 41,50  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , durante 60 minutos, de solução de glutation reduzido (1,2 mM). N = 7 (número de animais analisados que formaram grupos pareados possíveis entre os oito analisados). Na análise foram utilizados períodos com atividade hipersíncrona.

Processando-se a Análise de Variância (ANOVA “One Way RM”) e a Análise de Variância de Medidas Repetidas (Friedman), quando o teste de normalidade falhou, os grupos comparados que ofereceram diferenças de amplitudes absolutas médias estatisticamente significativas ( $P < 0,05$ ) são apresentados na tabela 69. A comparação múltipla de todos os pares foi feita através do método de Student-Newman-Keuls. Detalhes individuais são apresentados nos gráficos 45 a 50.

Pares de grupos comparados ( $P < 0,05$ )	Valor de P entre os grupos de tratamento $< 0,05$
B1F4 (CEG) e B1F4 (CE)	0,0498*
B1F4 (SO) e B1F4 (CE)	( $\chi^2 = 6,00$ com 2 graus de liberdade)
B3F4 (CEG) e B3F4 (CE)	0,0183*
B3F4 (CEG) e B3F4 (SO)	( $\chi^2 = 8,00$ com 2 graus de liberdade)
B3P3 (CEG) e B3P3 (CE)	0,0437

Tabela 69 – Comparação das medianas (quando o teste de normalidade falhou) e das médias das amplitudes absolutas médias entre os grupos controle (SO) e de tratamento (CE) e (CEG) e de pares de grupos de tratamento (ANOVA “ONE WAY” RM): valores de P. Somente os grupos com valores de  $P < 0,05$  foram comparados. A Análise de Variância de Medidas Repetidas (Friedman) foi também processada (\*), quando houve falha do teste de normalidade. A comparação múltipla de todos os pares foi feita através do método de Student-Newman-Keuls, quando o valor de P entre todos os grupos de tratamento foi menor que 0,05. B1 significa beta<sub>1</sub>; B3, beta<sub>3</sub>, (SO), sem obstrução da carótida comum; (CE), com obstrução da carótida comum esquerda; (CEG), obstrução da carótida comum esquerda e infusão intracarotídea esquerda, a 41,50  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , durante 60 minutos, de solução 1,2 mM de glutatión reduzido. Na análise foram utilizados períodos com atividade hipersíncrona.

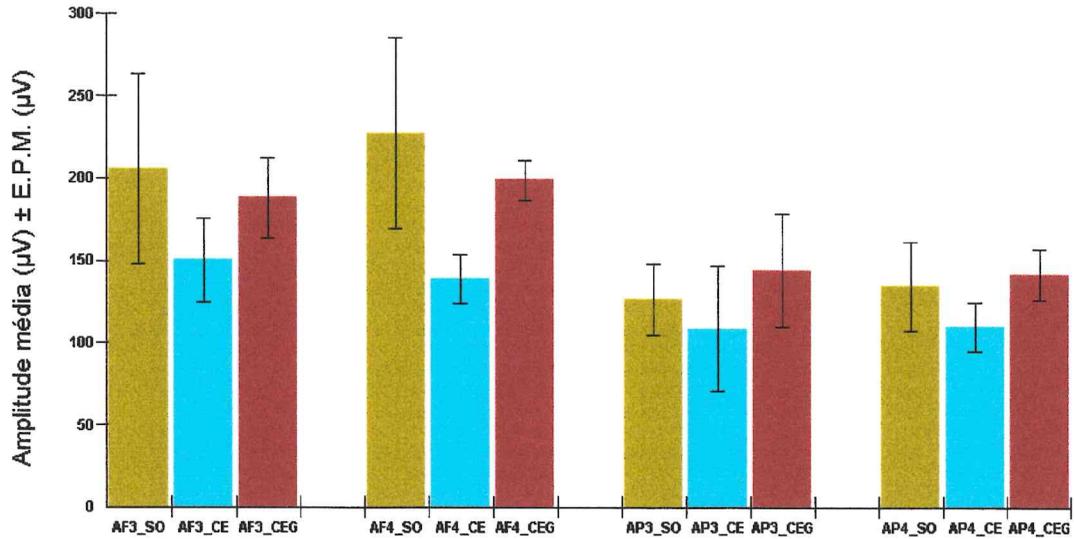


Gráfico 45 – Amplitudes absolutas médias do espectro alfa do EEG (incluindo atividade hipsíncrona) de ratos sem obstrução de carótida comum (SO), com obstrução da carótida comum esquerda (CE), com obstrução da carótida comum esquerda e infusão intracarotídea esquerda de GSH (CEG). AF3 significa alfa frontal esquerdo; AF4, alfa frontal direito, AP3, alfa parietal esquerdo; AP4, alfa parietal direito; E.P.M., erro padrão da média;  $\mu\text{V}$ , microvolts.

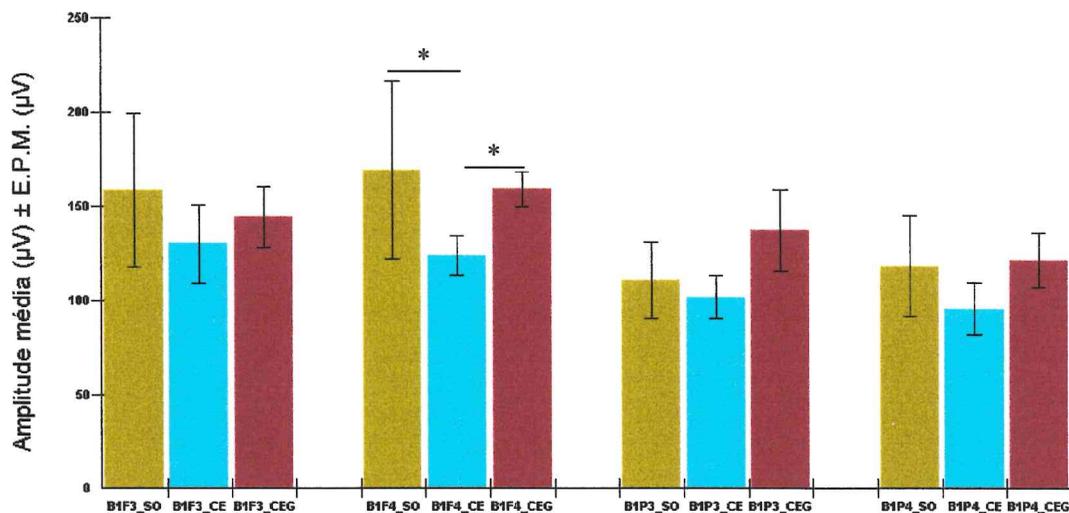


Gráfico 46 – Amplitudes absolutas médias do espectro beta<sub>1</sub> do EEG (incluindo atividade hipsíncrona) de ratos sem obstrução de carótida comum (SO), com obstrução da carótida comum esquerda (CE), com obstrução da carótida comum esquerda e infusão intracarotídea esquerda de GSH (CEG). B1F3 significa beta<sub>1</sub> frontal esquerdo; B1F4, beta<sub>1</sub> frontal direito, B1P3, beta<sub>1</sub> parietal esquerdo; B1P4, beta<sub>1</sub> parietal direito; \*,  $P < 0,05$ , E.P.M., erro padrão da média;  $\mu\text{V}$ , microvolts.

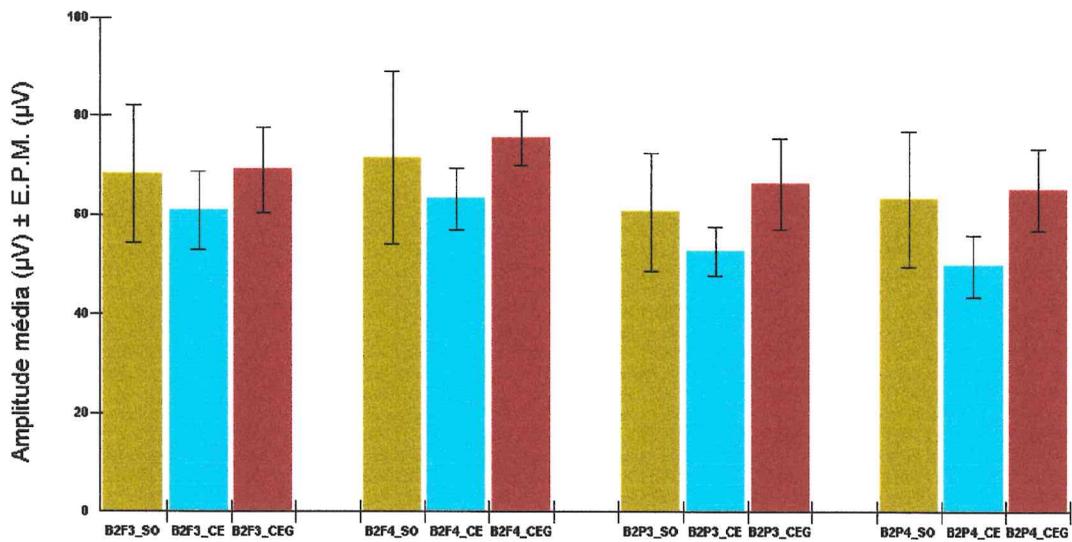


Gráfico 47 – Amplitudes absolutas médias do espectro beta<sub>2</sub> do EEG (incluindo atividade hipersíncrona) de ratos sem obstrução de carótida comum (\_SO), com obstrução da carótida comum esquerda (\_CE), com obstrução da carótida comum esquerda e infusão intracarotídea esquerda de GSH (\_CEG). B2F3 significa beta<sub>2</sub> frontal esquerdo; B2F4, beta<sub>2</sub> frontal direito, B2P3, beta<sub>2</sub> parietal esquerdo; B2P4, beta<sub>2</sub> parietal direito; E.P.M., erro padrão da média; μV, microvolts.

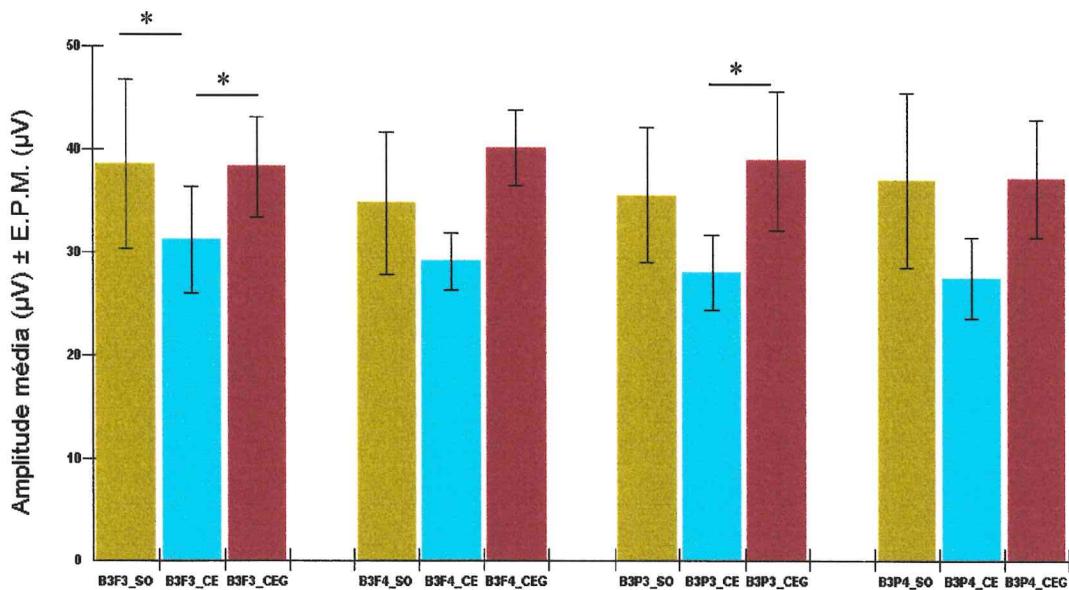


Gráfico 48 – Amplitudes absolutas médias do espectro beta<sub>3</sub> do EEG (incluindo atividade hipersíncrona) de ratos sem obstrução de carótida comum (\_SO), com obstrução da carótida comum esquerda (\_CE), com obstrução da carótida comum esquerda e infusão intracarotídea esquerda de GSH (\_CEG). B3F3 significa beta<sub>3</sub> frontal esquerdo; B3F4, beta<sub>3</sub> frontal direito, B3P3, beta<sub>3</sub> parietal esquerdo; B3P4, beta<sub>3</sub> parietal direito; \*, P<0,05, E.P.M., erro padrão da média; μV, microvolts.

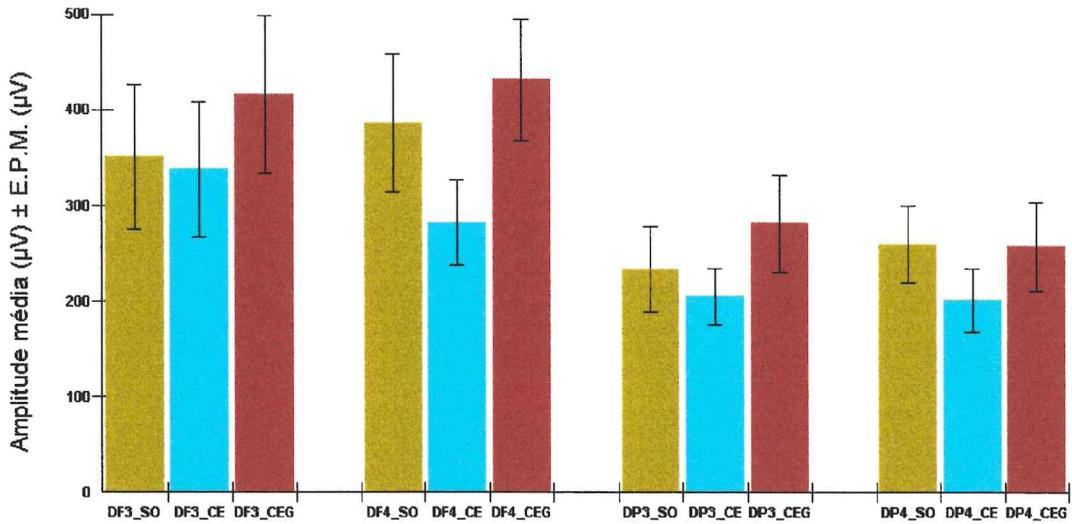


Gráfico 49 – Amplitudes absolutas médias do espectro delta do EEG (incluindo atividade hipsíncrona) de ratos sem obstrução de carótida comum (\_SO), com obstrução da carótida comum esquerda (\_CE), com obstrução da carótida comum esquerda e infusão intracarotídea esquerda de GSH (\_CEG). DF3 significa delta frontal esquerdo; DF4, delta frontal direito, DP3, delta parietal esquerdo; DP4, delta parietal direito; E.P.M., erro padrão da média;  $\mu\text{V}$ , microvolts.

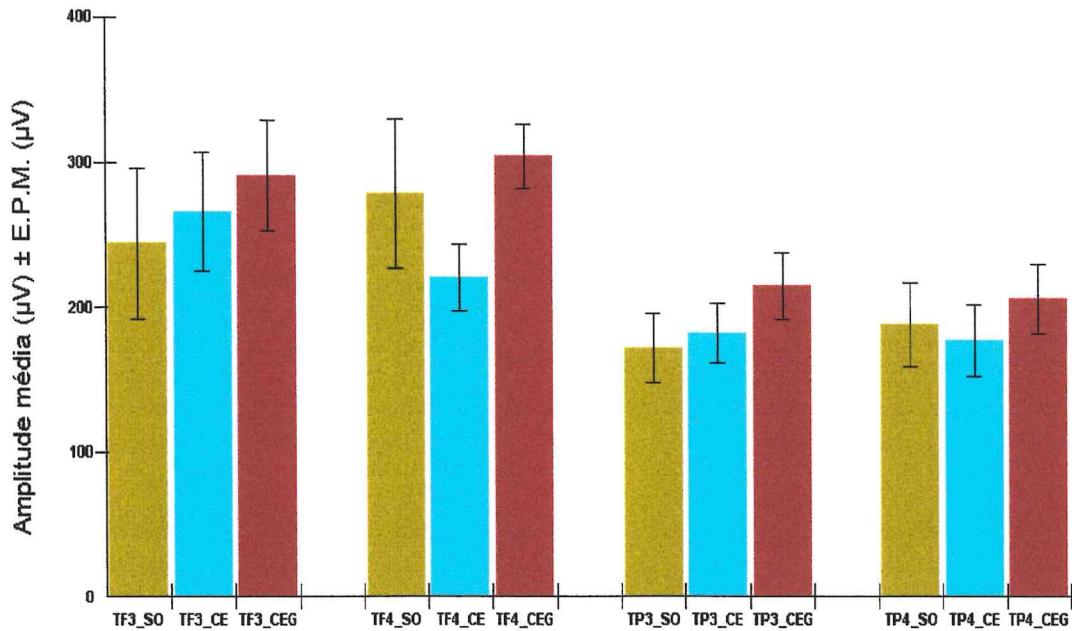


Gráfico 50 – Amplitudes absolutas médias do espectro teta do EEG (incluindo atividade hipsíncrona) de ratos sem obstrução de carótida comum (\_SO), com obstrução da carótida comum esquerda (\_CE), com obstrução da carótida comum esquerda e infusão intracarotídea esquerda de GSH (\_CEG). TF3 significa teta frontal esquerdo; TF4, teta frontal direito, TP3, teta parietal esquerdo; TP4, teta parietal direito; E.P.M., erro padrão da média;  $\mu\text{V}$ , microvolts.

Dos oito animais utilizados nesta fase experimental, oito apresentaram atividade hipersíncrona, quando fizeram parte do grupo sem obstrução da artéria carótida comum (tabelas 61 a 66). Quando fizeram parte do grupo com obstrução da artéria carótida comum esquerda ou do grupo com obstrução da artéria carótida comum esquerda e infusão intracarotídea esquerda de glutathione, sete apresentaram atividade hipersíncrona (tabelas 61 a 66).

Quando se estudou o EEG sem atividade hipersíncrona, comparando-se os grupos sem obstrução da artéria carótida e os com obstrução da artéria carótida comum esquerda, a observação cuidadosa das tabelas 58 e 59 e gráficos 39 a 44 permite inferir que, em todos os grupos pares de estudo, a obstrução da artéria carótida comum esquerda induziu uma redução das amplitudes absolutas médias dos espectros do EEG. Houve modificação significativa da amplitude absoluta média, quando comparados os seguintes grupos pares: alfa frontal direito, alfa parietal esquerdo, alfa parietal direito,  $\beta_1$  frontal esquerdo,  $\beta_1$  frontal direito,  $\beta_1$  parietal esquerdo,  $\beta_2$  frontal direito,  $\beta_3$  frontal esquerdo,  $\beta_3$  frontal direito,  $\beta_3$  parietal esquerdo,  $\beta_3$  parietal direito, delta frontal esquerdo, delta parietal esquerdo, delta parietal direito e teta frontal direito (tabela 60, gráficos 39 a 44). A infusão de glutathione aumentou a amplitude absoluta média dos espectros de frequência, com exceção do espectro delta frontal esquerdo, delta frontal direito, delta parietal esquerdo e delta parietal direito, que tiveram suas amplitudes absolutas médias praticamente inalteradas (tabelas 58 e 59, gráficos 39 a 44). O aumento da amplitude absoluta média do espectro alfa na região frontal direita (tabela 60, gráfico 39) e  $\beta_1$  na região frontal esquerda (tabela 60, gráfico 40) foi significativo.

Quando períodos com atividade hipersíncrona foram envolvidos no estudo, verificou-se que a obstrução da artéria carótida comum esquerda induziu uma redução da amplitude absoluta média dos espectros eletroencefalográficos,

com exceção de teta das regiões frontal esquerda, parietal esquerda e parietal direita (tabelas 67 e 68, gráficos 45 a 50). A redução da amplitude absoluta média do espectro  $\beta_1$  frontal direito foi significativa após obstrução da artéria carótida comum esquerda (tabela 69, gráfico 46). A infusão intracarotídea esquerda de glutathione induziu aumento das amplitudes absolutas médias de todos os espectros de frequência do eletroencefalograma de animais com obstrução da artéria carótida comum esquerda (tabelas 67 e 68, gráficos 45 a 50); o aumento das amplitudes absolutas médias do espectro  $\beta_1$  frontal direito,  $\beta_3$  frontal direito e parietal esquerdo foi significativo (tabela 69, gráficos 46 e 48).

#### **4.6. Estudo das amplitudes absolutas médias dos espectros eletroencefalográficos em ratos com oclusão das carótidas comuns e infusão intracarotídea de solução de solução 2,1 mM de L-cistina.**

As tabelas 70 a 75 demonstram os valores das amplitudes absolutas médias dos espectros de frequência do eletroencefalograma (alfa,  $\beta_1$ ,  $\beta_2$ ,  $\beta_3$ , delta e teta) obtidos a partir de sua avaliação quantitativa no grupo **Isquemia** (ratos anestesiados com isquemia induzida por obstrução das artérias carótidas comuns) e no grupo **Infusão de L-cistina** (mesmos ratos, nos quais se promoveu infusão intracarotídea esquerda de solução 2,1 mM de L-cistina, a 43,31  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , durante sessenta minutos). As tabelas 76 e 77 demonstram os valores das médias das amplitudes absolutas  $\pm$  erro padrão da média e de P respectivamente. Os gráficos 51 a 56 resumem os achados estatísticos.

As amplitudes absolutas médias dos diversos espectros de frequência do eletroencefalograma apresentam-se maiores nas regiões parietais do que nas regiões frontais (tabela 76, gráficos 51 a 56).

Alfa (frontal esquerdo)		Alfa (frontal direito)		Alfa (parietal esquerdo)		Alfa (parietal direito)	
Isquemia	Infusão de L-cistina	Isquemia	Infusão de L-cistina	Isquemia	Infusão de L-cistina	Isquemia	Infusão de L-cistina
35,93	22,99	20,93	15,94	69,93	55,64	53,18	42,04
46,09	57,46	31,60	31,42	66,72	71,37	48,78	53,42
33,34	22,41	28,70	21,01	61,61	52,89	38,97	58,57
22,50	29,59	25,44	32,32	72,42	98,94	63,71	87,73
4,79	6,45	4,07	7,77	14,35	31,05	11,71	28,15
43,72	37,02	36,21	32,19	85,60	60,55	69,53	53,13
49,68	46,91	23,08	25,94	64,38	68,67	47,15	58,29
30,41	39,16	27,57	34,70	77,42	85,48	68,86	82,12
65,96	66,34	50,28	47,65	67,16	81,19	57,40	68,80

Tabela 70 – Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) do espectro alfa do EEG de animais, cada um deles participando de dois grupos: **Isquemia** (obstrução das artérias carótidas comuns) e **Infusão de L-cistina** (obstrução bilateral das artérias carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda, a 43,31  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , durante sessenta minutos, de solução 2,1 mM de L-cistina).

Beta <sub>1</sub> (frontal esquerdo)		Beta <sub>1</sub> (frontal direito)		Beta <sub>1</sub> (parietal esquerdo)		Beta <sub>1</sub> (parietal direito)	
Isquemia	Infusão de L-cistina	Isquemia	Infusão de L-cistina	Isquemia	Infusão de L-cistina	Isquemia	Infusão de L-cistina
35,58	20,51	18,93	15,06	66,12	58,36	50,08	39,28
38,08	42,74	27,03	25,79	61,39	65,34	41,70	43,79
33,18	21,08	29,49	19,18	63,94	42,85	39,39	44,12
22,87	25,65	28,43	31,54	83,83	91,07	76,98	77,29
6,47	6,54	6,18	8,45	20,96	29,36	24,95	24,56
35,54	30,29	35,18	30,91	82,29	60,55	70,93	54,19
40,65	38,91	23,12	23,27	65,47	64,67	47,20	43,43
24,99	36,82	23,23	31,11	61,82	87,95	52,63	80,20
55,46	47,42	41,77	40,71	61,12	69,79	51,11	55,29

Tabela 71 – Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) do espectro beta<sub>1</sub> do EEG de animais, cada um deles participando de dois grupos: **Isquemia** (obstrução das artérias carótidas comuns) e **Infusão de L-cistina** (obstrução bilateral das artérias carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda, a 43,31  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , durante sessenta minutos, de solução 2,1 mM de L-cistina).

Beta <sub>2</sub> (frontal esquerdo)		Beta <sub>2</sub> (frontal direito)		Beta <sub>2</sub> (parietal esquerdo)		Beta <sub>2</sub> (parietal direito)	
Isquemia	Infusão de L-cistina	Isquemia	Infusão de L-cistina	Isquemia	Infusão de L-cistina	Isquemia	Infusão de L-cistina
14,12	10,73	9,93	8,62	32,55	27,55	27,21	21,27
19,69	21,98	14,63	14,44	38,82	39,61	28,36	23,99
16,83	10,98	14,84	10,50	31,91	22,09	21,22	22,78
11,97	13,20	15,84	17,27	44,43	50,33	41,69	40,86
5,09	4,03	5,66	5,92	16,50	18,38	18,46	17,54
15,35	14,98	18,25	17,24	38,35	30,83	40,21	30,82
24,64	22,54	14,81	12,56	30,56	32,79	27,80	24,97
17,84	23,88	16,26	17,79	50,20	52,59	44,63	44,35
24,75	22,20	23,39	24,74	31,58	35,79	28,01	31,09

Tabela 72 – Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) do espectro beta<sub>2</sub> do EEG de animais, cada um deles participando de dois grupos: **Isquemia** (obstrução das artérias carótidas comuns) e **Infusão de L-cistina** (obstrução bilateral das artérias carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda, a 43,31  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , durante sessenta minutos, de solução 2,1 mM de L-cistina).

Beta <sub>3</sub> (frontal esquerdo)		Beta <sub>3</sub> (frontal direito)		Beta <sub>3</sub> (parietal esquerdo)		Beta <sub>3</sub> (parietal direito)	
Isquemia	Infusão de L-cistina	Isquemia	Infusão de L-cistina	Isquemia	Infusão de L-cistina	Isquemia	Infusão de L-cistina
9,22	7,85	7,29	6,01	19,96	21,98	15,77	15,62
13,19	13,64	11,06	11,04	22,76	27,66	17,34	15,15
10,72	7,21	9,39	6,69	20,41	15,82	14,21	15,06
7,28	7,42	10,13	9,81	31,74	30,73	35,45	25,67
3,99	2,87	4,61	4,53	13,50	12,88	17,43	16,66
9,33	9,84	14,48	11,76	27,96	21,19	26,54	21,82
16,73	15,02	9,45	8,48	30,52	18,82	20,22	18,16
10,40	16,08	10,01	11,43	38,96	34,98	29,09	29,44
14,51	15,08	13,52	15,53	19,45	22,48	15,38	20,77

Tabela 73 – Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) do espectro beta<sub>3</sub> do EEG de animais, cada um deles participando de dois grupos: **Isquemia** (obstrução das artérias carótidas comuns) e **Infusão de L-cistina** (obstrução bilateral das artérias carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda, a 43,31  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , durante 60 minutos, de solução 2,1 mM de L-cistina).

Delta (frontal esquerdo)		Delta (frontal direito)		Delta (parietal esquerdo)		Delta (parietal direito)	
Isquemia	Infusão de L-cistina	Isquemia	Infusão de L-cistina	Isquemia	Infusão de L-cistina	Isquemia	Infusão de L-cistina
78,82	61,83	62,24	49,68	138,30	113,70	112,50	94,08
90,77	102,90	60,52	66,71	142,00	148,50	99,41	114,00
74,29	41,30	68,84	38,19	119,00	81,95	119,40	83,96
40,14	35,23	69,30	56,97	167,30	174,40	140,70	150,60
24,31	27,94	24,63	31,17	96,68	121,40	60,52	76,40
119,30	68,00	107,3	67,66	205,10	117,90	132,50	91,49
113,20	141,00	75,17	89,65	100,80	107,30	85,81	113,60
88,93	95,52	94,80	105,30	127,60	109,60	85,38	94,75
128,90	131,30	84,43	88,78	86,25	92,55	60,33	63,04

Tabela 74 – Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) do espectro delta do EEG de animais, cada um deles participando de dois grupos: **Isquemia** (obstrução das artérias carótidas comuns) e **Infusão de L-cistina** (obstrução bilateral das artérias carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda, a 43,31  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , durante sessenta minutos, de solução 2,1 mM de L-cistina).

Teta (frontal esquerdo)		Teta (frontal direito)		Teta (parietal esquerdo)		Teta (parietal direito)	
Isquemia	Infusão de L-cistina	Isquemia	Infusão de L-cistina	Isquemia	Infusão de L-cistina	Isquemia	Infusão de L-cistina
42,83	28,16	29,35	21,85	86,78	74,19	70,11	54,23
61,40	72,15	39,29	44,64	87,69	97,86	65,81	73,75
38,89	26,73	33,42	26,78	76,53	66,46	59,48	71,48
31,54	35,18	39,14	41,20	95,60	125,20	86,37	108,80
10,27	10,55	10,57	13,68	42,67	48,14	34,33	41,92
61,72	44,66	55,75	41,39	130,80	82,47	102,80	70,32
91,94	76,78	34,86	37,83	73,85	77,27	61,18	66,73
52,29	58,52	51,96	59,92	86,20	97,63	74,75	93,25
89,41	80,39	72,07	70,73	84,64	97,32	73,94	81,09

Tabela 75 – Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) do espectro teta do EEG de animais, cada um deles participando de dois grupos: **Isquemia** (obstrução das artérias carótidas comuns) e **Infusão de L-cistina** (obstrução bilateral das artérias carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda, a 43,31  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , durante sessenta minutos, de solução 2,1 mM de L-cistina).

Grupo		Beta3	Beta2	Beta1	Alfa	Teta	Delta
Frontal esquerdo	Isquemia	10,60 ± 1,28	16,70 ± 2,05	32,54 ± 4,52	36,94 ± 5,81	53,37 ± 8,80	84,30 ± 11,66
	Infusão de L-cistina	10,56 ± 1,53	16,06 ± 2,31	30,00 ± 4,30	36,48 ± 6,21	48,12 ± 8,33	78,34 ± 13,83
Frontal direito	Isquemia	9,99 ± 0,99	14,85 ± 1,65	25,93 ± 3,36	27,54 ± 4,13	40,71 ± 5,85	71,91 ± 7,83
	Infusão de L-cistina	9,45 ± 1,14	14,85 ± 1,90	25,11 ± 3,27	27,66 ± 3,88	39,78 ± 5,97	66,01 ± 8,30
Parietal esquerdo	Isquemia	25,03 ± 2,62	34,99 ± 3,20	62,99 ± 6,01	64,40 ± 6,71	84,97 ± 7,65	131,45 ± 12,49
	Infusão de L-cistina	22,95 ± 2,36	34,44 ± 3,88	63,33 ± 6,49	67,31 ± 6,71	85,17 ± 7,43	118,59 ± 9,33
Parietal direito	Isquemia	21,27 ± 2,46	30,84 ± 3,07	50,55 ± 5,25	51,03 ± 5,98	69,86 ± 6,30	99,62 ± 9,71
	Infusão de L-cistina	21,27 ± 2,46	28,63 ± 3,01	51,35 ± 5,97	59,14 ± 6,19	73,51 ± 6,59	97,99 ± 8,51

Tabela 76 – Média ( $\mu\text{V}$ )  $\pm$  erro padrão da média ( $\mu\text{V}$ ) das amplitudes absolutas médias dos diversos espectros de frequência do eletroencefalograma de dois grupos pares de animais ( $n=9$ ): **Isquemia** (obstrução das artérias carótidas comuns) e **Infusão de L-cistina** (obstrução bilateral das artérias carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda, a 43,31  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , durante sessenta minutos, de solução 2,1 mM de L-cistina).

Grupos comparados	Beta <sub>3</sub>	Beta <sub>2</sub>	Beta <sub>1</sub>	Alfa	Teta	Delta
Frontal E (I) Frontal E (IC)	0,9634	0,5972	0,3970	0,8785	0,1735	0,4816
Frontal D (I) Frontal D (IC)	0,3660	0,4627	0,6481	0,9487	0,7080	0,3817
Parietal E (I) Parietal E (IC)	0,2676	0,7726	0,9495	0,6060	0,9792	0,2883
Parietal D (I) Parietal D (IC)	0,3253	0,1248	0,8505	0,1120	0,5438	0,8453

Tabela 77 – Valores de P; grupos comparados: (I) – **Isquemia** (obstrução bilateral das artérias carótidas comuns); (IC) – **Infusão de L-cistina** (obstrução das artérias carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda, a 43,31  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , durante sessenta minutos, de solução 2,1 mM de L-cistina). D significa direito; E, esquerdo.

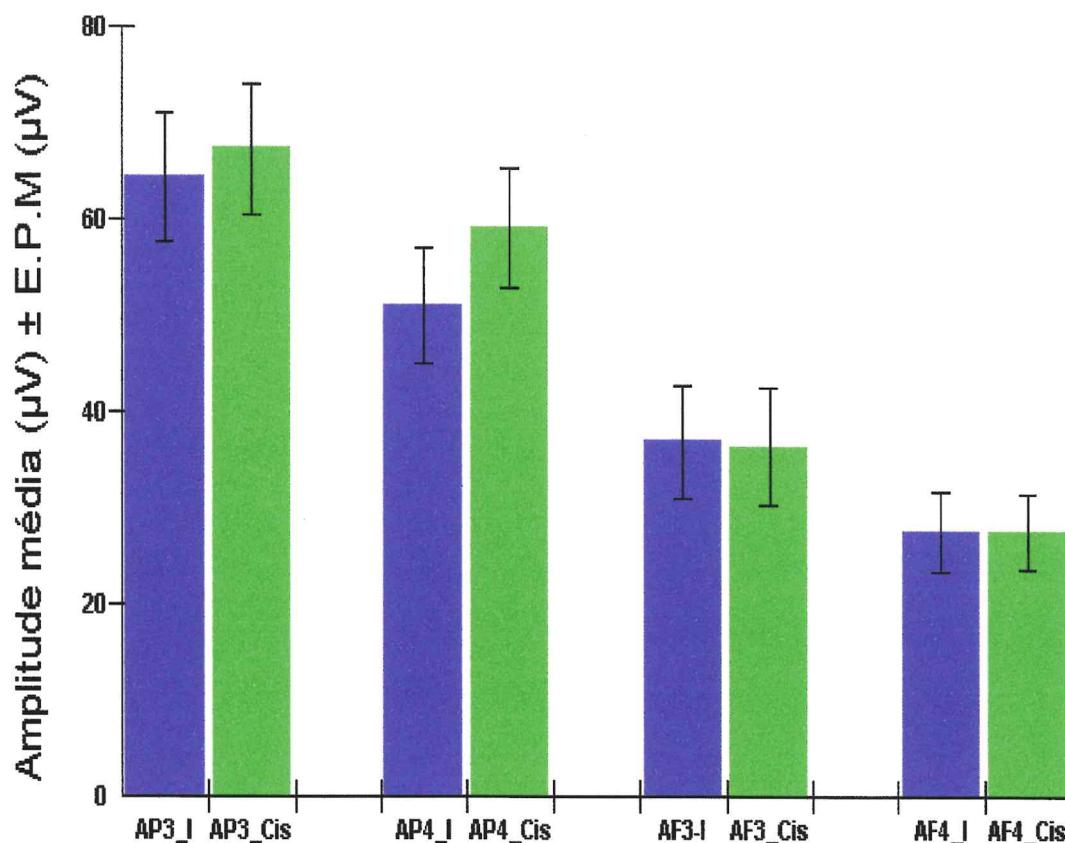


Gráfico 51 – Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ )  $\pm$  E.P.M. ( $\mu\text{V}$ ) do espectro alfa do EEG de ratos Wistar-Kyoto, cada um deles participando de dois grupos: \_I e \_Cis. \_I significa **Isquemia** (obstrução das artérias carótidas comuns); \_Cis, **Infusão de L-cistina** (obstrução das artérias carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda de solução 2,1 mM de L-cistina, a 43,31  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , durante sessenta minutos); AP3, alfa parietal esquerdo, AP4, alfa parietal direito; AF3, alfa frontal esquerdo, AF4, alfa frontal direito; E.P.M., erro padrão da média;  $\mu\text{V}$ , microvolts.

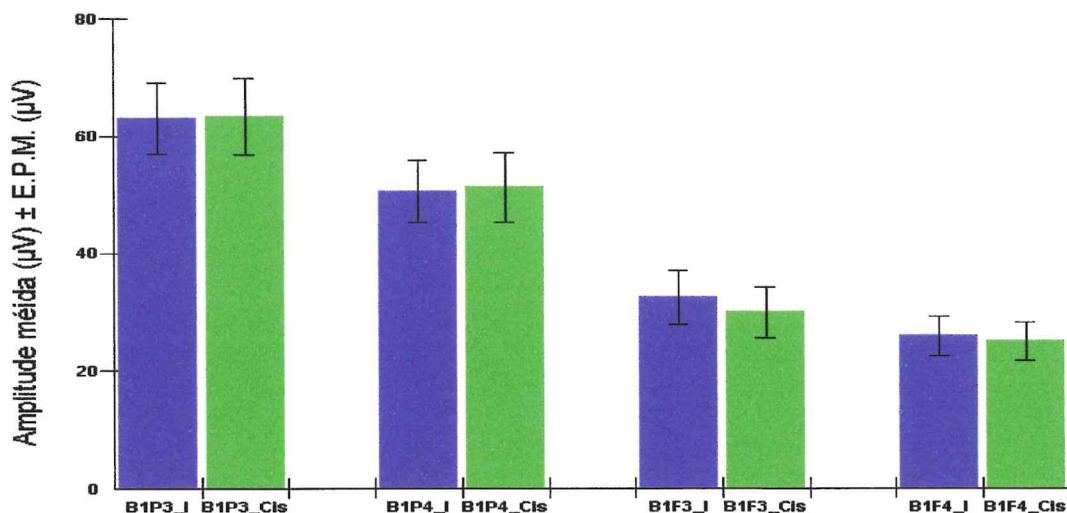


Gráfico 52 - Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ )  $\pm$  E.P.M. ( $\mu\text{V}$ ) do espectro  $\beta_1$  do EEG de ratos Wistar-Kyoto, cada um deles participando de dois grupos: I e Cis. I significa **Isquemia** (obstrução das artérias carótidas comuns); Cis, **Infusão de L-cistina** (obstrução das artérias carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda de solução 2,1 mM de L-cistina, a 43,31  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , durante sessenta minutos); B1P3,  $\beta_1$  parietal esquerdo, B1P4,  $\beta_1$  parietal direito; B1F3,  $\beta_1$  frontal esquerdo, B1F4,  $\beta_1$  frontal direito; E.P.M., erro padrão da média;  $\mu\text{V}$ , microvolts.

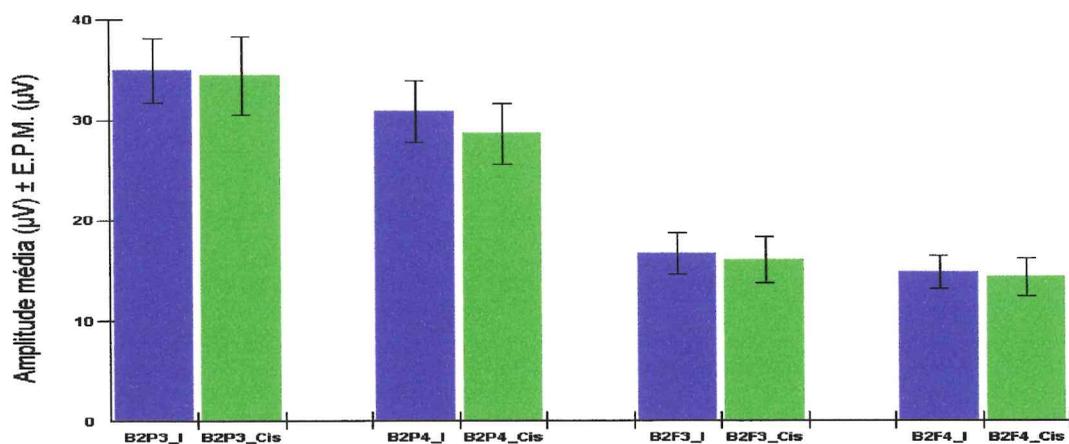


Gráfico 53 - Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ )  $\pm$  E.P.M. ( $\mu\text{V}$ ) do espectro  $\beta_2$  do EEG de ratos Wistar-Kyoto, cada um deles participando de dois grupos: I e Cis. I significa **Isquemia** (obstrução das artérias carótidas comuns); Cis, **Infusão de L-cistina** (obstrução das artérias carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda de solução 2,1 mM de L-cistina, a 43,31  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , durante sessenta minutos); B2P3,  $\beta_2$  parietal esquerdo, B2P4,  $\beta_2$  parietal direito; B2F3,  $\beta_2$  frontal esquerdo, B2F4,  $\beta_2$  frontal direito; E.P.M., erro padrão da média;  $\mu\text{V}$ , microvolts.

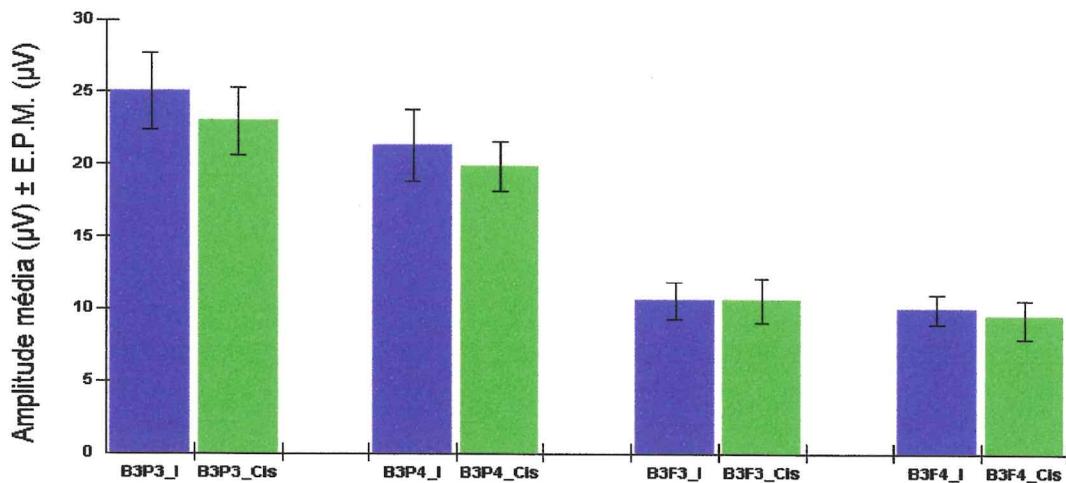


Gráfico 54 - Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ )  $\pm$  E.P.M. ( $\mu\text{V}$ ) do espectro beta<sub>3</sub> do EEG de ratos Wistar-Kyoto, cada um deles participando de dois grupos: \_I e \_Cis. \_I significa **Isquemia** (obstrução das artérias carótidas comuns); \_Cis, **Infusão de L-cistina** (obstrução das artérias carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda de solução 2,1 mM de L-cistina, a 43,31  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , durante sessenta minutos); B3P3, beta<sub>3</sub> parietal esquerdo, B3P4, beta<sub>3</sub> parietal direito; B3F3, beta<sub>3</sub> frontal esquerdo, B3F4, beta<sub>3</sub> frontal direito; E.P.M., erro padrão da média;  $\mu\text{V}$ , microvolts.

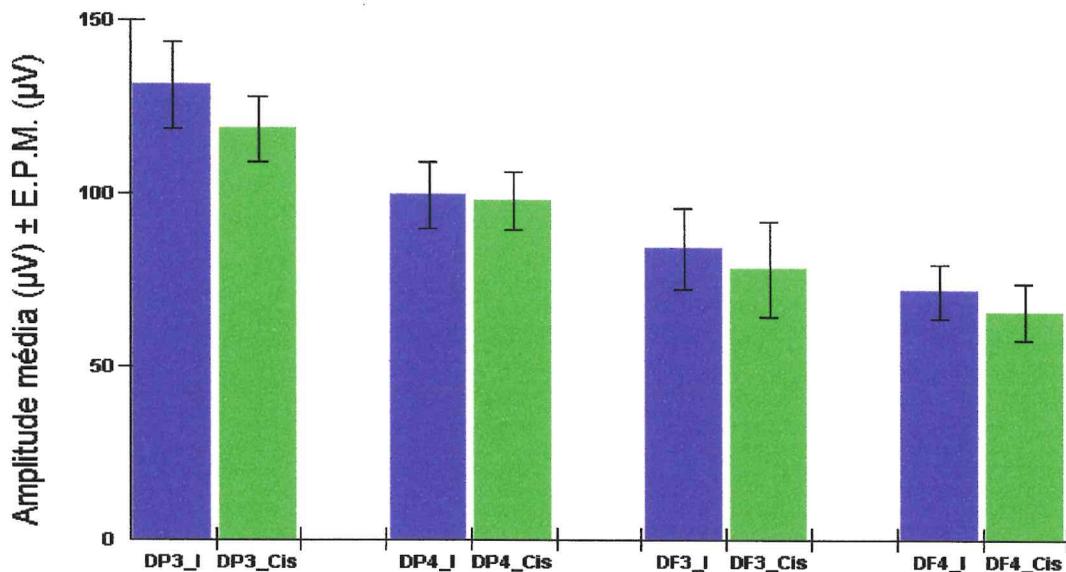


Gráfico 55 - Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ )  $\pm$  E.P.M. ( $\mu\text{V}$ ) do espectro delta do EEG de ratos Wistar-Kyoto, cada um deles participando de dois grupos: \_I e \_Cis. \_I significa **Isquemia** (obstrução das artérias carótidas comuns); \_Cis, **Infusão de L-cistina** (obstrução das artérias carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda de solução 2,1 mM de L-cistina, a 43,31  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , durante sessenta minutos); DP3, delta parietal esquerdo, DP4, delta parietal direito; DF3, delta frontal esquerdo, DF4, delta frontal direito; E.P.M., erro padrão da média;  $\mu\text{V}$ , microvolts.

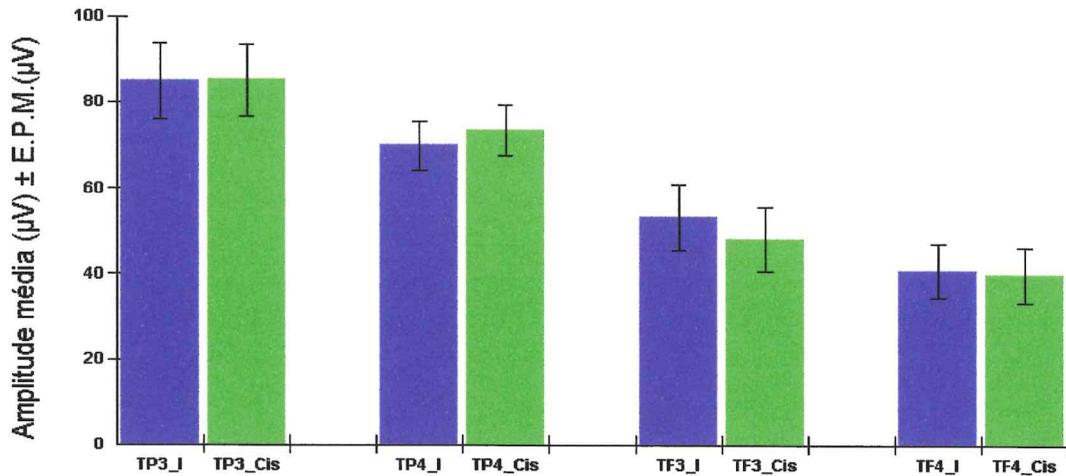


Gráfico 56 - Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ )  $\pm$  E.P.M. ( $\mu\text{V}$ ) do espectro teta do EEG de ratos Wistar-Kyoto, cada um deles participando de dois grupos: \_I e \_Cis. \_I significa **Isquemia** (obstrução das artérias carótidas comuns); \_Cis, **Infusão de L-cistina** (obstrução das artérias carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda de solução 2,1 mM de L-cistina, a 43,31  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , durante sessenta minutos); TP3, teta parietal esquerdo, TP4, teta parietal direito; TF3, teta frontal esquerdo, TF4, teta frontal direito; E.P.M., erro padrão da média;  $\mu\text{V}$ , microvolts.

Comparando-se adicionalmente o grupo **Isquemia**, constituído pelos ratos com obstrução das carótidas comuns, e **Infusão de L-cistina**, formado pelos mesmos animais com obstrução das carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda, a 43,31  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , durante 60 minutos, de L-cistina 2,1 mM, não foram identificadas modificações estatisticamente significativas das amplitudes absolutas médias dos diversos espectros do eletroencefalograma (tabela 77).

## 5.7 Estudo das amplitudes absolutas médias dos espectros eletroencefalográficos em ratos com oclusão das carótidas comuns e infusão intracarotídea de solução 1,2 mM de L-glutamina.

As tabelas 78 a 83 demonstram os valores das amplitudes absolutas médias dos espectros de frequência do eletroencefalograma (alfa,  $\beta_1$ ,  $\beta_2$ ,  $\beta_3$ , delta e teta) obtidos a partir de sua avaliação quantitativa individualmente no grupo **Isquemia** (ratos anestesiados com obstrução das artérias carótidas comuns) e no grupo **Infusão de L-glutamina** (mesmos ratos, nos quais se promoveu infusão intracarotídea esquerda de solução 1,2 mM de L-glutamina, a 42,94  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , durante sessenta minutos). As tabelas 84 e 85 demonstram os valores das médias das amplitudes absolutas médias  $\pm$  erro padrão da média e de P respectivamente. Conforme observado na tabela 85, o teste de normalidade falhou, quando foram avaliadas as amplitudes absolutas médias dos espectros teta e delta da região frontal esquerda,  $\beta_1$  da região parietal direita e  $\beta_3$  da região parietal esquerda. Neste caso, foram consideradas as medianas, incluindo-se, na avaliação estatística, o teste “Wilcoxon Signed Rank”. Detalhes são apresentados individualmente nos gráficos 57 a 62.

Alfa (frontal esquerdo)		Alfa (frontal direito)		Alfa (parietal esquerdo)		Alfa (parietal direito)	
Isquemia	Infusão de L-glutamina	Isquemia	Infusão de L-glutamina	Isquemia	Infusão de L-glutamina	Isquemia	Infusão de L-glutamina
47,50	30,96	22,48	22,76	28,42	35,28	22,93	22,98
36,81	24,19	43,23	18,830	38,83	32,64	39,07	27,35
210,80	212,40	313,60	292,30	164,80	171,80	203,00	194,80
142,90	157,40	88,91	103,10	105,10	120,60	126,00	158,40
54,25	62,40	21,96	37,97	62,48	75,750	41,09	46,50
78,29	72,29	135,90	130,20	104,80	89,39	76,94	67,07
6,53	23,84	9,98	33,83	13,51	40,33	14,02	46,44
14,55	28,00	14,16	28,04	38,29	52,42	35,09	61,10

Tabela 78 – Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) do espectro alfa do EEG de animais, cada um deles participando de dois grupos: **Isquemia** (obstrução das artérias carótidas comuns) e **Infusão de L-glutamina** (obstrução bilateral das artérias carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda de solução 1,2 mM de L-glutamina, a 42,94  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , durante sessenta minutos).

Beta <sub>1</sub> (frontal esquerdo)		Beta <sub>1</sub> (frontal direito)		Beta <sub>1</sub> (parietal esquerdo)		Beta <sub>1</sub> (parietal direito)	
Isquemia	Infusão de L-glutamina	Isquemia	Infusão de L-glutamina	Isquemia	Infusão de L-glutamina	Isquemia	Infusão de L-glutamina
34,49	31,95	21,37	22,13	26,89	32,21	24,37	26,67
36,22	32,72	50,87	32,59	43,20	43,41	44,49	43,92
170,80	174,20	257,10	228,00	139,40	157,60	172,80	173,20
98,85	102,80	62,40	78,80	76,75	98,53	85,70	116,00
71,22	77,41	34,49	34,40	75,76	81,38	47,34	45,25
56,55	56,04	88,64	90,64	69,68	68,53	59,00	54,10
10,26	35,17	12,08	45,05	24,39	61,53	29,02	68,53
17,07	31,84	16,57	31,16	45,85	66,37	37,54	60,66

Tabela 79 – Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) do espectro beta<sub>1</sub> do EEG de animais, cada um deles participando de dois grupos: **Isquemia** (obstrução das artérias carótidas comuns) e **Infusão de L-glutamina** (obstrução bilateral das artérias carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda de solução 1,2 mM de L-glutamina, a 42,94  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , durante sessenta minutos).

Beta <sub>2</sub> (frontal esquerdo)		Beta <sub>2</sub> (frontal direito)		Beta <sub>2</sub> (parietal esquerdo)		Beta <sub>2</sub> (parietal direito)	
Isquemia	Infusão de L-glutamina	Isquemia	Infusão de L-glutamina	Isquemia	Infusão de L-glutamina	Isquemia	Infusão de L-glutamina
18,05	20,54	12,95	16,65	13,72	21,76	11,17	17,82
25,44	17,07	41,40	17,97	33,06	23,07	37,53	24,88
81,14	80,67	114,10	97,88	76,45	82,23	94,86	86,20
41,75	50,01	31,16	39,44	36,98	49,32	39,84	58,45
42,11	46,36	21,28	21,33	48,30	47,00	37,72	26,46
28,45	28,59	42,02	44,41	33,77	35,61	29,22	28,96
5,82	26,63	10,01	37,74	16,93	44,30	19,70	49,70
13,27	17,84	12,85	17,21	30,51	43,13	25,50	34,21

Tabela 80 – Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) do espectro beta<sub>2</sub> do EEG de animais, cada um deles participando de dois grupos: **Isquemia** (obstrução das artérias carótidas comuns) e **Infusão de L-glutamina** (obstrução bilateral das artérias carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda de solução 1,2 mM de L-glutamina a, a 42,94  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , durante sessenta minutos).

Beta <sub>3</sub> (frontal esquerdo)		Beta <sub>3</sub> (frontal direito)		Beta <sub>3</sub> (parietal esquerdo)		Beta <sub>3</sub> (parietal direito)	
Isquemia	Infusão de L-glutamina	Isquemia	Infusão de L-glutamina	Isquemia	Infusão de L-glutamina	Isquemia	Infusão de L-glutamina
15,53	16,61	11,83	13,03	13,97	19,90	9,94	14,42
14,86	11,76	26,16	16,18	20,27	15,99	27,18	21,18
44,58	42,14	56,48	51,96	44,06	45,91	51,21	49,59
22,22	29,64	18,20	22,88	21,66	26,90	22,50	34,02
29,82	26,90	19,48	12,60	30,96	28,01	28,08	17,19
21,11	17,44	26,86	25,87	23,98	22,40	21,44	18,15
3,27	22,86	6,13	29,47	10,27	34,59	12,59	38,67
10,63	14,04	10,46	13,42	24,98	29,67	18,38	23,93

Tabela 81 – Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) do espectro beta<sub>3</sub> do EEG de animais, cada um deles participando de dois grupos: **Isquemia** (obstrução das artérias carótidas comuns) e **Infusão de L-glutamina** (obstrução bilateral das artérias carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda de solução 1,2 mM de L-glutamina, a 42,94  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , durante sessenta minutos).

Delta (frontal esquerdo)		Delta (frontal direito)		Delta (parietal esquerdo)		Delta (parietal direito)	
Isquemia	Infusão de L-glutamina	Isquemia	Infusão de L-glutamina	Isquemia	Infusão de L-glutamina	Isquemia	Infusão de L-glutamina
298,60	133,60	157,10	82,84	139,00	100,00	126,30	82,27
66,41	116,00	47,76	82,72	56,21	82,20	61,03	72,68
391,90	366,80	383,60	389,10	326,40	317,90	373,20	351,60
327,80	307,00	212,40	195,10	233,90	221,10	266,30	253,50
71,43	83,43	42,80	74,96	52,83	95,71	50,36	71,77
152,20	141,10	218,20	210,00	210,80	169,20	154,60	131,80
60,65	26,12	53,94	37,26	20,88	27,61	41,68	33,77
25,50	45,89	27,97	47,21	45,67	55,92	36,08	77,77

Tabela 82 – Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) do espectro delta do EEG de animais, cada um deles participando de dois grupos: **Isquemia** (obstrução das artérias carótidas comuns) e **Infusão de L-glutamina** (obstrução bilateral das artérias carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda de solução 1,2 mM de L-glutamina, a 42,94  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , durante sessenta minutos).

Teta (frontal esquerdo)		Teta (frontal direito)		Teta (parietal esquerdo)		Teta (parietal direito)	
Isquemia	Infusão de L-glutamina	Isquemia	Infusão de L-glutamina	Isquemia	Infusão de L-glutamina	Isquemia	Infusão de L-glutamina
124,20	41,98	56,51	31,52	63,64	39,03	61,07	41,56
47,92	51,39	53,20	42,91	56,24	59,57	54,60	52,64
294,00	300,20	352,30	361,40	229,30	235,90	269,20	274,30
225,50	258,10	142,20	170,60	163,90	196,80	187,10	239,40
40,37	63,43	23,10	51,05	62,97	91,87	42,63	62,49
110,30	117,70	180,40	207,70	154,30	140,10	100,90	109,00
18,36	23,72	30,07	41,91	37,20	48,96	47,00	58,35
18,98	47,06	18,13	47,14	53,64	78,95	29,11	83,87

Tabela 83 – Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) do espectro teta do EEG de animais, cada um deles participando de dois grupos: **Isquemia** (obstrução das artérias carótidas comuns) e **Infusão de L-glutamina** (obstrução bilateral das artérias carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda de solução 1,2 mM de L-glutamina, a 42,94  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , durante sessenta minutos).

Grupo		Beta3	Beta2	Beta1	Alfa	Teta	Delta
Frontal esquerdo	Isquemia	20,25 ± 4,47	32,00 ± 8,34	61,93 ± 18,63	73,95 ± 24,66	109,95 ± 36,05	152,49 ± 50,73
	Infusão de L-glutamina	22,67 ± 3,54	35,96 ± 7,76	67,77 ± 17,75	76,44 ± 25,06	112,95 ± 37,73	174,31 ± 43,04
Frontal direito	Isquemia	21,95 ± 5,57	35,72 ± 12,06	67,94 ± 28,53	81,28 ± 36,60	106,99 ± 40,77	142,97 ± 44,08
	Infusão de L-glutamina	23,18 ± 4,70	36,58 ± 9,62	70,35 ± 24,11	83,34 ± 33,18	81,28 ± 36,60	139,90 ± 42,24
Parietal esquerdo	Isquemia	23,77 ± 3,68	36,22 ± 6,93	62,74 ± 13,17	69,53 ± 18,12	102,65 ± 24,78	135,71 ± 39,22
	Infusão de L-glutamina	27,92 ± 3,30	43,30 ± 6,68	76,20 ± 13,71	77,28 ± 17,27	111,40 ± 25,66	133,71 ± 34,16
Parietal direito	Isquemia	23,92 ± 4,50	36,94 ± 8,98	62,53 ± 17,11	69,77 ± 22,85	98,95 ± 30,15	138,69 ± 43,40
	Infusão de L-glutamina	27,14 ± 4,37	40,84 ± 8,04	73,54 ± 17,00	78,08 ± 22,40	115,20 ± 31,93	134,40 ± 38,99

Tabela 84 – Média ( $\mu\text{V}$ )  $\pm$  erro padrão da média ( $\mu\text{V}$ ) calculados a partir das amplitudes absolutas médias dos diversos espectros de frequência do eletroencefalograma de dois grupos pares de animais ( $n=9$ ): **Isquemia** (obstrução das artérias carótidas comuns) e **Infusão de L-glutamina** (obstrução bilateral das artérias carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda de solução 2,1 mM de L-glutamina, a 42,94  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , durante sessenta minutos).

Grupos comparados	Beta <sub>3</sub>	Beta <sub>2</sub>	Beta <sub>1</sub>	Alfa	Teta	Delta
Frontal E (I) Frontal E (IGlm)	0,4175	0,2230	0,1308	0,6055	0,8221(st) 0,1834(t) 0,1953(x)	0,3681(st) 0,4412(t) 0,4609(x)
Frontal D (I) Frontal D (IGlm)	0,7446	0,8801	0,7395	0,7508	0,1325	0,8128
Parietal E (I) Parietal E (IGlm)	0,2347(st) 0,1834(t) 0,1953(x)	0,1138	0,0235*	0,1419	0,2669	0,8533
Parietal D (I) Parietal D (IGlm)	0,4584	0,4910	0,1137(st) 0,2936(t) 0,3125(x)	0,2583	0,1168	0,6729

Tabela 85 – Valores de P; grupos comparados: (I) – **Isquemia** (obstrução bilateral das artérias carótidas comuns); (IGlm) – **Infusão de L-glutamina** (obstrução das artérias carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda de solução 1,2 mM de L-glutamina, a 42,94  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , durante sessenta minutos). D significa direito; E, esquerdo, (st), teste t-Student; (t), estatístico, (x), exato; \*,  $P < 0,05$ .

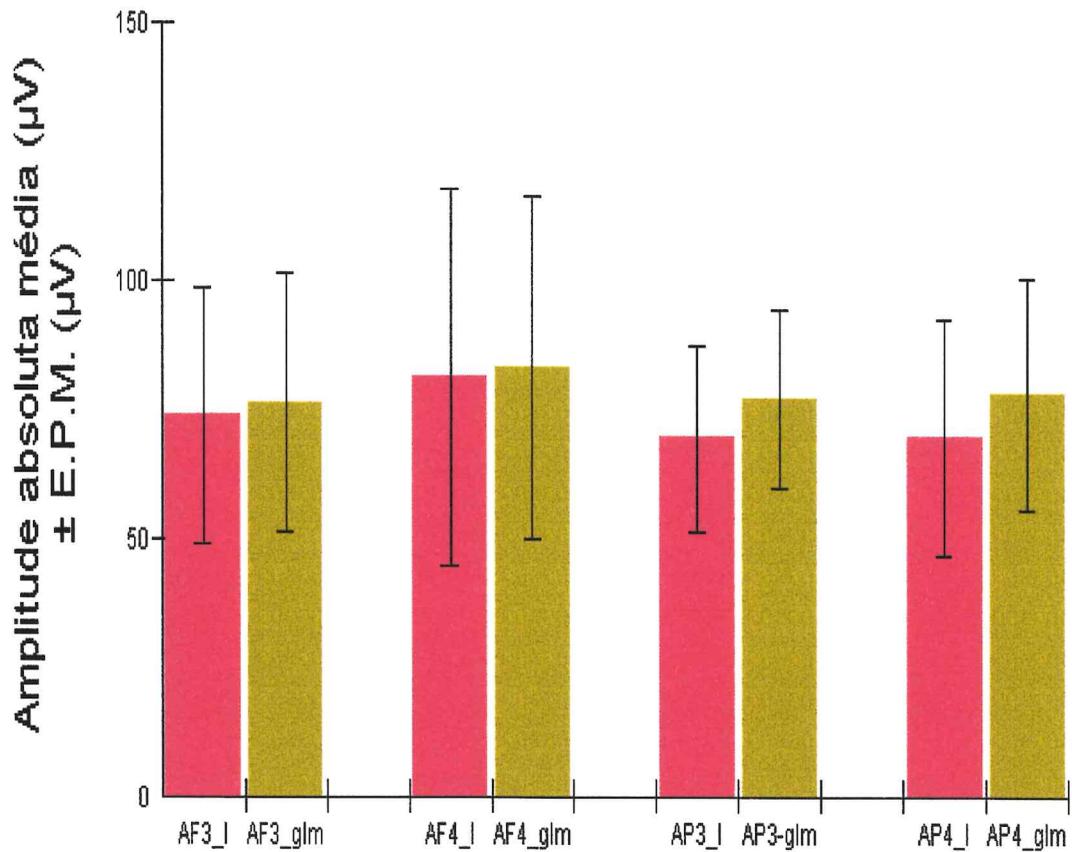


Gráfico 57 - Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ )  $\pm$  E.P.M. ( $\mu\text{V}$ ) dos espectros alfa em ratos do grupo **Isquemia (I)** e nos mesmos animais do grupo **Infusão de L-glutamina (glm)**. AF3\_I significa alfa frontal esquerdo nos animais com isquemia; AF3-glm, alfa frontal esquerdo nos animais com isquemia e submetidos a infusão de L-glutamina; AF4-I, alfa frontal direito nos animais com isquemia; AF4-glm, alfa frontal direito nos animais com isquemia e submetidos a infusão de L-glutamina; AP3-I, alfa parietal esquerdo nos animais com isquemia; AP3\_glm, alfa parietal esquerdo nos animais com isquemia e submetidos a infusão de L-glutamina; AP4\_I, alfa parietal direito nos animais com isquemia; AP4\_glm, alfa parietal direito nos animais com isquemia e submetidos a infusão de L-glutamina;  $\mu\text{V}$ , microvolts; E.P.M., erro padrão da média.

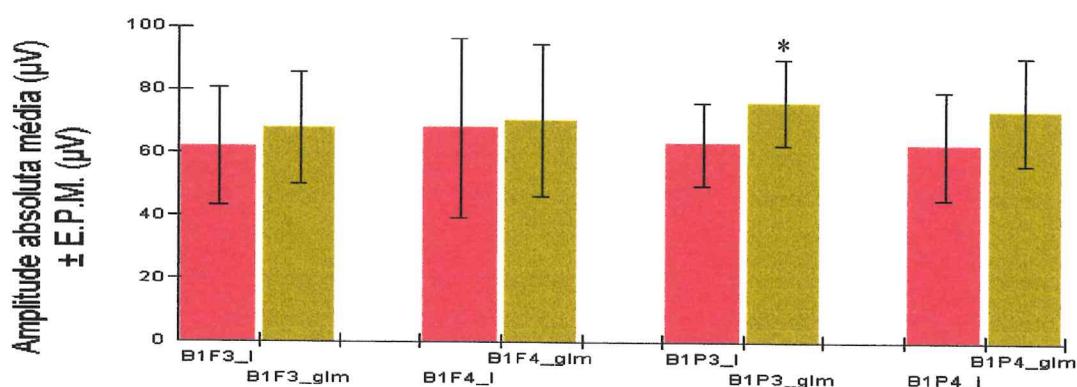


Gráfico 58 - Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ )  $\pm$  E.P.M. ( $\mu\text{V}$ ) dos espectros  $\beta_1$  em ratos do grupo **Isquemia** (I) e nos mesmos animais do grupo **Infusão de L-glutamina** (glm). B1F3\_I significa  $\beta_1$  frontal esquerdo nos animais com isquemia; B1F3-glm,  $\beta_1$  frontal esquerdo nos animais com isquemia e submetidos a infusão de L-glutamina; B1F4-I,  $\beta_1$  frontal direito nos animais com isquemia; B1F4-glm,  $\beta_1$  frontal direito nos animais com isquemia e submetidos a infusão de L-glutamina; B1P3-I,  $\beta_1$  parietal esquerdo nos animais com isquemia; B1P3\_glm,  $\beta_1$  parietal esquerdo nos animais com isquemia e submetidos a infusão de L-glutamina; B1P4\_I,  $\beta_1$  parietal direito nos animais com isquemia; B1P4\_glm,  $\beta_1$  parietal direito nos animais com isquemia e submetidos a infusão de L-glutamina;  $\mu\text{V}$ , microvolts; E.P.M., erro padrão da média.

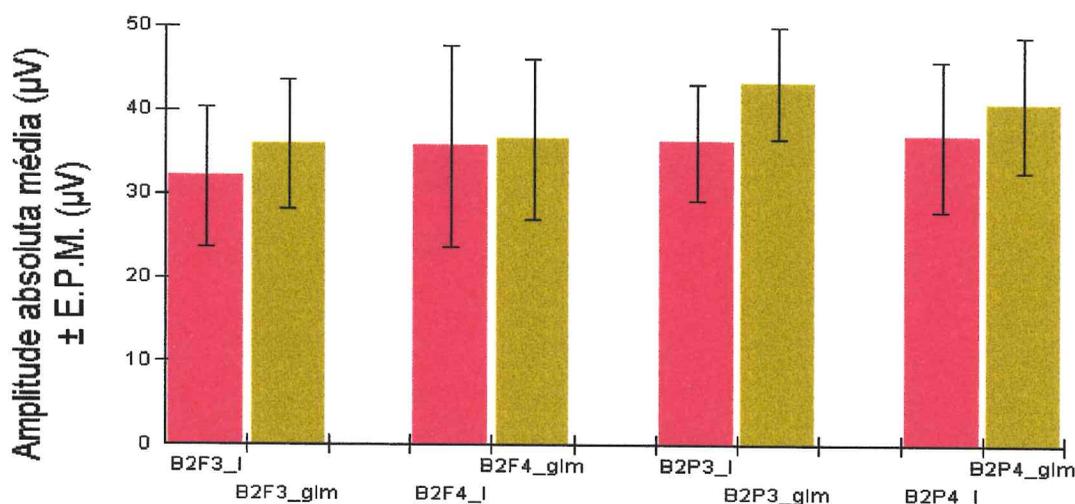


Gráfico 59 - Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ )  $\pm$  E.P.M. ( $\mu\text{V}$ ) dos espectros  $\beta_2$  em ratos do grupo **Isquemia** (I) e nos mesmos animais do grupo **Infusão de L-glutamina** (glm). B2F3\_I significa  $\beta_2$  frontal esquerdo nos animais com isquemia; B2F3-glm,  $\beta_2$  frontal esquerdo nos animais com isquemia e submetidos a infusão de L-glutamina; B2F4-I,  $\beta_2$  frontal direito nos animais com isquemia; B2F4-glm,  $\beta_2$  frontal direito nos animais com isquemia e submetidos a infusão de L-glutamina; B2P3-I,  $\beta_2$  parietal esquerdo nos animais com isquemia; B2P3\_glm,  $\beta_2$  parietal esquerdo nos animais com isquemia e submetidos a infusão de L-glutamina; B2P4\_I,  $\beta_2$  parietal direito nos animais com isquemia; B2P4\_glm,  $\beta_2$  parietal direito nos animais com isquemia e submetidos a infusão de L-glutamina;  $\mu\text{V}$ , microvolts; E.P.M., erro padrão da média.

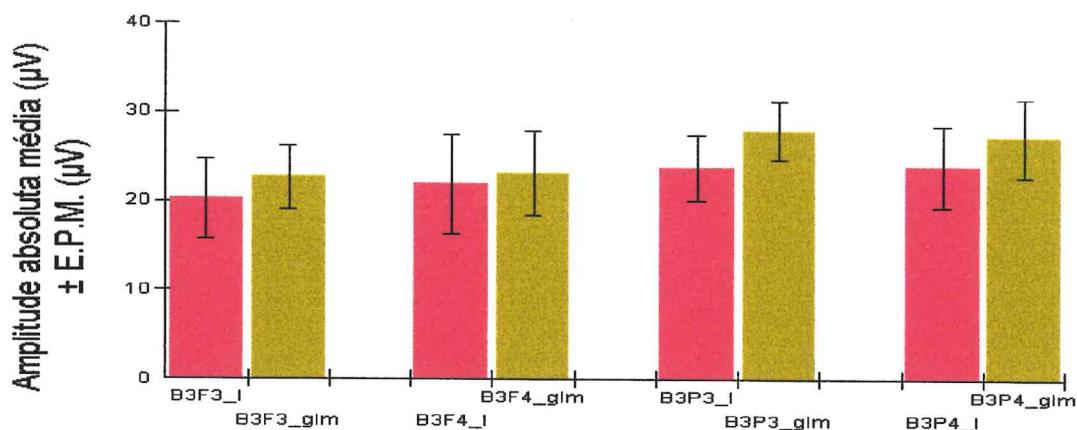


Gráfico 60 - Amplitudes absolutas médias (µV) ± E.P.M. (µV) dos espectros beta<sub>3</sub> em ratos do grupo **Isquemia (I)** e nos mesmos animais do grupo **Infusão de L-glutamina (glm)**. B3F3\_I significa beta<sub>3</sub> frontal esquerdo nos animais com isquemia; B3F3-glm, beta<sub>3</sub> frontal esquerdo nos animais com isquemia e submetidos a infusão de L-glutamina; B3F4-I, beta<sub>3</sub> frontal direito nos animais com isquemia; B3F4-glm, beta<sub>3</sub> frontal direito nos animais com isquemia e submetidos a infusão de L-glutamina; B3P3-I, beta<sub>3</sub> parietal esquerdo nos animais com isquemia; B3P3\_glm, beta<sub>3</sub> parietal esquerdo nos animais com isquemia e submetidos a infusão de L-glutamina; B3P4\_I, beta<sub>3</sub> parietal direito nos animais com isquemia; B3P4\_glm, beta<sub>3</sub> parietal direito nos animais com isquemia e submetidos a infusão de L-glutamina; µV, microvolts; E.P.M., erro padrão da média.

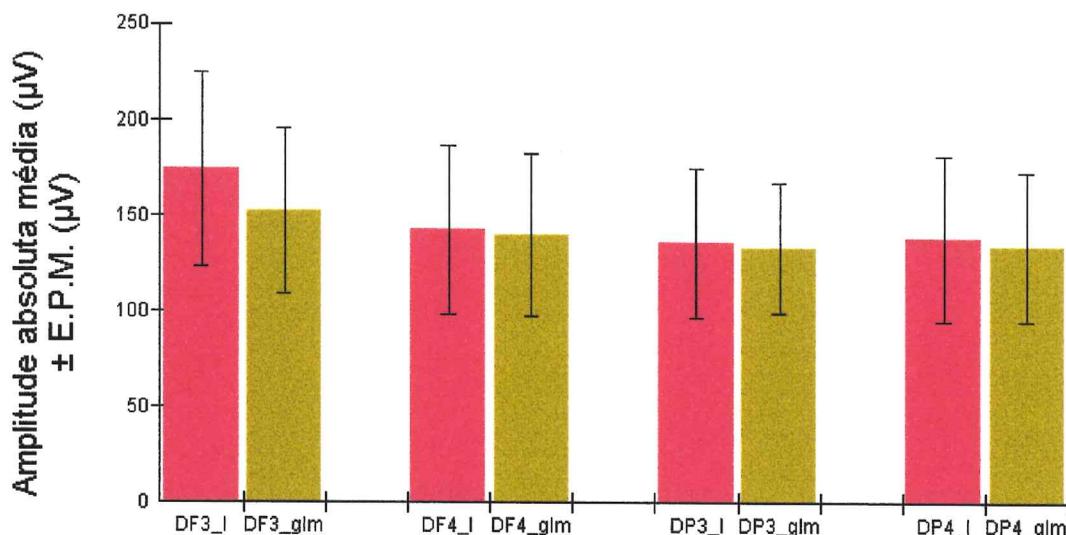


Gráfico 61 - Amplitudes absolutas médias (µV) ± E.P.M. (µV) dos espectros delta em ratos do grupo **Isquemia (I)** e nos mesmos animais do grupo **Infusão de L-glutamina (glm)**. DF3\_I significa delta frontal esquerdo nos animais com isquemia; DF3-glm, delta frontal esquerdo nos animais com isquemia e submetidos a infusão de L-glutamina; DF4-I, delta frontal direito nos animais com isquemia; DF4-glm, delta frontal direito nos animais com isquemia e submetidos a infusão de L-glutamina; DP3-I, delta parietal esquerdo nos animais com isquemia; DP3\_glm, delta parietal esquerdo nos animais com isquemia e submetidos a infusão de L-glutamina; DP4\_I, delta parietal direito nos animais com isquemia; DP4\_glm, delta parietal direito nos animais com isquemia e submetidos a infusão de L-glutamina; µV, microvolts; E.P.M., erro padrão da média.

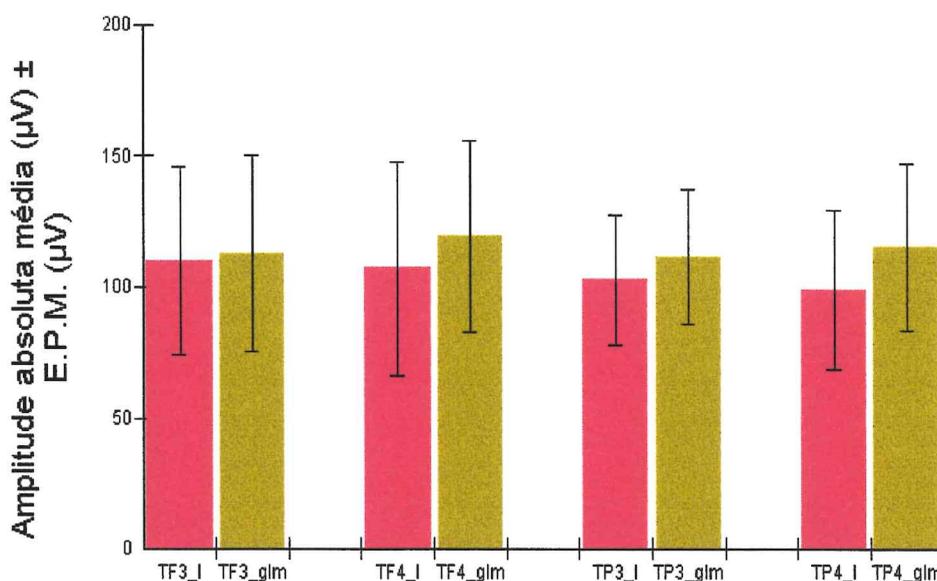


Gráfico 62 - Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ )  $\pm$  E.P.M. ( $\mu\text{V}$ ) dos espectros teta em ratos do grupo Isquemia (\_I) e nos mesmos animais do grupo **Infusão de L-glutamina** (\_glm). TF3\_I significa teta frontal esquerdo nos animais com isquemia; TF3\_glm, teta frontal esquerdo nos animais com isquemia e submetidos a infusão de L-glutamina; TF4-I, teta frontal direito nos animais com isquemia; TF4-glm, teta frontal direito nos animais com isquemia e submetidos a infusão de L-glutamina; TP3-I, teta parietal esquerdo nos animais com isquemia; TP3\_glm, teta parietal esquerdo nos animais com isquemia e submetidos a infusão de L-glutamina; TP4\_I, teta parietal direito nos animais com isquemia; TP4\_glm, teta parietal direito nos animais com isquemia e submetidos a infusão de L-glutamina;  $\mu\text{V}$ , microvolts; E.P.M., erro padrão da média.

Neste estudo, foi constatado que as amplitudes absolutas médias dos diversos espectros do eletroencefalograma se reduzem na seqüência delta, teta, alfa,  $\beta_1$ ,  $\beta_2$ ,  $\beta_3$  (tabela 84).

A infusão intracarotídea esquerda de solução 1,2 mM de L-glutamina, a 42,94  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , durante sessenta minutos, determinou aumento estatisticamente significativo isolado da amplitude absoluta média do espectro  $\beta_1$  na região parietal esquerda (tabela 85). Não houve modificação significativa das amplitudes absolutas médias do espectro  $\beta_1$  em outras regiões, bem como dos demais espectros em todas as regiões estudadas.

## 5.8 **Estudo das amplitudes absolutas médias dos espectros eletroencefalográficos em ratos com oclusão das carótidas comuns e infusão intracarotídea de solução 3,03 mM de ácido $\alpha$ -lipóico.**

As tabelas 86 a 97 demonstram os valores das amplitudes absolutas médias dos espectros de frequência do eletroencefalograma (alfa, beta<sub>1</sub>, beta<sub>2</sub>, beta<sub>3</sub>, delta e teta) obtidos a partir de sua avaliação quantitativa no grupo **Isquemia** (fase I) constituído pelos ratos anestesiados e com obstrução das artérias carótidas comuns) e nos grupos **Infusão de ácido  $\alpha$ -lipóico (Inicial, Intermediário e Final)**, constituído pelos mesmos ratos, nos quais se promoveu infusão intracarotídea esquerda de solução 3,03 mM de ácido  $\alpha$ -lipóico, a 41,91  $\mu$ l/100g/min, durante trinta minutos. Os subgrupos **Inicial, Intermediário e Final** correspondem respectivamente às fases inicial (fase II), intermediária (fase III) e final (fase IV) de infusão do ácido  $\alpha$ -lipóico. As tabelas 98 e 99 demonstram os valores das médias das amplitudes médias absolutas  $\pm$  erro padrão da média, e as tabelas 100 e 101 demonstram os grupos pares, em que  $P < 0,05$ . Detalhes individuais são apresentados nos gráficos 63 a 68.

Processando-se a Análise de Variância (ANOVA “One Way RM”) e a Análise de Variância de Medidas Repetidas (Friedman), quando o teste de normalidade falhou, os grupos comparados que ofereceram diferenças de

amplitudes absolutas médias estatisticamente significativas ( $P < 0,05$ ) são apresentados nas tabelas 100 e 101. A comparação múltipla de todos os pares foi feita através do método de Student-Newman-Keuls ou pelo método de Dunnet, quando o valor de P entre todos os grupos de tratamento foi menor do que 0,05 e o método de Student-Newman-Keuls não identificou os pares de grupos com  $P < 0,05$ . Aplicando-se o teste de comparação múltipla de Duncan, outros grupos pares, além dos citados nas tabelas 100 e 101, apresentam diferenças significativas das amplitudes absolutas médias ( $P < 0,05$ ):  $\beta_{1}$  parietal direito (**Isquemia**) e  $\beta_{1}$  parietal direito (subgrupo **Intermediário** de infusão do ácido  $\alpha$ -lipóico),  $\beta_{2}$  frontal esquerdo (**Isquemia**) e  $\beta_{2}$  frontal esquerdo (subgrupo **Intermediário** de infusão do ácido  $\alpha$ -lipóico),  $\beta_{2}$  frontal direito (**Isquemia**) e  $\beta_{2}$  frontal direito (subgrupo **Intermediário** de infusão do ácido  $\alpha$ -lipóico),  $\beta_{3}$  frontal esquerdo (**Isquemia**) e  $\beta_{3}$  frontal esquerdo (subgrupo **Intermediário** de infusão do ácido  $\alpha$ -lipóico),  $\beta_{3}$  parietal esquerdo (subgrupo **Inicial** de infusão do ácido  $\alpha$ -lipóico) e  $\beta_{3}$  parietal esquerdo (subgrupo **Intermediário** de infusão do ácido  $\alpha$ -lipóico),  $\beta_{3}$  parietal esquerdo (subgrupo **Inicial** de infusão do ácido  $\alpha$ -lipóico) e  $\beta_{3}$  parietal esquerdo (subgrupo **Final** de infusão do ácido  $\alpha$ -lipóico),  $\beta_{3}$  parietal direito (subgrupo **Inicial** de infusão do ácido  $\alpha$ -lipóico) e  $\beta_{3}$  parietal direito (subgrupo **Final** de infusão do ácido  $\alpha$ -lipóico),  $\delta$  frontal direito (subgrupo **Inicial** de infusão do ácido  $\alpha$ -lipóico) e  $\delta$  frontal direito

(subgrupo **Intermediário** de infusão do ácido  $\alpha$ -lipóico), delta parietal esquerdo (**Isquemia**) e delta parietal esquerdo (subgrupo **Intermediário** de infusão do ácido  $\alpha$ -lipóico), delta parietal esquerdo (subgrupo **Inicial** de infusão do ácido  $\alpha$ -lipóico) e delta parietal esquerdo (subgrupo **Intermediário** de infusão do ácido  $\alpha$ -lipóico), teta frontal esquerdo (**Isquemia**) e teta frontal esquerdo (subgrupo **Final** de infusão do ácido  $\alpha$ -lipóico), bem como, teta frontal direito (**Isquemia**) e teta frontal direito (subgrupo **Final** de infusão do ácido  $\alpha$ -lipóico). As significâncias representadas nos gráficos seguintes não incluem valores obtidos pelo teste de Duncan.

Nas tabelas 98 e 99 e nos gráficos 63 a 68, observa-se que a infusão intracarotídea esquerda de solução 3,03 mM de ácido  $\alpha$ -lipóico a 41,91  $\mu$ l/100g/min, durante trinta minutos, em ratos Wistar-Kyoto submetidos previamente a obstrução das carótidas comuns, determina inicialmente uma redução gradual das amplitudes absolutas médias dos diversos espectros de frequência (com exceção do espectro  $\beta_3$ ). Após fase intermediária (fase III) de infusão intracarotídea esquerda de ácido  $\alpha$ -lipóico, em que a redução da amplitude absoluta média é máxima, há uma tendência à recuperação desta amplitude na fase final de infusão (fase IV).

Analisando-se as tabelas 100 e 101, bem como, os gráficos 63, 64, 67 e 68, observa-se redução estatisticamente significativa das amplitudes absolutas médias dos espectros alfa e teta avaliadas na fase intermediária (fase

III) de infusão do ácido  $\alpha$ -lipóico em relação às amplitudes absolutas médias dos mesmos potenciais avaliadas após a obstrução das artérias carótidas comuns (fase I). Esta redução também é significativa, quando comparados os grupos delta frontal esquerdo, frontal direito e parietal direito (gráfico 67), bem como,  $\beta_1$  frontal esquerdo, frontal direito e parietal esquerdo (gráfico 64). Há redução significativa das amplitudes absolutas médias dos espectros alfa frontal esquerdo, frontal direito,  $\beta_1$  frontal esquerdo e frontal direito avaliadas na fase final de infusão do ácido  $\alpha$ -lipóico (fase IV) em relação às amplitudes absolutas médias dos mesmos potenciais avaliadas após a obstrução das artérias carótidas comuns, ou seja, fase I (gráficos 63 e 64). A redução das amplitudes absolutas médias entre a fase inicial (fase II) e intermediária (fase III) de infusão do ácido  $\alpha$ -lipóico é significativa, quando comparados grupos alfa frontal esquerdo, frontal direito e parietal esquerdo (gráfico 63),  $\beta_1$  frontal esquerdo e parietal esquerdo (gráfico 64). O aumento da amplitude absoluta média na fase final (fase IV) em relação à fase intermediária (fase III) de infusão do ácido  $\alpha$ -lipóico foi significativo, quando comparados grupos do espectro alfa frontal esquerdo (gráfico 63). As amplitudes absolutas médias dos diversos espectros do EEG na fase final de infusão do ácido  $\alpha$ -lipóico (fase IV) foram menores do que as amplitudes dos mesmos durante a fase I (gráficos 63 a 68). A seguir, são apresentados as tabelas e gráficos pertinentes a esta fase experimental.

Alfa (frontal esquerdo)				Alfa (frontal direito)			
Isquemia	Infusão de ácido $\alpha$ -lipóico			Isquemia	Infusão de ácido $\alpha$ -lipóico		
	Inicial	Intermediário	Final		Inicial	Intermediário	Final
59,79	70,34	30,04	70,81	58,51	69,72	25,78	72,07
90,20	83,15	24,65	65,72	99,03	79,78	25,77	63,59
124,60	75,31	27,67	66,45	122,70	66,89	22,99	63,08
112,00	108,40	48,84	67,13	118,10	121,20	55,89	72,41
98,71	18,55	24,08	34,04	46,17	13,73	17,05	23,67
97,14	58,30	29,47	56,50	125,50	62,66	34,44	34,21
23,40	40,35	39,47	44,93	20,68	34,12	32,18	36,07

Tabela 86 – Amplitudes absolutas médias ( $\mu$ V) do espectro alfa (frontal esquerdo e direito) do EEG de animais, cada um deles participando de dois grupos: **Isquemia** (obstrução das artérias carótidas comuns) e **Infusão de ácido  $\alpha$ -lipóico** (obstrução bilateral das artérias carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda, a 41,91  $\mu$ l/100g/min, durante trinta minutos, de solução 3,03 mM de ácido  $\alpha$ -lipóico). Períodos iniciais, intermediários e finais da infusão foram estudados separadamente.

Alfa (parietal esquerdo)				Alfa (parietal direito)			
Isquemia	Infusão de ácido $\alpha$ -lipóico			Isquemia	Infusão de ácido $\alpha$ -lipóico		
	Inicial	Intermediário	Final		Inicial	Intermediário	Final
35,82	33,94	11,87	32,13	39,42	42,38	19,57	45,31
54,43	45,18	14,92	30,60	43,81	34,20	16,59	25,60
37,75	32,03	18,26	35,50	84,21	55,34	18,53	41,05
42,71	43,91	32,58	30,88	41,10	43,13	26,90	28,09
30,85	17,96	18,24	21,69	22,98	11,84	12,54	18,49
32,27	19,55	18,69	17,53	20,65	13,16	13,06	12,30
24,27	40,09	35,90	38,75	14,10	26,85	20,20	22,86

Tabela 87 – Amplitudes absolutas médias ( $\mu$ V) do espectro alfa (parietal esquerdo e direito) do EEG de animais, cada um deles participando de dois grupos: **Isquemia** (obstrução das artérias carótidas comuns) e **Infusão de ácido  $\alpha$ -lipóico** (obstrução bilateral das artérias carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda, a 41,91  $\mu$ l/100g/min, durante trinta minutos, de solução 3,03 mM de ácido  $\alpha$ -lipóico). Períodos iniciais, intermediários e finais da infusão foram estudados separadamente.

Beta <sub>1</sub> (frontal esquerdo)				Beta <sub>1</sub> (frontal direito)			
Isquemia	Infusão de ácido $\alpha$ -lipóico			Isquemia	Infusão de ácido $\alpha$ -lipóico		
	Inicial	Intermediário	Final		Inicial	Intermediário	Final
55,79	55,28	23,44	53,89	58,94	56,45	26,46	54,35
76,53	65,61	27,90	52,98	80,63	67,06	28,69	55,60
94,95	65,95	31,48	55,98	90,71	57,85	27,29	35,81
89,85	78,67	47,78	45,69	96,37	96,10	59,29	53,79
85,49	20,41	24,91	41,69	41,25	18,70	21,37	32,42
82,34	58,86	51,09	67,06	98,60	53,97	58,65	44,46
27,31	44,88	41,18	40,76	25,23	39,45	36,04	34,89

Tabela 88 – Amplitudes absolutas médias ( $\mu$ V) do espectro beta<sub>1</sub> (frontal esquerdo e direito) do EEG de animais, cada um deles participando de dois grupos: **Isquemia** (obstrução das artérias carótidas comuns) e **Infusão de ácido  $\alpha$ -lipóico** (obstrução bilateral das artérias carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda, a 41,91  $\mu$ l/100g/min, durante trinta minutos, de solução 3,03 mM de ácido  $\alpha$ -lipóico). Períodos iniciais, intermediários e finais da infusão foram estudados separadamente.

Beta <sub>1</sub> (parietal esquerdo)				Beta <sub>1</sub> (parietal direito)			
Isquemia	Infusão de ácido $\alpha$ -lipóico			Isquemia	Infusão de ácido $\alpha$ -lipóico		
	Inicial	Intermediário	Final		Inicial	Intermediário	Final
31,50	32,28	16,25	32,80	44,27	41,56	30,52	52,82
45,49	42,72	25,48	32,47	38,86	35,55	25,59	30,07
44,66	39,38	33,08	41,02	67,49	47,73	28,34	39,12
33,07	32,71	24,12	21,37	40,62	40,80	30,73	29,87
24,58	16,93	17,13	21,56	28,50	23,97	25,56	31,05
37,01	35,94	35,98	37,88	29,79	28,31	28,71	30,59
34,61	46,22	41,93	41,95	24,55	36,68	31,74	31,24

Tabela 89 – Amplitudes absolutas médias ( $\mu$ V) do espectro beta<sub>1</sub> (parietal esquerdo e direito) do EEG de animais, cada um deles participando de dois grupos: **Isquemia** (obstrução das artérias carótidas comuns) e **Infusão de ácido  $\alpha$ -lipóico** (obstrução bilateral das artérias carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda, a 41,91  $\mu$ l/100g/min, durante trinta minutos, de solução 3,03 mM de ácido  $\alpha$ -lipóico). Períodos iniciais, intermediários e finais da infusão foram estudados separadamente.

Beta <sub>2</sub> (frontal esquerdo)				Beta <sub>2</sub> (frontal direito)			
Isquemia	Infusão de ácido $\alpha$ -lipóico			Isquemia	Infusão de ácido $\alpha$ -lipóico		
	Inicial	Intermediário	Final		Inicial	Intermediário	Final
30,80	29,81	17,47	28,36	32,38	29,77	16,67	26,72
30,99	34,60	19,58	25,09	34,01	35,01	18,67	25,49
44,24	38,92	24,95	35,63	43,91	36,16	24,84	35,81
34,65	34,39	28,39	23,62	38,65	41,36	35,44	28,60
40,77	18,84	21,76	28,68	26,09	19,08	20,59	25,28
37,82	32,45	41,64	42,29	39,81	26,38	47,73	27,57
23,50	33,41	30,01	27,00	16,90	31,42	27,66	24,73

Tabela 90 – Amplitudes absolutas médias ( $\mu$ V) do espectro beta<sub>2</sub> (frontal esquerdo e direito) do EEG de animais, cada um deles participando de dois grupos: **Isquemia** (obstrução das artérias carótidas comuns) e **Infusão de ácido  $\alpha$ -lipóico** (obstrução bilateral das artérias carótidas comuns e infusão intracarotídea, a 41,91  $\mu$ l/100g/min, durante trinta minutos, de solução 3,03 mM de ácido  $\alpha$ -lipóico). Períodos iniciais, intermediários e finais da infusão foram estudados separadamente.

Beta <sub>2</sub> (parietal esquerdo)				Beta <sub>2</sub> (parietal direito)			
Isquemia	Infusão de ácido $\alpha$ -lipóico			Isquemia	Infusão de ácido $\alpha$ -lipóico		
	Inicial	Intermediário	Final		Inicial	Intermediário	Final
18,47	19,27	10,69	19,05	28,56	26,26	24,25	27,73
45,49	24,03	19,48	20,49	38,86	26,50	22,70	24,19
30,53	28,18	24,35	30,46	39,04	35,54	30,54	36,00
19,62	17,44	16,03	15,70	28,51	31,37	25,58	22,09
18,39	14,90	15,65	18,55	27,93	27,13	27,08	29,86
24,41	18,21	31,22	20,74	15,73	15,36	16,59	16,28
28,95	33,52	31,02	29,04	23,81	33,53	28,38	26,35

Tabela 91 – Amplitudes absolutas médias ( $\mu$ V) do espectro beta<sub>2</sub> (parietal esquerdo e direito) do EEG de animais, cada um deles participando de dois grupos: **Isquemia** (obstrução das artérias carótidas comuns) e **Infusão de ácido  $\alpha$ -lipóico** (obstrução bilateral das artérias carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda, a 41,91  $\mu$ l/100g/min, durante trinta minutos, de solução 3,03 mM de ácido  $\alpha$ -lipóico). Períodos iniciais, intermediários e finais da infusão foram estudados separadamente.

Beta <sub>3</sub> (frontal esquerdo)				Beta <sub>3</sub> (frontal direito)			
Isquemia	Infusão de ácido $\alpha$ -lipóico			Isquemia	Infusão de ácido $\alpha$ -lipóico		
	Inicial	Intermediário	Final		Inicial	Intermediário	Final
20,84	21,15	14,33	18,42	21,35	19,52	12,54	16,91
18,28	21,64	15,11	16,35	20,03	22,74	15,98	17,80
25,33	25,32	18,37	22,52	23,86	22,10	16,74	20,55
21,73	20,96	18,93	15,17	22,80	23,45	23,45	18,49
21,26	13,48	13,04	16,49	15,25	12,70	12,08	13,84
25,47	31,76	29,68	36,31	25,60	24,87	32,35	25,09
17,71	25,94	20,43	18,30	16,90	24,96	19,56	17,97

Tabela 92 – Amplitudes absolutas médias ( $\mu$ V) do espectro beta<sub>3</sub> (frontal esquerdo e direito) do EEG de animais, cada um deles participando de dois grupos: **Isquemia** (obstrução das artérias carótidas comuns) e **Infusão de ácido  $\alpha$ -lipóico** (obstrução bilateral das artérias carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda, a 41,91  $\mu$ l/100g/min, durante trinta minutos, de solução 3,03 mM de ácido  $\alpha$ -lipóico). Períodos iniciais, intermediários e finais da infusão foram estudados separadamente.

Beta <sub>3</sub> (parietal esquerdo)				Beta <sub>3</sub> (parietal direito)			
Isquemia	Infusão de ácido $\alpha$ -lipóico			Isquemia	Infusão de ácido $\alpha$ -lipóico		
	Inicial	Intermediário	Final		Inicial	Intermediário	Final
15,89	16,13	10,87	13,96	22,36	23,68	21,80	22,89
16,77	17,64	17,41	16,05	21,35	25,01	23,40	22,35
28,70	25,99	25,58	24,97	24,64	23,20	21,21	21,54
19,33	17,56	15,34	12,06	23,41	26,80	19,26	16,87
14,74	11,86	10,84	12,18	18,90	17,85	17,90	17,74
22,35	26,38	24,00	26,45	14,79	13,70	13,95	14,38
23,59	26,99	22,28	21,12	19,85	29,22	22,71	21,27

Tabela 93 – Amplitudes absolutas médias ( $\mu$ V) do espectro beta<sub>3</sub> (parietal esquerdo e direito) do EEG de animais, cada um deles participando de dois grupos: **Isquemia** (obstrução das artérias carótidas comuns) e **Infusão de ácido  $\alpha$ -lipóico** (obstrução bilateral das artérias carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda, a 41,91  $\mu$ l/100g/min, durante trinta minutos, de solução 3,03 mM de ácido  $\alpha$ -lipóico). Períodos iniciais, intermediários e finais da infusão foram estudados separadamente.

Delta (frontal esquerdo)				Delta (frontal direito)			
Isquemia	Infusão de ácido $\alpha$ -lipóico			Isquemia	Infusão de ácido $\alpha$ -lipóico		
	Inicial	Intermediário	Final		Inicial	Intermediário	Final
82,10	87,45	57,71	118,00	94,24	93,64	73,22	131,20
160,80	132,80	61,73	123,20	154,40	129,50	74,03	126,90
176,70	125,50	57,02	92,20	179,60	117,60	52,87	91,24
176,80	172,20	58,48	125,90	195,30	202,30	85,75	156,60
109,50	21,02	26,88	42,37	47,82	17,77	21,51	27,43
136,10	70,85	25,13	72,05	167,30	66,77	23,46	47,71
44,21	60,09	77,98	73,96	43,26	54,68	63,56	61,18

Tabela 94 – Amplitudes absolutas médias ( $\mu$ V) do espectro delta (frontal esquerdo e direito) do EEG de animais, cada um deles participando de dois grupos: **Isquemia** (obstrução das artérias carótidas comuns) e **Infusão de ácido  $\alpha$ -lipóico** (obstrução bilateral das artérias carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda, a 41,91  $\mu$ l/100g/min, durante trinta minutos, de solução 3,03 mM de ácido  $\alpha$ -lipóico). Períodos iniciais, intermediários e finais da infusão foram estudados separadamente.

Delta (parietal esquerdo)				Delta (parietal direito)			
Isquemia	Infusão de ácido alfa-lipóico			Isquemia	Infusão de ácido alfa-lipóico		
	Inicial	Intermediário	Final		Inicial	Intermediário	Final
48,49	51,23	21,69	49,35	62,46	71,81	39,61	65,39
119,50	89,21	24,58	58,30	98,60	92,63	41,66	52,83
58,49	73,80	39,62	60,50	154,70	131,30	35,38	65,26
55,94	56,53	25,67	34,34	61,95	64,27	23,04	35,20
44,34	19,87	24,25	26,37	36,88	18,51	22,96	23,45
43,85	29,24	13,10	23,49	21,96	18,11	9,21	16,28
29,36	63,23	71,36	77,66	20,96	36,47	34,17	37,16

Tabela 95 – Amplitudes absolutas médias ( $\mu$ V) do espectro delta (parietal esquerdo e direito) do EEG de animais, cada um deles participando de dois grupos: **Isquemia** (obstrução das artérias carótidas comuns) e **Infusão de ácido  $\alpha$ -lipóico** (obstrução bilateral das artérias carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda, a 41,91  $\mu$ l/100g/min, durante trinta minutos, de solução 3,03 mM de ácido  $\alpha$ -lipóico). Períodos iniciais, intermediários e finais da infusão foram estudados separadamente.

Teta (frontal esquerdo)				Teta (frontal direito)			
Isquemia	Infusão de ácido $\alpha$ -lipóico			Isquemia	Infusão de ácido $\alpha$ -lipóico		
	Inicial	Intermediário	Final		Inicial	Intermediário	Final
74,54	76,36	30,04	86,87	77,57	76,81	34,76	87,07
106,60	121,80	37,21	78,54	99,03	110,20	34,06	73,52
143,90	87,76	33,77	70,76	142,70	84,03	31,21	71,39
121,30	130,50	66,19	80,38	128,50	136,40	62,34	90,13
89,40	18,27	25,24	40,76	43,94	14,90	19,30	25,90
110,40	63,41	23,46	61,85	134,40	60,58	24,83	38,42
25,39	48,05	49,58	51,35	24,83	41,46	43,17	43,43

Tabela 96 – Amplitudes absolutas médias ( $\mu$ V) do espectro teta (frontal esquerdo e direito) do EEG de animais, cada um deles participando de dois grupos: **Isquemia** (obstrução das artérias carótidas comuns) e **Infusão de ácido  $\alpha$ -lipóico** (obstrução bilateral das artérias carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda, a 41,91  $\mu$ l/100g/min, durante trinta minutos, de solução 3,03 mM de ácido  $\alpha$ -lipóico). Períodos iniciais, intermediários e finais da infusão foram estudados separadamente.

Teta (parietal esquerdo)				Teta (parietal direito)			
Isquemia	Infusão de ácido $\alpha$ -lipóico			Isquemia	Infusão de ácido $\alpha$ -lipóico		
	Inicial	Intermediário	Final		Inicial	Intermediário	Final
49,22	47,99	16,03	41,34	62,46	64,54	42,05	66,04
84,50	85,25	24,30	46,59	65,15	67,77	32,06	47,79
46,12	41,71	23,04	42,97	118,10	89,35	30,46	60,38
59,97	56,56	39,44	43,04	56,40	57,18	33,59	36,74
37,94	20,28	21,73	27,27	31,33	16,85	18,77	24,30
41,91	33,76	23,78	29,01	27,17	24,55	20,60	22,89
28,42	51,58	54,51	54,83	27,13	43,40	39,51	40,28

Tabela 97 – Amplitudes absolutas médias ( $\mu$ V) do espectro teta (parietal esquerdo e direito) do EEG de animais, cada um deles participando de dois grupos: **Isquemia** (obstrução das artérias carótidas comuns) e **Infusão de ácido  $\alpha$ -lipóico** (obstrução bilateral das artérias carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda, a 41,91  $\mu$ l/100g/min, durante trinta minutos, de solução 3,03 mM de ácido  $\alpha$ -lipóico). Períodos iniciais, intermediários e finais da infusão foram estudados separadamente.

Espectro	Alfa				Teta				Delta																
	Infusão de ácido $\alpha$ -lipóico				Isquemia				Infusão de ácido $\alpha$ -lipóico				Isquemia												
	Região	Inicial	Intermediário	Final	Inicial	Intermediário	Final	Inicial	Intermediário	Final	Inicial	Intermediário	Final	Inicial	Intermediário	Final									
Frontal esquerda	86,50 ± 12,98	64,90 ± 11,08	32,00 ± 3,40	57,90 ± 5,18	95,90 ± 14,43	39,70 ± 15,00	15,20 ± 5,74	16,70 ± 6,33	126,60 ± 19,12	95,70 ± 19,30	52,10 ± 7,27	92,50 ± 11,94	Frontal direita	84,40 ± 15,96	64,00 ± 12,89	30,60 ± 4,74	52,20 ± 7,64	93,00 ± 17,40	74,90 ± 15,50	35,70 ± 5,29	61,40 ± 9,56	126,00 ± 23,98	97,50 ± 22,66	56,30 ± 9,54	91,80 ± 18,26
Parietal esquerda	36,90 ± 3,65	33,20 ± 4,16	21,5 ± 3,43	29,60 ± 2,83	49,70 ± 6,87	48,20 ± 7,69	29,00 ± 5,04	40,70 ± 3,66	57,14 ± 11,00	54,73 ± 9,14	31,50 ± 7,28	47,14 ± 7,55	Parietal direita	38,00 ± 8,84	32,40 ± 6,11	18,20 ± 1,84	27,70 ± 4,47	55,40 ± 12,20	51,90 ± 9,62	31,00 ± 3,31	42,60 ± 6,28	65,40 ± 18,11	41,50 ± 15,67	29,40 ± 4,37	42,20 ± 7,37

Tabela 98 – Média ± erro padrão da média das amplitudes médias ( $\mu$ V) dos espectros de frequência alfa, teta e delta do EEG nas regiões frontal esquerda, frontal direita, parietal esquerda e parietal direita em grupo controle (isquemia) com obstrução das artérias carótidas comuns e nos períodos inicial, intermediário e final de infusão intracarotídea esquerda, a 41,91  $\mu$ l/100g/min, durante trinta minutos, de solução 3,03 mM de ácido  $\alpha$ -lipóico. Observação: n=7.

Espectro	Beta1				Beta2				Beta3																
	Infusão de ácido $\alpha$ -lipóico				Isquemia				Infusão de ácido $\alpha$ -lipóico				Isquemia												
	Região	Inicial	Intermediário	Final	Inicial	Intermediário	Final	Inicial	Intermediário	Final	Inicial	Intermediário	Final	Inicial	Intermediário	Final									
Frontal esquerda	73,20 ± 9,00	55,70 ± 7,08	35,40 ± 4,25	51,10 ± 3,50	34,70 ± 2,64	31,80 ± 2,39	26,30 ± 3,08	30,10 ± 2,49	21,50 ± 1,15	22,90 ± 2,13	18,60 ± 2,11	20,50 ± 2,78	Frontal direita	70,20 ± 10,92	55,70 ± 9,00	36,80 ± 5,95	44,50 ± 3,84	33,11 ± 3,47	31,31 ± 2,74	27,37 ± 4,15	27,74 ± 1,44	20,80 ± 1,41	21,50 ± 1,62	19,00 ± 2,68	18,70 ± 1,31
Parietal esquerda	35,85 ± 2,79	35,17 ± 3,60	27,71 ± 3,65	32,72 ± 3,22	26,55 ± 3,67	22,22 ± 2,52	21,21 ± 3,00	22,00 ± 2,10	20,20 ± 1,89	20,40 ± 2,27	18,00 ± 2,30	18,10 ± 2,28	Parietal direita	39,20 ± 5,45	36,40 ± 3,07	28,70 ± 0,93	35,00 ± 3,22	28,90 ± 3,10	28,00 ± 2,51	25,00 ± 1,71	26,10 ± 2,35	20,80 ± 1,24	22,80 ± 2,01	20,00 ± 1,25	19,60 ± 1,23

Tabela 99 – Média ± erro padrão da média das amplitudes médias ( $\mu$ V) dos espectros de frequência beta, beta<sub>2</sub> e beta<sub>3</sub> do EEG nas regiões frontal esquerda, frontal direita, parietal esquerda e parietal direita em grupo controle (isquemia) com obstrução das artérias carótidas comuns e nos períodos inicial, intermediário e final de infusão intracarotídea esquerda, a 41,91  $\mu$ l/100g/min, durante trinta minutos, de solução 3,03 mM de ácido  $\alpha$ -lipóico. Observação: n=7.

Pares de grupos comparados (P<0,05)	Valor de P entre os grupos de tratamento < 0,05
AF3-I e AF3-III	0,000988
AF3-I e AF3-IV	
AF3-II e AF3-III	
AF3-IV e AF3-III	
AF4-I e AF4-III	0,00158
AF4-I e AF4-IV	
AF4-II e AF4-III	
AP3-I e AP3-III	0,0124
AP3-II e AP3-III	
AP4-I e AP4-III	0,0176
B1F3-I e B1F3-III	0,0015
B1F3-I e B1F3-IV	
B1F3-I e B1F3-II	
B1F3-II e B1F3-III	0,00275
B1F4-I e B1F4-III	
B1F4-I e B1F4-IV	
B1P3-I e B1P3-III	0,0290 e 0,1159*
B1P3-II e B1P3-III	

Tabela 100 – Grupos pares com variação estatisticamente significativa (P<0,05) das amplitudes absolutas médias dos espectros alfa e betas do eletroencefalograma de ratos com isquemia (obstrução das artérias carótidas comuns), e dos mesmos animais com infusão intracarotídea esquerda de ácido  $\alpha$ -lipóico 3,03 mM, a 41,91  $\mu$ l/100g/min, durante trinta minutos. ANOVA “ONE WAY” RM foi o método estatístico usado. A Análise de Variância de Medidas Repetidas (Friedman) foi também processada (\*), quando houve falha do teste de normalidade. A comparação múltipla de todos os pares foi feita através do método de Student-Newman-Keuls, quando o valor de P entre todos os grupos de tratamento foi menor do que 0,05. AF3 significa alfa frontal esquerdo; AF4, alfa frontal direito; AP3, alfa parietal esquerdo; AP4, alfa parietal direito; B1F3, beta<sub>1</sub> frontal esquerdo; B1F4, beta<sub>1</sub> frontal direito; B1P3, beta<sub>1</sub> parietal esquerdo; I, subgrupo com obstrução das artérias carótidas comuns, II, subgrupo com obstrução das artérias carótidas comuns e na fase inicial de infusão intracarotídea esquerda de ácido  $\alpha$ -lipóico; III, subgrupo com obstrução das artérias carótidas comuns e na fase intermediária de infusão intracarotídea esquerda de ácido  $\alpha$ -lipóico; IV, subgrupo com obstrução das artérias carótidas comuns e na fase final de infusão intracarotídea esquerda de ácido  $\alpha$ -lipóico. Observação: n=7.

Pares de grupos comparados (P<0,05)	Valor de P entre os grupos de tratamento < 0,05
DF3-I e DF3-III	0,00217
DF3-II e DF3-III	
DF3-IV e DF3-III	
DF4-I e DF4-III	0,00601
DP4-I e DP4-III	0,0156
DP4-II e DP4-III	
TF3-I e TF3-III	0,00208
TF3-II e TF3-III	
TF3-IV e TF3-III	
TF4-I e TF4-III	0,00275 e 0,0737*
TF4-II e TF4-III	
TP3-I e TP3-III	0,0297
TP3-II e TP3-III	
TP4-I e TP4-III	0,0239 e 0,0293*
TP4-II e TP4-III	

Tabela 101 – Grupos pares com variação estatisticamente significativa (P<0,05) das amplitudes absolutas médias dos espectros delta e teta do eletroencefalograma de ratos com isquemia (obstrução das artérias carótidas comuns), e dos mesmos animais com infusão intracarotídea esquerda de ácido  $\alpha$ -lipóico 3,03 mM, a 41,91  $\mu$ l/100g/min, durante trinta minutos. ANOVA “ONE WAY” RM foi o método estatístico usado. A Análise de Variância de Medidas Repetidas (Friedman) foi também processada (\*), quando houve falha do teste de normalidade. A comparação múltipla de todos os pares foi feita através do método de Student-Newman-Keuls, quando o valor de P entre todos os grupos de tratamento foi menor do que 0,05. DF3 significa delta frontal esquerdo; DF4, delta frontal direito; DP4, delta parietal direito; TF3, teta frontal esquerdo; TF4, teta frontal direito; TP3, teta parietal esquerdo; TP4, teta parietal direito; I, grupo com obstrução das artérias carótidas comuns, II, grupo com obstrução das artérias carótidas comuns e na fase inicial de infusão intracarotídea esquerda de ácido  $\alpha$ -lipóico; III, grupo com obstrução das artérias carótidas comuns e na fase intermediária de infusão intracarotídea esquerda de ácido  $\alpha$ -lipóico; IV, grupo com obstrução das artérias carótidas comuns e na fase final de infusão intracarotídea esquerda de ácido  $\alpha$ -lipóico. Observação: n=7.

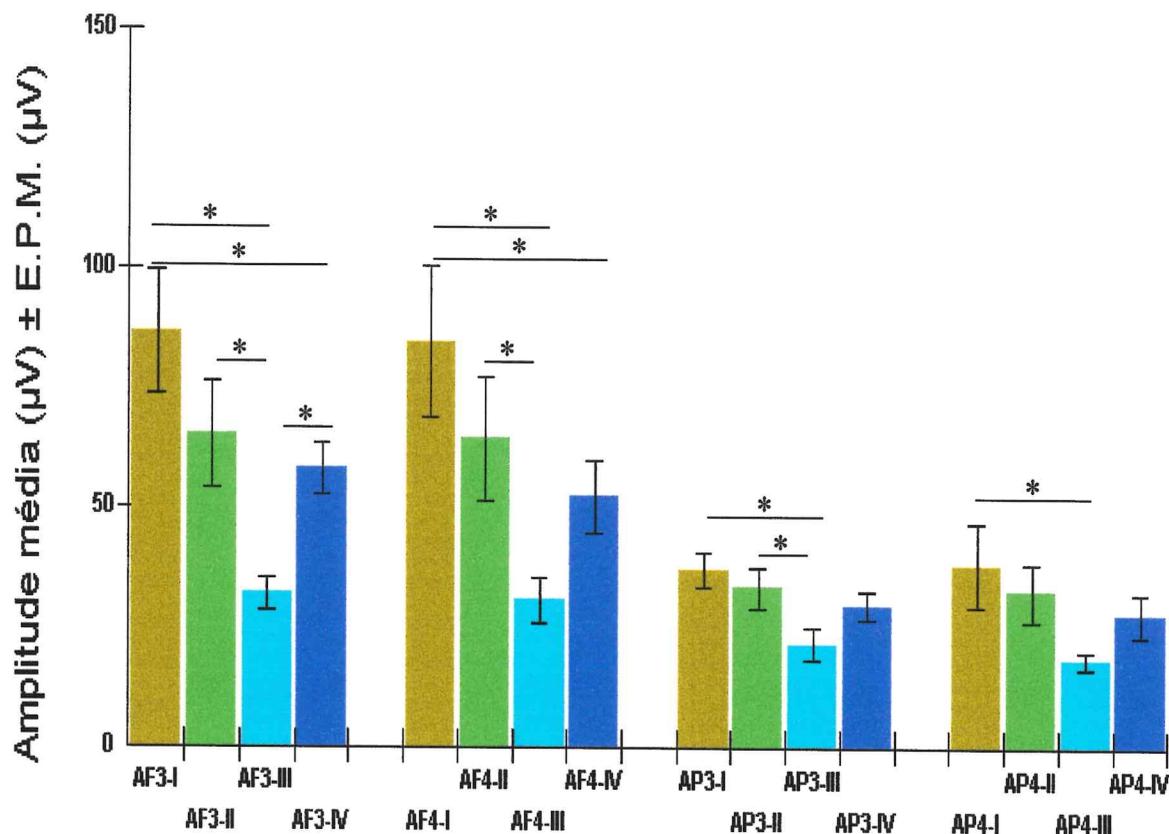


Gráfico 63 - Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ )  $\pm$  E.P.M. ( $\mu\text{V}$ ) do espectro alfa do EEG de ratos Wistar-Kyoto, cada um deles participando de quatro grupos: -I (isquemia devida a obstrução bilateral das artérias carótidas comuns), -II (fase inicial), -III (fase intermediária) e -IV (fase final) de infusão intracarotídea esquerda, a 41,91  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , durante trinta minutos, de solução 3,03 mM de ácido  $\alpha$ -lipóico em animais com obstrução prévia das artérias carótidas comuns. AF3, significa alfa frontal esquerdo; AF4, alfa frontal direito; AP3, alfa parietal esquerdo; AP4, alfa parietal direito; E.P.M., erro padrão da média;  $\mu\text{V}$ , microvolts; \*,  $P < 0,05$ .

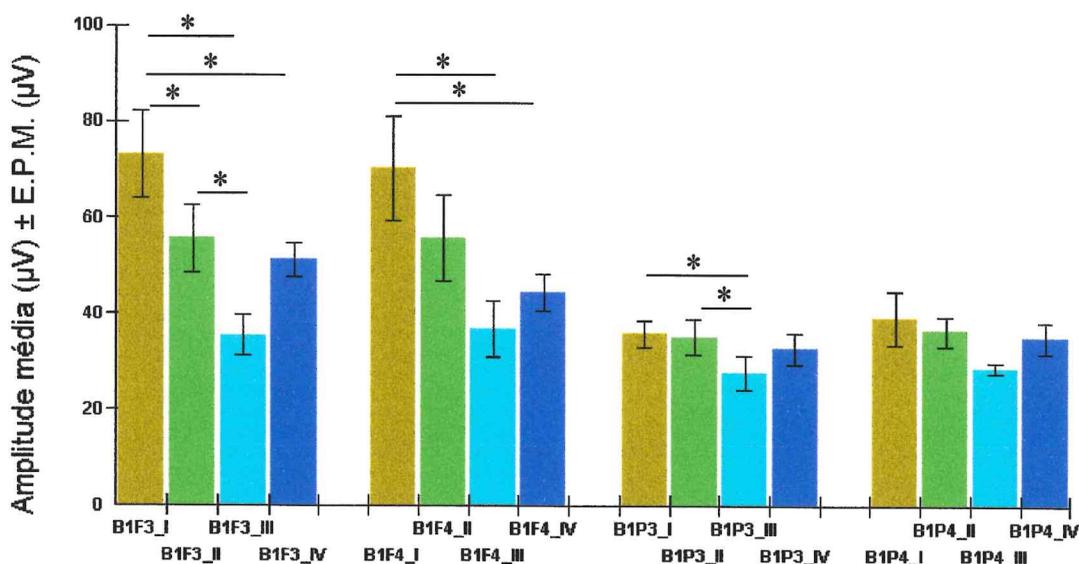


Gráfico 64 - Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ )  $\pm$  E.P.M. ( $\mu\text{V}$ ) do espectro  $\beta_1$  do EEG de ratos Wistar-Kyoto, cada um deles participando de quatro grupos: \_I (isquemia devida a obstrução bilateral das artérias carótidas comuns), \_II (fase inicial), \_III (fase intermediária) e \_IV (fase final) de infusão intracarotídea esquerda de solução 3,03 mM de ácido  $\alpha$ -lipóico, a 41,91  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , durante trinta minutos, em animais com obstrução prévia das artérias carótidas comuns. B1F3, significa  $\beta_1$  frontal esquerdo; B1F4,  $\beta_1$  frontal direito; B1P3,  $\beta_1$  parietal esquerdo; B1P4,  $\beta_1$  parietal direito; E.P.M., erro padrão da média;  $\mu\text{V}$ , microvolts; \*,  $P < 0,05$ .

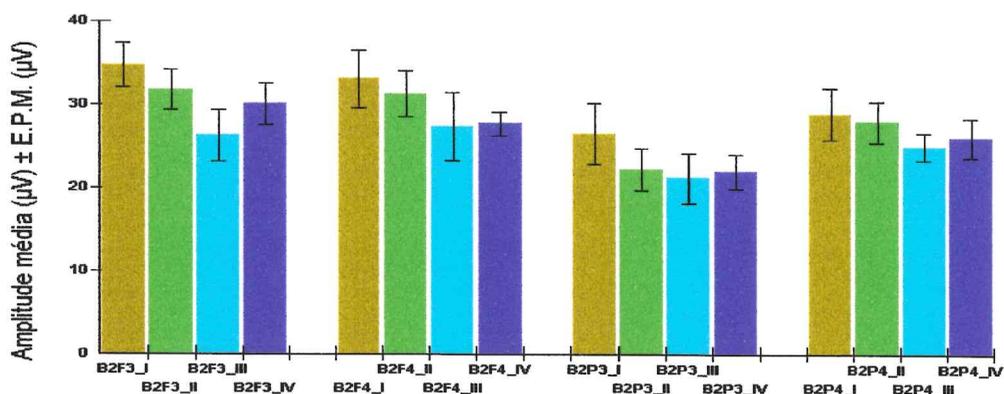


Gráfico 65 - Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ )  $\pm$  E.P.M. ( $\mu\text{V}$ ) do espectro  $\beta_2$  do EEG de ratos Wistar-Kyoto, cada um deles participando de quatro grupos: \_I (isquemia devida a obstrução bilateral das artérias carótidas comuns), \_II (fase inicial), \_III (fase intermediária) e \_IV (fase final) de infusão intracarotídea esquerda, a 41,91  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , durante trinta minutos, de solução 3,03 mM de ácido  $\alpha$ -lipóico em animais com obstrução prévia das artérias carótidas comuns. B2F3, significa  $\beta_2$  frontal esquerdo; B2F4,  $\beta_2$  frontal direito; B2P3,  $\beta_2$  parietal esquerdo; B2P4,  $\beta_2$  parietal direito; E.P.M., erro padrão da média;  $\mu\text{V}$ , microvolts; \*,  $P < 0,05$ .

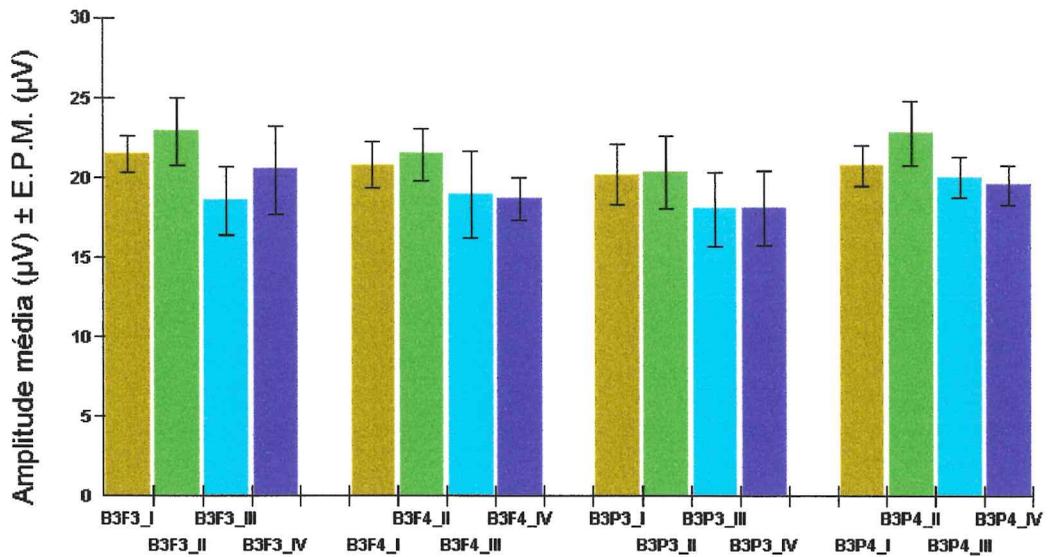


Gráfico 66 - Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ )  $\pm$  E.P.M. ( $\mu\text{V}$ ) do espectro beta3 do EEG de ratos Wistar-Kyoto, cada um deles participando de quatro grupos: \_I (isquemia devida a obstrução bilateral das artérias carótidas comuns), \_II (fase inicial), \_III (fase intermediária) e \_IV (fase final) de infusão intracarotídea esquerda, a  $41,91 \mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , durante trinta minutos, de solução  $3,03 \text{ mM}$  de ácido  $\alpha$ -lipóico em animais com obstrução prévia das artérias carótidas comuns. B3F3, significa beta3 frontal esquerdo; B3F4, beta3 frontal direito; B3P3, beta3 parietal esquerdo; B3P4, beta3 parietal direito; E.P.M., erro padrão da média;  $\mu\text{V}$ , microvolts.

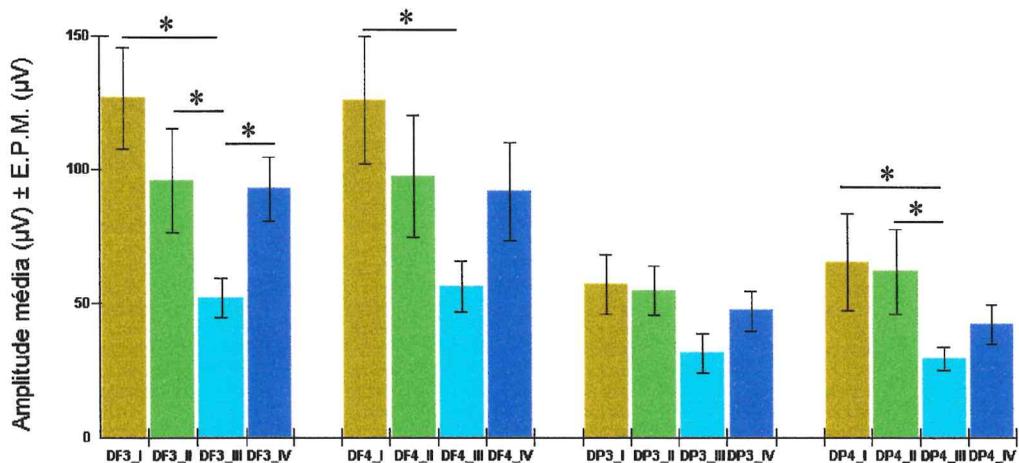


Gráfico 67 - Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ )  $\pm$  E.P.M. ( $\mu\text{V}$ ) do espectro delta do EEG de ratos Wistar-Kyoto, cada um deles participando de quatro grupos: \_I (isquemia devida a obstrução bilateral das artérias carótidas comuns), \_II (fase inicial), \_III (fase intermediária) e \_IV (fase final) de infusão intracarotídea esquerda, a  $41,91 \mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , durante trinta minutos, de solução  $3,03 \text{ mM}$  de ácido  $\alpha$ -lipóico em animais com obstrução prévia das artérias carótidas comuns. DF3, significa delta frontal esquerdo; DF4, delta frontal direito; DP3, delta parietal esquerdo; DP4, delta parietal direito; E.P.M., erro padrão da média;  $\mu\text{V}$ , microvolts; \*,  $P < 0,05$ .

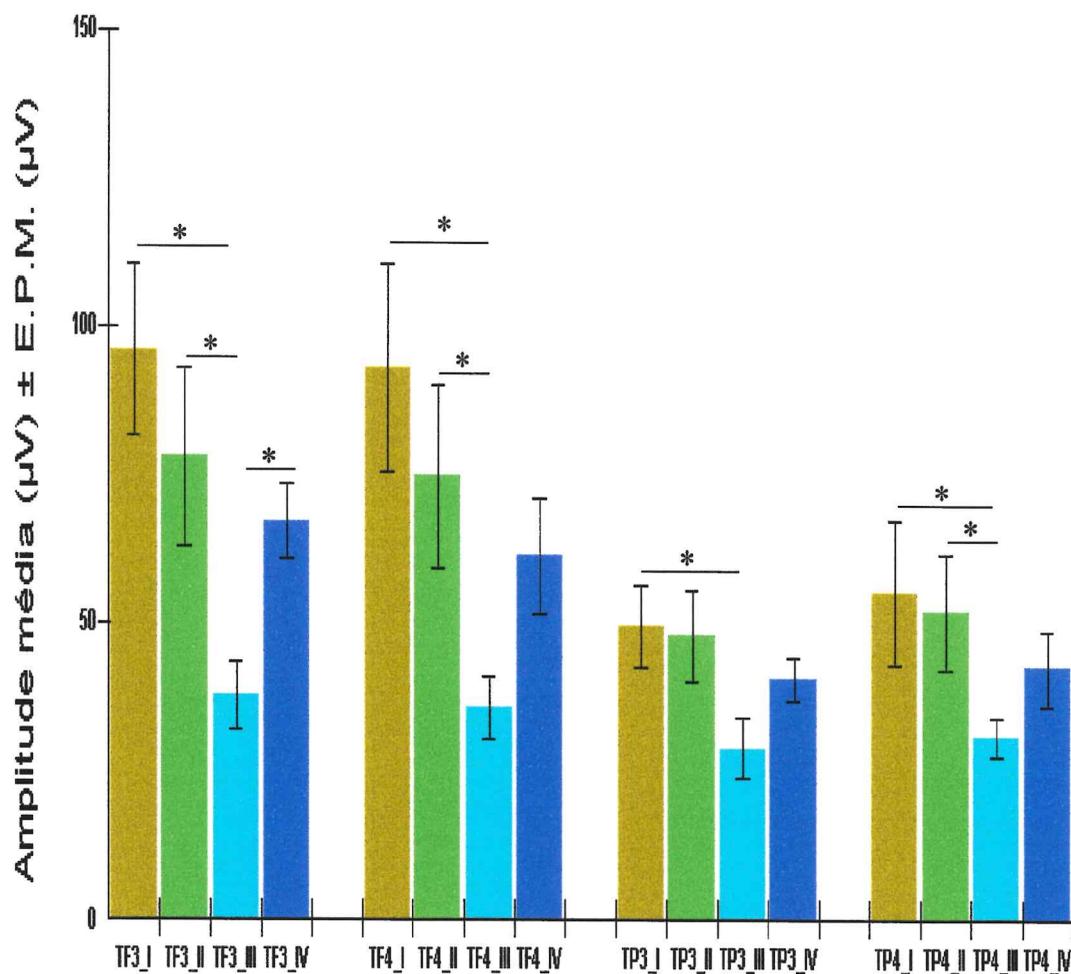


Gráfico 68 - Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ )  $\pm$  E.P.M. ( $\mu\text{V}$ ) do espectro teta do EEG de ratos Wistar-Kyoto, cada um deles participando de quatro grupos: \_I (isquemia devida a obstrução bilateral das artérias carótidas comuns), \_II (fase inicial), \_III (fase intermediária) e \_IV (fase final) de infusão intracarotídea esquerda, a  $41,91 \mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , durante 30 minutos, de solução  $3,03 \text{ mM}$  de ácido  $\alpha$ -lipóico em animais com obstrução prévia das artérias carótidas comuns. TF3, significa teta frontal esquerdo; TF4, teta frontal direito; TP3, teta parietal esquerdo; TP4, teta parietal direito; E.P.M., erro padrão da média;  $\mu\text{V}$ , microvolts; \*,  $P < 0,05$ .

### 5.9 Estudo das amplitudes absolutas médias dos espectros eletroencefalográficos em ratos com oclusão das carótidas comuns e infusão intracarotídea de solução 6,06 mM de ácido $\alpha$ -lipóico.

As tabelas 102 a 107 demonstram os valores das amplitudes absolutas médias dos espectros de frequência do eletroencefalograma (alfa, beta<sub>1</sub>, beta<sub>2</sub>, beta<sub>3</sub>, delta e teta) obtidos a partir de sua avaliação quantitativa no grupo **Isquemia** (ratos anestesiados com isquemia induzida por obstrução das artérias carótidas comuns) e no grupo **Infusão de ácido  $\alpha$ -lipóico** (mesmos ratos, nos quais se promoveu infusão intracarotídea esquerda, a 45,87  $\mu$ l/100g/min, durante trinta minutos, de solução 6,06 mM de ácido  $\alpha$ -lipóico. As tabelas 108 e 109 demonstram os valores das médias das amplitudes médias absolutas  $\pm$  erro padrão da média e de P, respectivamente. Os gráficos 69 a 74 resumem os achados estatísticos.

Como observado na tabela 108, há aumento das amplitudes absolutas médias paralelamente à redução da frequência do espectro do eletroencefalograma estudado. Assim, há aumento da amplitude absoluta média paralelamente à seqüência beta<sub>3</sub>, beta<sub>2</sub>, beta<sub>1</sub>, alfa e teta. A transição da faixa teta para delta não evidenciou esta tendência.

As amplitudes absolutas médias das faixas alfa, beta<sub>1</sub>, beta<sub>2</sub> e beta<sub>3</sub>, teta e delta são maiores nas regiões frontais em ambos os lados que nas regiões parietais (tabela 108, gráficos 69 a 74).

A infusão intracarotídea esquerda, a 45,87  $\mu$ l/100g/min, durante 30 minutos, de solução 6,06 mM de ácido  $\alpha$ -lipóico determina aumento significativo das amplitudes absolutas médias dos espectros teta frontal direito e esquerdo e delta parietal esquerdo do EEG de ratos Wistar-Kyoto previamente submetidos a obstrução das artérias carótidas comuns (tabela 109, gráficos 73 e 74).

Alfa (frontal esquerdo)		Alfa (frontal direito)		Alfa (parietal esquerdo)		Alfa (parietal direito)	
Isquemia	Infusão de ácido $\alpha$ - lipóico	Isquemia	Infusão de ácido $\alpha$ - lipóico	Isquemia	Infusão de ácido $\alpha$ - lipóico	Isquemia	Infusão de ácido $\alpha$ - lipóico
74,50	83,25	66,21	73,22	37,50	42,96	34,28	41,46
75,87	92,25	71,25	93,35	39,33	51,28	56,48	95,40
130,70	106,70	159,60	159,50	32,76	34,47	59,53	73,92
126,90	157,30	101,50	120,50	58,71	61,72	40,78	47,35
135,70	131,20	147,00	145,40	71,22	72,69	119,50	122,50
80,75	78,07	68,98	67,82	25,29	24,19	21,53	20,21

Tabela 102 – Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) do espectro alfa do EEG de animais, cada um deles participando de dois grupos: **Isquemia** (obstrução das artérias carótidas comuns) e **Infusão de ácido  $\alpha$ -lipóico** (obstrução bilateral das artérias carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda, a 45,87  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , durante 30 minutos, de solução 6,06 mM de ácido  $\alpha$ -lipóico).

Beta <sub>1</sub> (frontal esquerdo)		Beta <sub>1</sub> (frontal direito)		Beta <sub>1</sub> (parietal esquerdo)		Beta <sub>1</sub> (parietal direito)	
Isquemia	Infusão de ácido $\alpha$ - lipóico	Isquemia	Infusão de ácido $\alpha$ - lipóico	Isquemia	Infusão de ácido $\alpha$ - lipóico	Isquemia	Infusão de ácido $\alpha$ - lipóico
58,45	67,64	52,29	59,95	42,16	45,96	38,62	37,97
66,99	83,69	59,84	84,04	35,59	43,88	52,28	84,86
78,37	71,86	94,60	98,39	38,25	31,66	56,50	57,26
111,40	134,00	89,50	108,40	44,82	53,18	48,60	53,10
116,80	107,00	118,50	115,20	60,65	62,55	110,80	113,30
68,55	71,41	57,63	60,60	33,90	31,35	28,46	29,17

Tabela 103 – Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) do espectro beta<sub>1</sub> do EEG de animais, cada um deles participando de dois grupos: **Isquemia** (obstrução das artérias carótidas comuns) e **Infusão de ácido  $\alpha$ -lipóico** (obstrução bilateral das artérias carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda, a 45,87  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , durante trinta minutos, de solução 6,06 mM de ácido  $\alpha$ -lipóico).

Beta <sub>2</sub> (frontal esquerdo)		Beta <sub>2</sub> (frontal direito)		Beta <sub>2</sub> (parietal esquerdo)		Beta <sub>2</sub> (parietal direito)	
Isquemia	Infusão de ácido $\alpha$ - lipóico	Isquemia	Infusão de ácido $\alpha$ - lipóico	Isquemia	Infusão de ácido $\alpha$ - lipóico	Isquemia	Infusão de ácido $\alpha$ - lipóico
38,85	38,58	36,23	35,45	28,78	30,52	38,78	33,07
33,70	39,93	30,98	37,29	21,79	22,59	29,92	40,27
39,15	35,16	42,60	43,32	34,35	23,47	36,37	32,82
51,10	61,08	44,01	51,24	22,16	27,42	34,39	35,89
52,63	50,81	51,16	51,22	31,16	33,39	58,92	62,25
34,06	33,43	29,07	29,46	18,12	15,34	23,53	24,59

Tabela 104 – Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) do espectro beta<sub>2</sub> do EEG de animais, cada um deles participando de dois grupos: **Isquemia** (obstrução das artérias carótidas comuns) e **Infusão de ácido  $\alpha$ -lipóico** (obstrução bilateral das artérias carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda, a 45,87  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , durante trinta minutos, de solução 6,06 mM de ácido  $\alpha$ -lipóico).

Beta <sub>3</sub> (frontal esquerdo)		Beta <sub>3</sub> (frontal direito)		Beta <sub>3</sub> (parietal esquerdo)		Beta <sub>3</sub> (parietal direito)	
Isquemia	Infusão de ácido α-lipóico	Isquemia	Infusão de ácido α-lipóico	Isquemia	Infusão de ácido α-lipóico	Isquemia	Infusão de ácido α-lipóico
25,96	23,54	36,23	21,56	21,30	20,95	26,25	24,10
20,99	23,44	19,44	22,49	15,09	16,07	19,33	24,64
27,79	20,79	28,59	24,37	30,88	16,47	26,45	21,65
26,29	31,08	24,79	27,14	11,41	15,24	25,51	25,75
28,18	26,81	26,38	26,30	19,69	20,55	33,49	34,83
21,12	22,03	20,24	20,81	22,61	21,89	25,22	26,28

Tabela 105 – Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) do espectro beta<sub>3</sub> do EEG de animais, cada um deles participando de dois grupos: **Isquemia** (obstrução das artérias carótidas comuns) e **Infusão de ácido α-lipóico** (obstrução bilateral das artérias carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda, a 45,87  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , durante trinta minutos, de solução 6,06 mM de ácido α-lipóico).

Delta (frontal esquerdo)		Delta (frontal direito)		Delta (parietal esquerdo)		Delta (parietal direito)	
Isquemia	Infusão de ácido α-lipóico	Isquemia	Infusão de ácido α-lipóico	Isquemia	Infusão de ácido α-lipóico	Isquemia	Infusão de ácido α-lipóico
136,90	133,10	85,50	108,70	59,56	73,63	74,33	86,05
121,90	183,00	95,80	185,80	55,84	89,90	88,73	183,50
93,95	98,06	113,70	136,10	28,75	30,43	61,73	84,33
102,90	108,00	94,62	99,41	55,25	52,98	36,40	43,46
132,60	124,90	165,90	154,40	61,66	58,99	68,70	69,32
183,60	172,60	147,30	139,10	50,64	52,64	33,10	35,62

Tabela 106 – Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) do espectro delta do EEG de animais, cada um deles participando de dois grupos: **Isquemia** (obstrução das artérias carótidas comuns) e **Infusão de ácido α-lipóico** (obstrução bilateral das artérias carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda, a 45,87  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , durante trinta minutos, de solução 6,06 mM de ácido α-lipóico).

Teta (frontal esquerdo)		Teta (frontal direito)		Teta (parietal esquerdo)		Teta (parietal direito)	
Isquemia	Infusão de ácido $\alpha$ - lipóico	Isquemia	Infusão de ácido $\alpha$ - lipóico	Isquemia	Infusão de ácido $\alpha$ - lipóico	Isquemia	Infusão de ácido $\alpha$ - lipóico
94,98	115,20	84,35	101,60	48,52	63,92	55,40	65,14
122,90	133,40	115,20	140,20	69,92	79,76	112,30	157,60
116,30	123,20	157,00	209,00	39,25	44,30	100,10	127,70
138,10	173,30	111,30	134,60	72,09	82,06	59,15	60,62
158,40	168,00	183,20	186,60	102,20	98,29	136,70	152,00
99,77	99,88	84,70	84,20	44,93	45,21	34,40	34,83

Tabela 107 – Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) do espectro teta do EEG de animais, cada um deles participando de dois grupos: **Isquemia** (obstrução das artérias carótidas comuns) e **Infusão de ácido  $\alpha$ -lipóico** (obstrução bilateral das artérias carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda, a 45,87  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , durante trinta minutos, de solução 6,06 mM de ácido  $\alpha$ -lipóico).

Grupo		Beta <sub>3</sub>	Beta <sub>2</sub>	Beta <sub>1</sub>	Alfa	Teta	Delta
Frontal esquerdo	Isquemia	25,06 ± 1,31	41,58 ± 8,30	84,43 ± 10,06	104,07 ± 12,17	121,70 ± 9,73	128,60 ± 12,90
	Infusão de ácido $\alpha$ - lipóico	24,62 ± 1,53	43,17 ± 10,67	89,27 ± 10,70	108,13 ± 12,55	135,50 ± 12,00	136,60 ± 14,00
Frontal direito	Isquemia	25,95 ± 2,51	39,01 ± 3,45	78,73 ± 10,72	102,42 ± 16,99	122,60 ± 16,27	117,10 ± 13,20
	Infusão de ácido $\alpha$ - lipóico	23,78 ± 1,06	41,33 ± 3,61	87,76 ± 9,69	109,97 ± 15,52	142,70 ± 19,58	137,30 ± 12,80
Parietal esquerdo	Isquemia	20,16 ± 2,74	26,06 ± 6,30	42,56 ± 9,74	44,14 ± 7,07	62,82 ± 9,60	51,95 ± 4,89
	Infusão de ácido $\alpha$ - lipóico	18,53 ± 1,19	25,46 ± 6,43	44,76 ± 4,97	47,89 ± 7,27	68,92 ± 8,84	51,95 ± 4,89
Parietal direito	Isquemia	26,04 ± 1,84	36,99 ± 12,02	55,88 ± 11,74	55,40 ± 14,06	83,00 ± 16,05	60,50 ± 8,92
	Infusão de ácido $\alpha$ - lipóico	26,21 ± 1,85	38,15 ± 12,87	62,61 ± 12,79	66,80 ± 15,45	99,60 ± 21,45	83,71 ± 21,68

Tabela 108 – Média ( $\mu\text{V}$ )  $\pm$  erro padrão da média ( $\mu\text{V}$ ) das amplitudes absolutas médias dos espectros de frequência do EEG de ratos ( $n=6$ ). Cada animal fez parte de dois grupos: **Isquemia** (obstrução das artérias carótidas comuns) e **Infusão de ácido  $\alpha$ -lipóico** (obstrução bilateral das artérias carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda, a 45,87  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , durante trinta minutos, de solução 6,06 mM de ácido  $\alpha$ -lipóico).

Grupos comparados	Beta <sub>3</sub>	Beta <sub>2</sub>	Beta <sub>1</sub>	Alfa	Teta	Delta
Frontal E (I) Frontal E (IAL)	0,8046	0,5009	0,3137	0,6202	0,0414	1,0000(st) 1,0000(x) 0,4990(t)
Frontal D (I) Frontal D (IAL)	0,4600	0,2084(st) 0,2188(x) 0,1645(t)	0,0876	0,1417	0,0472	0,2431
Parietal E (I) Parietal E (IAL)	0,8339(st) 0,8438(x) 0,5624(t)	0,8039	0,4069	0,0996	0,0884	0,5294(st) 0,5625(x) 0,2362(t)
Parietal D (I) Parietal D (IAL)	0,9098	0,6345	0,0592(st) 0,0625(x) 0,2535 (t)	0,1092	0,0643	0,0360(st) 0,0313(x) 0,1743 (t)

Tabela 109 – Valores de P; grupos comparados: (I) – obstrução bilateral das artérias carótidas comuns; (IAL) – obstrução das artérias carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda, a 45,87  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , durante trinta minutos, de solução 6,06 mM de ácido  $\alpha$ -lipóico. D significa direito; E, esquerdo; (t), teste t-Student; (st), estatístico; (x), exato. Observação: n=6.

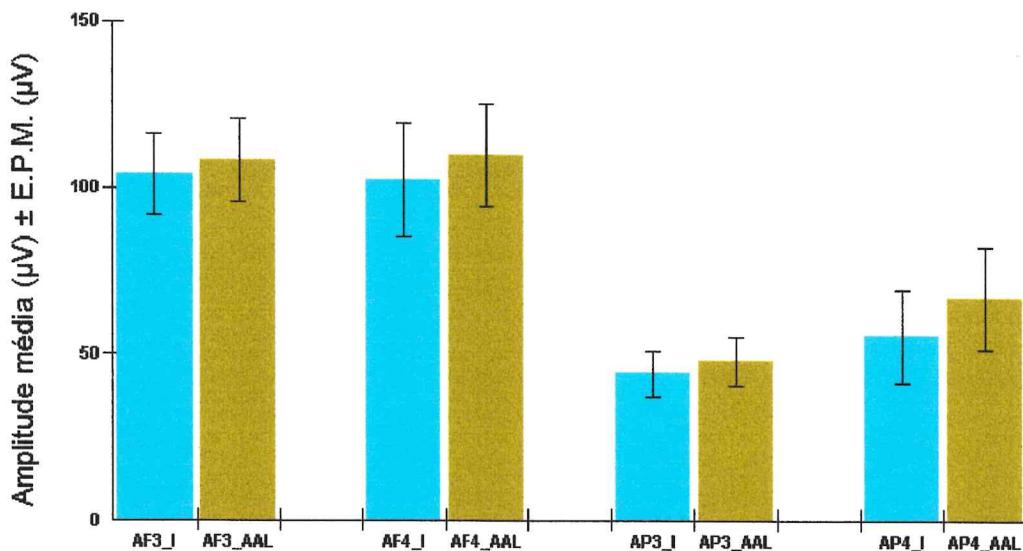


Gráfico 69 - Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ )  $\pm$  E.P.M. ( $\mu\text{V}$ ) do espectro alfa do EEG de ratos Wistar-Kyoto, cada um deles participando de dois grupos: \_I e \_AAL, sendo n=6. \_I significa isquemia (obstrução das artérias carótidas comuns); \_AAL, obstrução das artérias carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda, a 45,87  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , durante trinta minutos, de solução 6,06 mM de ácido  $\alpha$ -lipóico; AF3, alfa frontal esquerdo; AF4, alfa frontal direito; AP3, alfa parietal esquerdo; AP4, alfa parietal direito; E.P.M., erro padrão da média;  $\mu\text{V}$ , microvolts.

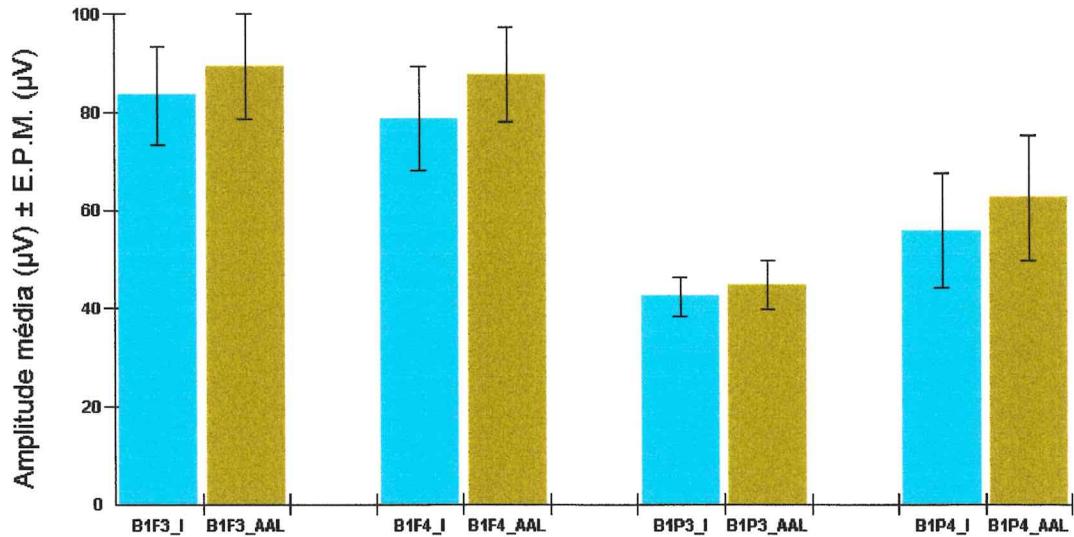


Gráfico 70 - Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ )  $\pm$  E.P.M. ( $\mu\text{V}$ ) do espectro beta<sub>1</sub> do EEG de ratos Wistar-Kyoto, cada um deles participando de dois grupos: *\_I* e *\_AAL*, sendo  $n=6$ . *\_I* significa isquemia (obstrução das artérias carótidas comuns); *\_AAL*, obstrução das artérias carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda, a 45,87  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , durante trinta minutos, de solução 6,06 mM de ácido  $\alpha$ -lipóico; B1F3, beta<sub>1</sub> frontal esquerdo; B1F4, beta<sub>1</sub> frontal direito; B1P3, beta<sub>1</sub> parietal esquerdo; B1P4, beta<sub>1</sub> parietal direito; E.P.M., erro padrão da média;  $\mu\text{V}$ , microvolts.

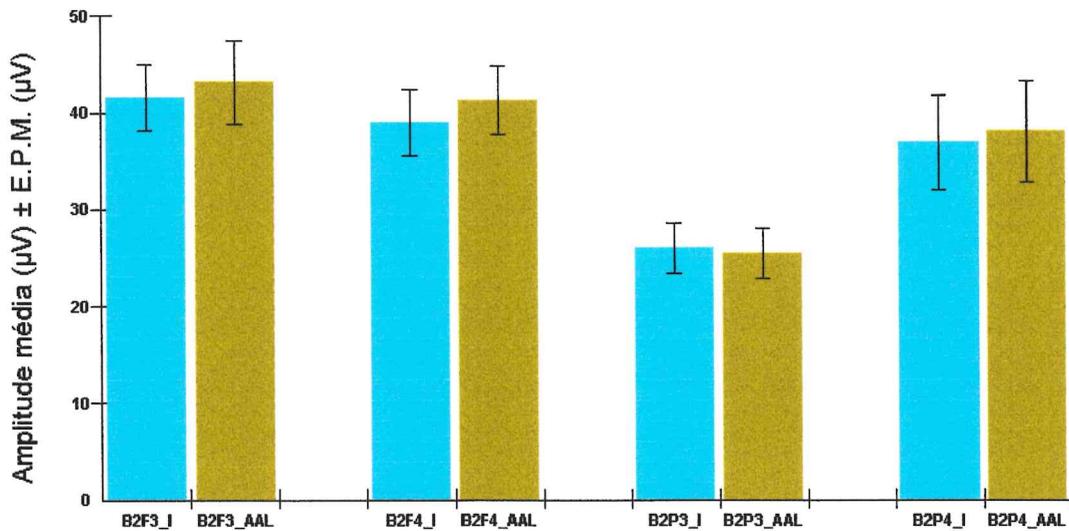


Gráfico 71 - Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ )  $\pm$  E.P.M. ( $\mu\text{V}$ ) do espectro beta<sub>2</sub> do EEG de ratos Wistar-Kyoto, cada um deles participando de dois grupos: *\_I* e *\_AAL*, sendo  $n=6$ . *\_I* significa isquemia (obstrução das artérias carótidas comuns); *\_AAL*, obstrução das artérias carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda, a 45,87  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , durante trinta minutos, de solução 6,06 mM de ácido  $\alpha$ -lipóico; B2F3, beta<sub>2</sub> frontal esquerdo; B2F4, beta<sub>2</sub> frontal direito; B2P3, beta<sub>2</sub> parietal esquerdo; B2P4, beta<sub>2</sub> parietal direito; E.P.M., erro padrão da média;  $\mu\text{V}$ , microvolts.

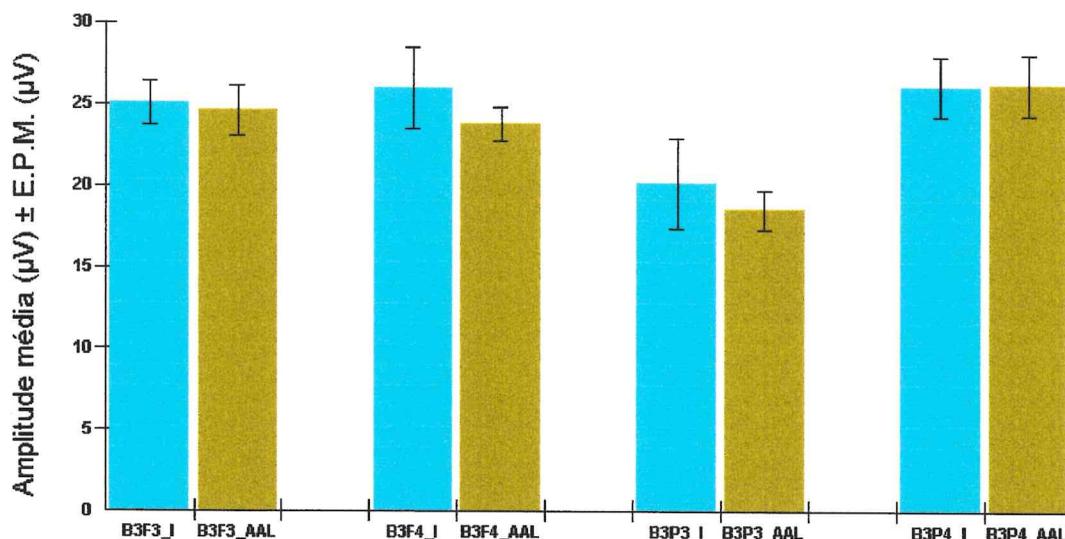


Gráfico 72 - Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ )  $\pm$  E.P.M. ( $\mu\text{V}$ ) do espectro beta<sub>3</sub> do EEG de ratos Wistar-Kyoto, cada um deles participando de dois grupos: I e AAL, sendo n=6. I significa isquemia (obstrução das artérias carótidas comuns); AAL, obstrução das artérias carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda, a 45,87  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , durante trinta minutos, solução 6,06 mM de ácido  $\alpha$ -lipóico; B3F3, beta<sub>3</sub> frontal esquerdo; B3F4, beta<sub>3</sub> frontal direito; B3P3, beta<sub>3</sub> parietal esquerdo; B3P4, beta<sub>3</sub> parietal direito; E.P.M., erro padrão da média;  $\mu\text{V}$ , microvolts.

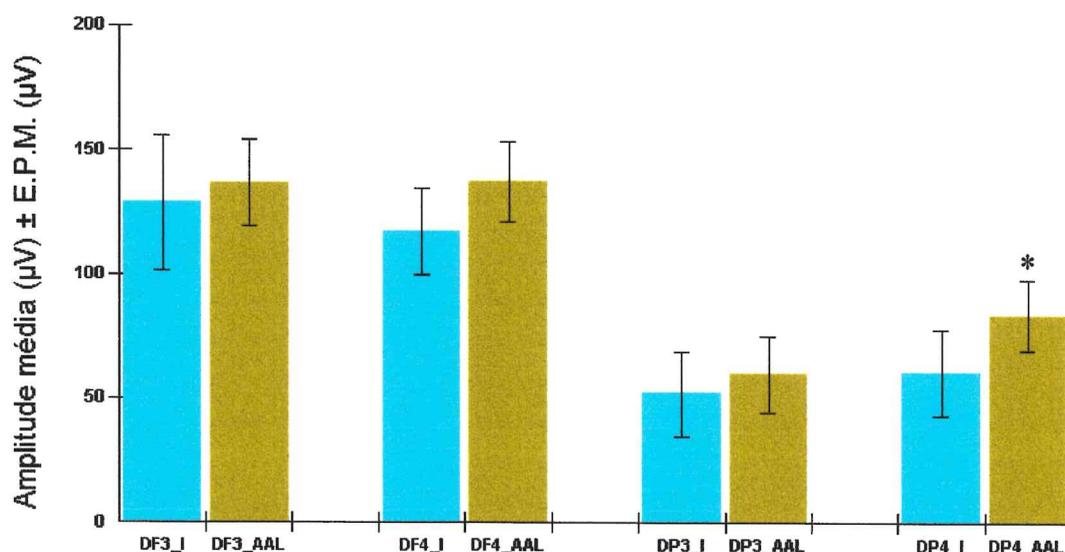


Gráfico 73 - Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ )  $\pm$  E.P.M. ( $\mu\text{V}$ ) do espectro delta do EEG de ratos Wistar-Kyoto, cada um deles participando de dois grupos: I e AAL, sendo n=6. I significa isquemia (obstrução das artérias carótidas comuns); AAL, obstrução das artérias carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda, a 45,87  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , durante trinta minutos, de solução 6,06 mM de ácido  $\alpha$ -lipóico; DF3, delta frontal esquerdo; DF4, delta frontal direito; DP3, delta parietal esquerdo; DP4, delta parietal direito; E.P.M., erro padrão da média;  $\mu\text{V}$ , microvolts; \*,  $P < 0,05$ .

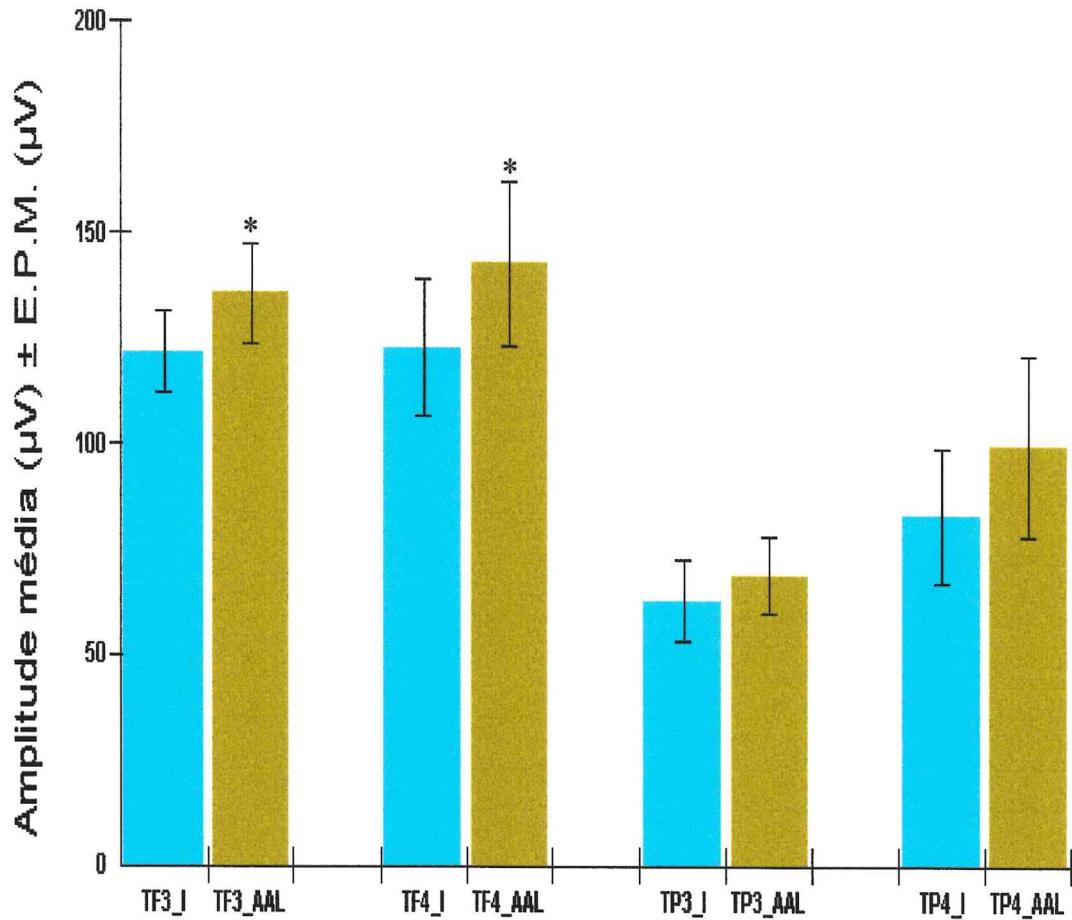


Gráfico 74 - Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ )  $\pm$  E.P.M. ( $\mu\text{V}$ ) do espectro teta do EEG de ratos Wistar-Kyoto, cada um deles participando de dois grupos: I e AAL, sendo  $n=6$ . I significa isquemia (obstrução das carótidas comuns); AAL, obstrução das carótidas comuns e infusão intracarotídea, a 45,87  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , durante trinta minutos, de solução 6,06 mM de ácido  $\alpha$ -lipóico; TF3, teta frontal esquerdo; TF4, teta frontal direito; TP3, teta parietal esquerdo; TP4, teta parietal direito; E.P.M., erro padrão da média;  $\mu\text{V}$ , microvolts; \*,  $P<0,05$ .

### **5.10 Estudo das amplitudes absolutas médias dos espectros eletroencefalográficos em ratos com oclusão das carótidas comuns e infusão intracarotídea de solução 60,6 mM de ácido $\alpha$ -lipóico.**

As tabelas 110 a 115 demonstram os valores das amplitudes absolutas médias dos espectros de frequência do eletroencefalograma (alfa, beta<sub>1</sub>, beta<sub>2</sub>, beta<sub>3</sub>, delta e teta) obtidos a partir de sua avaliação quantitativa individual no grupo **Isquemia** (seis ratos anestesiados com isquemia induzida por obstrução das artérias carótidas comuns) e no grupo tratamento (mesmos ratos, nos quais se promoveu infusão intracarotídea esquerda, a 44,84  $\mu$ l/100g/min, durante trinta minutos, de solução 60,6 mM de ácido  $\alpha$ -lipóico. As tabelas 116 e 117 demonstram os valores das médias das amplitudes absolutas  $\pm$  erro padrão da média e de P, respectivamente. Detalhes individuais podem ser observados nos gráficos 75 a 80.

Observando-se a tabela 116, constata-se aumento das amplitudes absolutas médias paralelamente à redução da frequência do espectro do eletroencefalograma estudado. Há, pois, aumento das amplitudes absolutas médias paralelamente à seqüência beta<sub>3</sub>, beta<sub>2</sub>, beta<sub>1</sub>, alfa, teta. A transição da faixa teta para a faixa delta não evidenciou, de modo consistente, essa tendência.

As amplitudes absolutas médias das diversas faixas de frequência são maiores nas regiões parietais que nas regiões frontais. Estas amplitudes são essencialmente simétricas nas regiões frontais e discretamente maiores à esquerda nas regiões parietais (tabela 116, gráficos 75 a 80).

Observando-se as tabelas 115 e 116 e os gráficos 75 a 80, verifica-se que os grupos **Infusão de ácido  $\alpha$ -lipóico** demonstraram uma redução estatisticamente significativa das amplitudes absolutas médias de todas as faixas de frequência, com exceção da faixa beta<sub>3</sub> na região parietal direita e delta na região frontal esquerda. Nestas duas últimas, o grupo **Infusão de ácido  $\alpha$ -lipóico** também apresentou redução, embora estatisticamente não significativa, das amplitudes absolutas médias.

Alfa (frontal esquerdo)		Alfa (frontal direito)		Alfa (parietal esquerdo)		Alfa (parietal direito)	
Isquemia	Infusão de ácido $\alpha$ - lipóico	Isquemia	Infusão de ácido $\alpha$ - lipóico	Isquemia	Infusão de ácido $\alpha$ - lipóico	Isquemia	Infusão de ácido $\alpha$ - lipóico
103,80	15,91	99,83	23,65	177,10	36,92	127,40	34,79
56,49	17,84	69,75	22,88	199,20	55,93	155,20	44,13
55,45	17,35	47,71	22,32	98,53	46,31	72,23	34,57
31,64	14,68	43,12	18,96	165,60	67,44	136,10	56,01
50,36	39,50	74,06	40,79	130,40	79,52	103,00	72,55
105,30	71,72	80,59	63,20	112,40	76,77	106,90	74,05

Tabela 110 – Amplitudes absolutas médias ( $\mu$ V) do espectro alfa do EEG de animais, cada um deles participando de dois grupos: **Isquemia** (obstrução das artérias carótidas comuns) e **Infusão de ácido  $\alpha$ -lipóico** (obstrução bilateral das artérias carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda, a 44,84  $\mu$ l/100g/min, durante trinta minutos, de solução 60,6 mM de ácido  $\alpha$ -lipóico).

Beta <sub>1</sub> (frontal esquerdo)		Beta <sub>1</sub> (frontal direito)		Beta <sub>1</sub> (parietal esquerdo)		Beta <sub>1</sub> (parietal direito)	
Isquemia	Infusão de ácido $\alpha$ -lipóico	Isquemia	Infusão de ácido $\alpha$ -lipóico	Isquemia	Infusão de ácido $\alpha$ -lipóico	Isquemia	Infusão de ácido $\alpha$ -lipóico
90,22	15,23	99,83	25,43	134,30	36,09	111,40	36,86
58,47	19,64	58,15	24,96	162,80	45,39	121,60	42,77
46,42	19,73	46,19	26,87	80,52	43,48	66,34	40,98
26,58	14,12	39,56	19,80	145,00	59,47	109,80	48,24
45,98	34,85	64,25	31,53	110,20	62,64	89,45	62,30
91,89	64,46	75,08	55,47	115,30	85,97	110,80	84,06

Tabela 111 – Amplitudes absolutas médias ( $\mu$ V) do espectro beta<sub>1</sub> do EEG de animais, cada um deles participando de dois grupos: **Isquemia** (obstrução das artérias carótidas comuns) e **Infusão de ácido  $\alpha$ -lipóico** (obstrução bilateral das artérias carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda, a 44,84  $\mu$ l/100g/min, durante trinta minutos, de solução 60,6 mM de ácido  $\alpha$ -lipóico).

Beta <sub>2</sub> (frontal esquerdo)		Beta <sub>2</sub> (frontal direito)		Beta <sub>2</sub> (parietal esquerdo)		Beta <sub>2</sub> (parietal direito)	
Isquemia	Infusão de ácido $\alpha$ -lipóico	Isquemia	Infusão de ácido $\alpha$ -lipóico	Isquemia	Infusão de ácido $\alpha$ -lipóico	Isquemia	Infusão de ácido $\alpha$ -lipóico
45,31	11,14	41,04	20,18	51,36	23,41	54,20	30,85
30,40	13,97	30,05	16,11	63,77	21,73	53,70	22,68
21,98	12,87	23,01	16,09	37,57	26,65	31,50	25,24
14,36	8,14	22,82	11,18	73,97	31,72	51,15	23,82
23,36	17,95	29,32	15,13	50,35	31,12	38,31	31,33
44,74	32,08	36,85	30,38	55,47	43,11	58,02	46,59

Tabela 112 – Amplitudes absolutas médias ( $\mu$ V) do espectro beta<sub>2</sub> do EEG de animais, cada um deles participando de dois grupos: **Isquemia** (obstrução das artérias carótidas comuns) e **Infusão de ácido  $\alpha$ -lipóico** (obstrução bilateral das artérias carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda, a 44,84  $\mu$ l/100g/min, durante 30 minutos, de solução 60,6 mM de ácido  $\alpha$ -lipóico).

Beta <sub>3</sub> (frontal esquerdo)		Beta <sub>3</sub> (frontal direito)		Beta <sub>3</sub> (parietal esquerdo)		Beta <sub>3</sub> (parietal direito)	
Isquemia	Infusão de ácido $\alpha$ -lipóico	Isquemia	Infusão de ácido $\alpha$ -lipóico	Isquemia	Infusão de ácido $\alpha$ -lipóico	Isquemia	Infusão de ácido $\alpha$ -lipóico
25,16	11,24	21,80	13,98	29,62	19,75	31,53	22,21
22,27	10,70	16,14	13,03	32,53	13,58	28,62	14,85
12,36	7,87	11,40	9,58	21,30	14,90	16,33	15,15
9,90	5,52	16,07	8,11	42,32	18,70	27,93	14,42
12,86	11,08	16,36	9,08	26,09	19,02	18,98	20,00
23,40	18,67	22,31	19,45	27,25	25,83	33,74	33,63

Tabela 113 – Amplitudes absolutas médias ( $\mu$ V) do espectro beta<sub>3</sub> do EEG de animais, cada um deles participando de dois grupos: **Isquemia** (obstrução das artérias carótidas comuns) e **Infusão de ácido  $\alpha$ -lipóico** (obstrução bilateral das artérias carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda, a 44,84  $\mu$ l/100g/min, durante trinta minutos, de solução 60,6 mM de ácido  $\alpha$ -lipóico).

Delta (frontal esquerdo)		Delta (frontal direito)		Delta (parietal esquerdo)		Delta (parietal direito)	
Isquemia	Infusão de ácido $\alpha$ - lipóico	Isquemia	Infusão de ácido $\alpha$ - lipóico	Isquemia	Infusão de ácido $\alpha$ - lipóico	Isquemia	Infusão de ácido $\alpha$ - lipóico
103,50	33,60	106,80	33,72	247,00	55,39	135,00	53,01
43,36	32,19	64,43	30,59	218,90	69,23	163,90	62,92
57,50	33,75	69,60	42,29	176,40	88,76	122,50	61,87
25,65	21,48	40,64	31,29	165,20	76,95	132,00	75,60
33,07	33,29	63,60	47,91	139,20	104,70	103,00	89,01
201,70	134,00	159,20	134,30	232,30	161,60	222,50	149,20

Tabela 114 – Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) do espectro delta do EEG de animais, cada um deles participando de dois grupos: **Isquemia** (obstrução das artérias carótidas comuns) e **Infusão de ácido  $\alpha$ -lipóico** (obstrução bilateral das artérias carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda, a 44,84  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , durante trinta minutos, de solução 60,6 mM de ácido  $\alpha$ -lipóico).

Teta (frontal esquerdo)		Teta (frontal direito)		Teta (parietal esquerdo)		Teta (parietal direito)	
Isquemia	Infusão de ácido $\alpha$ - lipóico	Isquemia	Infusão de ácido $\alpha$ - lipóico	Isquemia	Infusão de ácido $\alpha$ - lipóico	Isquemia	Infusão de ácido $\alpha$ - lipóico
118,90	18,54	106,80	27,11	260,10	40,46	166,10	39,94
60,44	24,03	88,31	26,31	260,90	64,05	193,20	53,31
66,40	25,06	60,31	31,77	133,70	68,89	91,85	51,78
30,76	16,56	46,95	25,16	196,10	63,07	160,30	66,24
47,21	47,70	84,48	46,61	162,90	100,50	106,60	90,49
143,60	109,60	119,10	102,80	160,50	129,30	158,50	127,00

Tabela 115 – Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ ) do espectro teta do EEG de animais, cada um deles participando de dois grupos: **Isquemia** (obstrução das artérias carótidas comuns) e **Infusão de ácido  $\alpha$ -lipóico** (obstrução bilateral das artérias carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda, a 44,84  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , durante trinta minutos, de solução 60,6 mM de ácido  $\alpha$ -lipóico).

Grupo		Beta3	Beta2	Beta1	Alfa	Teta	Delta
Frontal esquerdo	Isquemia	17,66 ± 2,72	30,00 ± 5,18	59,90 ± 10,69	67,20 ± 12,37	77,90 ± 17,90	77,50 ± 27,30
	Infusão de Ácido $\alpha$ -lipóico	10,85 ± 1,81	16,00 ± 3,47	28,00 ± 7,90	29,50 ± 9,26	40,20 ± 14,60	48,10 ± 17,30
Frontal direito	Isquemia	17,35 ± 1,67	30,50 ± 2,99	63,80 ± 8,86	69,20 ± 8,63	84,30 ± 11,10	84,00 ± 17,38
	Infusão de Ácido $\alpha$ -lipóico	12,21 ± 1,73	18,20 ± 2,71	30,70 ± 5,19	32,00 ± 6,99	43,30 ± 12,30	53,40 ± 16,43
Parietal esquerdo	Isquemia	29,90 ± 2,93	55,40 ± 5,08	124,70 ± 11,84	147,20 ± 16,12	195,70 ± 22,00	196,50 ± 17,30
	Infusão de Ácido $\alpha$ -lipóico	18,60 ± 1,76	29,60 ± 3,15	55,50 ± 7,35	60,50 ± 6,96	77,70 ± 13,00	92,80 ± 15,40
Parietal direito	Isquemia	26,19 ± 2,85	47,80 ± 4,27	101,60 ± 8,24	116,8 ± 11,88	146,10 ± 15,80	146,50 ± 17,20
	Infusão de Ácido $\alpha$ -lipóico	20,04 ± 3,01	30,10 ± 3,62	52,50 ± 7,26	52,70 ± 7,27	71,50 ± 13,10	81,90 ± 14,40

Tabela 116 – Amplitude média ( $\mu\text{V}$ )  $\pm$  erro padrão da média (E.P.M.) em  $\mu\text{V}$  dos espectros de frequência do EEG processados a partir das amplitudes absolutas médias do exame eletrofisiológico de dois grupos pares de animais ( $n=6$ ): **Isquemia** (obstrução das artérias carótidas comuns) e **Infusão de ácido  $\alpha$ -lipóico** (obstrução bilateral das artérias carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda de solução 60,6 mM de ácido  $\alpha$ -lipóico), durante trinta minutos.

Grupos comparados	Beta <sub>3</sub>	Beta <sub>2</sub>	Beta <sub>1</sub>	Alfa	Teta	Delta
Frontal E (I) Frontal E (IAL)	0,0360(st) 0,0313(x) 0,0174 (t)	0,0239	0,0208	0,0193	0,0444	0,0714
Frontal D (I) Frontal D (IAL)	0,0067	0,0024	0,0360(st) 0,0313(x) 0,0123(t)	0,0083	0,0098	0,0205
Parietal E (I) Parietal E (IAL)	0,0220	0,0064	0,0054	0,0066	0,0138	0,0066
Parietal D (I) Parietal D (IAL)	0,0795	0,0102	0,0052	0,0064	0,0176	0,0030

Tabela 117 – Valores de P; grupos comparados: (I) – obstrução bilateral das artérias carótidas comuns; (IAL) – obstrução das artérias carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda de 5 ml de solução 60,6 mM de ácido  $\alpha$ -lipóico. D significa direito; E, esquerdo; (t), teste t-Student; (st), estatístico; (x), exato. Observação:  $n=6$ .

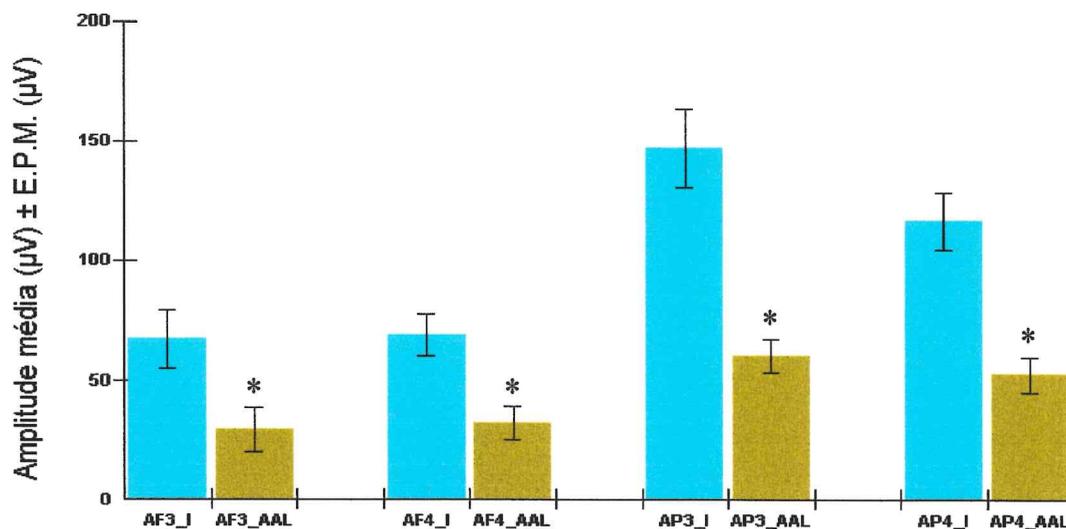


Gráfico 75 - Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ )  $\pm$  E.P.M. ( $\mu\text{V}$ ) do espectro alfa do EEG de ratos Wistar-Kyoto, cada um deles participando de dois grupos: I e AAL, sendo  $n=6$ . I significa isquemia (obstrução das artérias carótidas comuns); AAL, obstrução das artérias carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda, a  $44,84 \mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , durante trinta minutos, de solução  $60,6 \text{ mM}$  de ácido  $\alpha$ -lipóico; AF3, alfa frontal esquerdo; AF4, alfa frontal direito; AP3, alfa parietal esquerdo; AP4, alfa parietal direito; E.P.M., erro padrão da média;  $\mu\text{V}$ , microvolts; \*,  $P<0,05$ .

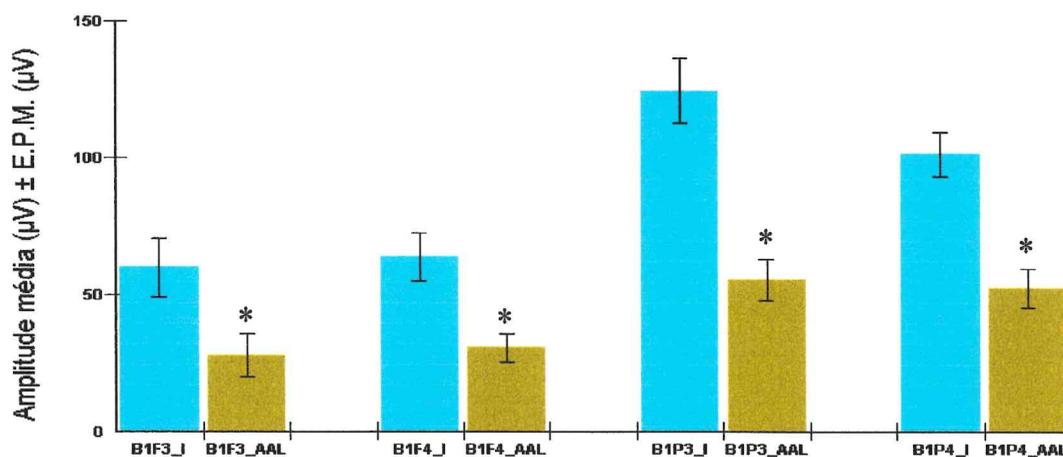


Gráfico 76 - Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ )  $\pm$  E.P.M. ( $\mu\text{V}$ ) do espectro beta<sub>1</sub> do EEG de ratos Wistar-Kyoto, cada um deles participando de dois grupos: I e AAL, sendo  $n=6$ . I significa isquemia (obstrução das artérias carótidas comuns); AAL, obstrução das artérias carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda, a  $44,84 \mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , durante trinta minutos, de solução  $60,6 \text{ mM}$  de ácido  $\alpha$ -lipóico; B1F3, beta<sub>1</sub> frontal esquerdo; B1F4, beta<sub>1</sub> frontal direito; B1P3, beta<sub>1</sub> parietal esquerdo; B1P4, beta<sub>1</sub> parietal direito; E.P.M., erro padrão da média;  $\mu\text{V}$ , microvolts; \*,  $P<0,05$ .

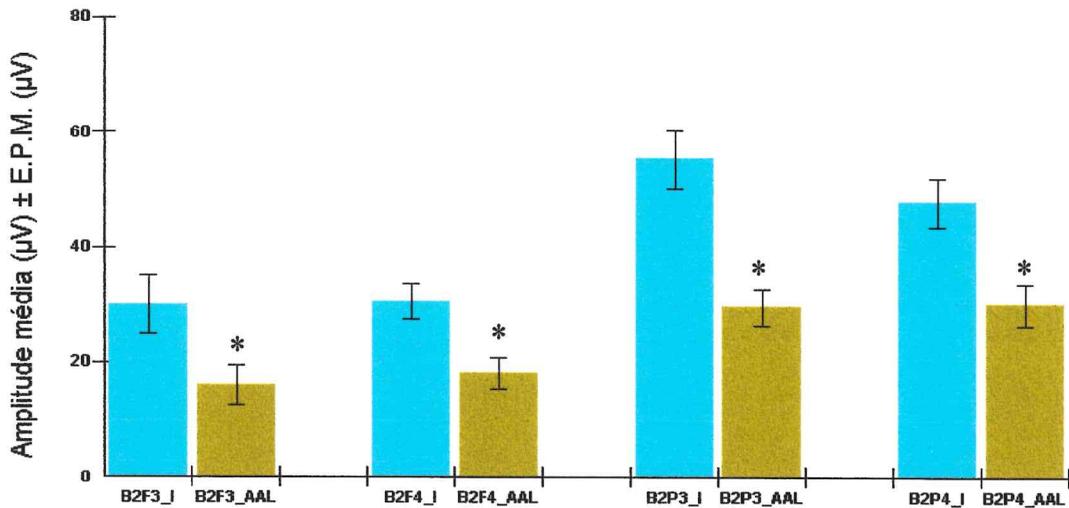


Gráfico 77 - Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ )  $\pm$  E.P.M. ( $\mu\text{V}$ ) do espectro  $\beta_2$  do EEG de ratos Wistar-Kyoto, cada um deles participando de dois grupos: I e AAL, sendo  $n=6$ . I significa isquemia (obstrução das artérias carótidas comuns); AAL, obstrução das artérias carótidas comuns e infusão intracarótidea esquerda, a  $44,84 \mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , durante trinta minutos, de solução  $60,6 \text{ mM}$  de ácido  $\alpha$ -lipóico; B2F3,  $\beta_2$  frontal esquerdo; B2F4,  $\beta_2$  frontal direito; B2P3,  $\beta_2$  parietal esquerdo; B2P4,  $\beta_2$  parietal direito; E.P.M., erro padrão da média;  $\mu\text{V}$ , microvolts; \*,  $P<0,05$ .

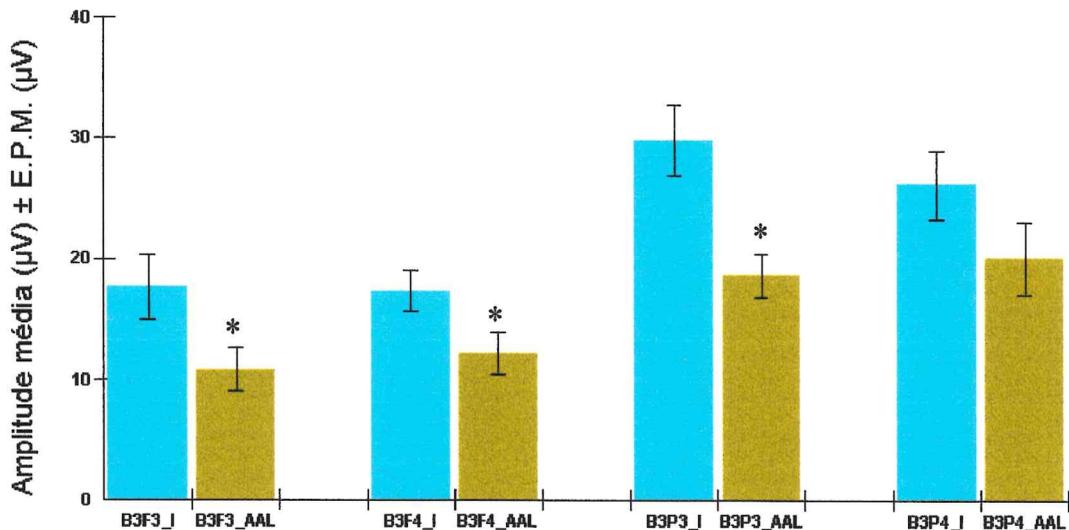


Gráfico 78 - Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ )  $\pm$  E.P.M. ( $\mu\text{V}$ ) do espectro  $\beta_3$  do EEG de ratos Wistar-Kyoto, cada um deles participando de dois grupos: I e AAL, sendo  $n=6$ . I significa Isquemia (obstrução das artérias carótidas comuns); AAL, obstrução das artérias carótidas comuns e infusão intracarótidea esquerda, a  $44,84 \mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , durante trinta minutos, de solução  $60,6 \text{ mM}$  de ácido  $\alpha$ -lipóico; B3F3,  $\beta_3$  frontal esquerdo; B3F4,  $\beta_3$  frontal direito; B3P3,  $\beta_3$  parietal esquerdo; B3P4,  $\beta_3$  parietal direito; E.P.M., erro padrão da média;  $\mu\text{V}$ , microvolts; \*,  $P<0,05$ .

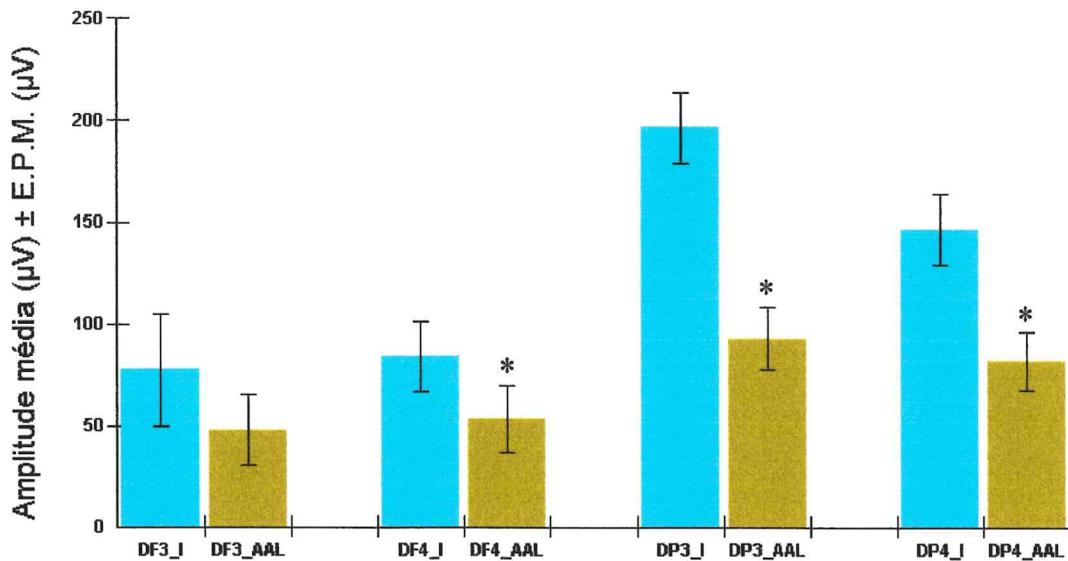


Gráfico 79 - Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ )  $\pm$  E.P.M. ( $\mu\text{V}$ ) do espectro delta do EEG de ratos Wistar-Kyoto, cada um deles participando de dois grupos: I e AAL, sendo  $n=6$ . I significa isquemia (obstrução das artérias carótidas comuns); AAL, obstrução das artérias carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda, a  $44,84 \mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , durante trinta minutos, de solução  $60,6 \text{ mM}$  de ácido  $\alpha$ -lipóico; DF3, delta frontal esquerdo; DF4, delta frontal direito; DP3, delta parietal esquerdo; DP4, delta parietal direito; E.P.M., erro padrão da média;  $\mu\text{V}$ , microvolts; \*,  $P < 0,05$ .

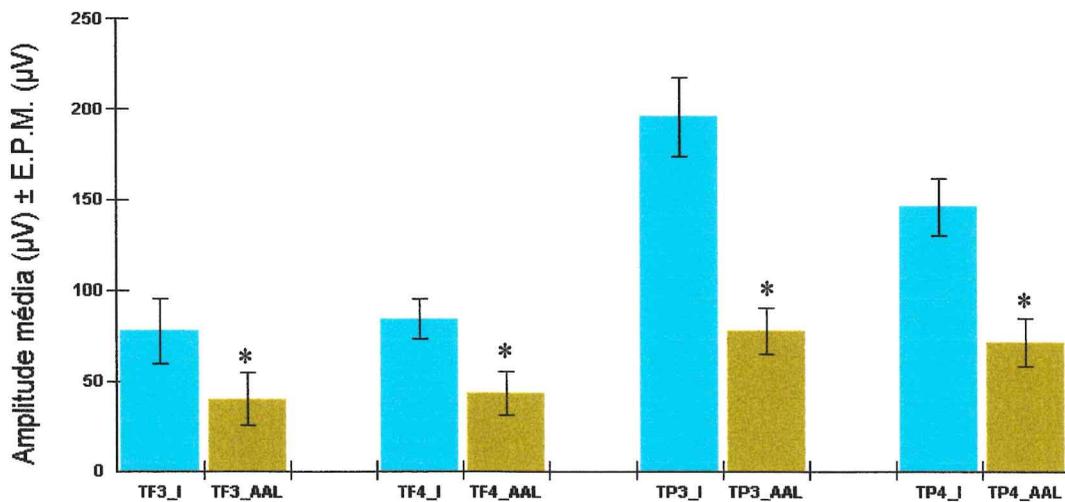


Gráfico 80 - Amplitudes absolutas médias ( $\mu\text{V}$ )  $\pm$  E.P.M. ( $\mu\text{V}$ ) do espectro teta do EEG de ratos Wistar-Kyoto, cada um deles participando de dois grupos: I e AAL, sendo  $n=6$ . I significa Isquemia (obstrução das artérias carótidas comuns); AAL, obstrução das artérias carótidas comuns e infusão intracarotídea esquerda, a  $44,84 \mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , durante trinta minutos, solução  $60,6 \text{ mM}$  de ácido  $\alpha$ -lipóico; TF3, teta frontal esquerdo; TF4, teta frontal direito; TP3, teta parietal esquerdo; TP4, teta parietal direito; E.P.M., erro padrão da média;  $\mu\text{V}$ , microvolts; \*,  $P < 0,05$ .

### 5.11 Dosagens de glutation reduzido em fragmentos de córtex cerebral de ratos Wistar-Kyoto.

A dosagem de glutation em fragmentos de córtex cerebral foi realizada em ratos Wistar-Kyoto anestesiados (**Controle**); de ratos anestesiados com obstrução das artérias carótidas comuns (**Isquemia**); de ratos anestesiados com obstrução das artérias carótidas comuns e após infusão intracarotídea esquerda, a 43,67 $\mu$ l/100g/min, durante 60 minutos, de solução 1,2 mM de glutation reduzido (**Glutation**); de ratos anestesiados com obstrução das artérias carótidas comuns e após infusão intracarotídea esquerda, a 45,87  $\mu$ l/100g/min, durante 30 minutos, de solução 6,06 mM de ácido  $\alpha$ -lipóico (**Ácido  $\alpha$ -lipóico 6,06 mM**); de ratos anestesiados com obstrução das artérias carótidas comuns e após infusão intracarotídea esquerda, a 44,84  $\mu$ l/100g/min, durante 30 minutos, de solução 60,6 mM de ácido  $\alpha$ -lipóico (**Ácido  $\alpha$ -lipóico 60,6 mM**).

As concentrações de glutation reduzido em fragmentos de córtex cerebral de ratos Wistar-Kyoto anestesiados com uretana foram calculadas, conforme descrição apresentada na secção “Materiais e Métodos”. Os resultados são apresentados nas tabelas 118 a 122. As tabelas 123 e 124 representam as médias  $\pm$  E.P.M. (erros padrões da média) e valores de P dos grupos comparados. Os gráficos 81 a 84 expressam a comparação entre as concentrações médias de glutation + erros padrões da média, obtidas a partir de fragmentos de córtex cerebral de grupos de cada dois grupos de animais.

Fragmentos corticais	Rato 1 ( $\mu\text{g/ml}$ )/mgT	Rato 2 ( $\mu\text{g/ml}$ )/mgT	Rato 3 ( $\mu\text{g/ml}$ )/mgT	Rato 4 ( $\mu\text{g/ml}$ )/mgT	Média±E.P.M. ( $\mu\text{g/ml}$ )/mgT
Frontal E	0,4286	0,4251	0,3511	0,3850	0,3975±0,0183
Frontal D	0,4392	0,3065	0,2931	0,2941	0,3332±0,0355
Central E	0,4484	0,2650	0,3077	0,3878	0,3522±0,0409
Central D	0,4372	0,3953	0,3709	0,3735	0,3942±0,0153
Parietal E	0,4151	0,3058	0,5239	0,3472	0,3980±0,0476
Parietal D	0,4999	0,3832	0,2585	0,2508	0,3481±0,0590

Tabela 118 – Dosagem de glutation reduzido em fragmentos corticais de ratos Wistar-Kyoto anestesiados com uretana. E, significa esquerdo; D, direito; mgT, miligrama de tecido;  $\mu\text{g}$  (microgramas); ml, mililitro; E.P.M., erro padrão da média.

Fragmentos corticais	Rato 1 ( $\mu\text{g/ml}$ )/mgT	Rato 2 ( $\mu\text{g/ml}$ )/mgT	Rato 3 ( $\mu\text{g/ml}$ )/mgT	Rato 4 ( $\mu\text{g/ml}$ )/mgT	Rato 5 ( $\mu\text{g/ml}$ )/mgT	Média±E.P.M. ( $\mu\text{g/ml}$ )/mgT
Frontal E	0,3478	0,4076	0,4944	0,3134	0,2322	0,3591±0,0441
Frontal D	0,3317	0,3592	0,3296	0,7097	0,2785	0,4017±0,0781
Central E	0,4157	0,4070	0,4068	0,2990	0,3167	0,3690±0,0252
Central D	0,3813	0,3585	0,4558	0,7181	0,3200	0,4467±0,0714
Parietal E	0,3949	0,3075	0,4240	0,2184	0,2408	0,3171±0,0407
Parietal D	0,3929	0,3129	0,4111	0,2822	0,2865	0,3371±0,0272

Tabela 119 – Dosagem de glutation reduzido em fragmentos corticais de ratos Wistar-Kyoto anestesiados com uretana e com obstrução bilateral das artérias carótidas comuns. E, significa esquerdo; D, direito; mgT, miligrama de tecido;  $\mu\text{g}$  (microgramas); ml, mililitro; E.P.M., erro padrão da média.

Fragmentos corticais	Rato 1 ( $\mu\text{g/ml}$ )/mgT	Rato 2 ( $\mu\text{g/ml}$ )/mgT	Rato 3 ( $\mu\text{g/ml}$ )/mgT	Rato 4 ( $\mu\text{g/ml}$ )/mgT	Rato 5 ( $\mu\text{g/ml}$ )/mgT	Média±E.P.M. ( $\mu\text{g/ml}$ )/mgT
Frontal E	0,5388	0,4228	0,5559	0,5172	0,4864	0,5042±0,0234
Frontal D	0,5033	0,3819	0,3507	0,4846	0,2075	0,3856±0,0532
Central E	0,4077	0,3770	0,4692	0,5098	0,3736	0,4275±0,0268
Central D	0,4022	0,3579	0,5324	0,3528	0,2735	0,3838±0,0426
Parietal E	0,4055	0,4854	0,5536	0,3378	0,4443	0,4453±0,0364
Parietal D	0,3691	0,4982	0,5296	0,4017	0,2379	0,4073±0,0517

Tabela 120 – Dosagem de glutation reduzido em fragmentos corticais de ratos Wistar-Kyoto anestesiados com uretana, com obstrução bilateral das artérias carótidas comuns e após infusão intracarotídea esquerda, a 43,67  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , durante 60 minutos, de solução 1,2 mM de glutation reduzido. E, significa esquerdo; D, direito; mgT, miligrama de tecido;  $\mu\text{g}$  (microgramas); ml, mililitro; E.P.M., erro padrão da média.

Fragmentos corticais	Rato 1 ( $\mu\text{g/ml}$ )/mgT	Rato 2 ( $\mu\text{g/ml}$ )/mgT	Rato 3 ( $\mu\text{g/ml}$ )/mgT	Rato 4 ( $\mu\text{g/ml}$ )/mgT	Rato 5 ( $\mu\text{g/ml}$ )/mgT	Média $\pm$ E.P.M. ( $\mu\text{g/ml}$ )/mgT
Frontal E	0,3497	0,4379	0,6624	0,4930	0,5771	0,5040 $\pm$ 0,0542
Frontal D	0,4942	0,4899	0,5054	0,5402	0,5606	0,5181 $\pm$ 0,0138
Central E	0,3231	0,3468	0,7092	0,4441	0,4394	0,4525 $\pm$ 0,0686
Central D	0,2555	0,2915	0,5797	0,5220	0,4331	0,4164 $\pm$ 0,0631
Parietal E	0,1737	0,2381	0,4520	0,3676	0,4395	0,3342 $\pm$ 0,0553
Parietal D	0,3147	0,3437	0,4172	0,5535	0,5608	0,4380 $\pm$ 0,0515

Tabela 121 – Dosagem de glutation reduzido em fragmentos corticais de ratos Wistar-Kyoto anestesiados com uretana, com obstrução bilateral das artérias carótidas comuns e após infusão intracarotídea esquerda, a 45,87  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , durante 30 minutos, de solução 6,06 mM de ácido  $\alpha$ -lipóico. E, significa esquerdo; D, direito; mgT, miligrama de tecido;  $\mu\text{g}$  (microgramas); ml, mililitro; E.P.M., erro padrão da média.

Fragmentos corticais	Rato 1 ( $\mu\text{g/ml}$ )/mgT	Rato 2 ( $\mu\text{g/ml}$ )/mgT	Rato 3 ( $\mu\text{g/ml}$ )/mgT	Rato 4 ( $\mu\text{g/ml}$ )/mgT	Rato 5 ( $\mu\text{g/ml}$ )/mgT	Média $\pm$ E.P.M. ( $\mu\text{g/ml}$ )/mgT
Frontal E	0,3649	0,4450	0,6598	0,5034	0,5420	0,5030 $\pm$ 0,0493
Frontal D	0,3008	0,1731	0,3238	0,3411	0,4636	0,3205 $\pm$ 0,0464
Central E	0,3746	0,3672	0,4801	0,2609	0,5755	0,4117 $\pm$ 0,0537
Central D	0,3277	0,2863	0,4045	0,3807	0,2639	0,3326 $\pm$ 0,0268
Parietal E	0,3075	0,2964	0,4342	0,4304	0,5707	0,4078 $\pm$ 0,0501
Parietal D	0,3567	0,2248	0,4160	0,4417	0,3868	0,3652 $\pm$ 0,0359

Tabela 122 – Dosagem de glutation reduzido em fragmentos corticais de ratos Wistar-Kyoto anestesiados com uretana, com obstrução bilateral das artérias carótidas comuns e após infusão intracarotídea esquerda, a 44,84  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , durante 30 minutos, de solução 60,6 mM de ácido  $\alpha$ -lipóico. E, significa esquerdo; D, direito; mgT, miligrama de tecido;  $\mu\text{g}$  (microgramas); ml, mililitro; E.P.M., erro padrão da média.

Grupos	Média ± E.P.M. [(µg/ml)/mgT]
Controle	0,3710 ± 0,0152
Isquemia	0,3720 ± 0,0208
Glutation	0,4260 ± 0,0169
Ácido α-lipóico 6,06 mM	0,4440 ± 0,0230
Ácido α-lipóico 60,6 mM	0,3900 ± 0,0202

Tabela 123 – Níveis tissulares cerebrais de glutacion reduzido: média da concentração de glutacion reduzido ± erro padrão da média [(µg/ml)/mgT] nos cinco grupos estudados. A média foi obtida a partir das concentrações de glutacion reduzido obtidas de todos os fragmentos corticais de cada grupo; mgT significa miligrama de tecido; µg (microgramas); ml, mililitro; **Controle**, animais anestesiados com uretana; **Isquemia**, animais com obstrução das artérias carótidas comuns; **Glutation**, animais com Isquemia e infusão intracarotídea esquerda de solução 1,2 mM de glutacion reduzido; **Ácido α-lipóico 6,06 mM**, animais com isquemia e infusão intracarotídea esquerda de solução 6,06 mM de ácido α-lipóico; **Ácido α-lipóico 60,6 mM**, animais com isquemia e infusão intracarotídea esquerda de solução 60,6 mM de ácido α-lipóico; E.P.M., erro padrão da média.

Grupos comparados	Valor de P
Controle e Isquemia	0,9628
Isquemia e Glutation	0,0497
Isquemia e Ácido α-lipóico 6,06 mM	0,0238
Isquemia e Ácido α-lipóico 60,6 mM	0,5299

Tabela 124 – Níveis tissulares cerebrais de glutacion reduzido: valores de P (teste t-student) entre pares de grupos utilizados no estudo. **Controle** significa animais anestesiados com uretana; **Isquemia**, animais com obstrução das artérias carótidas comuns; **Glutation**, animais com isquemia e infusão intracarotídea esquerda de solução 1,2 mM de glutacion reduzido; **Ácido α-lipóico 6,06 mM**, animais com isquemia e infusão intracarotídea esquerda de solução 6,06 mM de ácido α-lipóico; **Ácido α-lipóico 60,6 mM**, animais com isquemia e infusão intracarotídea esquerda de solução 60,6 mM de ácido α-lipóico.

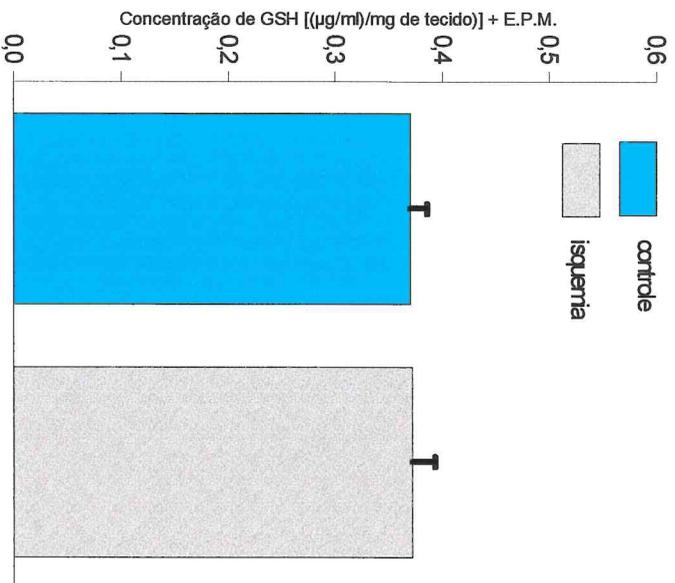


Gráfico 81 – Níveis de glutatation reduzido de fragmentos de córtex cerebral de ratos do grupo **Controle** e do grupo **Isquemia** (obstrução das artérias carótidas comuns). GSH significa glutatation reduzido; E.P.M., erro padrão da média; µg, microgramas; mg, miligramas.

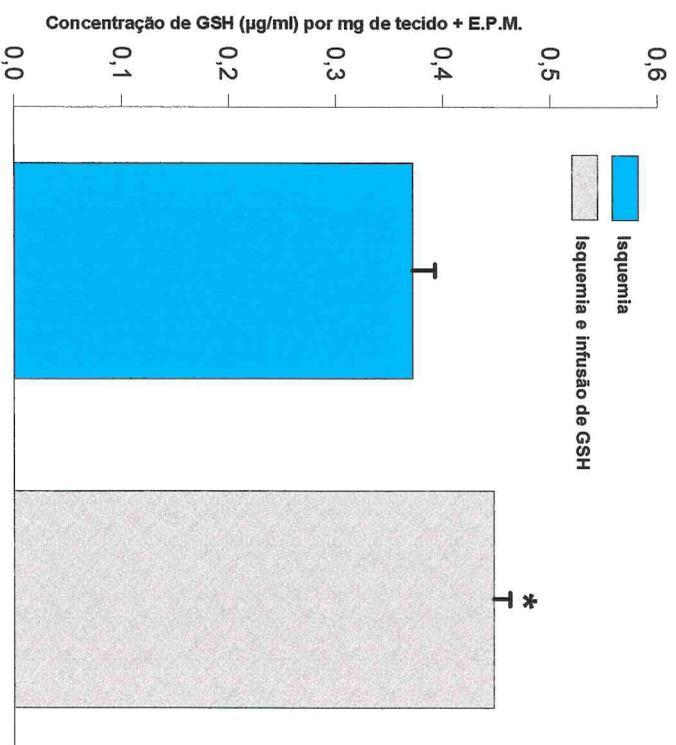


Gráfico 82 – Níveis de glutatation reduzido de fragmentos de córtex cerebral de ratos do grupo **Isquemia** (obstrução das artérias carótidas comuns) e **Isquemia e Glutiation** (obstrução das artérias carótidas comuns) e **Isquemia e Glutiation** (obstrução das artérias carótidas comuns) e infusão de GSH 1,2 mM). GSH significa glutatation reduzido; E.P.M., erro padrão da média; µg, microgramas; mg, miligramas; Isquemia e infusão de GSH, **Isquemia e Glutiation**.

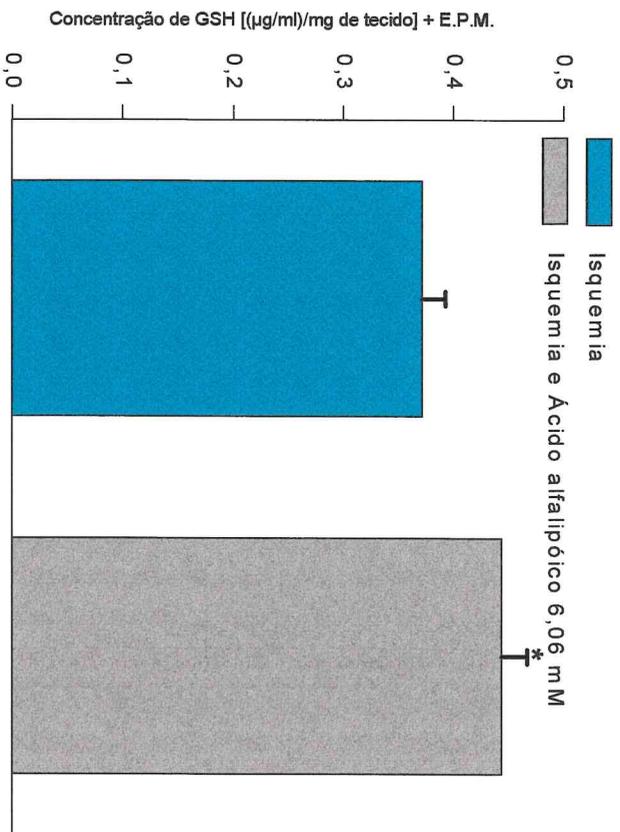


Gráfico 83 – Níveis de glutatation reduzido de fragmentos de córtex cerebral de ratos do grupo **Isquemia** (obstrução das artérias carótidas comuns) e **Isquemia e ácido  $\alpha$ -lipóico 6,06 mM**. GSH significa glutatation reduzido; E.P.M., erro padrão da média;  $\mu$ g, microgramas; mg, miligramas.

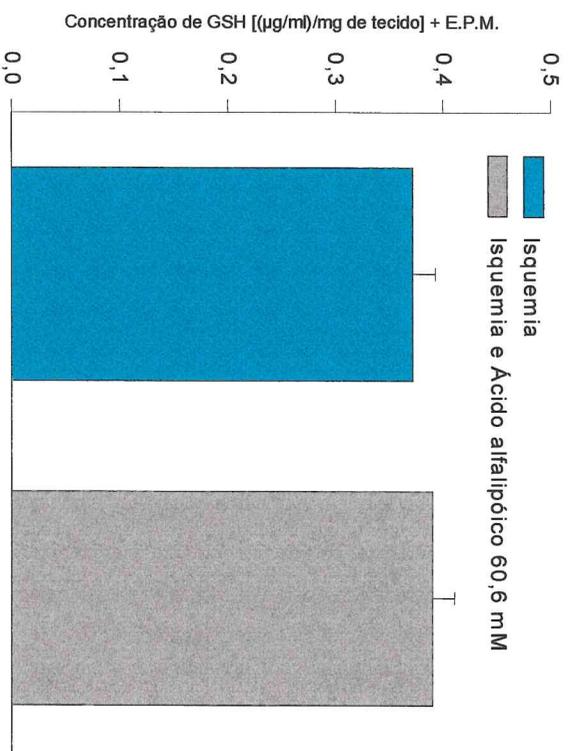


Gráfico 84 – Níveis de glutatation reduzido de fragmentos de córtex cerebral de ratos do grupo **Isquemia** (obstrução das artérias carótidas comuns) e **Isquemia e infusão de ácido  $\alpha$ -lipóico 60,6 mM**. GSH significa glutatation reduzido; E.P.M., erro padrão da média;  $\mu$ g, microgramas; mg, miligramas.

Uma análise da média dos níveis de glutathion reduzido, dosado em fragmentos corticais (tabelas 118 a 122), identificou as seguintes variações (quadros 1 e 2), quando comparados pares de grupos (teste t-student).

<b>Região</b>	<b>Grupos comparados</b>	<b>Efeito sobre os níveis de glutathion</b>
<b>Frontal esquerda</b>	Ratos sem isquemia e ratos com isquemia	Redução não significativa no grupo com isquemia (P=0,4893)
	Ratos com isquemia e ratos com isquemia e após infusão de GSH	Aumento significativo de GSH no grupo com isquemia e infusão de GSH (P=0,0198)
	Ratos com isquemia e ratos com isquemia e após infusão de ácido $\alpha$ -lipóico 6,06 mM	Aumento não significativo de GSH no grupo com isquemia e infusão do ácido $\alpha$ -lipóico (P=0,0718)
	Ratos com isquemia e ratos com isquemia e após infusão de ácido $\alpha$ -lipóico 60,6 mM	Aumento não significativo de GSH no grupo com isquemia e infusão do ácido $\alpha$ -lipóico (P=0,0613)
<b>Frontal direita</b>	Ratos sem isquemia e ratos com isquemia	Aumento não significativo de GSH no grupo com isquemia (P=0,4891)
	Ratos com isquemia e ratos com isquemia e após infusão de GSH	Diminuição não significativa de GSH no grupo com isquemia e infusão de GSH (P=0,8686)
	Ratos com isquemia e ratos com isquemia e após infusão de ácido $\alpha$ -lipóico 6,06 mM	Aumento não significativo de GSH no grupo com isquemia e infusão do ácido $\alpha$ -lipóico (P=0,1806)
	Ratos com isquemia e ratos com isquemia e após infusão de ácido $\alpha$ -lipóico 60,6 mM	Diminuição não significativa de GSH no grupo com isquemia e infusão do ácido $\alpha$ -lipóico (P=0,0613)
<b>Central esquerda</b>	Ratos sem isquemia e ratos com isquemia	Aumento não significativa de GSH no grupo com isquemia (P=0,7250)
	Ratos com isquemia e ratos com isquemia e após infusão de GSH	Aumento significativo de GSH no grupo com isquemia e infusão de GSH (P=0,1508)
	Ratos com isquemia e ratos com isquemia e após infusão de ácido $\alpha$ -lipóico 6,06 mM	Aumento não significativo de GSH no grupo com isquemia e infusão do ácido $\alpha$ -lipóico (P=0,2862)
	Ratos com isquemia e ratos com isquemia e após infusão de ácido $\alpha$ -lipóico 60,6 mM	Aumento não significativo de GSH no grupo com isquemia e infusão do ácido $\alpha$ -lipóico (P=0,4927)
<b>Central direita</b>	Ratos sem isquemia e ratos com isquemia	Aumento não significativo de GSH no grupo com isquemia (P=0,5424)
	Ratos com isquemia e ratos com isquemia e após infusão de GSH	Redução não significativa de GSH no grupo com isquemia e infusão GSH (P=0,2862)
	Ratos com isquemia e ratos com isquemia e após infusão de ácido $\alpha$ -lipóico 6,06 mM	Redução não significativa de GSH no grupo com isquemia e infusão do ácido $\alpha$ -lipóico (P=0,7579)
	Ratos com isquemia e ratos com isquemia e após infusão de ácido $\alpha$ -lipóico 60,6 mM	Redução não significativa de GSH no grupo com isquemia e infusão do ácido $\alpha$ -lipóico (P=0,1728)

Quadro 1 – Efeito da isquemia secundária à obstrução das artérias carótidas comuns e da infusão de GSH reduzido (1,2 mM), ácido  $\alpha$ -lipóico (6,06 mM) e ácido  $\alpha$ -lipóico (60,6 mM) sobre os níveis tissulares de GSH em fragmentos corticais retirados das regiões frontais e centrais. GSH significa glutathion reduzido.

Região	Grupos comparados	Efeito sobre os níveis de GSH
<b>Parietal esquerda</b>	Ratos sem isquemia e ratos com isquemia	Redução não significativa de GSH no grupo com isquemia (P=0,2353)
	Ratos com isquemia e ratos com isquemia e após infusão de GSH	Aumento significativo no grupo com isquemia e infusão de GSH (P=0,0468)
	Ratos com isquemia e ratos com isquemia e após infusão de ácido $\alpha$ -lipóico 6,06 mM	Aumento não significativo de GSH no grupo com isquemia e infusão do ácido $\alpha$ -lipóico (P=0,8100)
	Ratos com isquemia e ratos com isquemia e após infusão de ácido $\alpha$ -lipóico 60,6 mM	Aumento não significativo de GSH no grupo com isquemia e infusão do ácido $\alpha$ -lipóico (P=0,1976)
<b>Parietal direita</b>	Ratos sem isquemia e ratos com isquemia	Redução não significativa de GSH no grupo com isquemia (P=0,8606)
	Ratos com isquemia e ratos com isquemia e após infusão de GSH	Aumento significativo de GSH no grupo com isquemia e infusão de GSH (P=0,2637)
	Ratos com isquemia e ratos com isquemia e após infusão de ácido $\alpha$ -lipóico 6,06 mM	Aumento não significativo de GSH no grupo com isquemia e infusão do ácido $\alpha$ -lipóico (P=0,1212)
	Ratos com isquemia e ratos com isquemia e após infusão de ácido $\alpha$ -lipóico 60,6 mM	Aumento não significativo de GSH no grupo com isquemia e infusão do ácido $\alpha$ -lipóico (P=0,5635)

Quadro 2 – Efeito da isquemia secundária à obstrução das artérias carótidas comuns e da infusão de glutathion reduzido (1,2 mM), ácido  $\alpha$ -lipóico (6,06 mM) e ácido  $\alpha$ -lipóico (60,6 mM) sobre os níveis tissulares de GSH em fragmentos corticais retirados das regiões parietais. GSH significa glutathion reduzido.

Uma análise individual pelas regiões pertinente aos níveis tissulares corticais de glutathion reduzido identifica um comportamento muito variável da distribuição deste peptídeo após infusão do mesmo e do ácido  $\alpha$ -lipóico. Somente nas regiões posteriores se verificou uma redução, embora não significativa, dos níveis de glutathion reduzido após instalada a isquemia, e um aumento, também não significativo, após infusão intracarotídea de glutathion reduzido ou do ácido  $\alpha$ -lipóico nas concentrações indicadas. Este comportamento também foi verificado na região frontal esquerda, valendo ressaltar que o aumento dos níveis tissulares de glutathion reduzido após infusão intracarotídea do mesmo foi significativa. Não se verificou este padrão de comportamento na região frontal direita nem nas regiões centrais.

Resolveu-se, então, agrupar os resultados da dosagem tissular de glutathion reduzido das diversas regiões corticais em grupo único para cada situação, ou seja, o grupo constituído por animais anestesiados sem isquemia, o grupo constituído por animais anestesiados com isquemia (obstrução bilateral das artérias carótidas comuns), o grupo constituído por animais com isquemia e infusão intracarotídea de glutathion 1,2 mM, o grupo constituído por animais com isquemia e infusão intracarotídea de ácido  $\alpha$ -lipóico 6,06 mM e o grupo constituído por animais com isquemia e infusão intracarotídea de ácido  $\alpha$ -lipóico 60,6 mM.

O estudo estatístico foi feito, comparando os níveis tissulares corticais de glutathion de cada dois grupos (teste t-student não pareado): **Controle e Isquemia, Isquemia e Glutathion, Isquemia e Ácido  $\alpha$ -lipóico 6,06 mM, Isquemia e Ácido  $\alpha$ -lipóico 60,6 mM** (tabela 124). O grupo denominado **Controle** corresponde ao de ratos anestesiados sem obstrução das artérias carótidas comuns; o denominado **Isquemia** corresponde ao de ratos anestesiados com obstrução das artérias carótidas comuns; o grupo **Isquemia e Glutathion** corresponde ao de ratos com obstrução das artérias carótidas comuns e infusão intracarotídea de glutathion reduzido 1,2 mM, a  $43,67 \mu\text{l}/\text{min}^{-1}$ , durante sessenta minutos; o grupo **Ácido  $\alpha$ -lipóico 6,06 mM** corresponde ao de ratos com obstrução das artérias carótidas comuns, em que se promoveu a infusão intracarotídea de ácido  $\alpha$ -lipóico 6,06 mM a  $45,87 \mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , durante trinta minutos; o grupo **Ácido  $\alpha$ -lipóico 60,6 mM** corresponde ao de ratos com obstrução das artérias carótidas comuns, em que se promoveu a infusão intracarotídea de ácido  $\alpha$ -lipóico 60,6 mM, a  $44,84 \mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , durante trinta minutos.

Conforme observado nas tabelas 123 e 124 e nos gráficos 81, 82, 83 e 84, não se detectou alteração dos níveis tissulares corticais de glutathion reduzido após a obstrução bilateral das carótidas comuns, porém a infusão intracarotídea de glutathion reduzido 1,2 mM ou de ácido  $\alpha$ -lipóico 6,06 mM

em ratos com obstrução bilateral das carótidas comuns determinou aumento significativo dos níveis corticais de glutathion reduzido. O aumento dos níveis tissulares corticais de glutathion reduzido após infusão de ácido  $\alpha$ -lipóico (60,6 mM) não foi estatisticamente significativo.

## 6 DISCUSSÃO

O presente modelo de hipoxia experimental foi, de certo modo, um achado inusitado resultante de experiências-controle pilotos de pré-projeto de tese. Imediatamente foi verificada a reproductibilidade do fenômeno.

As principais observações eletrofisiológicas com um quadro panorâmico de depressão de atividade elétrica cerebral, verificadas logo após a oclusão carotídea, dão conta da existência de fenômenos metabólicos com repercussões claras no eletroencefalograma.

A isquemia cerebral causa um grupo de modificações seqüenciais, envolvendo redistribuição iônica, modificações das reações enzimáticas, que são próprias do metabolismo e da sinalização intracelular (Zagrean et al., 1995). Portanto, essas alterações iônicas, em si, já podem justificar muitos dos elementos eletrofisiológicos observados durante a isquemia cerebral.

Estudos de espectroscopia com ressonância nuclear magnética com  $^{31}\text{P}$  ( $^{31}\text{P}$ -NMR) em ratos com artérias vertebrais obstruídas por eletrocoagulação (Naruse et al., 1984) demonstraram que os mais altos valores de ATP e fosfocreatina (PCr) diminuíram concomitantemente com os mais altos valores de fosfatos inorgânicos (Pi), depois de quatro minutos de obliteração das artérias carótidas comuns. Os fosfatos de alta energia são importantes fatores para estabilidade iônica da membrana em função, principalmente, da bomba de sódio. Estas mudanças atingiram valores mais significativos trinta minutos depois. Ao mesmo tempo, uma evidente redução de pH tissular foi observada. Houve uma redução da amplitude das ondas do eletroencefalograma imediatamente depois da indução da isquemia. Os autores observaram uma recuperação rápida do metabolismo energético,

embora o padrão de decremento da amplitude no eletroencefalograma persistisse doze horas após a recirculação.

O EEG foi usado para detectar isquemia cerebral durante muitos procedimentos cirúrgicos. Sistemas computadorizados de registro para interpretação quantitativa do EEG têm sido progressivamente mais usados por anesthesiologistas e neurofisiologistas, de vez que são facilmente aplicáveis e susceptíveis de análise matemática rápida. Estes fatos os tornam uma ferramenta poderosa para identificação de alterações eletrofisiológicas durante isquemia cerebral. No entanto, este método rápido, sensível e apropriado deve ser cuidadosamente interpretado, principalmente quando sistemas computadorizados são usados durante procedimentos cirúrgicos. Alguns pesquisadores (Adams et al., 1995) enfatizam que a capacidade desta técnica quantitativa de EEG para diferenciar os efeitos da isquemia cerebral daqueles induzidos por drogas anestésicas e por outras fontes de artefatos ainda não está completamente estabelecida.

No método deste estudo, foram usados grupos pareados de animais e, assim, foi reduzida substancialmente a possibilidade de que o anestésico usado pudesse influenciar a comparação dos resultados obtidos na análise das amplitudes absolutas médias dos diversos espectros de frequência. Demonstrou-se em ratos uma importante redução estatisticamente significativa das amplitudes das ondas do eletroencefalograma, quando ambas as artérias carótidas comuns foram obstruídas, sem prévia obliteração das artérias vertebrais. Os modelos experimentais utilizados anteriormente por outros pesquisadores (Naruse et al., 1984) consistiam na oclusão dos quatro vasos, ou seja, oclusão permanente das artérias vertebrais e transitória das artérias carótidas comuns ou hipotensão arterial associada à oclusão de ambas as

artérias carótidas comuns (Eklöf & Siesjö, 1972). Portanto, o método aqui utilizado é absolutamente original neste aspecto.

As observações aqui procedidas pertinentes à análise computadorizada do EEG em ratos com obstrução bilateral das artérias carótidas comuns podem ser usadas para monitorização de substâncias citoprotetoras endógenas ou exógenas na isquemia cerebral, desde que se consiga observar uma reversão significativa da redução das amplitudes absolutas médias dos diversos espectros de frequência eletroencefalográficos induzida por isquemia, quando, neste caso, são usadas tais substâncias.

Recentemente, graças ao notável avanço tecnológico em neuroimagem, à disposição da prática médica, novas entidades clínicas estão sendo incorporadas ao conjunto das já classicamente conhecidas. Dentre aquelas, se destaca a doença vascular cerebral isquêmica silenciosa, quando suas manifestações não são reconhecidas ou noticiadas pelos portadores (Vingerhoets & Bogousslavsky, 1998). Além da tomografia computadorizada do encéfalo e da ressonância nuclear magnética, relatos na literatura testemunham a utilidade da abordagem eletrofisiológica na investigação destes casos em seres humanos (Chao & Knight, 1998; Shigeta et al., 1995) ou em modelos animais (Chichibu et al., 1995).

Estudos de efeitos fisiológicos e proteção cerebral pela hipotermia e cerebrolisina (Schwab et al., 1997) enfatizaram os efeitos eletrofisiológicos de isquemia prosencefálica moderada em ratos, secundária a obliteração bilateral das artérias carótidas comuns. Neste ensaio foi utilizado método similar. De acordo com estes autores, a obliteração das artérias carótidas comuns determinou uma perda de energia espectral beta, teta e alfa, que foi parcialmente prevenida pela hipotermia e cerebrolisina. No presente modelo experimental, verificou-se, não somente uma redução da amplitude absoluta

média dos espectros beta, alfa e teta, mas também da faixa de frequência delta (tabela 2, gráficos 1-4, figura 22).

Outros investigadores verificaram alterações no eletrocorticograma em ratos em vigília e ativos após vários dias de indução da isquemia secundária a obliteração de ambas as artérias carótidas comuns e redução transitória simultânea da pressão arterial (Peruche et al., 1995). Estes autores especularam que as alterações do eletrocorticograma poderiam ser secundárias a lesão neuronal, o que torna muito importantes os estudos sobre efeitos de citoprotetores discutidos adiante.

Outros estudos prévios demonstraram uma importante redução das amplitudes das ondas teta superficiais e profundas em decorrência da isquemia cerebral (Monmaur et al., 1986). As alterações do eletroencefalograma verificadas por estes autores foram relacionadas à excessiva perda de células piramidais na região CA<sub>1</sub> do hipocampo. Tem sido sugerido que os componentes neurais desta área são importantes como fonte de ondas teta superficiais e profundas, bem como para sua manutenção.

Embora as alterações circulatórias, bioquímicas e morfológicas da lesão cerebral isquêmica já estejam, de certo modo, caracterizadas (Suzuki, et al., 1983; Urban et al., 1990a, Urban et al, 1990b ), as modificações da atividade elétrica cerebral ainda não são bem conhecidas. Hiperatividade elétrica dos neurônios hipocampais da região CA<sub>1</sub> de ratos do deserto, desde poucas horas até vinte e quatro horas após isquemia cerebral transitória, foi observada (Suzuki et al., 1983). Foi sugerido a seguir que a degeneração dos neurônios piramidais da região CA<sub>1</sub> ocorreu após um período de excitação sináptica aumentada desde a instalação da isquemia (Urban et al., 1990a, Urban et al, 1990b Urban et al., 1990c). Estas sugestões não foram

confirmadas por outros estudos (Buzsàki et al., 1989; Imon et al., 1991; Jensen et al., 1991).

Neste estudo experimental, demonstrou-se que a obliteração das artérias carótidas comuns produziu em ratos Wistar-Kyoto anestesiados com uretana, por via intraperitoneal, uma redução estatisticamente significativa das amplitudes absolutas das faixas espectrais clássicas do eletroencefalograma. Como a obliteração das artérias carótidas comuns causa somente discreta isquemia prosencefálica, especulou-se que o EEG poderia ser um meio sensível e útil para avaliar os efeitos cerebrais da isquemia, mesmo os que não tiverem expressão clínica.

A partir da observação, no aludido modelo experimental, da depressão das amplitudes dos espectros do eletroencefalograma observada durante a hipoxia isquêmica, imaginou-se averiguar, através do mesmo método, se a utilização de substâncias citoprotetoras, como removedores de radicais livres, poderia reverter esta depressão. Neste aspecto, o método empregado aqui também é absolutamente original.

Assim, um estudo foi programado e realizado, partindo-se do pressuposto de que a administração de glutathione reduzido por via intracarotídea em “bolus” causasse um aumento dos níveis deste tripeptídeo ao nível do parênquima cerebral e, assim, pudesse exercer ação favorável durante isquemia cerebral com repercussão sobre as alterações do eletroencefalograma, observadas em decorrência do processo isquêmico.

Embora as células nervosas sejam capazes de sintetizar glutathione reduzido a partir de seus aminoácidos constituintes, este mecanismo é muito lento (Kannan et al., 1998), mesmo considerando a rápida reestruturação molecular do mesmo a partir do plexo coróide (Anderson et al., 1989). A partir deste fato, passou-se a supor que glutathione reduzido pudesse ser transportado

intacto, do ponto de vista molecular, como tripeptídio pela barreira hemato-encefálica.

Modelos animais foram usados para o estudo do transporte de glutatión reduzido pela barreira hemato-encefálica, destacando-se a administração intracarotídea rápida em “bolus” (Oldendorf, 1970) e a perfusão vascular “in situ” (Zlokovic et al., 1986). Estudos recentes em ratos (Kannan et al., 1990; Kannan et al., 1992) demonstraram transporte de glutatión reduzido intacto através da barreira hemato-encefálica por meio de mecanismos específicos, constituindo um processo de baixa afinidade, saturável ( $K_m$  aproximadamente de 6 mM), ao mesmo tempo em que excluíram a possibilidade de hidrólise deste tripeptídio por ação da gama-glutamil-transpeptidase e re-síntese do mesmo. Isso justifica que a dose utilizada nestes experimentos está perfeitamente dentro dos limites de transporte e bem abaixo do  $K_m$  para a mesma espécie.

Inibição da captação cerebral de glutatión reduzido pode ser observada por ação de conjugados deste tripeptídio (Kannan, et al., 1992), bem como, pela bilirrubina não conjugada (Tiribelli et al., 1990), um derivado fisiologicamente importante da hemoglobina que, em excesso, implica enfermidades importantes do sistema nervoso central em recém-nascidos, como kernicterus secundário a eritroblastose fetal.

Diante destas evidências experimentais, resolveu-se avaliar, através do eletroencefalograma, a atuação do glutatión reduzido administrado por via intracarotídea em ratos que se submeteram previamente à obstrução bilateral das artérias carótidas comuns, e em ratos com obstrução da artéria carótida comum esquerda. Previamente, demonstrou-se que a obstrução das artérias carótidas comuns nestes mesmos animais determinava uma redução estatisticamente significativa das amplitudes absolutas médias dos diversos

espectros de frequência do eletroencefalograma (Do Vale et al., "in press"). Também ficou demonstrado no presente estudo, quando se realizou a dosagem de glutathion por meio espectrofotométrico em fragmentos corticais de ratos com obstrução bilateral das carótidas comuns e que se submeteram à infusão intracarotídea esquerda, a 43,67  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , durante sessenta minutos, de solução 1,2 mM de glutathion reduzido, um aumento significativo dos níveis do mesmo tripeptídeo (tabelas 123 e 124, gráfico 82). Previamente, restou verificado que a obliteração de ambas as artérias carótidas não determinou modificação significativa dos níveis de glutathion reduzido em fragmentos cerebrais de ratos (tabelas 123 e 124, gráfico 81). Talvez o método de dosagem adotado não seja suficientemente sensível para detectar pequenas variações deste tripeptídeo em caso de isquemia cerebral leve ou a acomodação metabólica neste caso seja suficiente para restaurar rapidamente seus níveis no parênquima cerebral. Também resultou demonstrado que a infusão intracarotídea esquerda, a 43,67  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , durante sessenta minutos, de glutathion reduzido determinou uma reversão estatisticamente significativa do decremento das amplitudes absolutas médias dos diversos espectros de frequência do eletroencefalograma induzido pela prévia obstrução bilateral das artérias carótidas comuns. A concentração de glutathion utilizada durante a infusão intracarotídea (1,2 mM) foi aquém da que se poderia esperar para que se atingisse o nível de saturação evidenciado por Kanan et al. (1990).

O aumento das amplitudes absolutas médias de todos os espectros de frequência, a grande maioria estatisticamente significativo, observado durante a infusão intracarotídea esquerda de glutathion 1,2 mM em ratos com obstrução bilateral das carótidas comuns, foi um achado inédito (tabelas 34 e 35; gráficos 20-26), porquanto nenhum estudo eletroencefalográfico,

envolvendo a ação deste tripeptídio em modelos animais de isquemia cerebral foi encontrado em análise muito recente do arquivo "MEDLINE". A reversão da redução das amplitudes absolutas médias induzida por obstrução das artérias carótidas comuns ocorreu em todas as faixas espectrais, com exceção do espectro beta<sub>3</sub> parietal direito (P=0,15). A variação da amplitude do espectro delta frontal direito quase atingiu o limiar de significância estatística (P=0,0525). As variações mais significativas da amplitude (P<0,025) ocorreram, envolvendo os espectros de maior frequência alfa e beta (tabela 35).

Como ainda não se sabe, ao certo, qual o substrato anatômico do cérebro responsável pelas frequências alfa e beta, conforme foi enfatizado no item introdução, não se pôde, com base nos achados desta pesquisa, estabelecer o sítio de maior atuação do glutathione reduzido, determinando as modificações eletrofisiológicas. Pode-se, contudo, afirmar que, pelas modificações estatisticamente significativas das amplitudes da frequência teta (P<0,04), evidência eletroencefalográfica de atuação do glutathione no hipocampo se traduz em hipótese aceitável.

Em estudos de isquemia global, lesão neuronal preferencial das estruturas hipocâmpais, do "striatum" e do córtex, determinada, sobretudo, por mecanismos de apoptose, constitui um evento aceito (Charriaut-Marlangue & Ben-Ari, 1998). Em recente artigo de revisão, Erecinska & Silver (1996) mencionam a vulnerabilidade dos neurônios hipocâmpais, em particular os da região CA<sub>1</sub>, ao insulto isquêmico global, ressaltando os diversos aspectos das alterações de sinalização celular em que estão envolvidas as alterações da homeostase do Ca<sup>+2</sup>. A vulnerabilidade dos neurônios do hipocampo, em particular, das estruturas envolvidas no mecanismo da memória torna a avaliação complementar importante, sobretudo em pacientes com deficiência

cognitiva que se instalou após isquemia global secundária a parada cardíaca transitória. Vários estudos experimentais (Togashi et al., 1996; De La Torre et al., 1992; De Jong et al., 1999; Bothe et al., 1986; Gionet et al., 1991; Block & Schwarz, 1997) e clínicos (Bachevalier & Meunier, 1996; Shaw & Alvord, 1997; Nishimura et al., 1998; Woods, et al., 1982; Morgan et al., 1992) demonstram que neurônios hipocâmpais são o substrato anatômico de lesões secundárias a isquemia global transitória e que podem ser responsabilizadas pelo comprometimento cognitivo observado nestes casos.

O presente trabalho experimental sugere, através da recuperação estatisticamente significativa do decremento da amplitude absoluta média do espectro teta originário do hipocampo, que o modelo experimental empregado é apropriado para averiguação do possível efeito citoprotetor do glutathione reduzido sobre as lesões hipocâmpais induzidas pela isquemia. É possível que esta ação de recuperação das alterações eletrofisiológicas das estruturas hipocâmpais, pelo menos em parte, possa ter relação com a atividade anti-apoptótica do glutathione reduzido. A partir das observações de que Bcl-2 pode prevenir morte celular induzida por privação de glutathione-peroxidase (Kane et al., 1993), pode-se supor que a deficiência de glutathione reduzido pode fazer parte de uma via comum, através da qual estímulos neuropatológicos induzem apoptose.

Em ratos com obstrução carotídea bilateral, também, efetuou-se estudo eletrofisiológico com infusão intracarotídea esquerda de solução 2.1 mM de L-cistina a 43,31  $\mu$ l/100g/min, durante sessenta minutos e 1,2 mM de L-glutamina a 42,94  $\mu$ l/100g/min, durante sessenta minutos. Com isso, observar-se-ia se a administração de aminoácidos utilizados para síntese de glutathione reduzido resultaria em recuperação das alterações eletrofisiológicas

induzidas pela isquemia cerebral secundária possivelmente a um aumento dos níveis deste tripeptídio.

Recentemente, Froissard e colaboradores (1997) demonstraram em modelo neuronal símile que a toxicidade do glutamato, precedida pela redução dos níveis intracelulares de glutathione reduzido é abolida pela cistina e que o fenômeno de morte celular em incubação prolongada em meio livre de cistina é abolido pela adição de concentrações crescentes de cistina. Bannai & Kitamura (1979) demonstraram que a captação de L-cistina e L-glutamato por fibroblastos humanos em cultura é mutuamente competitiva e utiliza um sistema de transporte altamente específico para estes aminoácidos. Assim, a captação de L-glutamato é inibida por L-cistina e vice-versa. Pereira e Oliveira (1997) ratificaram estes achados, demonstrando que a toxicidade do glutamato em células PC12 é decorrente da inibição de captação de cistina com o conseqüente decréscimo dos níveis de glutathione reduzido. Murphy e colaboradores (1990) demonstraram que células corticais cerebrais de ratos em meio de cultura com reduzidos níveis de cistina ou contendo inibidores de captação da mesma degeneram e morrem.

Paradoxalmente, foi comprovada ação citotóxica de L-cisteína em camundongos recém-nascidos (Olney e Ho, 1970). Experimentos posteriores “in vitro” confirmaram a toxicidade de L-cisteína em roedores imaturos e que esta seria mediada por ação direta deste aminoácido sobre o sítio NMDA do receptor de glutamato e por quelação de  $Zn^{++}$ , facilitando o fluxo iônico através dos canais (Olney et al., 1990). Estes autores verificaram que a citotoxicidade deste aminoácido era acentuada pelo bicarbonato e associada a ausência de grupo  $\Omega$  ácido terminal, comum a análogos citotóxicos de glutamato de cadeia reta. Neste aspecto, L-cisteína é similar a  $\beta$ -N-metilamino-L-alanina (BMAA), uma citotoxina ambiental implicada na

fisiopatologia de um doença neurodegenerativa endêmica na ilha de Guam, conhecida como complexo demência-parkinsonismo-esclerose lateral amiotrófica (Spencer et al., 1987). Por sua vez, Abbas e colaboradores (1997) comprovaram em cérebros de ratos que cisteína fazia aumentar a concentração extracelular de glutamato e aspartato por mecanismo dependente de bicarbonato, também interferindo com o sistema de captação e liberação de glutamato mediado por transportador.

A opção pelo uso de L-cistina (dipeptídio obtido a partir da auto-oxidação de L-cisteína) foi motivada pelo conhecimento de que, no plasma, a cisteína seria logo auto-oxidada a cistina (Lash & Jones, 1985), de modo que quase toda cisteína não protéica é armazenada como glutathion reduzido. Ainda mais, foi comprovado experimentalmente que, pelo menos em astrócitos, há preferência por cistina em relação à cisteína na síntese de glutathion (Kranich et al., 1998). Indiretamente, também, a partir dos resultados obtidos nesta fase experimental, avaliariamos a possibilidade de que o glutathion reduzido utilizado atuaria preferencialmente no palmo extracelular ou, sofrendo a ação da  $\gamma$ -glutamyl-transpeptidase e, a seguir, de uma dipeptidase, se transformaria nos aminoácidos constituintes que seriam transportados para o interior da célula e utilizados para a síntese de glutathion reduzido. Este, a partir da atuação no plano intracelular, seria responsável pela recuperação eletrofisiológica das alterações induzidas pela hipoxia isquêmica.

Foi demonstrado (Albert et al., 1966) que, no sistema nervoso central, a enzima  $\gamma$ -glutamyl-transpeptidase também se localiza no endotélio dos capilares, nas células endimárias e na borda em escova das células que revestem o plexo coróide. Também tem sido amplamente demonstrado que a atividade da  $\gamma$ -glutamyl-transpeptidase, bem como de outras enzimas do ciclo  $\gamma$ -glutamyl, é alta ao nível dos capilares, principalmente da membrana luminal,

o que implicaria o envolvimento de suas atividades bioquímicas no transporte de aminoácidos para o sistema nervoso central (Orlowski et al., 1974; Tate et al., 1973; Orlowski & Wilk, 1975). Para Cooper (1998), a localização da  $\gamma$ -glutamil-transpeptidase na superfície da membrana e das outras enzimas do metabolismo do glutation dentro das células é fator importante na determinação da translocação intracelular dos aminoácidos utilizados para sua síntese no compartimento intracelular. A falta de susceptibilidade do glutation reduzido à enzima  $\gamma$ -glutamil-ciclotransferase e dipeptidases intracelulares e a existência de importante atividade da redutase de glutation oxidado (GSSG) dentro da célula são fatores determinantes para a estabilidade intracelular do glutation reduzido (Meister, 1991).

Através da infusão intracarotídea esquerda de L-cistina em ratos com obstrução prévia de ambas as carótidas comuns, não se verificou neste estudo, reversão, tampouco aumento da redução das amplitudes absolutas médias dos espectros do eletroencefalograma secundária à isquemia (tabelas 76 e 77; gráficos 51-56). Deste modo, com utilização do modelo experimental de que se trata, não foi possível detectar, pela análise eletroencefalográfica das amplitudes dos espectros de frequência, possível ação citoprotetora ou citotóxica de L-cistina no encéfalo de ratos com obstrução das artérias carótidas comuns. Talvez a intensidade de isquemia no modelo, em que não se associou hipotensão arterial à obstrução das artérias comuns, tenha contribuído para não observação de possíveis efeitos eletrofisiológicos secundários a infusão intracarotídea de L-cistina.

A infusão intracarotídea esquerda de L-glutamina em ratos com obstrução prévia das artérias carótidas comuns também não imprimiu, de modo consistente, modificação estatisticamente significativa da redução das amplitudes absolutas médias dos espectros de frequência do

eletroencefalograma, a não ser do espectro  $\beta_1$  parietal esquerdo, sendo neste caso,  $P=0,0235$  (tabelas 84 e 85, gráficos 57-62).

A aferição da relação entre a atividade da enzima glutamina sintetase e níveis de glutamato pôde ser feita em estudo de isquemia cerebral em ratos (Petito et al., 1992). Este estudo demonstra rápido aumento da atividade da glutamina sintetase em astrócitos após isquemia cerebral, traduzindo um mecanismo em que a metabolização do glutamato e ativação do processo metabólico de síntese de glutathione reduzido proporciona proteção contra os efeitos neurotóxicos de aminoácidos excitatórios. Dao e colaboradores (1991) demonstraram aumento de atividade de glutamina sintetase no sistema nervoso central de crianças com comprometimento hipóxico-isquêmico agudo. A atividade protetora da glutamina contra hipoxia foi documentada em estudos de comprometimento de neurônios piramidais da região CA1 do hipocampo por Schurr e colaboradores (1987). Estudando a utilização de glutamato, glutamina e GABA como fonte combustível neuronal e glial, após isquemia focal parcialmente reversível, Pascual e colaboradores (1998) comentam que a ação neuroprotetora de L-glutamina em fases mais tardias de isquemia pode decorrer da utilização deste aminoácido ao nível glial para gerar acetil-CoA, quando a oxidação de glicose é reduzida. Os mesmos autores comentam que em fases mais incipientes de isquemia (uma hora) a acentuada acidose com redução dos níveis tissulares de bicarbonato pode contribuir para diminuída oxidação de glutamina. Isso limita a ação neuroprotetora deste aminoácido nesta fase de isquemia. Convém salientar que não se conseguiu demonstrar de modo consistente no modelo aqui empregado padrões eletrofisiológicos de neuroproteção pela L-glutamina. Uma justificativa seria que este estudo se concentrou durante apenas uma hora após processada a obstrução bilateral das artérias carótidas comuns. Outra

especulação que justificaria o insucesso na demonstração eletrofisiológica do possível efeito neuroprotetor da L-glutamina seria o fato de que no modelo não se utilizou hipotensão arterial associada à obstrução bilateral das artérias carótidas comuns e, assim, o nível de isquemia não foi suficiente para que se obtivesse expressão eletrofisiológica deste efeito neuroprotetor.

O conjunto destes resultados obtidos nos procedimentos experimentais deste estudo conduz o pesquisador a sugerir - em função da rapidez da reversão das alterações eletrofisiológicas induzidas por isquemia com a infusão intracarotídea esquerda de glutathione e da ausência de resposta eletrofisiológica consistente com a infusão de seus aminoácidos constituintes L-glutamina e L-cistina - que a reversão da redução das amplitudes absolutas dos diversos espectros de frequência do eletroencefalograma é provavelmente secundária a ação de glutathione reduzido ao nível extracelular. Zaman & Ratan (1998) sugerem que, no processo isquêmico, a inibição de captação celular de cisteína, por meio de mecanismo não mediado por receptor e induzida pelo glutamato, se presta como um modelo para estudo dos mecanismos pelos quais a depleção de glutathione induz morte neuronal e glial, especialmente neurônios corticais imaturos e oligodendróglia. A partir desta observação, os resultados experimentais obtidos na presente investigação poderiam indicar que a falta de resposta eletrofisiológica durante a infusão de L-cistina poderia ser, pelo menos em parte, resultante da inibição da captação celular da mesma pelo glutamato, cujos níveis poderiam estar aumentados em função da isquemia cerebral induzida nos animais.

Em função dos resultados obtidos em ratos submetidos à oclusão das artérias carótidas comuns com a infusão intracarotídea esquerda de solução de glutathione reduzido a 1,2 mM, resolveu-se realizar o mesmo estudo com infusão de uma solução com concentração de uma escala logarítmica

inferior do mesmo tripeptídeo, ou seja, 0,12 mM (38,99  $\mu$ l/100g/min, durante sessenta minutos). Nesta fase do experimento, foi possível observar atividade eletroencefalográfica, identificada como hipersíncrona e constituída por elementos gráficos típicos de sono NREM (potenciais agudos de vértex, ritmo sigma ou fusos de sono e complexos K espontâneos) em três dos nove animais estudados antes da infusão intracarotídea de glutathione (tabelas 18-23; figura 23). Com a infusão intracarotídea esquerda de glutathione, potenciais agudos de vértex, ritmo sigma e complexos K passaram a ser observados em sete dos nove animais estudados (tabelas 18-23; figura 23). Esta observação sugere que a infusão intracarotídea esquerda de solução 0,12 mM de glutathione reduzido a 38,99  $\mu$ l/100g/min, durante sessenta minutos induz, em ratos com obstrução prévia das carótidas comuns, o surgimento de potenciais eletroencefalográficos de sono NREM, sendo  $P < 0,05$  pelo teste de Kolmogorov-Sminorff (Daniel, 1991a).

Há pouco tempo, Honda e colaboradores (1994) estudaram a atividade hipnogênica de glutathione oxidado (GSSG) em ratos, promovendo a infusão intraventricular da mesma substância durante dez horas no período noturno. Os autores verificaram que a infusão de 20 a 50 nmol de GSSG significativamente aumentou o período de sono NREM e que a infusão de 25 nmol de GSSG aumentou significativamente o sono paradoxal (REM). Estes pesquisadores sugeriram, então, que a atividade promotora de sono do glutathione oxidado se devesse à ação moduladora da neurotransmissão glutamatérgica. Kimura e colaboradores (1998), por meio de estudos similares em coelhos, ratificaram as propriedades indutoras do sono do glutathione.

Ficou evidente nos estudos de que se cuida, com base na observação de aumento da incidência de potenciais agudos de vértex, ritmo sigma e complexos K durante a infusão intracarotídea esquerda de solução 0,12 mM

de glutathione reduzido em ratos com prévia obliteração das carótidas comuns, que esta substância atua como indutora de sono, mesmo em animais com isquemia cerebral. Mesmo admitindo-se que glutathione oxidado (GSSG) tenha esta propriedade, pode-se sugerir que parte do glutathione reduzido administrado, principalmente em condições de isquemia parcial, quando a ação da enzima glutathione peroxidase mais efetivamente se faz presente, é oxidado, transformando-se em glutathione oxidado (GSSG).

A análise das amplitudes absolutas médias dos espectros do eletroencefalograma, incluindo, obviamente, nesta fase experimental, dois aspectos distintos, a escolha de “épocas” em que não se observou atividade hipsíncrona e de “épocas” em que potenciais agudos de vértex, ritmo sigma e complexos K foram observados, permitiu se inferir que, numa concentração dez vezes menor, a infusão intracarotídea esquerda de glutathione reduzido não promoveu modificação significativa e consistente das amplitudes absolutas médias dos potenciais eletroencefalográficos no modelo de isquemia empregado nesta pesquisa (tabelas 16, 17; 24 e 26; gráficos 8-13, 14-19). Apenas, quando analisados os potenciais de sono, verificou-se aumento significativo da amplitude absoluta média do espectro  $\beta_1$  da região frontal direita com a infusão intracarotídea esquerda de solução 0,12 mM de glutathione reduzido. Logo, a ação eletrofisiológica do glutathione reduzido no mencionado modelo experimental foi dependente de sua dose.

A reversão da depressão das amplitudes dos diversos espectros do eletroencefalograma no modelo de isquemia cerebral proporcionada pela infusão intracarotídea de solução 1,2 mM de glutathione reduzido pode ser interpretada como decorrente de sua ação de inibição do estresse oxidativo, muito operativo nestas condições.

A ação citoprotetora do glutathione, tripeptídeo endógeno, bioquimicamente sintetizado a nível do compartimento citoplasmático, atuando principalmente nas lesões decorrentes do metabolismo oxidativo, de radicais livres e de outros tipos de toxicidade (Meister & Anderson, 1983), foi atuante no presente modelo e se expressou através da recuperação da amplitude dos potenciais eletroencefalográficos previamente reduzida pela isquemia. Comentou-se previamente, durante a introdução desta tese, que os potenciais eletroencefalográficos são expressão de flutuação de potenciais de membrana de neurônios corticais, embora modulados por aferências, principalmente subcorticais e tálamo-corticais. O aumento das amplitudes absolutas médias dos diversos espectros eletroencefalográficos induzido pelo glutathione reduzido possivelmente ocorreu devido à atuação desta substância na recuperação funcional das membranas neuronais previamente comprometidas pelo processo isquêmico e estresse oxidativo, o qual pode ocorrer em condições de isquemia parcial ou durante a reperfusão pós-isquêmica.

Durante os comentários introdutórios da presente tese, salientou-se que glutathione reduzido e as enzimas envolvidas em seu metabolismo, graças à função redox, são utilizados na remoção de radicais livres, protegendo, assim, as membranas celulares contra o estresse oxidativo (Meister & Anderson, 1983). Outras funções atribuíveis ao glutathione podem, se confirmadas, ter influenciado o conjunto dos achados eletrofisiológicos no modelo experimental do presente trabalho. Em revisão muito recente, Janáky e colaboradores (1998) chamam a atenção para as funções neuromoduladora e possivelmente neurotransmissora deste tripeptídeo. Com relação à ação neuromoduladora, estes autores enfatizam que glutathione pode intervir na neurotransmissão glutamatérgica em suas diversas etapas, desde a liberação de aminoácidos excitadores, sua captação glial ou neuronal, influenciando a

ligação de glutamato a receptores pré ou pós-sinápticos, bem como a origem de segundos-mensageiros e até mesmo a liberação de outros aminoácidos excitadores evocada por glutamato; regulam, pois, as funções dos receptores AMPA e NMDA, influenciando, assim no processamento da informação neuronal, aprimorando-a. Estes aspectos dão margem à possibilidade de utilização deste conhecimento no planejamento de projetos de pesquisa, com vistas a uma terapia mais racional de certas enfermidades, como doença vascular cerebral, doença de Alzheimer, esclerose lateral amiotrófica, doença de Parkinson e muitas outras. Não se pode, obviamente, afastar a possibilidade de que, pelo menos em parte, os resultados eletrofisiológicos obtidos com a infusão intracarotídea de glutation no modelo de isquemia aqui empregado sejam decorrentes da sua ação neuromoduladora.

Em função dos resultados obtidos com a infusão intracarotídea de solução 1,2 mM glutation reduzido no modelo de isquemia cerebral de que se trata, imagina-se averiguar se a infusão de dose similar desta substância em condições de pouca ou nenhuma isquemia induz alguma modificação no comportamento das amplitudes absolutas dos potenciais eletroencefalográficos. Este estudo foi realizado em ratos com obstrução somente da artéria carótida comum esquerda. Embora tenha sido observada, após obstrução da artéria carótida comum esquerda, redução estatisticamente significativa das amplitudes absolutas médias dos espectros alfa da região frontal direita e das regiões parietais,  $\beta_1$ ,  $\beta_2$  da região frontal direita,  $\beta_3$ , delta e teta da região frontal direita, quando analisada a atividade não hipsíncrona (tabelas 58-60; gráficos 39-44), a reversão do decremento das amplitudes absolutas médias com a infusão de glutation só foi significativa com o espectro  $\beta_1$  da região frontal esquerda (tabela 60; gráfico 40). Assim, quando a isquemia foi menos pronunciada ou ausente, os efeitos

eletrofisiológicos de citoproteção induzida pelo glutathion reduzido não foram detectados. Dos oito animais usados no experimento, sete apresentaram, tanto antes quanto durante a infusão de glutathion reduzido, potenciais de sono (tabelas 61-66). Não se observou efeito indutor de potenciais de sono pelo glutathion neste grupo experimental. Possivelmente em condições de isquemia menor ou de ausência desta, os níveis de GSSG provenientes da oxidação do glutathion infundido foram menores e não suficientes para induzir potenciais de sono no estudo, com utilização de animais com obstrução somente da artéria carótida comum esquerda. Analisando a atividade hipersíncrona, não se verificaram modificações consistentemente significativas nas amplitudes dos potenciais, com exceção do espectro  $\beta_1$  frontal direito (depressão e recuperação significativas da amplitude absoluta média),  $\beta_3$  frontal direito (depressão e recuperação significativas da amplitude absoluta média) e  $\beta_3$  parietal esquerdo (recuperação significativa da amplitude absoluta média), conforme ficou demonstrado nas tabelas 68 e 69 e nos gráficos 46 e 48. Assim, analisando a atividade hipersíncrona em animais com obstrução da artéria carótida comum esquerda, não se verificou modificação consistente das amplitudes absolutas dos espectros do eletroencefalograma, com exceção de  $\beta_1$  e  $\beta_3$ . Conseqüentemente, com base nas observações experimentais, não se demonstrou com reproductibilidade expressão eletroencefalográfica da citoproteção do glutathion reduzido em ratos submetidos à isquemia cerebral mínima ou sem isquemia.

A observação de que o estudo computadorizado da atividade espectral do eletroencefalograma pode se constituir em um método experimental de avaliação eletrofisiológica da atuação de substâncias citoprotetoras levou a que se incluísse neste estudo, outro citoprotetor

endógeno, o ácido  $\alpha$ -lipóico (ácido tiótico ou ácido 1,2-ditiolane-3-pentanóico).

O  $\alpha$ -lipoato atua como cofator (lipoamida) ligado aos resíduos de lisina, transferindo grupos acil de uma parte a outra do complexo enzimático ( $\alpha$ -ceto-ácidos desidrogenases), sendo requerido para a função das enzimas piruvato desidrogenase,  $\alpha$ -ceto-glutarato desidrogenase e para os complexos enzimáticos de clivagem de glicina (Fujiwara, et al., 1992, Morris et al., 1994; Liu, et al., 1995a). É, portanto, uma substância essencial para o metabolismo oxidativo. No organismo, o ácido  $\alpha$ -lipóico de fontes exógenas é rapidamente reduzido a ácido di-hidrolipóico. Nas mitocôndrias, a enzima lipoato-desidrogenase (LipDH) catalisa a redução do ácido  $\alpha$ -lipóico livre a expensas de NADH (Biewenga et al., 1996) e no citosol, esta redução é feita com participação da enzima glutation-redutase (GSH-redutase) a expensas de NADPH (Handelman et al., 1994). Vários trabalhos da literatura documentam a atividade antioxidante do ácido  $\alpha$ -lipóico e sua forma reduzida (ácido di-hidrolipóico). O ácido  $\alpha$ -lipóico tem ação na remoção de radicais hidroxila (Suzuki et al., 1991; Scott et al., 1994) e oxigênio não molecular (Devasagayam et al., 1993). Ambos, ácido  $\alpha$ -lipóico e di-hidrolipóico têm capacidade de remover espécies reativas de oxigênio e de quelar metais de transição, embora, somente o ácido di-hidrolipóico tenha capacidade de regenerar antioxidantes e reparar lesão oxidativa (Biewenga et al., 1997).

Com base nas evidências de que o modelo experimental de isquemia cerebral utilizado no presente estudo se mostrou adequado para estudar o efeito citoprotetor de substâncias em isquemia cerebral, resolveu-se avaliar, por meio do estudo computadorizado das amplitudes das freqüências espectrais do eletroencefalograma, os efeitos da infusão intracarotídea

esquerda de ácido  $\alpha$ -lipóico em ratos com obliteração bilateral das artérias carótidas comuns.

Vários estudos demonstraram efeito citoprotetor de ácido  $\alpha$ -lipóico contra lesão via reperfusão em modelos animais de isquemia cerebral global (Cao & Phillis, 1995; Panigrahi et al., 1996), focal (Wolz & Krieglstein, 1995), isquemia de nervo periférico (Mitsui et al., 1999), do coração (Schönheit et al., 1995).

Ao proceder à infusão intracarotídea esquerda de solução 3,03 mM de ácido  $\alpha$ -lipóico (44,84  $\mu$ l/100g/min durante trinta minutos) em ratos com obliteração bilateral das artérias carótidas comuns, verificou-se uma variação interessante das amplitudes absolutas médias dos diversos espectros de frequência do eletroencefalograma, com exceção do espectro  $\beta_3$  (tabelas 98 e 99; gráficos 63-68). Verificou-se uma redução inicial progressiva das amplitudes absolutas médias até uma fase intermediária, após o que ocorreu uma recuperação parcial. A redução foi estatisticamente significativa ( $P < 0,05$ ), principalmente quando comparadas as amplitudes absolutas médias calculadas durante somente isquemia e as amplitudes absolutas médias na fase intermediária de infusão do ácido  $\alpha$ -lipóico dos espectros alfa em todas as regiões,  $\beta_1$  nas regiões frontais e parietal esquerda, delta nas regiões frontais e parietal direita e teta em todas as regiões (tabelas 100 e 101; gráficos 63, 64, 67 e 68). A recuperação das amplitudes absolutas médias (comparação entre as fases intermediária e final de infusão) foi estatisticamente significativa ( $P < 0,05$ ), quando comparados os espectros alfa da região frontal esquerda (tabela 100, gráfico 63), teta frontal esquerdo (tabela 101, gráfico 68). Logo, pôde-se especular que, nesta dose, a infusão intracarotídea esquerda de ácido  $\alpha$ -lipóico tem uma ação inicial pró-oxidante expressada

pela redução da amplitude absoluta média dos espectros de frequência eletroencefalográficos, e uma ação tardia antioxidante expressada pela recuperação, embora parcial, destas amplitudes.

A atividade de uma substância antioxidante pode eventualmente produzir mais estresse oxidativo do que se ela estivesse ausente e, neste caso, diz-se que ele se comporta como um pró-oxidante. Tem sido verificado que o ácido di-hidrolipóico reduz  $Fe^{+++}$ , o qual, por sua vez, reduz  $O_2$  (Kawabata et al., 1995). Como foi visto bem anteriormente (equações 7 e 8),  $Fe^{+++}$  também pode reagir com a espécie  $O_2^{\cdot-}$ ;  $Fe^{++}$  formado pode ser responsável pela formação das espécies reativas  $\cdot OH$  e  $OH^-$  (Cross et al., 1987). Testes de peroxidação lipídica indicam que a redução de  $Fe^{+++}$  implica atividade pró-oxidante (Bast & Haenen, 1988). Assim, o ácido di-hidrolipóico acelera a formação de espécies hidroxila por mecanismos dependentes de ferro e peroxidação lipídica por provável redução de  $Fe^{+++}$  a  $Fe^{++}$ . O ácido di-hidrolipóico pode originar radicais reativos contendo enxofre e, deste modo, pode, por geração prévia de radicais  $\cdot OH$ , comprometer certas proteínas, tais como l-antiproteinase e creatina quinase (Scott et al., 1994).

O presente estudo em animais com obstrução bilateral das artérias carótidas revelou, surpreendentemente, uma redução inicial das amplitudes absolutas médias dos espectros do eletroencefalograma durante a infusão intracarotídea esquerda de solução 3,03 mM de ácido  $\alpha$ -lipóico, possivelmente traduzindo uma atividade inicial pró-oxidante. Esta atividade pró-oxidante não tem sido descrita com o ácido  $\alpha$ -lipóico e sim com o ácido di-hidrolipóico. Sabe-se por outro lado que o ácido  $\alpha$ -lipóico é inibidor da atividade pró-oxidante do ácido di-hidrolipóico, por mecanismo em que o mesmo se liga aos íons ferro, tornando-os inativos nas reações de óxido-redução (Scott et al., 1994). Por outro lado, em pesquisa da literatura pertinente, não foi encontrado

nenhum estudo utilizando infusão intracarotídea de ácido  $\alpha$ -lipóico para análise de atividade pró-oxidante ou antioxidante.

Comentou-se anteriormente a utilização dos cofatores NADH e NADPH para redução celular do ácido  $\alpha$ -lipóico a ácido di-hidrolipóico. Recentemente, Roy e colaboradores (1997) verificaram que o tratamento da linhagem de células T Wurzburg humanas com ácido  $\alpha$ -lipóico provocou uma redução importante dos níveis celulares de NADH e NADPH e, conseqüentemente, redução paralela das razões NADH/NAD<sup>+</sup> e NADPH/NADP<sup>+</sup>, o que pode trazer repercussões importantes nas lesões induzidas por isquemia e reperfusão. Os autores concluem que o ácido  $\alpha$ -lipóico pode reduzir os níveis de NADH por utilizá-lo como cofator para sua própria redução em condições de estresse redutor, enquanto durante o estresse oxidativo, ambos, ácido  $\alpha$ -lipóico como di-hidrolipóico são protetores em função da ação removedora de radicais. É possível que nas fases iniciais de infusão do ácido  $\alpha$ -lipóico, as condições metabólicas cerebrais dos animais utilizados fossem de estresse redutor e, em prosseguimento, as condições seriam de estresse oxidativo, o que justificaria a recuperação, eventualmente significativa, das amplitudes dos potenciais eletroencefalográficos no final de infusão do ácido  $\alpha$ -lipóico.

Quando se realizou, nas mesmas condições de isquemia, a infusão intracarotídea esquerda de solução duas vezes mais concentrada de ácido  $\alpha$ -lipóico, ou seja, 6,06 mM, a 45,87  $\mu$ l/100g/min durante trinta minutos, não se verificou o mesmo padrão de variação das amplitudes absolutas médias dos espectros eletroencefalográficos, havendo aumento estatisticamente significativo ( $P < 0,05$ ) das amplitudes do espectro delta na região parietal direita (gráfico 73, tabelas 108 e 109) e teta nas regiões frontais esquerda e

direita (gráfico 74, tabelas 108 e 109). Nesta dose já foi possível observar no modelo, através do aumento das amplitudes dos espectros de frequência menor, uma tendência à manifestação eletroencefalográfica do efeito citoprotetor do ácido  $\alpha$ -lipóico, principalmente envolvendo atividade eletrofisiológica de estruturas hipocampais geradoras de ondas teta. Ao se dosar o glutathion reduzido por método espectrofotométrico em fragmentos cerebrais de ratos com obstrução bilateral das artérias carótidas comuns e em ratos com as artérias carótidas comuns obliteradas e após infusão de solução 6,06 mM de ácido  $\alpha$ -lipóico a 45,87  $\mu$ l/100g/min durante trinta minutos, verificou-se aumento significativo ( $P < 0,01$ ) dos níveis de glutathion reduzido em tecido cerebral no grupo tratado com o ácido  $\alpha$ -lipóico (tabelas 123 e 124; gráfico 83). Assim, comprovou-se o efeito restaurador dos níveis de glutathion reduzido no tecido cerebral de animais com obstrução bilateral das carótidas comuns, após a infusão intracarotídea de solução 6,06 mM de ácido  $\alpha$ -lipóico, justificando assim seu efeito antioxidante observado na análise de amplitude de alguns dos espectros do eletroencefalograma.

Ao se utilizar, em ratos com obstrução bilateral das artérias carótidas comuns, infusão intracarotídea esquerda a 44,84  $\mu$ l/100g/min durante trinta minutos de solução dez vezes mais concentrada de ácido  $\alpha$ -lipóico, ou seja, 60,6 mM, surpreendentemente se observou redução estatisticamente significativa ( $P < 0,05$ ) das amplitudes absolutas médias de todos os espectros de frequência eletroencefalográfica, com exceção do espectro  $\beta_3$  da região parietal direita e delta da região frontal esquerda (gráficos 75-80, tabelas 116 e 117). Com base na proposição do trabalho experimental em demonstrar pela análise das amplitudes dos espectros de frequência do eletroencefalograma em um modelo de isquemia cerebral a ação

citoprotetora ou citotóxica de substâncias no sistema nervoso central, supõe-se que a infusão intracarotídea esquerda de dose elevada de ácido  $\alpha$ -lipóico tem ação citotóxica ou pró-oxidante.

Schweizer & Richter (1996) demonstraram que o ácido  $\alpha$ -lipóico estimula a liberação de  $\text{Ca}^{++}$  pela mitocôndria intacta e que esta liberação, que é inibida pela ciclosporina A, é mais acentuada quando os nucleotídeos piridina são oxidados. Estes autores sugerem que a estimulação prolongada de liberação de  $\text{Ca}^{++}$  e sua conseqüente recaptção pode ser responsável pelos efeitos pró-oxidantes observados com altas concentrações de ácido  $\alpha$ -lipóico. Esta explicação está de acordo com as observações desta pesquisa sobre o efeito de doses elevadas de ácido  $\alpha$ -lipóico sobre as amplitudes absolutas médias das diversas faixas espectrais do eletroencefalograma no presente modelo de isquemia cerebral.

Embora a apoptose seja um fenômeno tardio, ela pode também ser um evento que ocorre, sobretudo em caso de isquemia global com reperfusão. Apoptose mediada pelo receptor Fas e potencializada por ácido  $\alpha$ -lipóico foi descrita por Sen et al. (1999). Estudando o fenômeno em células T Jurkat humanas, os autores verificaram que o ácido  $\alpha$ -lipóico potencializou a ativação de caspase-3 em torno de 100%, desempenhando, assim, papel importante na morte celular programada.

Através da utilização de ácido  $\alpha$ -lipóico nos experimentos do pesquisador, foi-lhe permitido testar o modelo com um antioxidante metabólico modulador de óxido-redução e cuja utilização em medicina clínica provou exercer efeitos benéficos. Os resultados aparentemente paradoxais observados no estudo com o uso de determinadas doses o fez indagar, buscando auxílio da literatura, sobre os mecanismos que justificassem os

efeitos eventualmente citotóxicos ou pró-oxidantes obtidos na avaliação eletrofisiológica procedida. As observações anteriormente citadas podem, obviamente, ser utilizadas como justificativas possíveis para estes aspectos observados no presente estudo.

Sen e colaboradores (1997), estudando a regulação celular de tióis pelo ácido  $\alpha$ -lipóico, verificaram que alta concentração de lipoato fez com que linfócitos do sangue periférico mitogenicamente estimulados murchassem, exibindo depleção de tióis e fragmentação do DNA. Estes autores chamam a atenção para o fato de que baixas concentrações de lipoato podem ter relevância terapêutica e clínica. No presente modelo experimental, os efeitos aparentemente citotóxicos documentados pela depressão das amplitudes absolutas dos espectros eletroencefalográficos foram observados durante a infusão intracarotídea de altas concentrações de ácido  $\alpha$ -lipóico.

O ácido  $\alpha$ -lipóico exogenamente administrado no presente modelo foi infundido diretamente na artéria carótida comum e, portanto, em alta concentração teve acesso diretamente à circulação cerebral e ao parênquima cerebral antes de ser sistemicamente distribuído e reduzido. Logo, foram as células do parênquima cerebral provavelmente que figuraram entre as primeiras a captar e reduzir o ácido  $\alpha$ -lipóico a ácido di-hidrolipóico. Como foi visto, o poder redutor do ácido  $\alpha$ -lipóico provém da atividade da di-hidrolipoamida desidrogenase dependente de NADH mitocondrial com preferência para R(+)-lipoato e da atividade de glutathione redutase dependente de NADPH com ligeira preferência para o estereoisômero S(-)-lipoato (Haramaki et al., 1997).

Poder-se-ia especular, a partir da constatação de que a infusão intracarotídea esquerda de solução muito concentrada de ácido  $\alpha$ -lipóico

provoca redução das amplitudes dos potenciais eletroencefalográficos, que o consumo de NADPH por ação da GSH redutase poderia contribuir para reduzir os níveis de GSH (previamente reduzidos pelo processo isquêmico) em detrimento do aumento dos níveis de GSSG, e que esta redução dos níveis de glutathion reduzido justificaria a citotoxicidade observada no modelo durante a infusão intracarotídea de solução muito concentrada de ácido  $\alpha$ -lipóico. No entanto, procedeu-se à dosagem dos níveis de glutathion reduzido por espectrofotometria em fragmentos de tecido cerebral e compararam-se os níveis em grupos de ratos submetidos a obliteração bilateral das carótidas comuns e em ratos com as artérias carótidas comuns obliteradas, e após infusão intracarotídea esquerda de solução 60,6 mM de ácido  $\alpha$ -lipóico a 44,84  $\mu$ l/100g/min, durante trinta minutos. Não havendo redução significativa dos níveis de glutathion reduzido (gráfico 84; tabelas 123-124), não se pôde comprovar esta especulação. O ácido di-hidrolipóico obtido a partir da oxidação do glutathion reduzido pode ter sido re-utilizado para síntese “de novo” do glutathion reduzido (Biewenga et al., 1997), como mostra a reação: ácido di-hidrolipóico + GSSG  $\rightarrow$  Ácido  $\alpha$ -lipóico + 2GSH. Assim o sistema ácido lipóico oxidado poderia intervir poderosamente na regeneração de glutathion e, portanto, do próprio ácido tiótico.

Como se usou solução salina como veículo para infusão intracarotídea de glutathion reduzido, L-cistina, L-glutamina e ácido  $\alpha$ -lipóico, em estudo isolado, verificou-se que a infusão intracarotídea esquerda de solução salina 0,9 % a 43,70  $\mu$ l/100g/min em ratos com obstrução de ambas as artérias carótidas comuns não promoveu alterações estatisticamente significativas ( $P > 0,05$ ) das amplitudes absolutas médias dos espectros do eletroencefalograma, quando foi estudada a atividade não hipersíncrona (tabelas 48 e 49; gráficos 27-32). Mesmo quando os potenciais de sono foram

levados em consideração, verificou-se que não houve consistentemente alteração significativa das amplitudes absolutas dos vários espectros de frequência do eletroencefalograma (tabelas 50 e 51; gráficos 33-38), a não ser um aumento da amplitude absoluta de delta na região frontal esquerda (tabela 51; gráfico 37). Em certas situações patológicas, como isquemia cerebral, atividade rítmica intermitente delta (IRDA) pode ser observada principalmente nas regiões frontais, e tem amplitude atenuada em fases progressivamente mais profundas do sono NREM, tornando-se bem aparente durante o sono REM (Sharbrough, 1999). É de se julgar que o aumento significativo da amplitude absoluta média do espectro delta da região frontal esquerda com a infusão intracarotídea de solução salina ocorreu simplesmente em função da diferença de fase fisiológica de sono e não por eventual ação neuroprotetora da solução salina. A não modificação significativa das amplitudes absolutas médias do espectro delta em outras regiões e dos demais espectros em todas as outras regiões fortalece este ponto de vista.

## 7 CONCLUSÕES

- i. A oclusão das artérias carótidas comuns com preservação da circulação sangüínea vértebro-basilar (circulação posterior) em ratos Wistar-Kyoto induziu isquemia cerebral passível de detecção eletrofisiológica.
- ii. Foi possível, com a utilização do presente modelo experimental, avaliar a atividade citotóxica da isquemia cerebral, através da quantificação da redução das amplitudes absolutas médias dos espectros do eletroencefalograma, induzida por oclusão das artérias carótidas comuns e a ação citoprotetora de substâncias antioxidantes.
- iii. A infusão intracarotídea esquerda de solução 0,12 mM de glutathione reduzido a  $38,99 \mu\text{l}/100 \text{ g. min}^{-1}$ , durante sessenta minutos, em ratos Wistar-Kyoto, nessas condições, não determinou modificações estatisticamente significativas das amplitudes absolutas médias dos espectros de frequência do eletroencefalograma, quando analisada a atividade não hipersíncrona. A única exceção foi o espectro  $\beta_1$  da região frontal direita.
- iv. Em ratos Wistar-Kyoto, nessas mesmas condições de isquemia, a infusão intracarotídea esquerda de solução 1,2 mM de glutathione reduzido a  $43,67 \mu\text{l}/100 \text{ g. min}^{-1}$ , durante sessenta minutos, não determinou reversão estatisticamente significativa da depressão da amplitude absoluta média do espectro de frequência  $\beta_3$  do eletroencefalograma da região parietal direita induzida pela isquemia. Igualmente não foram obtidas modificações estatisticamente significativas das amplitudes absolutas médias dos espectros de frequência do eletroencefalograma, quando se processou a

infusão de solução salina como controle, com exceção do espectro delta frontal esquerdo da atividade hipersíncrona.

- v. A oclusão somente da artéria carótida comum esquerda em animais nas mesmas condições não provocou alterações nos espectros alfa da região frontal esquerda,  $\beta_2$  e teta das regiões frontal esquerda e parietais, quando avaliada a atividade não-hipersíncrona. Nestes animais, a infusão intracarotídea esquerda de solução 1,2 mM de glutathione reduzido a  $41,50 \mu\text{l}/100 \text{ g. min}^{-1}$ , durante sessenta minutos, não induziu alterações da amplitude absoluta média dos espectros de frequência do eletroencefalograma, com exceção do espectro  $\beta_1$  da região frontal direita, quando examinada a atividade não hipersíncrona e  $\beta_1$  da região frontal direita,  $\beta_3$  das regiões frontal direita e parietal esquerda, quando foi analisada a atividade hipersíncrona.
- vi. A infusão intracarotídea esquerda de solução 2,1 mM de L-cistina a  $43,31 \mu\text{l}/100 \text{ g. min}^{-1}$ , durante sessenta minutos, em ratos Wistar-Kyoto anestesiados e com obstrução das artérias carótidas comuns não determina modificações estatisticamente significativas das amplitudes absolutas médias dos espectros de frequência do eletroencefalograma.
- vii. A infusão intracarotídea esquerda de solução 2,1 mM de L-glutamina a  $42,94 \mu\text{l}/100 \text{ g. min}^{-1}$ , durante sessenta minutos, em ratos Wistar-Kyoto com obstrução das artérias carótidas comuns não determina modificações estatisticamente significativas das amplitudes absolutas médias dos espectros de frequência do eletroencefalograma, com exceção do espectro  $\beta_1$  do eletroencefalograma da região parietal esquerda.

- viii. A infusão intracarotídea esquerda de solução 3,03 mM de ácido  $\alpha$ -lipóico a  $44,84 \mu\text{l}/100 \text{ g. min}^{-1}$ , durante trinta minutos, em ratos Wistar-Kyoto com obstrução das artérias carótidas comuns não induziu alterações significativas das amplitudes absolutas dos espectros  $\beta_1$  da região parietal direita,  $\beta_2$  e  $\beta_3$  das regiões frontais e parietais e delta da região parietal esquerda. A infusão intracarotídea esquerda de solução 6,06 mM de ácido  $\alpha$ -lipóico a  $45,87 \mu\text{l}/100 \text{ g. min}^{-1}$ , durante trinta minutos, nessas condições experimentais, não modificou significativamente as amplitudes absolutas dos espectros do eletroencefalograma, com exceção de delta da região parietal direita e teta das regiões frontais. A infusão intracarotídea esquerda de solução 60,6 mM de ácido  $\alpha$ -lipóico a  $44,84 \mu\text{l}/100 \text{ g. min}^{-1}$ , durante trinta minutos, não promoveu alteração significativa da amplitude absoluta média do espectro delta da região frontal esquerda.
- ix. A oclusão das artérias carótidas comuns de ratos Wistar-Kyoto anestesiados determina redução estatisticamente significativa das amplitudes absolutas médias de todos os espectros de frequência do eletroencefalograma como expressão eletrofisiológica dos efeitos citotóxicos da isquemia ( $P < 0,015$ ). Estes efeitos são mais pronunciados ( $P < 0,004$ ) nas faixas de frequência menor (alfa, delta e teta), principalmente nas regiões posterior direita ( $P \leq 0,0008$ ) e anterior esquerda ( $P \leq 0,001$ ) e menos pronunciados nas faixas de frequência beta, principalmente  $\beta_3$  nas regiões posterior direita e anterior esquerda, e  $\beta_1$  na região anterior esquerda.

- x. A infusão intracarotídea esquerda de solução 0,12 mM de glutathione reduzido a  $38,99 \mu\text{l}/100 \text{ g} \cdot \text{min}^{-1}$ , durante sessenta minutos, promoveu um aumento de atividade hipersíncrona e, portanto, de elementos eletrofisiológicos de sono NREM ( $P < 0,05$ ), bem como, um aumento estatisticamente significativo da amplitude absoluta média do espectro  $\beta_1$  do eletroencefalograma da região frontal direita, quando analisada a atividade hipersíncrona. ( $P = 0,0039$ ). A infusão intracarotídea esquerda de solução 1,2 mM de glutathione reduzido a  $43,67 \mu\text{l}/100 \text{ g} \cdot \text{min}^{-1}$ , durante sessenta minutos, utilizando-se o mesmo modelo experimental, determinou reversão estatisticamente significativa da depressão, induzida pela isquemia, das amplitudes absolutas médias de todos os espectros do eletroencefalograma ( $P \leq 0,00365$ ), com exceção dos espectros  $\beta_3$  da região parietal direita ( $P = 0,1484$ ) e delta da região frontal direita ( $P = 0,0525$ ). As reversões mais significativas ocorreram nos espectros  $\beta_1$ ,  $\beta_2$  e  $\beta_3$  do eletroencefalograma da região frontal esquerda ( $P \leq 0,0011$ ),  $\beta_1$  da região frontal direita ( $P = 0,0023$ ) e alfa das regiões parietais e frontal direita ( $P \leq 0,0025$ ).
- xi. A infusão de solução salina (controle) somente promoveu aumento estatisticamente significativo da amplitude absoluta média do espectro delta da região frontal esquerda, quando foi analisada a atividade hipersíncrona ( $P = 0,0249$ ).
- xii. A oclusão da artéria carótida comum esquerda em ratos Wistar-Kyoto promoveu uma redução significativa das amplitudes absolutas médias dos espectros alfa do eletroencefalograma das regiões frontal direita e parietais ( $P \leq 0,0480$ ),  $\beta_1$  das regiões frontais e parietal esquerda ( $P \leq 0,0386$ ),  $\beta_2$  da região frontal direita ( $P = 0,0463$ ),  $\beta_3$  das regiões frontais e parietais

( $P \leq 0,0439$ ), delta das regiões frontais e parietais ( $P \leq 0,0347$ ) e teta da região frontal direita ( $P = 0,0404$ ), quando foi analisada a atividade não-hipersíncrona. A redução da amplitude absoluta média do espectro delta do eletroencefalograma das regiões frontal e parietal direitas tem nível de significância estatística discretamente maior ( $P \leq 0,0182$ ). O mesmo procedimento promoveu redução estatisticamente significativa da amplitude absoluta média do espectro  $\beta_1$  do eletroencefalograma da região frontal direita, quando foi analisada a atividade hipersíncrona ( $P = 0,0498$ ).

- xiii. A infusão intracarotídea esquerda de solução 1,2 mM de glutathione reduzido a  $41,50 \mu\text{l}/100 \text{ g. min}^{-1}$ , durante sessenta minutos, em ratos Wistar-Kyoto com obstrução da artéria carótida comum esquerda, promoveu redução estatisticamente significativa e aparentemente idêntica ( $P = 0,0302$ ) da depressão induzida pela oclusão arterial das amplitudes absolutas médias dos espectros alfa do eletroencefalograma da região frontal direita e  $\beta_1$  do eletroencefalograma da região frontal esquerda, quando analisada a atividade não-hipersíncrona. Quando a atividade hipersíncrona foi analisada, esta infusão promoveu redução estatisticamente significativa da depressão induzida por oclusão arterial das amplitudes absolutas médias dos espectros  $\beta_1$  do eletroencefalograma da região frontal direita ( $P = 0,0498$ ) e  $\beta_3$  da região frontal direita ( $P = 0,0183$ ) e parietal esquerda ( $P = 0,0437$ ); a redução da depressão da amplitude absoluta média do espectro  $\beta_3$  do eletroencefalograma da região frontal direita foi mais significativa.
- xiv. A infusão intracarotídea esquerda de solução 2,1 mM de L-glutamina a  $42,94 \mu\text{l}/100 \text{ g. min}^{-1}$ , durante sessenta minutos, em ratos Wistar-Kyoto

- com obstrução das artérias carótidas comuns, promoveu redução estatisticamente significativa da depressão da amplitude absoluta média, induzida por isquemia cerebral do espectro  $\beta_1$  do eletroencefalograma da região parietal esquerda ( $P=0,0235$ ).
- xv. Na concentração 3,03 mM, de ácido  $\alpha$ -lipóico a 44,84  $\mu\text{l}/100 \text{ g. min}^{-1}$ , verificou-se, na fase intermediária de infusão, uma redução estatisticamente significativa das amplitudes absolutas médias dos espectros alfa do eletroencefalograma das regiões frontais e parietais ( $P\leq 0,0176$ ),  $\beta_1$  das regiões frontais e parietal esquerda ( $P\leq 0,0290$ ), delta das regiões frontais e parietal direita ( $P\leq 0,0156$ ), e teta das regiões frontais e parietais ( $P\leq 0,0297$ ), e, na fase inicial, uma redução estatisticamente significativa da amplitude absoluta do espectro  $\beta_1$  da região frontal esquerda. ( $P=0,0015$ ). Na fase final, esta infusão promoveu uma redução estatisticamente significativa da depressão, induzida pela isquemia e acentuada nas fases inicial e intermediária de infusão, das amplitudes absolutas médias dos espectros alfa, delta e teta do eletroencefalograma da região frontal esquerda ( $P\leq 0,00217$ ).
- xvi. A infusão intracarotídea esquerda de solução 6,06 mM de ácido  $\alpha$ -lipóico a 45,87  $\mu\text{l}/100 \text{ g. min}^{-1}$ , durante trinta minutos, no mesmo modelo experimental, determinou recuperação estatisticamente significativa da depressão induzida por isquemia das amplitudes absolutas médias dos espectros teta do eletroencefalograma das regiões frontais ( $P\leq 0,0472$ ) e delta da região parietal direita ( $P=0,0313$ ). A infusão intracarotídea esquerda de solução 60,6 mM de ácido  $\alpha$ -lipóico a 44,84  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$  produziu uma acentuação estatisticamente significativa da depressão,

induzida pela isquemia, das amplitudes absolutas médias dos diversos espectros de frequência do eletroencefalograma ( $P \leq 0,0444$ ), com exceção dos espectro delta da região frontal esquerda e  $\beta_3$  da região parietal direita. Esta ação é mais significativa no espectro  $\beta_3$  da região frontal direita ( $P=0,0067$ ),  $\beta_2$  das regiões frontal direita ( $P=0,0024$ ) e parietal esquerda ( $P=0,0064$ ), alfa e delta das regiões parietais ( $P \leq 0,0066$ ).

- xvii. A infusão intracarotídea esquerda de solução 1,2 mM de glutathione reduzido a 43,67  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , durante sessenta minutos, em ratos Wistar-Kyoto, determinou aumento estatisticamente significativo dos níveis cerebrais do peptídeo dosados por espectrofotometria ( $P=0,0497$ ), o que demonstra que a droga atravessa a barreira hemato-encefálica.
- xviii. A infusão intracarotídea esquerda de solução 6,06 mM de ácido  $\alpha$ -lipóico a 45,87  $\mu\text{l}/100\text{g}/\text{min}$ , nas mesmas condições experimentais, determinou aumento estatisticamente significativo dos níveis cerebrais de glutathione reduzido ( $P=0,0238$ ). Assim, nestas condições, o ácido  $\alpha$ -lipóico induz recuperação dos níveis cerebrais de glutathione reduzido.

## 8 ABSTRACT

An animal model for brain ischemia was developed. An electroencephalographic analysis of several band frequency absolute amplitudes has been performed in order to demonstrate the effects on cerebral electric activity induced by ischemia, following common carotid arteries bilateral obliteration in Wistar-Kyoto rats, anaesthetized with urethane. The waves were recorded from subcutaneous electrodes on left frontal (F3), right frontal (F4), left parietal (P3), right parietal (P4) and vertex (Cz) regions. This electrophysiological analysis consisted of the absolute amplitude means evaluation of the several frequency spectra (alpha, beta<sub>1</sub>, beta<sub>2</sub>, beta<sub>3</sub>, theta and delta). The cerebral electrical activity was picked up by an appropriate hardware and a software system for analysis. It has been verified a highly significant reduction of the absolute amplitude means of the spectrum waves ( $P < 0,015$ ) after both common carotid arteries occlusion. The infusion of 1.2 mM reduced glutathione solution into the cephalic segment of the left common carotid artery of Wistar-Kyoto rats significantly reverted the depression of the absolute amplitudes of the several spectral frequencies of the electroencephalogram ( $P < 0,05$ ) induced by obliteration of both common carotid arteries. The infusion of 0,12 mM reduced glutathione or saline solution into the cephalic segment of the left common carotid artery of the same animals did not reverted significantly the depression of the electroencephalographic wave absolute amplitudes induced by obliteration of both common carotid arteries. The occlusion of left common carotid artery in urethane anaesthetized Wistar-Kyoto rats caused less significant absolute amplitude reduction than both carotid arteries occlusion and the the absolute amplitude recovery with intracarotid 1,2 mM reduced glutathione infusion was less evident. The left intracarotid infusion of 0,12 mM reduced glutathione in rats with bilateral common

carotid arteries occlusion reverted the ischemic absolute amplitude reduction of only right frontal  $\beta_1$  hypersynchronous activity ( $P < 0,05$ ), but induced NREM sleep electrophysiological activity ( $P < 0,05$ ). The intracarotid infusion of 2,1 mM L-cystine or 1,2 mM L-glutamine in rats with both common carotid arteries occlusion did not cause consistent absolute amplitude modifications of the electroencephalographic spectral waves. The intracarotid infusion of 3,03 mM  $\alpha$ -lipoic acid in rats with both common carotid arteries occlusion caused initial reduction and partial final absolute amplitude recuperation of several spectral band frequencies ( $P < 0,05$ ); the intracarotid infusion of 6,06 mM  $\alpha$ -lipoic acid significantly reverted the ischemic depression of the absolute amplitudes of frontal theta and right parietal delta spectra; the intracarotid infusion of 60,6 mM  $\alpha$ -lipoic acid significantly increased the absolute amplitude ischemic-induced depression of almost all spectral electroencephalographic waves ( $P < 0,05$ ). Finally, It has been demonstrated that intracarotid 1,2 mM reduced glutathione and 6,06 mM  $\alpha$ -lipoic acid in rats with both common carotid arteries occlusion increased the intracerebral level of reduced glutathione ( $P < 0,05$ ). It was concluded that an appropriated electroencephalographic analysis of Wistar-Kyoto rats with both carotid arteries occlusion is a valuable study model of cytotoxic effects of cerebral ischemia and could be used to verify the cytoprotector reduced glutathione effect and both pro-oxidant and oxidant  $\alpha$ -lipoic acid action, as well as other drug effect studies.

## 9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABBAS, A. K., JARDEMARK, K., LEHMANN, A., WEBER, S. G., SANDBERG, M. Bicarbonate-sensitive cysteine induced elevation of extracellular aspartate and glutamate in rat hippocampus in vitro. *Neurochem. Int.*, v. 30, p. 253-259, 1997.
- ADAMS, D. C., HEYER, E. J., EMERSON, R. G., MOELLER, J. R., SPOTNITZ, H. M., SMITH, D. H., DELPHIN, E., TURNER, C. The reliability of quantitative electroencephalography as an indication of cerebral ischemia. *Anesth. Analg.*, v. 81, p. 80-83, 1995.
- ADAMS, R. D., VICTOR, M., ROPPER, A. H. (Eds.) *Principles of neurology*. New York: McGraw-Hill, 1997. cap. 1: Special techniques for neurologic diagnosis, p. 12-40.
- ALBERT, Z., ORLOWSKI, M., RZUCIDLO, Z., ORLOWSKA, J. Studies on  $\gamma$ -glutamyl-transpeptidase activity and its histochemical localization in the central nervous system of man and different animal species. *Acta Histochem.*, v. 25, p. 312-320, 1966.
- ANDERSON, M. E., UNDERWOOD, M., BRIDGES, R. J., MEISTER, A. Glutathione metabolism at the blood-cerebrospinal fluid barrier. *FASEB J.*, v. 3, p. 2257-2231, 1989.
- ARAI, H., PASSONNEAOU, J. V., LUST, W. D. Energy metabolism in delayed neuronal death of CA1 neurons of the hippocampus following transient ischemia in the gerbil. *Metab. Brain Dis.*, v. 1, p. 263-278, 1986.
- ASAKURA, K., MATSUO, Y., KANEMASA, T., NINOMIYA, M. P/Q-type  $Ca^{2+}$  channel blocker omega-agatoxin IVA protects against brain injury after focal ischemia in rats. *Brain Res.*, v. 776, p. 140-145, 1997.
- ASANO, T. A., GOTOH, G., KOIDE, T., TAKAHURA, K. Ischemic brain edema following middle cerebral artery occlusion in the rat. II. Alteration of the eicosanoid synthesis profile of brain microvessels. *Stroke*, v. 16, p. 110-113, 1985.
- ASANUMA, M., HIRATA, H., CADET, J. L. Attenuation of 6-hydroxydopamine-induced dopaminergic nigrostriatal lesions in superoxide dismutase transgenic mice. *Neuroscience*, v. 85, p. 907-917, 1998.
- ASTRUP, J., NORBERG, K. Potassium activity in cerebral cortex in rats during progressive hypoglycemia. *Brain Res.*, v. 103, p. 118-423, 1976.
- ASTRUP, J., SIMON, L., BRANSTON, N. M., LASSEN, N. A. Cortical evoked potential and extracellular  $K^+$  and  $H^+$  at critical levels of brain ischemia. *Stroke*, v. 8, p. 51-57, 1977.
- BACHEVALIER, J., MEUNIER, M. Cerebral ischemia: are the memory deficits associated with hippocampal cell loss? *Hippocampus*, v. 6, p. 553-560, 1996.

- BAINS, J. S., SHAW, C. A. Oxidative stress and neurological diseases: is glutathione depletion a common factor? In: SHAW, C. A. (Ed.) *Glutathione in the nervous system*. Washington: Taylor & Francis, 1998. p. 355-384.
- BAKER, A. J., ZORNOW, M. H., GRAFE, M. R., SCHELLER, M. S., SKILLING, S. R., SMULLIN, D. H., LARSON, A. A. Hypothermia prevents ischemia-induced increases in hippocampal glycine concentrations in rabbits. *Stroke*, v.22, p. 666-673, 1991.
- BANNAI, S., KITAMURA, E. Transport interaction of L-cystine and L-glutamate in human diploid fibroblasts in culture. *J. Biol. Chem.*, v. 255, p 2372-2376, 1979.
- BARBOUR, B., BREW, H., ATTWELL, D. Electrogenic glutamate uptake in glial cells is activated by intracellular potassium. *Nature*, v. 335, p. 433-435, 1988.
- BARON, J. C., BOUSSER, M. G., REY, A., GUILLARD, A., COMAR, D., CASTAIGNE, P. Reversal of focal "misery-perfusion syndrome" by extra-intracranial arterial bypass in hemodynamic cerebral ischemia. A case study with  $^{15}\text{O}$  positron emission tomography. *Stroke*, v.12, p. 454-459, 1981.
- BARON, J.C., FRACKOWIAK, R. S., HERHOLZ, K., JONES, T., LAMMERTSMA, A. A., MAZOYER, B., WIENHARD, K. Use of PET methods for measurement of cerebral energy metabolism and hemodynamics in cerebrovascular disease. *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, v.9, p. 723-742, 1989.
- BARONE, F. C., FEUERSTEIN, G. Z., WHITE, R. F. Brain cooling during transient focal ischemia provides complete neuroprotection. *Neurosci. Biobehav. Rev.*, v.214, p, 31-4, 1997.
- BAST, A., HAENEN, G. R. M. M. Regulation of lipid peroxidation of glutathione and lipoic acid: involvement of liver microsomal vitamin E free radical reductase. In: EMERIT, I., PACKER, L., AUCLAIR, C. (Eds.) *Antioxidants in therapy and preventive medicine*. New York: Plenum Press, 1990. p. 111-116.
- \_\_\_\_\_. Interplay between lipoic acid and glutathione in the protection against microsomal lipid peroxidation. *Biochim. Biophys. Acta*, v. 963, p. 558-561, 1988.
- BAZAN, N. G. Regulation of the inducible prostaglandin synthase gene and second messengers in brain: implications for stroke. In: MOSKOWITZ, M. A., CAPLAN, L. R. (Eds.) *Cerebrovascular diseases: nineteenth Princeton stroke conference*. Boston: Butterworth-Heinemann, 1995. p. 231-250.
- BAZAN, N. G., ALLAN, B. G. Platelet-activation factor and other bioactive lipids. In: GINSBERG, M. D., BOGOUSLAVSKY, J. (Eds.) *Cerebrovascular disease: pathophysiology, diagnosis and management*. Massachusetts: Blackwell Science, 1998. p. 532-555.

- BAZAN, N. G., SQUINTO, S. P., BRAQUET, P., PANETTA, T., MARCHESELI, V. L. Platelet-activating factor and poly-unsaturated fatty acids in cerebral ischemia or convulsions: intracellular PAF-binding sites and activation of a fos/jun/AP-1 transcriptional signaling system. *Lipids*, v.26, p. 1236-1242, 1991.
- BECKMAN, J. S. Interactions of oxidants, nitric oxide, and antioxidant defenses in cerebral ischemia and injury. In: GINSBERG, M. D., BOGOUSLAVSKY, J.(Eds.) *Cerebrovascular disease: pathophysiology, diagnosis and management*. Massachusetts: Blackwell Science, 1998. p. 455-470.
- BECKMAN, J. S., KOPPENOL, W. H. Nitric oxide, superoxide, and peroxynitrite: the good, the bad, and the ugly. *Am. J. Physiol.*, v. 271, p. C1424-C1437, 1996.
- BEN-ARI, Y., ANIKZTEJN, L., BREJESTOVSKI, P. Protein kinase C modulation of NMDA currents: an important link for LTP induction. *Trends Neurosci.*, v. 15, p. 333-339, 1992.
- BENEFICIAL effect of carotid endarterectomy in symptomatic patients with high-grade carotid stenosis. North American Symptomatic Carotid Endarterectomy Trial Collaborators. *N. Engl. J. Med.*, v. 325, p. 446-453, 1991.
- BENVENISTE, H., WARNER, D. The role of glutamatergic neurotransmission in ischemic brain damage. In: GINSBERG, M. D., BOGOUSLAVSKY, J. (Eds.) *Cerebrovascular disease: pathophysiology, diagnosis and management*. Massachusetts: Blackwell Science, 1998. p. 393-402.
- BENZI, G., MORETTI, A. Glutathione in brain aging and neurodegenerative disorders. In SHAW, C. A. (Ed.) *Glutathione in the nervous system*. Washington, DC.: Taylor Francis, 1998. p. 231-256.
- BETZ, A. L. Alterations in cerebral endothelial cell function in ischemia. In: SIESJÖ, B. K., WIELOCH, T. (Eds.) *Advances in neurology*. Cellular and molecular mechanisms of ischemic brain damage. Philadelphia: Lippincott-Raven, 1996. v.71, p. 301-313.
- BEUTLER, E., DURON, O., KELLY, B. M. Improved method for the determination of blood glutathione. *J. Lab. Clin. Med.*, v.61, p. 882-888, 1963.
- BIEWENGA, G. P., DORSTIJN, M. A., VERHAGEN, J. V., HAENEN, G. R. M. M., BAST, A. Reduction of lipoic acid by lipoamide dehydrogenase. *Biochem. Pharmacol.*, v. 51, p. 233-238, 1996.
- BIEWENGA, G. P., HAENEN, G. R., BAST, A. The pharmacology of the antioxidant lipoic acid. *Gen. Pharmacol.*, v. 29, p. 315-331, 1997.
- BINSWANGER, O. apud VAN GIJN, J. Leukoaraiosis and vascular dementia. *Neurology*, v. 51, suppl. 3, p. S3-S8, 1998.

- BLOCK, F., SCHWARZ, M. Correlation between hippocampal neuronal damage and spatial learning deficit due to global ischemia. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, v. 56, p. 755-761, 1997.
- BOGOUSLAVSKY, J. G. J. Subcortical arteriosclerotic encephalopathy (Binswanger's disease). In: GINSBERG, M. D., BOGOUSLAVSKY, J. (Eds.) *Cerebrovascular disease: pathophysiology, diagnosis and management*. Massachusetts: Blackwell Science, 1998. p. 1755-1771.
- BONDY, C. A., LEE, W.-H., ZHOU, J. Ontogeny and cellular distribution of brain glucose transporter gene expression. *Mol. Cell. Neurosci.*, v. 3, p. 305-314, 1992.
- BONFOCO, E., KRAINIC, D., ANKARCORONA, M., NICOTERA, P., LIPTON, S. A. Apoptosis and necrosis: two distinct events induced, respectively, by mild and intense insults with N-methyl-D-aspartate or nitric oxide/superoxide in cortical cell cultures. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, v. 92, p. 7162-7166, 1995.
- BONITA, R. Epidemiology of stroke. *Lancet*, v. 339, p. 342-344, 1992.
- BOTHE, H. W., BOSMA, H. J., HOFER, H., HOSSMANN, K. A., ANGERMEIER, W. F. Selective vulnerability of hippocampus and disturbances of memory storage after mild unilateral ischemia of gerbil brain. *Stroke*, v. 17, p. 1160-1163, 1986.
- BOVERIS, A., CHANCE, B. The mitochondrial generation of hydrogen peroxide. *Biochem. J.*, v. 134, p. 707-716, 1973.
- BOWLING, A. C., BEAL, F. Bioenergetic and oxidative stress in neurodegenerative diseases. *Life Sci.*, v. 56, p. 1151-1171, 1995.
- BOYSEN, G., PESSIN, M. S. Thrombolytic therapy. In: GINSBERG, M. D., BOGOUSLAVSKY, J. (Eds.) *Cerebrovascular disease: pathophysiology, diagnosis and management*. Massachusetts: Blackwell Science, 1998. p. 1887-1906.
- BRANSTON, N. M., SYMON, L., CROCKARD, H. A., PASZTOR, E. Relationship between the cortical evoked potential and local cortical blood flow following acute middle cerebral artery occlusion in the baboon. *Exp. Neurol.*, v. 45, p. 195-208, 1974.
- BRAUNTON, J. L., WONG, V., WANG, W., SALTER, M. W., RODER, J., LIU, M., WANG, Y. T. Reduction of tyrosine kinase activity and protein tyrosine dephosphorylation by anoxic stimulation in vitro. *Neuroscience*, v. 82, p. 161-170, 1998.
- BRITTON, P., LU, X. C., LASKOSKY, M. S., TORTELLA, F. C. Dextromethorphan protects against cerebral injury following transient, but not permanent, focal ischemia in rats. *Life Sci.*, v. 60, p. 1729-1740, 1997.

- BURKE, W. J., KRISTAL, B. S., YU, B. P., LI, S. W., LIN, T-S. Norepinephrine transmitter metabolite generates free radicals and activates mitochondrial permeability transition: a mechanism for DOPEGAL-induced apoptosis. *Brain Res.*, v. 787, p. 328-332, 1998.
- BUSSE, E., ZIMMER, G., SCHOPOHL, B., KORNHUBER, B. Influence of  $\alpha$ -Lipoic acid on intracellular glutathione in vitro and in vivo. *Arzneim.-Forsch./Drug Res.*, v.42, p. 829-831, 1992.
- BUSTO, R., DIETRICH, W. D., GLOBUS, M. Y. T., VALDÉS, I., SCHEINBERG, P., GINSBERG, M. D. Small differences in intraischemic brain temperature critically determine the extent of ischemic neuronal injury. *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, v.7, p. 729-38, 1987.
- BUSTO, R., GLOBUS, M. Y. T., DIETRICH, W. D., MARTINEZ, E., VALDÉS, I., GINSBERG, M. D. Effect of mild hypothermia on ischemia-induced release of neurotransmitters and free fatty acids in rat brain. *Stroke*, v.20, p. 904-910, 1989.
- BUSTO, R., GLOBUS, M. Y. T., NEARY, J. T., GINSBERG, M. D. Regional alterations of protein kinase C activity following transient cerebral ischemia: effects of intraischemic brain temperature modulation. *J. Neurochem.*, v. 63, p. 1095-1103, 1994.
- BUZSÁKI, G.; FREUND, T. F., BAYARDO, F., SOMOGYI, P. Ischemia-induced changes in the electrical activity of the hippocampus. *Exp. Brain Res.*, v. 78, p. 268-278, 1989.
- CAMERON, N. E., COTTER, M. A., HORROBIN, D. H., TRITSCHLER, H. J. Effects of  $\alpha$ -lipoic acid on neurovascular function in diabetic rats: interaction with essential fatty acids. *Diabetologia*, v. 41, p. 390-399, 1998.
- CAO, X., PHILLIS, J. W. The free radical scavenger, alpha-lipoic acid, protects against ischemia-reperfusion injury in gerbils. *Free Radic. Res.*, v.23, p. 365-370, 1995.
- CAPLAN, L. R., YOUNG, R. EEG findings in certain lacunar syndromes. *Neurology*, v. 22, p. 403, 1972.
- CARAFOLI, E. Intracellular calcium homeostasis. *Annu. Rev. Biochem.*, v. 56, p. 395-433, 1987.
- CARDELL, M., BORIS-MOLLER, F., WIELOCH, T. Hypothermia prevents the ischemia-induced translocation and inhibition of protein kinase C in the rat striatum. *J. Neurochem.*, v.57, p. 1814-1817, 1991.
- CARREA, R., MOLINS M., MURPHY, G. Surgical treatment of spontaneous thrombosis of the internal carotid artery in the neck. Carotid-carotid anastomosis. *Acta Neurol. Latinoamer.*, v. 1, p. 71-78, 1955.

- CHAN, P. H., FISHMAN, R. A. Transient formation of superoxide radicals in polyunsaturated fatty acid-induced brain swelling. *J. Neurochem.*, v.35, p. 1004-1007, 1980.
- CHANCE, B., SIES, H., BOVERIS, A. Hydrogen peroxide metabolism in mammalian organs. *Physiol. Rev.*, v.59, p. 527-593, 1979.
- CHANG, S. D., STEINBERG, G. K. Other surgical options for stroke prevention. In: GINSBERG, M. D., BOGOUSSLAVSKY, J. (Eds). *Cerebrovascular disease: pathophysiology, diagnosis and management*. Massachusetts: Blackwell Science, 1998, p. 1845-1963.
- CHANOCK, S. J., BENNA, J., SMITH, R. M. The respiratory oxidase burst. *J. Biol. Chem.*, v.269, p. 519-524, 1994.
- CHAO, L. L., KNIGHT, R. T. Contribution of human prefrontal cortex to delay performance. *J. Cogn. Neurosci.*, v. 10, p. 167-177, 1998.
- CHAPMAN, A., WESTERBERG, E., SIESJÖ, B. The metabolism of purine and pyrimidine nucleotides in rat cortex during insulin induced hypoglycemia and recovery. *J. Neurochem.*, v.36, p. 179-189, 1981.
- CHARRIAUT-MARLANGUE, C., BEN-ARI, Y. Apoptosis and programmed cell death: role in ischemic injury. In: GINSBERG, M. D., BOGOUSSLAVSKY, J. (Eds.) *Cerebrovascular disease: pathophysiology, diagnosis and management*. Massachusetts: Blackwell Science, 1998, p. 597-608.
- CHEN, J., WEINSTEIN, P. R., GRAHAM, S. H. Attenuation of postischemic brain hypoperfusion and reperfusion injury by the cyclooxygenase-lipoxygenase inhibitor BW755C. *J. Neurosurg.*, v.83, p. 99-104, 1995.
- CHICHIBU, S., OHTA, Y., CHIKUGO, T., SUZUKI, T. Temporal and spatial properties of slow waves in the electroencephalogram of spontaneously hypertensive rats. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol. Suppl.*, 1, p. S288-S289, 1995.
- CHOI, D. W. Ionic dependence of glutamate neurotoxicity. *J. Neurosci.*, v.7, p. 369-379, 1987.
- \_\_\_\_\_. Glutamate neurotoxicity and diseases of the nervous system. *Neuron*, v.1, p. 623-634, 1988a.
- \_\_\_\_\_. Calcium-mediated neurotoxicity: relationship to specific channel types and role in ischemic damage. *Trends Neurosci.*, v.11, p. 465-469, 1988b.
- CHOI, D. W., MAULUCCI-GEDDE, M., KRIEGSTEIN, A. R. Glutamate neurotoxicity in cortical cell culture. *J. Neurosci.*, v.7, p. 357-368, 1987.

- CHURN, S. B., TAFT, W. C., BILLINGSLEY, M. S., BLAIR, R. E., DELORENZO, R. J. Temperature modulation of ischemic neuronal death and inhibition of calcium/calmodulin-dependent protein kinase II in gerbils. *Stroke*, v.21, p. 1715-1721, 1990.
- CLARK, G. D., HAPPEL, L. T., ZORUMSKI, C. F., BAZAN, N. G. Enhancement of hippocampal excitatory synaptic transmission by platelet-activating factor. *Neuron*, v.9, p. 1211-1216, 1992.
- CLARK, W. M. Cytokines and reperfusion injury. *Neurology*, v. 49, suppl. 4, p. S10-S14, 1997.
- CLIFTON, G. L., ALLEN, S., BARRODALE, P., PLENGER, P., BERRY, J., KOCH, S., FLETCHER, J., HAYES, R. L., CHOI, S. C. A phase II study of moderate hypothermia in severe brain injury. *J. Neurotrauma*, v.10, p. 263-273, 1993.
- CLIFTON, G. L., JIANG, J. Y., LYETH, B.G., JENKINS, L. W., HAMM, R. J., HAYES, R. L. Marked protection by moderate hypothermia after experimental traumatic brain injury. *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, v. 11, p. 114-121, 1991.
- COMELLI, M., LONDERO, D., MAVELLI, I. Severe energy impairment consequent to inactivation of mitochondrial ATP synthase as an early event in cell death: a mechanism for the selective sensitivity to H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> of differentiating erythroleukemia cells. *Free Radic. Biol. Med.*, v. 24, p. 924-932, 1998.
- CONSTANTINESCU, A., PICK, U., HANDELMAN, G. J., HARAMAKI, N., HAN, D., PODDA, M., TRITSCHLER, H. J., PACKER, L. Reduction and transport of lipoic acid by human erythrocytes. *Biochem. Pharmacol.*, v.50, p. 253-261, 1995.
- COOPER, A. Glutathione in the brain: disorders of glutathione metabolism. In: ROSENBERG, R. N., PRUSINER, S. B., DiMAURO, S., BARCHI, R. L. (Eds.) *The molecular and genetic basis of neurological disease*. Boston: Butterworth-Heinemann, 1997. p. 1195-1230.
- \_\_\_\_\_. Role of Astrocytes in maintaining cerebral glutathione homeostasis and in protecting the brain against xenobiotics and oxidative stress. In: SHAW, C.A. (Ed.) *Glutathione in the nervous system*. Washington: Taylor & Francis, 1998. p. 91- 115.
- COOPER, A. J. L., PULSINELLI, W. A., DUFFY, T. E. Glutathione and ascorbate during ischemia and post ischemic reperfusion in rat brain. *J. Neurochem.*, v. 35, p. 1242-1245, 1980.
- COYLE, J., PUTTFARCKEN, P. Oxidative stress, glutamate, and neurodegenerative disorders. *Science*, v. 262, p. 689-695, 1993.
- CRAMER, W. C., TOOROP, G. P. Focal cerebral ischemia in the mouse: hypothermia and rapid screening of drugs. *Gen. Pharmacol.*, v. 30, p. 195-200, 1998.

- CRAVEN, L. L. apud KAPPELLE, L. J., ADAMS Jr., H. P., BENDIXEN, B. H. Antiaggregant therapy for stroke prevention. In: GINSBERG, M. D., BOGOUSSLAVSKY, J. (Eds). *Cerebrovascular disease: pathophysiology, diagnosis and management*. Massachusetts: Blackwell Science, 1998, p. 1826-1838.
- CROSS, A. R., JONES, O. T. S. Enzymatic mechanisms of superoxide production. *Biochim. Biophys. Acta*, v. 1057, p. 281-298, 1991.
- CROSS, C. E., HALLIWELL, B., BORISH, E. T., PRYOR, W. A., AMES, B. N., SAUL, R. L., McCORD, J. M., HARMAN, D. Oxygen radicals and human disease. *Ann. Intern. Med.*, v. 107, p. 526-545, 1987.
- CUNNINGHAM, V. J. The influence of transport and metabolism on brain glucose content. *Ann. N. Y. Acad. Sci. USA*, v. 481, p. 161-173, 1986.
- DANIEL, W. W. *Biostatistics: a foundation for analysis in the health sciences*. 5<sup>th</sup> ed. New York: John Wiley, 1991a. cap. 11: Nonparametric and distribution-free statistics, p. 576-630.
- \_\_\_\_\_. *Biostatistics: a foundation for analysis in the health sciences*. 5<sup>th</sup> ed. New York: John Wiley, 1991b. cap. 6: Hypothesis testing, p. 218-225.
- \_\_\_\_\_. *Biostatistics: a foundation for analysis in the health sciences*. 5<sup>th</sup> ed. New York: John Wiley, 1991c. cap. 7: Analysis of variance, p. 274-365.
- \_\_\_\_\_. *Biostatistics: a foundation for analysis in the health sciences*. 5<sup>th</sup> ed. New York: John Wiley, 1991d. cap. 8: Simple linear regression and correlation, p. 366-438.
- DAO, D. N., AHDAB-BARMADA, M., SCHOR, N. F. Cerebellar glutamine synthetase in children after hypoxia or ischemia. *Stroke*, v. 22, p. 1312-1316, 1991.
- DAWSON, V. L., DAWSON, T. M. Nitric oxide neurotoxicity in primary neuronal cultures. In: MOSKOWITZ, M. A., CAPLAN, L. R. (Eds.) *Cerebrovascular diseases: Nineteenth Princeton Stroke Conference*. Boston: Butterworth-Heinemann, 1995. pt. 1, cap. 1, p. 3-15.
- DAWSON, V. L., DAWSON, T. M., BARTLEY, D. A., UHL, G. L., SNYDER, S. H., Mechanisms of nitric oxide-mediated neurotoxicity in primary brain cultures. *J. Neurosci.*, v. 13, p. 2651-2661, 1993.
- DAWSON, V. L., DAWSON, T. M., LONDON, E. D., BREDT, D. S., SNYDER, S. H. Nitric oxide mediates glutamate neurotoxicity in primary cortical cultures. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, v. 88, p. 6368-6371, 1991.
- De JONG, G. I., FARKAS, E., STIENSTRA, C. M., PLASS, J. R., KEIJSER, J. N., De La TORRE, J. C., LUITEN, P. G. Cerebral hypoperfusion yields capillary damage in the hippocampal CA1 area that correlates with spatial memory impairment. *Neuroscience*, v. 91, p. 203-210, 1999.

- De JONG, R.N. Medullary and related syndromes. In: De JONG, R. N. (Ed.), *The neurologic examination*. Cambridge: Harper & Row, 1979. cap. 18, p. 256-267.
- De La TORRE, J. C., FORTIN, T., PARK, G. A., BUTLER, K. S., KOZLOWSKI, P., PAPPAS, B. A., DE SOCARRAZ, H., SAUNDERS, J. K., RICHARD, M. T. Chronic cerebrovascular insufficiency induces dementia-like deficits in aged rats. *Brain Res.*, v. 582, p. 186-195, 1992.
- De MURCIA, G., MÉNISSIER, DE MURCIA, J., SCHREIBER, V. Poly(ADP-ribose) polymerase: molecular biological aspects. *Bioassays*, v. 13, p. 455-62, 1991.
- De REUCK, J., CREVITS, L., DE COSTER., W., SIEBEN, G., Van Der EECKEN, H. Pathogenesis of Binswanger chronic subcortical encephalopathy. *Neurology*, v. 30, p. 920-928, 1980.
- De REY-PAILHADE, J. Sur un corps d'origine organique hydrogénant le soufre à froid. *Comptes Rendus Hebdomadaire Séances Acad. Sci.*, v. 106, p. 1683-1684, 1888a.
- \_\_\_\_\_. Nouvelle recherches physiologiques sur la substance hydrogénant le soufre à froid. *Comptes Rendus Acad. Sci.*, v. 107, p. 43-44, 1888b.
- DEBY, C., GOUTIER, R. New perspectives on the biochemistry of superoxide anion and the efficiency of superoxide dismutases. *Biochem. Pharmacol.*, v. 39, p.399-405, 1990.
- DELEVE, L. D., KAPLOWITZ, N. Glutathione metabolism and its role in hepatotoxicity. *Pharmacol. Ther.*, v. 52, p. 287-305, 1991.
- DELMAS, B., M. C., GALLIS, J. L., ROUSSE N., CLERC, M., CANIONI, P. Phosphorous-31 nuclear magnetic resonance of isolated rat liver during hypothermic ischemia and subsequent normothermic perfusion. *J. Hepatol.*, v. 15, p. 192-201, 1992.
- DEMPSEY, R. J., COMBS, D. J., MALEY, M. E., COWEN, D. E., ROY, M. W., DONALDSON, D. L. Moderate hypothermia reduces postischemic edema development and leukotriene production. *Neurosurgery* , v. 21, p. 177-181, 1987.
- DERDEYN, C. P., YUNDT, K. D., VIDEEN, T. O., CARPENTER, D. A., GRUBB, R. L. Jr., POWERS, W. J. Increased oxygen extraction fraction is associated with prior ischemic events in patients with carotid occlusion. *Stroke*, v. 29, p. 754-758, 1998.
- DEVASAGAYAM, T. P., STEENKEN, S., OBENDORF, M. S., SCHULZ, W. A., SIES, H. Formation of 8-hydroxy(deoxy)guanosine and generation of strand breaks at guanine residues in DNA by singlet oxygen. *Biochemistry* , v. 30, p. 6283-6289, 1991.
- DEVASAGAYAM, T. P., SUBRAMANIAN, M., PRADHAM, D. S., SIES, H. Prevention of singlet oxygen-induced DNA damage by lipoate. *Chem. Biol. Interact.*, v. 86, p. 79-92, 1993.

- DEZSI, L., GREENBERG, J. H., HAMAR, J., SLADKY, J., KARP, A., REIVICH, M. Acute improvement in histological outcome by MK-801 following focal cerebral ischemia and reperfusion in the cat independent of blood flow changes. *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, v. 12, p.390-399, 1992.
- DEZSI, L., GREENBERG, J. H., SLADKY, J., ARAKI, N., HAMAR, J., REIVICH, M. Prolonged effects of MK-801 in the cat during focal cerebral ischemia and recovery: Survival, EEG activity and hystopathology. *J. Neurol. Sci.*, v. 121, p. 110-120, 1994.
- DIETRICH, W. D., ALONSO, O., BUSTO, R., GLOBUS, M. Y., GINSBERG, M. D. Post-traumatic brain hypothermia reduces histopathological damage following concussive brain injury in the rat. *Acta Neuropathol.*, v. 87, p. 250-258, 1994.
- DIETRICH, W. D., BUSTO, R., GLOBUS, M. Y. T., GINSBERG, M. D. Brain damage and temperature: cellular and molecular mechanisms. In: SIESJO, B. K., WIELOCH, T.(Eds.) *Advances in neurology: cellular and molecular mechanisms of ischemic brain damage*. Philadelphia: Lippincot-Raven, 1996. v. 71, p. 177-197.
- DIETRICH, W.D., HALLEY, M., VALDES, I., BUSTO, R. Interrelationships between increased vascular permeability and acute neuronal damage following temperature-controlled brain ischemia in rats. *Acta Neuropathol.*, v. 81, p. 615-625, 1991.
- DI PASQUALE, G., ANDREOLI, A., LUSA, A. M., URBINATI, S., BIANCOLI, S., CERÈ, E., BORGATTI, M. L., PINELLI, G. Cardiologic complications of subarachnoid hemorrhage. *J. Neurosurg. Sci.*, v. 42, suppl. 1, p. 33-36, 1998.
- Do VALE, O. C., FONTELES, D. S. R., FONTELES, M. C. Electrophysiological study in a cerebral ischemic model of the anaesthetized rat. *J. Brain Sci.* (in press).
- DOGAN, A., RAO, A. M., BASKAYA, M. K., RAO, V. L., RASTL, J., DONALDSON, D., DEMPSEY, R. J. Effects of ifenprodil, a polyamine site NMDA receptor antagonist, on reperfusion injury after transient focal cerebral ischemia. *J. Neurosurg.*, v. 87, p. 921-926, 1997.
- DORA, E., TANAKA, K., GREENBERG, J. H., GONATAS, N. H., REIVICH, M. Kinetics of microcirculatory, NAD/NADH, and eletrocorticographic changes in cat brain during ischemia and recirculation. *Ann. Neurol.*, v. 19, p. 536-544, 1986.
- DOVINOVA, I., VACHALKOVA, A., NOVOTNY, L. Potential carcinogenicity of some transition metal ions. *Biol. Trace Elem. Res.*, v. 67, p. 63-73, 1999.
- DUFFY, F. H. Clinical value of topographic mapping and quantified neurophysiology. *Arch. Neurol.*, v. 46, p. 1113-1134, 1989.
- DUGAN, A. L. L., SENSI, S. L., CANZONIERO, L. M., HANDRAN, S. D., ROTHMAN, S. M., LIN, T. S., GOLDBERG, M. P., CHOI, D. W. Mitochondrial production of reactive oxygen species in cortical neurons following exposure to N-methyl-D-aspartate. *J. Neurosci.*, v. 15, p. 6377-6388, 1995.

- ECASS Study Group. European Acute Stroke Study (ECASS): (rt-PA-thrombolysis in acute stroke) study design and progress report. *Eur. J. Neurol.*, v. 1, p. 213-219, 1995.
- EC/EI bypass study group. Failure of extracranial-intracranial bypass to reduce the risk of ischemic stroke. *N. Engl. J. Med.*, v. 313, p. 1191-2000, 1985.
- EDMOND, J. Energy metabolism in developing brain cells. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, v. 70, p. S118-S129, 1992.
- EDVINSSON, L., MACKENZIE, E. T., McCULLOCH, J. *Cerebral blood flow and metabolism*. New York: Raven Press, 1993. p. 161-168.
- EKLOF, B., SIESJO, B. K. The effect of bilateral carotid artery ligation upon acid-base parameters and substrate levels in the rat brain. *Acta Physiol. Scand.*, v. 86, p. 528-538, 1972.
- \_\_\_\_\_. The effect of bilateral carotid artery ligation upon the blood flow and energy state of the rat brain. *Acta Physiol. Scand.*, v. 86, p. 155-165, 1972.
- ELLIOT, S. J., KOLIWAD, S. K. Oxidant stress and endothelial membrane transport. *Free Rad. Biol. Med.*, v. 19, p. 649-658, 1995.
- ELRIFAI, A. M., BAILES, J. E., SHIH, S. R., DIANZUMBA, S., BRILLMAN, J. Characterization of the cardiac effects of acute subarachnoid hemorrhage in dogs. *Stroke*, v. 27, p. 737-742.
- ERECINSKA, M., SILVER, I. A. Calcium handling by hippocampal neurons under physiologic and pathologic conditions. In: SIESJÖ, B. K., WIELOCH, T. (Eds.) *Advances in neurology: cellular and molecular mechanisms of ischemic brain damage*. Philadelphia: Lippincott-Raven, 1996. v.71, p. 119-136.
- ESTOL, C. J. Dr. Miller Fischer and the history of carotid artery disease. *Stroke*, v. 27, p. 559-566, 1996.
- FIELDS, W. S. Historic introduction. In: GINSBERG, M. D., BOGOUSSLAVSKY, J. (Eds.) *Cerebrovascular disease: pathophysiology, diagnosis and management*. Massachusetts: Blackwell Science, 1988. p. 827-833.
- FISHER, C. M. Occlusion of the internal carotid artery. *Arch. Neurol. Psychiatr.*, v. 65, p. 346-377, 1951.
- FOLBERGROVÁ, J., ZHAO, J., KATSURA, K., SIESJO, B.  $\alpha$ -Phenyl-N-tert-butyl-nitron improves recovery of brain energy state in the rat following transient focal ischemia. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, v. 92, p. 5057-5061, 1995.
- FONNUM, F. Glutamate: A neurotransmitter in mammalian brain. *J. Neurochem.*, v. 42, p. 1-11, 1984.

- FONTELES, M. C., KAROW, A. M. Jr. Isolated kidney preservation in relationship to cholinergic and adrenergic processes. *Surg. Gynecol. Obstet.*, v. 141, p. 267-276, 1975.
- \_\_\_\_\_. An alpha-adrenolytic study of the isolated rabbit kidney at normo- and hypothermia. *Arch. Int. Pharmacodyn. Ther.*, v. 223, p. 196-214, 1976.
- FRACKOWIACK, R. S. J., WISE, R. J. S. Positron tomography in ischemic cerebrovascular disease. *Neurol. Clin.*, v. 1, p. 183-200, 1983.
- FRAZEE, J. G., JORDAN, S. E., DION, J. E., KAR, S., VINUELA, F., RAND, R. W., CORDAY, E. Ischemic brain rescue by transvenous perfusion in baboons with venous sinus occlusion. *Stroke*, v. 21, p. 87-93, 1990.
- FRIDOVICH, I. Biological effects of the superoxide radical. *Arch. Biochem. Biophys.*, v. 247, p. 1-11, 1986.
- \_\_\_\_\_. Superoxide radical and superoxide dismutases. *Ann. Rev. Biochem.*, v. 64, p. 97-112, 1995.
- FROISSARD, P., MONROCQ, H., DUVAL, D. Role of glutathione metabolism in the glutamate-induced programmed cell death of neuronal-like PC-12 cells. *Eur. J. Pharmacol.*, v. 326, p. 93-99, 1997.
- FUJIWARA, K., OKAMURA-IKEDA, K., MOTOKAWA, Y. Expression of mature bovine H-protein of the glycine cleavage system in *Escherichia coli* and in vitro lipoylation of the apoform. *J. Biol. Chem.*, v. 267, p. 20011-20016, 1992.
- GAGLIARDI, R. J. (Eds.) *Doenças cerebrovasculares: condutas*. São Paulo: Geo-gráfica e Editora, 1996.
- GARTHWAITE, J., MELDRUM, B. S. Excitatory aminoacid neurotoxicity and neurodegenerative disease. *Trends Pharmacol. Sci.*, v. 11, p. 379-387, 1990.
- GASIC, G. P., HOLLMANN, M. Molecular neurobiology of glutamate receptors. *Annu. Rev. Physiol.*, v. 54, p. 507-536, 1992.
- GINSBERG, M. Metabolic responses to cerebral ischemia. *Cerebrovasc. Brain Metab. Rev.*, v. 2, p. 58-93, 1990.
- GINSBERG, M. D., BUSTO, R. Rodent models of cerebral ischemia. *Stroke*, v. 20, p. 1627-1642, 1989.
- \_\_\_\_\_. Combating hyperthermia in acute stroke: a significant clinical concern. *Stroke*, v. 29, p. 529-534, 1998.
- GINSBERG, M. D., BUDD, W. W., WELSH, F. A. Diffuse cerebral ischemia in the cat: I. Local blood flow during severe ischemia and recirculation. *Ann. Neurol.*, v. 3, p. 482-492, 1978.

- GINSBERG, M. D., REIVICH, M., GIANDOMENICO, A., GREENBERG, J. H. Local glucose utilization in acute focal cerebral ischemia: local dysmetabolism and diaschisis. *Neurology*, v. 27, p. 1042-1048, 1977.
- GINSBERG, M. D., STERNAU, L. L., GLOBUS, M. Y., DIETRICH, W. D., BUSTO, R. Therapeutic modulation of brain temperature: relevance to ischemic brain injury. *Cerebrovasc. Brain Metab. Rev.*, v. 4, p. 189-225, 1992.
- GIONET, T., X., THOMAS, J. D., WARNER, D. S., GOODDLETT, C. R., WASSERMAN, E. A., WEST, J. R. Forebrain ischemia induces selective behavioral impairments associated with hippocampal injury in rats. *Stroke*, v. 22, p. 1040-1047, 1991.
- GLOBUS, M., Y-T., BUSTO, R., LIN, B., SCHNIPPERING, H., GINSBERG, M. D. Detection of free radical activity during transient global ischemia and recirculation: effects of intraischemic brain temperature modulation. *J. Neurochem.*, v. 65, p. 1250-1256, 1995.
- GÖTZ, M. E., DIRR, A., BURGER, R., JANETZKY, B., WEINMÜLLER, M., CHAN, W. W., CHEN, S. C., REICHMANN, H., RAUSCH, W. D., RIEDERER, P. Effect of lipoic acid on redox state of coenzyme Q in mice treated with 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine and diethyldithiocarbamate. *Eur. J. Pharmacol.*, v. 266, p. 291-300, 1994.
- GRACE, P. A. Ischaemia-reperfusion injury. *Br. J. Surg.*, v. 81, p. 637-647, 1994.
- GREENBERG, J. H. Glucose and oxygen metabolism in ischemia. In: GINSBERG, M. D., BOGOUSSLAVSKY, J. (Eds.) *Cerebrovascular disease: pathophysiology, diagnosis and management*. Massachusetts: Blackwell Science, 1998. p. 227-248.
- GREENLUND, L. J., DECKWRETH, T. L., JOHNSON, E. M. Jr. Superoxide dismutase delays neuronal apoptosis: a role for reactive oxygen species in programmed neuronal death. *Neuron*, v. 14, p. 303-315, 1995.
- GROS, S. S., WOLIN, M. S. Nitric oxide: pathophysiological mechanisms. *Annu. Rev. Physiol.*, v. 57, p. 737-769, 1995.
- GURDJIAN, E. S., GURDJIAN, E. S. History of occlusive cerebrovascular disease: I. from Wepfer to Moniz. *Arch. Neurol.*, v. 36, p. 340-343, 1979.
- HACHINSKI, V. C., POTTER, P., MERSKEY, H. Leuko-araiosis. *Arch. Neurol.*, v. 44, p. 21-23, 1987.
- HAKIM, A. M. Ischemic penumbra: the therapeutic window. *Neurology*, v. 51, suppl 3, p. S44-S46, 1998.

- HALL, E. D. Lipid peroxidation. In: SIESJÖ, B. K., WIELOCH, T. (Eds.) *Advances in neurology*. Cellular and molecular mechanisms of ischemic brain damage. Philadelphia: Lippincot-Raven, 1996. v. 71, p. 247-258.
- HALL, E. D., BRAUGHLER, J. M. Central nervous system trauma and stroke: II. Physiological and pharmacological evidence for the involvement of oxygen radicals and lipid peroxidation. *Free Rad. Biol. Med.*, v. 6, p. 303-313, 1989.
- HALLIWELL, B. Free radicals, reactive oxygen species and human disease: a critical evaluation with special reference to atherosclerosis. *Br. J. Exp. Pathol.*, v. 70, p. 737-757, 1989.
- \_\_\_\_\_. Reactive oxygen species and the central nervous system. *J. Neurochem.*, v. 59, p. 1609-1623, 1992.
- HAN, D., TRITSCHLER, H. J., PACKER, L. Alpha-lipoic acid increases intracellular glutathione in a human T-lymphocyte Jurkat cell line. *Biochem. Biophys. Res.*, v. 207, p. 258-264, 1995.
- HANDELMANN, G. J., HAN, D., TRITSCHLER, H., PACKER, L.  $\alpha$ -Lipoic acid reduction by mammalian cells to the dithiol form, and release into culture medium. *Biochem. Pharmacol.*, v. 47, p. 1725-1730, 1994.
- HANSEN, A. J., JENS, A. L., SAGER, T. N. Ionic alterations in ischemia. In: GINSBERG, M. D., BOGOUSLAVSKY, J. (Eds.) *Cerebrovascular disease: pathophysiology, diagnosis and management*. Massachussets: Blackwell Science, 1998. p. 205-216.
- HANSEN, A. J., LUNDBÆK, J. A., SAGER, T. N. Ionic alterations in ischemia. In: GINSBERG, M. D., BOGOUSLAVSKY, J. (Eds.) *Cerebrovascular disease: pathophysiology, diagnosis and management*. Massachussets: Blackwell Science, 1998, p. 205-216.
- HARAMAKI, N., HAN, D., HANDELMAN, G. J., TRITSCHLER, H. J., PACKER, L. Cytosolic and mitochondrial systems for NADH- and NADPH-dependent reduction of  $\alpha$ -lipoic acid. *Free Radic. Biol. Med.*, v. 22, p. 535-542, 1997.
- HEIZMANN, C. W., HUNZIKER, W. Intracellular calcium-binding proteins: more sites than insights. *Trends Biochem. Sci.*, v. 16, p. 98-103, 1991.
- HENRIKSEN, E. J., JACOB, S., STREEPER, R. S., FOGT, D. L., HOKAMA, J. Y., TRITSCHLER, H. J. Stimulation by  $\alpha$ -lipoic acid of glucose transport activity in skeletal muscle of lean and obese zucker rats. *Life Sci.*, v. 61, p. 805-812, 1997.
- HETTS, S. W. To die or not to die: an overview of apoptosis and its role in disease. *JAMA*, v. 279, p. 300-307, 1998.
- HOLT, J. A. The glutathione cycle is the creative reaction of life and cancer. Cancer causes oncogenes and not vice versa. *Med. Hypotheses*, v. 40, p. 262-266, 1993.

- HONDA, K., KOMODA, Y., INOUÉ, S. Oxidized glutathione regulates physiological sleep in unrestrained rats. *Brain Res.*, v. 636, p. 253-258, 1994.
- HOSSMANN, K-A. Viability thresholds and the penumbra of focal ischemia. *Ann. Neurol.*, v. 36, p. 557-565, 1994.
- \_\_\_\_\_. Thresholds of ischemic injury. In: GINSBERG, M. D., BOGOUSLAVSKY, J. (Eds.) *Cerebrovascular disease: pathophysiology, diagnosis and management*. Massachusetts: Blackwell Science, 1998. p. 193-203.
- HOSSMANN, K-A., KLEIHUES, P. Reversibility of ischemic brain damage. *Arch. Neurol.*, v. 29, p. 375-384, 1973.
- HOSSMANN, K-A., ZIMMERMANN, V. Resuscitation of the monkey brain after 1 hour's complete ischemia. I. Physiological and morphological observations. *Brain Res.*, v. 81, p. 59-74, 1974.
- HU, B-R., WIELOCH, T. Tyrosine phosphorylation and activation of mitogen-activated protein kinase in the rat brain following transient cerebral ischemia. *J. Neurochem.*, v. 62, p. 1357-1367, 1994.
- HUANG, F. P., ZHOU, L. F., YANG, G. Y. The effect of extending mild hypothermia on focal cerebral ischemia and reperfusion in the rat. *Neurol. Res.*, v. 20, p. 57-62, 1998a.
- \_\_\_\_\_. Effects of mild hypothermia on the release of regional glutamate and glycine during extended transient focal cerebral ischemia in rats. *Neurochem. Res.*, v. 23, p. 991-996, 1998b.
- HUGON, J., VALLAT, J. M., DUMAS, M. Rôle du glutamate et de l'excitotoxicité dans les maladies neurologiques. *Rev. Neurol.*, v. 152, p. 239-248, 1996.
- IJIMA, T., MIES, G., HOSSMANN, K. A. Repeated negative DC deflections in rat cortex following middle cerebral artery occlusion are abolished by MK-801: effect on volume of ischemic injury. *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, v. 12, p. 727-733, 1992.
- IMON, H., MITANI, A., ANDOU, Y., ARAI, T., KATAOKA, K. Delayed neuronal death is induced without postischemic hyperexcitability: continuous multiple-unit recording from ischemic CA1 neurons. *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, v. 11, p. 819-823., 1991.
- JACOB, S., STREEPER, R. S., FOGT, D. L., HOKAMA, J. Y., TRITSCHLER, H. J., DIETZE, G. J., HENRIKSEN, E. J. The antioxidant  $\alpha$ -lipoic acid enhances insulin-stimulated glucose metabolism in insulin-resistant rat skeletal muscle. *Diabetes*, v. 45, p. 1024-1029, 1996.
- JANÁKY, R., VARGA, V., JENEI, Z., SARANSAARI, P., OJA, S. S. Glutathione and glutathione derivatives: possible modulators of ionotropic glutamate receptors. In: SHAW, C. A. (Ed.) *Glutathione in the nervous system*. Washington, D. C.: Taylor & Francis, 1998, p. 163-196.

- JENSEN, M. S., LAMBERT, J. D., JOHANSEN, F. F. Electrophysiological recordings from rat hippocampus slices following in vivo brain ischemia. *Brain Res.*, v. 554, p. 166-175, 1991.
- JOHNSON, J. A., BARBERY, A. E., KORNGUTH, S. E., BRUGGE, J. F., SIEGEL, F. L. Glutathione-S-transferase isoenzymes in rat brain neurons and glia. *J. Neurosci.*, v. 13, p. 2013-2023, 1993.
- JORDAN, S. W., CRONAN, J. E. A new metabolic link. The acyl carrier protein of lipid synthesis donates lipoic acid to the pyruvate dehydrogenase complex in Escherichia Coli and mitochondria. *J. Biol. Chem.*, v. 272, p. 17903-17906, 1997.
- JUURLINK, B. H. J. Response of glial cells to ischemia: roles of reactive oxygen species and glutathione. *Neurosci. Biobehav. Rev.*, v. 21, p. 151-166, 1997.
- KADEKAWA, J., FUJIMURA, H., OGAWA, Y., HATTORI, N., KAIDO, M., NISHIMURA, T., YOSHIKAWA, H., SHIRAHATA, N., SAKODA, S., YANAGIHARA, T. A clinicopathological study of a patient with familial amyotrophic lateral sclerosis associated with a two base pair deletion in the copper/zinc superoxide dismutase (SOD1) gene. *Acta Neuropathol. (Berl.)*, v. 94, p. 617-622, 1997.
- KAGAN, V. E., SERBINOVA, E. A., FORTE, T., SCITA, G., PACKER, L. Recycling of vitamin E in human low density lipoproteins. *J. Lipid Res.*, v. 33, p. 385-397, 1992a.
- KAGAN, V. E., SERBINOVA, E., PACKER, L. Antioxidant effects of ubiquinones in microsomes and mitochondria are mediated by tocopherol recycling. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, v. 169, p. 851-857, 1990.
- KAGAN, V. E., SHVEDOVA, A., SHVEDOVA, E., KHAN, S., SWANSON, C., POWELL, R., PACKER, L. Dihydrolipoic acid – a universal antioxidant both in the membrane and in the aqueous phase. Reduction of peroxy, ascorbyl and chromanoxyl radicals. *Biochem. Pharmacol.*, v. 44, p. 1637-1642, 1992b.
- KAMP, A., PFURTSCHHELLER, G., DA SILVA, F. L. Special techniques of recording and transmission. In: NIEDERMEYER, E., DA SILVA, F. L. (Eds.) *Electroencephalography: basic principles, clinical applications, and related fields*. Baltimore: Williams & Wilkins, 1999. p. 761-775.
- KANAI, Y., SMITH, C. P., HEDIGER, M. A. A new family of neurotransmitter transporters: The high-affinity glutamate transporters. *FASEB J.*, v. 8, p. 1450-1459, 1993.
- KANE, D. J., SARAFIAN, T. A., ANTON, R., HAHN, H., GRALLA, E. B., VALENTINE, J. S., ORD, T., BREDESEN, D. E. Bcl-2 inhibition of neural death: decreased generation of reactive oxygen species. *Science*, v. 262, p. 1274-1277, 1993.

- KANNAN, R., KUHLINKAMP, J. F., JEANDIDIER, E., TRINH, H., OOKHTENS, M., KAPLOVITZ, N. Evidence for carrier mediated transport of glutathione across the blood-brain barrier in the rat. *J. Clin. Invest.*, v. 85, p. 2009-2013, 1990.
- KANNAN, R., KUHLINKAMP, J. F., OOKHTENS, M., KAPLOVITZ, N. Transport of GSH at blood-brain barrier of the rat: inhibition and age-dependence. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, v. 263, p. 964-970, 1992.
- KANNAN, R., YI, J. R., ZLOKOVIC, B.V., KAPLOVITZ, N. Carrier-mediated GSH transport at the blood-brain barrier and molecular characterization of novel brain GSH transporters. In: SHAW, C. A. (Ed.) *Glutathione in the nervous system*. Washington, D. C.: Taylor & Francis, 1998. p. 45-62.
- KANNER, B. I. Glutamate transporters from brain: a novel neurotransmitter transporter family. *FEBS Lett.*, v. 325, p. 95-99, 1993.
- KAPPELLE, L. J., ADAMS Jr., H. P., BENDIXEN, B. H. Antiaggregant therapy for stroke prevention. In: GINSBERG, M. D., BOGOUSSLAVSKY, J. (Eds). *Cerebrovascular disease: pathophysiology, diagnosis and management*. Massachusetts: Blackwell Science, 1998, p. 1826-1838.
- KATO, M., TOKUYAMA, K., MORIKAWA, A., KUROUME, T., BARNES, P. J. Platelet-activating factor-induced enhancement of superoxide anion generation in guinea-pigs. *Eur. J. Pharmacol.*, v. 232, p. 7-12, 1993.
- KAWABATA, T., TRITSCHLER, H. J. PACKER, L. Reaction of (R,S)-dihydrolipoic acid and homologs with iron. *Methods Enzymol.*, v. 251, p. 325-332, 1995.
- KERR, J. F. R., WYLLIE, A. H., CURRIE, A. R. Apoptosis: a basic biologic phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. *Br. J. Cancer*, v. 26, p. 239-257, 1972.
- KETTY, S. S. The general metabolism of the brain in vivo. In: RICHTER, D. (Ed.) *The metabolism of the nervous system*. London: Pergamon Press, 1957. p.221-237.
- KIMURA, M., KAPÁS, L., KRUEGER, J. M. Oxidized glutathione promotes sleep in rabbits. *Brain Res. Bull.*, v. 45, p. 545-548, 1998.
- KINOUCI, H., EPSTEIN, C. J., MIZUI, T., CARLSON, E., CHEN, S. F., CHAN, P. H. Attenuation of focal cerebral ischemic injury in transgenic mice overexpressing CuZn superoxide dismutase. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, v. 88, p. 11158-11162, 1991.
- KIRINO, T. Delayed neuronal death in the gerbil hippocampus following ischemia. *Brain Res*, v. 239, p. 57-69, 1982.
- KLAIDMAN, L. K., ADAMS, J. D., LEUNG, A. C., KIM, S. S., CADENAS, E. Redox cycling of MPP<sup>+</sup>: evidence for a new mechanism involving hydride transfer with xantine oxidase, aldehyde dehydrogenase and lipoamide dehydrogenase. *Free Radic. Biol. Med.*, v. 15, p. 169-179, 1993.

- KLEIHUES, P., KOBAYASHI, K., HOSSMANN, K-A. Purine nucleotide metabolism in the cat brain after one hour of complete ischemia. *J. Neurochem.*, v. 23, p. 417-425, 1974.
- KOCHANEK, P. M., DUTKA, A. J., HALLENBECK, J. M. Indomethacin, prostacyclin, and heparin improve postischemic cerebral blood flow without affecting early postischemic granulocyte accumulation. *Stroke*, v. 18, p. 634-637, 1987.
- KOCHANEK, P. M., DUTKA, A. J., KUMAROO, K. K., HALLENBECK, J. M. Effects of prostacyclin, indomethacin, and heparin on cerebral blood flow and platelet adhesion after multifocal ischemia of canine brain. *Stroke*, v. 19, p. 693-699, 1988.
- KOSTIC, V., JACKSON LEWIS, V., DE BILBAO, F., DUBOIS DAUPHIN, M., PRZEDBORSKI, S. Bcl-2: prolonging life in a transgenic mouse model of familial amyotrophic lateral sclerosis. *Science*, v. 277, p. 559-562, 1997.
- KRANICH, O., DRINGEN, R., SANDBERG, M., HAMPRECHT, B. Utilization of cysteine and cysteine precursors for the synthesis of glutathione in astroglial cultures: preference for cystine. *Glia*, v. 22, p. 11-18, 1998.
- KRISTIÁN, T., SIESJÖ, B. K. Calcium in ischemic cell death. *Stroke*, v. 29, p. 705-718, 1998.
- KUWABARA, M., TAKENAKA, H., MARUYAMA, H., ONITSUKA, T., HAMADA, M. Effect of prolonged hypothermic ischemia and reperfusion on oxygen consumption and total mechanical energy in rat myocardium: participation of mitochondrial oxidative phosphorylation. *Transplantation*, v. 64, p. 577-583, 1997.
- LAJTHA, A. L., MAKER, H. S., CLARKE, D. D. Metabolism and transport of carbohydrates and amino acids. In: SIEGEL, G. J., ALBERS, R. W., AGRANOFF, B. W., KATZMAN, R. (Eds.). *Basic Neurochemistry*. Boston: Little, Brown & Co., 1981. P. 329-353.
- LASH, L. H., JONES, D. P. Distribution of oxidized and reduced forms of glutathione and cysteine in rat plasma. *Arch. Biochem. Biophys.*, v. 240, p. 583-592, 1985.
- LASSEN, N. A. The luxury-perfusion syndrome and its possible relation to acute metabolic acidosis localized within the brain. *Lancet*, v. 2, p. 1113-1115, 1966.
- LAU, L. F., HUGANIR, L. R. Differential tyrosine phosphorylation of N-methyl-D-aspartate receptor sub-units. *J. Biol. Chem.*, v. 270, p. 20036-20041, 1995.
- LEDUCQ, N., DELMAS-BEAUVIEUX, M. C., BOURDEL-MARCHASSOM, I., DUFOUR, S., GALLIS, J. L., CANIONI, P., DIOLEZ, P. Mitochondrial permeability transition during hypothermic to normothermic reperfusion in rat liver demonstrated by the protective effect of cyclosporin A. *Biochem. J.*, v. 336, p. 501-506, 1998.

- LEIGH, N. L., MELDRUM, M. B. Excitotoxicity in ALS. *Neurology*, v. 47, suppl 4, p. S221-S227, 1996.
- LELOUP, C., ARLUISON, M., LEPETIT, N., CARTIER, N., MARFAING-JALLAT, P., PÉNICAUD, L. Glucose transporter (GLUT2): expression in specific brain nuclei. *Brain Res.*, v. 638, p. 221-226, 1994.
- LESSER, R. P., WEBBER, W. R. Principles of computerized epilepsy monitoring. In: NIEDERMEYER, E, DA SILVA, F. L. (Eds.) *Electroencephalography: basic principles, clinical applications, and related fields*. Baltimore: Williams & Wilkins, 1999. p. 776-796.
- LEWIS, L. D., LJUNGGREN, B., NORBERG, K., SIESJÖ, B. K. Changes in carbohydrate substrates, amino acids, and ammonia in the brain during insulin-induced hypoglycemia. *J Neurochem.*, v. 23, p. 659-671, 1974.
- LEWIS, L. D., LJUNGGREN, B., RATCHESON, R. A., SIESJÖ, B. K. Cerebral energy state in insulin-induced hypoglycemia, related to blood glucose and to EEG. *J Neurochem.*, v. 23, p. 673-679, 1974.
- LINNIK, M. D., ZOBRIK, R. H., HATFIELD, M. D. Evidence supporting a role for programmed cell death in focal cerebral ischemia in rats. *Stroke*, v. 24, p. 2002-2009, 1993.
- LIPTON, S. A., CHOI, Y. B., PAN, Z. H., LEI, S. Z., CHEN, H. S., SUCHER, N. J., LOSCALZO, J., SINGEL, D. J., STAMLER, J. S. A redox-based for the neuroprotective and neurodestructive effects of nitric oxide and related nitroso-compounds. *Nature*, v. 364, p. 626-632, 1993.
- LIPTON, S. A., ROSENBERG, P. A. Excitatory amino acids as a final common pathway for neurologic disorders. *N. Engl. J. Med.*, v. 330, p. 613-622, 1994.
- LIU, S., BAKER, J. C., ANDREWS, P. C., ROCHE, T. E. Recombinant expression and evaluation of the lipoyl domains of the dihydrolipoyl acetyltransferase component of the human pyruvate dehydrogenase complex. *Arch. Biochem. Biophys.*, v. 316, p. 926-940, 1995a.
- LIU, T. C., KOROTCHKINA, L. G., HYATT, S. L., VETTAKKORUMAKANKAV, N. N., PATEL, M. S. Spectroscopic studies of the characterization of recombinant human dihydrolipoamida dehydrogenase and its site-directed mutants. *J. Biol. Chem.*, v. 270, p. 15545-15550, 1995b.
- LIU, T. H., BECKMAN, J. S., FREEMAN, B. A., HOGAN, E. L., HSU, C. Y. Polyethylene glycol-conjugated superoxide dismutase and catalase reduce ischemic brain injury. *Am. J. Physiol.*, v. 256, p. H589-H593, 1989.

- LJUNGGREN, B., NORBERG, K., SIESJÖ, B. K. Influence of tissue acidosis upon restitution of brain energy metabolism following total ischemia. *Brain Res.*, v. 77, p. 173-186, 1974.
- LJUNGGREN, B., RATCHESON, R. A., SIESJÖ, B. K. Cerebral metabolic state following complete compression ischemia. *Brain Res.*, v. 73, p. 291-307, 1974.
- LOGAR, C., BOSWELL, M.: The value of EEG-mapping in focal cerebral lesions. *Brain Topogr.*, v. 3, p. 441-446, 1991.
- LOWNDES, H. E., BEISWINGER, C. M., PHILBERT, M. A., REUHL, K. R. Substrates for neural metabolism of xenobiotics in adult and developing brain. *Neurotoxicology*, v. 15, p. 61-74, 1994.
- MAGISTRETTI, P. J. Brain energy metabolism. In: ZIGMOND, M.J., BLOOM, F. E., LANDIS, S. C., ROBERTS, J. L., SQUIRE, L. R. (Eds.) *Fundamental neuroscience*. San Diego: Academic Press, 1999. p. 389-413.
- MAGISTRETTI, P. J., PELLERIN, L. Cellular bases of brain energy metabolism and their relevance to functional brain imaging: evidence for a prominent role of astrocytes. *Cereb. Cortex*, v. 6, p. 50-61, 1996.
- MAGISTRETTI, P. J., PELLERIN, L., MARTIN, J-L. Brain energy metabolism: an integrated cellular perspective. In: BLOOM, F.E., KUPFER, D. J. (Eds.) *Psychopharmacology: the fourth generation of progress*. New York: Raven Press, 1995. p 657-670.
- MAHER, F., VANNUCCI, S., SIMPSON, I. A. Glucose transporter proteins in brain. *FASEB J.*, v. 8, p. 1003-1011, 1994.
- MARION, D. W., OBRIST, W. D., CARLIER, P. M., PENROD, L. E., DARBY, J. M. The use of moderate therapeutic hypothermia for patients with severe head injuries: a preliminary report. *J. Neurosurg.*, v. 79, p. 354-362, 1993.
- MARSHALL, L. F., DURITY, F., LOUNSBURY, R., GRAHAM, D. I., WELSH, F., LANGFITT, T.W. Experimental cerebral oligemia and ischemia produced by intracranial hypertension. Part 2: Brain morphology. *J. Neurosurg.*, v. 43, p. 318-322, 1975.
- MATSUO, Y., KIHARA, T., IKEDA, M., NONOMIYA, M., ONODERA, H., KOGURE, K. Role of platelet-activating factor and thromboxane A2 in radical production during ischemia and reperfusion of the rat brain. *Brain Res.*, v. 709, p. 296-302, 1996.
- MATTSON, M. P., MARK, J. R. Excitotoxicity and Excitoprotection In Vitro. In: SIESJÖ, B. K., WIELOCH, T. (Eds.) *Advances in neurology: cellular and molecular mechanisms of ischemic brain damage*. Philadelphia: Lippincot-Raven, 1996. v. 71, p. 1-36

- MATTSON, M. P., RYCHLIK, B., CHU, C., CHRISTAKOS, S. Evidence for calcium-reducing and excitoprotective roles for the calcium-binding protein (calbindin-D28K) in cultured hippocampal neurons. *Neuron*, v. 6, p. 41-51, 1991.
- MAUGUIÈRE, F. EEG and evoked potentials. In: GINSBERG, M. D., BOGOUSLAVSKY, J. (Eds.) *Cerebrovascular disease: pathophysiology, diagnosis and management*. Massachusetts: Blackwell Science, 1998. p. 1337-1345.
- MAXWELL, S. R. J., LIP, G. Y. H. Reperfusion injury: a review of the pathophysiology, clinical manifestations and therapeutic options. *Int. J. Cardiol.*, v. 58, p. 95-117, 1997.
- MCCORD, J. M. Oxygen-derived free radicals in postischemic tissue injury. *N. Engl. J. Med.*, v. 312, p. 159-163, 1985.
- MCCORMICK, D. A. Membrane potential and action potential In: ZIGMOND, M. J., BLOOM, F. E., LANDIS, S.C., ROBERTS, J. L., SQUIRE, L. R. (Eds.) *Fundamental neuroscience*. San Diego: Academic Press, 1999. p. 129-154.
- McHENRY Jr., L. A History of stroke. *Int. J. Neurol.*, v. 15, p. 314-326, 1981.
- McLEAN, J. The discovery of heparin. *Circulation*, v. 19, p. 75-78, 1959.
- MEISTER, A. Glutathione metabolism and its selective modification. *J. Biol. Chem.*, v. 263, p. 17205-17208, 1988.
- \_\_\_\_\_. Glutathione deficiency produced by inhibition of its synthesis, and its reversal; applications in research and therapy. *Pharmacol. Ther.*, v. 51, p. 155-194, 1991.
- MEISTER, A., ANDERSON, M. E. Glutathione. *Annu. Rev. Biochem.*, v. 52, p. 711-760, 1983.
- MELARAGNO FILHO, R. & SANVITO, W. L. (Eds.) *Doenças Vasculares do Encéfalo*. São Paulo: Livraria Manole, 1976.
- MELDRUM, B. Possible therapeutic applications of antagonists of excitatory amino acid neurotransmitters. *Clin. Sci.*, v.68, p. 113-122, 1985.
- MENOTTI, A., BLACKBURN, H., SECCARECCIA, F., KROMHAUT, D., NISSINEN, A., ARAVANIS, C., GIAMPAOLI, S., MOHACEK, I., NEDELJKOVIC, S., TOSHIMA, H. The relation of chronic diseases to all-cause mortality risk – the Seven Country Study. *Ann. Med.*, v. 29, p. 135-141, 1997.
- MEHROTRA, S., KAKKAR, P., VISWANATHAN, P. N. Mitochondrial damage by active oxygen species in vitro. *Free Rad. Biol. Med.*, v. 10, p. 277-285, 1991.
- MIES, G., IJIMA, T., HOSSMANN, K. A. Correlation between peri-infarct DC shifts and ischaemic neuronal damage in rat. *Neuroreport*, v. 4, p. 709-711, 1993.

- MILLER, R. J. Multiple calcium channels and neuronal function. *Science*, v. 235, p. 46-52, 1987.
- \_\_\_\_\_. Voltage sensitive  $\text{Ca}^{2+}$  channels. *J. Biol. Chem.*, v. 267, p. 1403-1406, 1992.
- MINAMISAWA, H., NORDSTROM, C.H., SMITH, M. L., SIESJO, B. K. The influence of mild body and brain hypothermia on ischemic brain damage. *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, v. 10, p. 365-74, 1990.
- MITANI, A., KATAOKA, K. Critical levels of extracellular glutamate mediating gerbil hippocampal delayed neuronal death during hypothermia: brain microdialysis study. *Neuroscience*, v. 42, p. 661-670, 1991.
- MITANI, A., KADOYA, F., KATAOKA, K. Temperature dependence of hypoxia-induced calcium accumulation in gerbil hippocampal slices. *Brain Res.*, v. 562, p. 159-163, 1991.
- MITSUI, Y., SCHMELZER, J. D., ZOLLMAN, P. J., MITSUI, M., TRITSCHLER, H. J., LOW, P. A. Alpha-lipoic acid provides neuroprotection from ischemia-reperfusion injury of peripheral nerve. *J. Neurol. Sci.*, v. 163, p. 11-16, 1999.
- MIYASAWA, T., BONNEKOH, P., HOSSMANN, K-A. Temperature effect on immunostaining of microtubule-associated protein 2 and synaptophysin after 30 minutes of forebrain ischemia in rat. *Acta Neuropathol.*, v. 85, p. 526-532, 1993.
- MOOM, I. S., APPERSON, M. I., KENNEDY, M. B. The major tyrosine-phosphorylated protein in the postsynaptic density fraction is N-methyl-D-aspartate sub-unit 2B. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, v. 91, p. 3954-3958, 1994.
- MONMAUR, P., THOMSON, M. A., M'HARZI, M. Temporal changes in hippocampal theta activity following twenty minutes of forebrain ischemia in the chronic rat. *Brain Res.*, v. 378, p. 262-273, 1986.
- MORGAN, Z. S., SQUIRE, L. R., REMPEL, N. L., CLOWER, R. P., AMARAL, D. G. Enduring memory impairment in monkeys after ischemic damage to the hippocampus. *J. Neuroscience*, v. 12, p. 2582-2596, 1992.
- MORLEY, P., HOGAN, M. J., HAKIM, A. M. Calcium-mediated mechanisms of ischemic injury and protection. *Brain Pathol.*, v. 4, p. 37-47, 1994.
- MORRIS, T. W., REED, K. E., CRONAN JR., J. E. Lipoic acid metabolism in *Escherichia coli*: the *lplA* and *lipB* genes define redundant pathways for ligation of lipoyl groups to apoprotein. *J. Bacteriol.*, v. 177, p. 1-10, 1994.
- MOULIN, T., BOGOUSLAVSKY. Anticoagulation in stroke. In: GINSBERG, M. D., BOGOUSLAVSKY, J. (Eds). *Cerebrovascular disease: pathophysiology, diagnosis and management*. Massachusetts: Blackwell Science, 1998, p. 1839-1863.

- MUIJSERS, R. B. R., FOLKERTS, G., HENRICKS, P. A. J., SADEGHI-HASHJIN, G., NIJKAMP, F. P. Peroxynitrite: a two-faced metabolite of nitric oxide. *Life Sci.*, v. 60, p. 1833-1845, 1997.
- MUIZELAAR, J. P., MARMAROU, A., YOUNG, H. F., CHOI, S. C., WOLF, A., SCNEIDER, R. L. KONTOS, H.A. Improving the outcome of severe head injury with the oxygen radical scavenger polyethylene glycol-conjugated superoxide dsmutase: a phase II trial. *J. Neursurg.*, v. 78, p. 375-382, 1993.
- MUKHERJEE, S. K, KLAIDMAN, L. K., YASHAREL, R., ADAMS Jr., J. D. Increased brain NAD prevents neuronal apoptosis in vivo. *Eur. J. Pharmacol.*, v. 330, p. 27-34, 1997.
- MURPHY, T. H., MALOUF, A. T., SASTRE, A., SCHNAAR, R. L., COYLE, J. T. Calcium-dependent glutamate cytotoxicity in a neuronal cell line. *Brain Res.*, v. 444, p. 325-332, 1988.
- MURPHY, T. H., SCHNAAR, R. L., COYLE, J. T. Immature cortical neurons are uniquely sensitive to glutamate toxicity by inhibition of cystine uptake. *FASEB J.*, v. 4, p. 1624-1633, 1990.
- NAGATA, K. Topographic EEG mapping in cerebrovascular disease. *Brain Topogr.*, v. 2, p. 119-128, 1989.
- NARUSE, S., HORIKAWA, Y., TANAKA, C., HIRAKAWA, K., NISHIKAWA, H., VATARI, H. In vivo measurement of energy metabolism and the concomitant monitoring of electroencephalogram in experimental cerebral ischemia. *Brain Res.*, v. 296, p. 370-372, 1984.
- NEDERGAARD, M., ASTRUP, J. Infarct rim: effect of hyperglycemia on direct current potential and [14C] 2-deoxyglucose phosphorylation. *J. Cereb. Blood Flow Metabol.*, v. 6, p. 607-615, 1986.
- NICHOLLS, D. G. A role for the mitochondrion in the protection of cells against calcium overload? *Prog. Brain Res.*, v. 63, p. 97-106, 1985.
- NICHOLLS, D., ATTWELL, D. The release and uptake of excitatory amino acids. *Trends Pharmacol. Sci.*, v. 11, p. 462-468, 1990.
- NIEDERMEYER, E. The normal EEG of the waking adult. In: NIEDERMEYER, E., DA SILVA, F. L. (Eds.) *Electroencephalography: basic principles, clinical applications, and related fields*. Baltimore: Williams & Wilkins, 1999a. p. 149-173.
- \_\_\_\_\_. Sleep and EEG. In: NIEDERMEYER, E., DA SILVA, F. L. (Eds.) *Electroencephalography: basic principles, clinical applications, and related fields*. Baltimore: Williams & Wilkins, 1999b. p. 174-188.

- NISHIDA, K., MARKEY, S. P. Platelet-activating factor in brain regions after transient ischemia in gerbils. *Stroke*, v. 27, p. 514-519, 1996.
- NISHIMURA, T., FUKUCHI, K., HAYASHIDA, K., HIROSE, Y., IWAMOTO, B. Decreased hippocampal blood flow related to memory impairment after cardiovascular surgery: assessment by reconstructed SPECT parallel to the longitudinal axis of the hippocampal formations. *Clin. Nucl. Med.*, v. 23, p. 356-360, 1998.
- NORDSTRÖM, C-H., SIESJÖ, B. K. Effects of phenobarbital in cerebral ischemia. Part 1: cerebral energy metabolism during pronounced incomplete ischemia. *Stroke*, v. 9, p. 327-335, 1978.
- NUWER, M. R., JORDAN, S. E., AHN, S. S. Evaluation of stroke using EEG frequency analysis and topographic mapping. *Neurology*, v. 37, p. 1153-1159, 1987.
- OGITA, K., ENOMOTO, R., NAKAARA F., ISHITISUBO, N., NONEDA, Y. A. Possible role of glutathione as an endogenous agonist at the N-methyl-D-aspartate recognition domain in rat brain. *J. Neurochem.*, v. 64, p. 1088-1096, 1995.
- OLDENDORF, W. H. Measurement of brain uptake of radiolabeled substrates using a tritiated water internal standard. *Brain Res.*, v. 24, p. 372-376, 1970.
- OLNEY, J.W., HO, O. L. Brain damage in infant mice following oral intake of glutamate, aspartate or cysteine. *Nature*, v. 227, p. 609-611, 1970.
- OLNEY, J. W., ZORUMSKI, C., PRICE, M. T., LABRUYERE, J. L-Cysteine, a bicarbonate-sensitive endogenous excitotoxin. *Science*, v. 248, p. 596-599, 1990.
- ONA, V. O., LI, M., VONSATTEL, J. P., ANDREWS, L. J., KAHN, S. Q., CHUNG, W. M., FREY, A. S., MENON, A. S., LI, X. J., STIEG, P. E., YUAN, J., PENNEY, J. B., YOUNG, A. B., CHA, J. H., FRIEDLANDER, R. M. Inhibition of caspase-1 slows disease progression in a mouse model of Huntington's disease. *Nature*, v. 399, p. 263-267, 1999.
- OPPENHEIM, R. W. Programmed cell death. In: ZIGMOND, M. J., BLOOM, F. E., LANDIS, S.C., ROBERTS, J. L., SQUIRE, L. R. (Eds.) *Fundamental neuroscience*. San Diego: Academic Press, 1999. p. 581-609.
- ORLOWSKI, M., SESSA, G., GREEN, J. P. Gamma glutamyl transpeptidase in brain capillaries: possible site of a blood-brain barrier for amino acids. *Science*, v. 184, p. 66-68, 1974.
- ORLOWSKI, M., WILK, S. Intermediates of the gamma-glutamyl cycle in mouse tissues. Influence of administration of amino acids on pyrrolidone carboxylate and gamma-glutamyl amino acids. *Eur. J. Biochem.*, v. 33, p. 581-590, 1975.
- ORRENIUS, S., BURKITT, M. J., KASS, G. E., DYPBUKT, J. M., NICOTERA, P. Calcium ions and oxidative cell injury. *Ann. Neurol*, v. 32, suppl., p. S33-S42, 1992.

- OU, P., NOUROOZ, Z. J., TRITSCHLER, H. J., WOLFF, S. Activation of aldose reductase in rat lens and metal-ion chelation by aldose reductase inhibitors and lipoic acid. *Free Radic. Res.*, v. 25, p. 337-346, 1996.
- PACKER, L., TRITSCHLER, H. J., WESSEL, K. Neuroprotection by the metabolic antioxidant  $\alpha$ -lipoic acid. *Free Radic. Biol. Med.*, v. 22, p. 359-378, 1997.
- PACKER, L., WITT, E. H., TRITSCHLER, H. J. Alpha-lipoic acid as a biological antioxidant. *Free Radic. Biol. Med.*, v. 19, p. 227-250, 1995.
- PACKER, M. A., MIESEL, R., MURPHY, M. P. Superoxide production by mitochondria in the presence of nitric oxide forms peroxynitrite. *Biochem. Pharmacol.*, v. 51, p. 267-273, 1996.
- PANETTA, T., MARCHESELLI, V. L., BRAQUET, P., SPINNEWYN, B., BAZAN, N. G. Effects of a platelet activating factor antagonist (BN 52021) on free fatty acids, diacylglycerols, polyphosphoinositides and blood flow in the gerbil brain: inhibition of ischemia-reperfusion induced cerebral injury. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, v. 149, p. 580-587, 1987.
- PANIGRAHI, M., SADGUNA, Y., SHIVAKUMAR, B. R., KOLLURI, S. V. R., ROY, S., PACKER, L., RAVINDRANATH, V.  $\alpha$ -Lipoic acid protects against reperfusion injury following cerebral ischemia in rats. *Brain Res.*, v. 717, p. 184-188, 1996.
- PASCUAL, J. M., CARCELLER, F., RODA, J. M., CERDÁN, S. Glutamate, glutamine, and glial compartments after focal cerebral ischemia in rats. *Stroke*, v. 29, p. 1048-1057, 1998.
- PEARSE, J. M. S. Wepfer's description of the apoplexy of Malpighi. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry*, v. 62, p. 394, 1997.
- PELLERIN, L., MAGISTRETTI, P. J. Glutamate uptake into astrocytes stimulates aerobic glycolysis: a mechanism coupling neuronal activity to glucose utilization. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, v. 91, p. 10625-10629, 1994.
- PEREIRA, C. M., OLIVEIRA, C. R. Glutamate toxicity on a PC12 cell line involves glutathione (GSH) depletion and oxidative stress. *Free Rad. Biol. Med.*, v. 23, p. 637-647, 1997.
- PERHAM, R. N. Domains, motifs, and linkers in 2-oxo acid dehydrogenase multienzyme complexes: a paradigm in the design of a multifunctional protein. *Biochemistry*, v. 30, p. 8501-8512, 1991.
- PERUCHE, B., KLAASSENS, H., KRIEGLSTEIN, J. Quantitative analysis of the electrocorticogram after forebrain ischemia in the rat. *Pharmacology*, v. 50, p. 229-237, 1995.

- PETIT, C. HOFFMANN, P., SOUCHARD, J-P., NEPVEU, F., LABIDALLE, S. Les thionitrites comme agents donneurs potentiels de monoxyde d'azote: exemple des acides S-nitroso- et S,S'-dinitroso-dihydrolipoic. *C. R. Soc. Biol.*, v. 190, p. 641-650, 1996.
- PETITO, C. K., CHUNG, M. C., VERKHOVSKY, L. M., COOPER, A. J. Brain glutamine synthetase increases following cerebral ischemia in the rat. *Brain Res.*, v. 569, p. 275-280, 1992.
- PETTIGREW, L. C., GROTTA, J. C., RHOADES, H. M., WU, K. K. Effect of thromboxane synthetase inhibition on eicosanoid levels and blood flow in ischemic rat brain. *Stroke*, v. 20, p. 627-632, 1989.
- PIPER, H. M. apud MAXWELL, S. R. J., LIP, G. Y. H. Reperfusion injury: a review of the pathophysiology, clinical manifestations and therapeutic options. *Int. J. Cardiol.*, v. 58, p. 95-117, 1997.
- POIRIER, J., DEROUESNÉ, J. Apoplexy and Stroke. In: KIPLE, K. F.(Ed.) *The Cambridge world history of human disease*. New York: Cambridge University Press, 1995. p.584-587.
- POU, S., POU, W. S., BREDET, D. S., SNYDER, S. H., ROSEN, G. M. Generation of superoxide by purified brain nitric oxide synthase. *J. Biol. Chem.*, v. 267, p. 24173-24176, 1992.
- POUND, P., BURY, M., EBRAHIM, S. From apoplexy to stroke. *Age Ageing*, v. 26, p. 331-337, 1997.
- POWERS, W. J. Hemodynamics and metabolism in ischemic cerebrovascular disease. *Neurol. Clin.*, v. 10, p. 31-48, 1992.
- PREHN, J. H., KARKOUTLY, C., NUGLISCH, J., PERUCHE, B., KRIEGLSTEIN, J. Dihydrolipoate reduces neuronal injury after cerebral ischemia. *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, v. 12, p. 78-87, 1992.
- PULSINELLI, W. Pathophysiology of acute ischaemic stroke. *Lancet*, v. 339, p. 533-536, 1992.
- PULSINELLI, W., BRIERLEY, J. B., PLUM, F. Temporal profile of neuronal damage in a model of transient forebrain ischemia. *Ann. Neurol.*, v. 11, p. 491-498, 1982.
- PULSINELLI, W. DUFFY, T. E. Regional energy balance in rat brain after transient forebrain ischemia. *J. Neurochem.*, v. 40, p. 1500-1503, 1983.
- PUPPO, A., HALLIWELL, B. Formation of hydroxyl radicals in biological systems. Does myoglobin stimulate hydroxyl radical formation from hydrogen peroxide? *Free Radic. Res. Commun.*, v. 4, p. 415-422, 1988.

- RANDELL, T., TANSKANEN, P., SCHEININ, M., KYTTÄ, J., OHMAN, J., KINDGREN, L. QT dispersion after subarachnoid hemorrhage. *J. Neurosurg. Anesthesiol.*, v. 11, p. 163-166, 1999.
- RAPS, S. A., LAI, J. C., HERTZ, L., COOPER, A. J. L. Glutathione is present in high concentrations in cultured astrocytes but not in cultured neurons. *Brain Res.*, v. 493, p. 398-401, 1989.
- RATCHESON, R. A., FERRENDELLI, J. A. Regional cortical metabolism in focal ischemia. *J. Neurosurg.*, v. 52, p. 755-763, 1980.
- RATOVITSKI, T., CORSON, L. B., STRAIN, J., WONG, P., CLEVELAND, D. W., CULOTTA, V. C., BORCHELT, D. R. Variation in the biochemical/biophysical properties of mutant superoxide dismutase 1 enzymes and the rate of disease progression in familial amyotrophic lateral sclerosis kindreds. *Hum. Mol. Genet.*, v. 8, p. 1451-1460, 1999.
- REED, D. J. Glutathione: toxicological Implications. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, v. 30, p. 603-631, 1990.
- REED, L. J., HACKERT, M. L. Structure-function relationships in dihydrolipoamide acyltransferases. *J. Biol. Chem.*, v. 265, p. 8971-8974, 1990.
- REHNCRONA, S., ROSÉN, I., SIESJÖ, B.K. Brain lactic acidosis and ischemic cell damage: 1. Biochemistry and neurophysiology. *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, v. 1, p. 297-311, 1981.
- ROBINSON, P. J., RAPPORT, S. I. Glucose transport and metabolism in the brain. *Am. J. Physiol.*, v. 250, p. R127-R136, 1986.
- ROMAN, G. C. Senile dementia of the Binswanger type: a vascular form of dementia in the elderly. *JAMA*, v. 258, p. 1782-1788, 1987.
- ROSE, W. M. Anticoagulant management of cerebral infarction: record of poor result obtained. *Med. J. Aust.*, v.1, p. 503-504, 1950.
- ROTHMAN, S., OLNEY, J. W. Glutamate and the pathophysiology of hypoxic-ischemic brain damage. *Ann. Neurol.*, v. 19, p. 105-111, 1986.
- ROY, S., SEN, C. K., TRITSCHLER, H. J., PACKER, L. Modulation of cellular reducing equivalent homeostasis by alpha-lipoic acid. Mechanisms and implications for diabetes and ischemic injury. *Biochem. Pharmacol.*, v. 53, p. 393-399, 1997.
- RUFFER, M. A. Remarks on the histology and pathological anatomy of Egyptian mummies. *Cairo Scient. J.*, v. 4, p. 3-7, 1910.
- \_\_\_\_\_. On arterial lesions found in Egyptian mummies (1580 B.C.-A.D.525). *J. Pathol. Bacteriol.*, v. 15, p. 453-462, 1911.

- SAFAR, P. Cerebral resuscitation after cardiac arrest: a review. *Circulation*, v. 74, suppl. 4, p. 138-153, 1986.
- SAKAMOTO, T., IWAI, A., MONAFO, W. W. Regional blood flow in transected rat spinal cord during hypothermia. *Am. J. Physiol.*, v. 259, p. H1649-1654, 1990.
- SAMUELSSON, B. Leukotrienes: mediators of immediate hypersensitivity reactions and inflammation. *Science*, v. 220, p. 568-575, 1983.
- SANTOS FILHO, L. C. *História geral da medicina brasileira*. São Paulo: HUCITEC, 1991a. v.2: Doenças do sistema nervoso, p. 209-308.
- \_\_\_\_\_. *História geral da medicina brasileira*. São Paulo: HUCITEC, 1991b. v. 1: Crônicas, diários e roteiros de viagem, p. 34
- SCHMIDT, U., GRAFEN, P., ALTLAND, K., GOEDDE, H. W. Biochemistry and chemistry of lipoic acids. *Adv. Enzymol.*, v. 32, p. 423-469, 1969.
- SCHÖNHEIT, K., GILLE, L., NOHL, H. Effect of alpha-lipoic acid and dihydrolipoic acid on ischemia/reperfusion injury of the heart and heart mitochondria. *Biochim. Biophys. Acta*, v. 1271, p. 335-342, 1995.
- SCHULMAN, H., HYMAN, S. E. Intracellular signaling. In: ZIGMOND, M. J., BLOOM, F. E., LANDIS, S. C., ROBERTS, J. L., SQUIRE, L. R. (Eds.) *Fundamental neuroscience*. San Diego: Academic Press, 1999. p. 269-316.
- SCHURR, A., CHANGARIS, D. G., RIGOR, B. M. Glutamine protects neuronal function against cerebral hypoxia: a study using the in vitro hippocampal slice preparation. *Brain Res.*, v. 412, p. 179-181, 1987.
- SCHWAB, M., BAUER, R., ZWIENER, U. Physiological effects and brain protection by hypothermia and cerebrolysin after moderate forebrain ischemia in rats. *Exp. Toxicol. Pathol.*, v. 49, p. 105-116, 1997.
- SCHWEIZER, M., RICHTER, C. Stimulation of  $Ca^{2+}$  release from rat liver mitochondria by the dithiol reagent alpha-lipoic acid. *Biochem. Pharmacol.*, v. 52, p. 1815-1820, 1996.
- SCOTT, B. C., ARUOMA, O. I., EVANS, P. J., O'NEILL, C., VAN DER VLIET, A., CROSS, C. E., TRITSCHLER, H., HALLIWELL, B. Lipoic and dihydrolipoic acids as antioxidants. A critical evaluation. *Free Radic. Res.*, v. 20, p. 119-133, 1994.
- SEEBURG, P. H. The TINS/TiPS lecture. The molecular biology of mammalian glutamate receptor channels. *Trends Neurosci.*, v.16, p. 359-365, 1993.
- SELAK, I., SKAPER, S. D., VARON, S. Pyruvate participation in the low molecular weight trophic activity for central nervous system neurons in glia-conditioned media. *J. Neurosci.*, v. 5, p. 23-28, 1985.

- SELMAN, W. R., RICCI, A. J., CRUMRINE, R. C., LaMANN, J. C., RATHESON, R. A., LUST, W. D. The evolution of focal ischemic damage: a metabolic analysis. *Metab. Brain Dis.*, v. 5, p. 33-44, 1990.
- SELMAN, W.R., Van Der VEER, C., WHITTINGHAM, T S., LaMANN, J.C., LUST, W. D., RATCHESON, R. A. Visually defined zones of focal ischemia in the rat brain. *Neurosurgery*, v. 21, p. 825-830, 1987.
- SEN, C. K., ROY, S., HAN, D., PACKER, L. Regulation of cellular thiols in human lymphocytes by alpha-lipoic acid: a flow cytometric analysis. *Free Radic. Biol. Med.*, v. 22, p. 1241-1257, 1997.
- SEN, C. K., SASHWATI, R., PACKER, L. Fas mediated apoptosis of human Jurkat T-cells: intracellular events and potentiation by redox-active alpha-lipoic acid. *Cell Death Differ.*, v. 6, p. 481-491, 1999.
- SEUBERT, P., LEE, K., LYNCH, G. Ischemia triggers NMDA receptor-linked cytoskeletal proteolysis in hippocampus. *Brain Res.*, v. 492, p. 366-370, 1989.
- SHANK, R. P., LEO, G. P., ZIELKE, H. R. Cerebral metabolic compartmentations revealed by nuclear magnetic resonance analysis of D-[1-<sup>13</sup>C] glucose metabolism. *J. Neurochem.*, v. 61, p. 315-323, 1993.
- SHARBROUGH, F. W. Nonspecific abnormal EEG patterns. In: NIEDERMEYER, E., DA SILVA, F. L. (Eds.) *Electroencephalography: basic principles, clinical applications, and related fields*. Baltimore: Williams & Wilkins, 1999, p. 215-234.
- SHATTOCK, S. G. Microscopic Sections of the Aorta of King Merneptah. *Lancet*, v. 1, p. 309, 1909.
- SHAW, C. A. Multiples roles of glutathione in the nervous system. In: SHAW, C. A. (Ed.) *Glutathione in the nervous system*. Washington, DC: Taylor Francis, 1998. p.3-23.
- SHAW, C. A., PASQUALOTTO, B. A., CURY, K. Glutathione-induced sodium currents in neocortex. *Neuroreport*, v.7, p. 1149-1152, 1996.
- SHAW, C. M., ALVORD, E. C. Jr. Neuropathology of the limbic system. *Neuroimaging Clin. North Am.*, v. 7, p. 101-142, 1997.
- SHIGENAGA, M. K., AMES, B. N. Assays for 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine: a biomarker of in vivo oxidative DNA damage. *Free Radic. Biol. Med.*, v. 10, p. 211-216, 1991.
- SHIGETA, M., JULIN, P., ALMKVIST, O., BASUN, H., RUDBER, G. U., WAHLUND, L. O. EEG in successful aging; a 5 year follow-up study from the eighth to ninth decade of life. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.*, v. 95, p. 77-83, 1995.

- SHIVAKUMAR, B. R., KOLLURI, K. V. R., RAVINDRANATH, V. Glutathione and protein thiol homeostasis in brain during reperfusion following cerebral ischemia. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, v. 274, p. 1167-1173, 1995.
- SIESJÖ, B. K. Cell damage in the brain: a speculative synthesis. *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, v. 1, p. 155-185, 1981.
- \_\_\_\_\_. Pathophysiology and treatment of focal cerebral ischemia. Part II: Mechanisms of damage and treatment. *J. Neurosurg.*, v. 77, p. 337-354, 1992.
- SIESJÖ, B. K., AGARDH, C-D., BENGTSSON, F. Free radicals and brain damage. *Cerebrovasc. Brain Metab. Rev.*, v. 1, p. 165-211, 1989.
- SIESJÖ, B. K., KATSURA, K-I., KRISTIÁN, T. Acidosis-Related Damage. In: SIESJÖ, B. K., WIELOCH, T. (Eds.) *Advances in neurology: cellular and molecular mechanisms of ischemic brain damage*. Philadelphia: Lippincot-Raven, 1996. v. 71, p. 209-236.
- SIESJÖ, B. K., KRISTIÁN, T., KATSURA, K-I. Overview of bioenergetic failure and metabolic cascades in brain ischemia. In: GINSBERG, M. D., BOGOUSSLAVSKY, J. (Eds.) *Cerebrovascular disease: pathophysiology, diagnosis and management*. Massachussets: Blackwell Science, 1998. p. 3-13.
- SIESJÖ, B. K., SIESJÖ, P. Mechanisms of secondary brain injury. *Eur. J. Anaesthesiol.*, v. 13, p. 247-268, 1996.
- SIGERIST, H. E. *A History of medicine*. Oxford: Oxford University Press, 1987. v. 1: Disease in time and space , p. 37-101.
- SIMAN, R., NOSZEK, J. C. Excitatory amino acids activate calpain I and induce structural protein breakdown in vivo. *Neuron*, v. 1, p. 279-287, 1988.
- SIMMONS, T., JAMALL, I. S. Significance of alterations in hepatic antioxidant enzymes. Primacy of gutathione peroxidase. *Biochem. J.*, v. 251, p. 913-917, 1988.
- SINGAL, P. K., BEAMISH, R. E., DHALLA, N. S. Potential oxidative pathways of catecholamines in the formation of lipid peroxides and genesis of heart disease. *Adv. Exp. Med. Biol.*, v. 161, p. 391-401, 1983.
- SLIVKA, A., SPINA, M. B., COHEN, G. Reduced and oxidized glutathione in human and monkey brain. *Neurosci. Lett.*, v. 74, p. 112-118, 1987.
- SMITH, C. D., CARNEY, J. M., STARKE-REED, P. E., OLIVER, C. N., STADTMAN, E. R., FLOYD, R. A., MARKESBERY, W. R. Excess brain protein oxidation and enzyme dysfunction in normal aging and in Alzheimer disease. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, v. 88, p. 10540-10543, 1991

- SOHAL, R. S., WEINDRUCH, R. Oxidative stress, caloric restriction, and aging. *Science*, v. 273, p. 59-63, 1996.
- SOKOLOFF, L., REIVICH, M., KENNEDY, C., Des ROSIERS, M. H., PATLAK, C. S., PETTIGREW, K. D., SAKURADA, O., SHINOHARA, M. The [<sup>14</sup>C] deoxyglucose method for the measurement of local cerebral glucose utilization: Theory, procedure, and normal values in the conscious and anesthetized albino rat. *J. Neurochem.*, v. 28, p. 897-916, 1977.
- SONNEWALD, U., WESTERGAAD, N., KRANE, J., UNSGARD, G., PETERSEN, S. B., SHOUSBOE, A. First direct demonstration of preferential release of citrate from astrocytes using [<sup>13</sup>C]NMR spectroscopy of cultured neurons and astrocytes. *Neurosci. Lett.*, v. 128, p. 235-239, 1991.
- SOUTHORN, P. A., POWIS, G. Free radicals in medicine. II. Involvement in human disease. *Mayo Clin. Proc.*, v. 63, p. 390-408, 1988.
- SPENCER, P. S., NUNN, P. B., HUGON, J., LUDOLPH, A. C., ROSS, S. M., ROY, D. N., ROBERTSON, R. C. Guam amyotrophic lateral sclerosis-parkinsonism-dementia linked to a plant excitant neurotoxin. *Science*, v. 237, p. 517-522, 1987.
- STANARD, J. Diseases of western antiquity. In: KIPLE, K. F. (Eds.) *The Cambridge world history of human disease*. New York: Cambridge University Press, 1995. p. 262-270.
- STERIADE, M. Cellular substrates of brain rhythms. In: NIEDERMEYER, E., DA SILVA, F. L. (Eds.) *Electroencephalography: basic principles, clinical applications, and related fields*. Baltimore: Williams & Wilkins, 1999. p.28-75.
- STRULLI, K. J., HURWITT, E. S., BLANKENBERG, H. W. Thromboendarterectomy for thrombosis of the internal carotid artery in the neck. *J. Neurosurg.*, v. 10, p. 474-482, 1953.
- SUNDQUIST, A. R., FAHEY, R. C. Evolution of antioxidant mechanisms: thiol-dependent peroxidases and thiol transferases among procaryotes. *J. Mol. Evol.*, v. 29, p. 429-435, 1989.
- SUSSMAN, B. J., FITCH, T. S. P. Thrombolysis with fibrinolysin in cerebral arterial occlusion. *JAMA*, v. 167, p. 1705-1709, 1958.
- SUZUKI, T., OKUMURA, N. K. NMDA receptor subunits epsilon 1(NR2A) and epsilon 2 (NR2B) are substrates for *Fyn* in the postsynaptic density fraction isolated from the rat brain. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, v. 216, p. 582-588, 1995.
- SUZUKI, Y. J., AGGARWAL, B. B., PACKER, L. Alpha-lipoic acid is a potent inhibitor of NF-kappa B activation in human T cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, v. 189, p. 1709-1715, 1992.

- SUZUKI, Y. J., MIZUNO, M., TRITSCHLER, H. J., PACKER, L. Redox regulation of NF-kappa B DNA binding activity by dihydrolipoate. *Biochem. Mol. Biol. Int.*, v. 36, p. 241-246, 1995.
- SUZUKI, Y. J., TSUCHIYA, M., PACKER, L. Thiocctic acid and dihydrolipoic acid are novel antioxidants which interact with reactive oxygen species. *Free Radic. Res. Commun.*, v.15, p. 255-263, 1991.
- \_\_\_\_\_. Antioxidant activities of dihydrolipoic acid and its structural homologues. *Free Radic. Res. Comm.*, v. 15, p. 255-263, 1993.
- SUZUKI, R., YAMAGUCHI, T., KLATZO, I. The effects of 5-minute ischemia in Mongolian gerbils: II. Changes of spontaneous neuronal activity in cerebral cortex and CA1 sector of hippocampus. *Acta Neuropathol.*, v. 60, p. 217-222, 1983.
- SZABÓ, C., DAWSON, V. L. Role of poly(ADPribose) syntetase in inflammation and ischaemia-reperfusion. *Trends Pharmacol. Sci.*, v. 19, p. 287-298, 1998.
- TAFT, W. C., TENNES-REES, K. A., BLAIR, R. E., CLIFTON, G. L., DeLORENZO, R. J. Cerebral ischemia decreases endogenous calcium-dependent protein phosphorylation in gerbil brain. *Brain Res.*, v. 447, p. 159-163, 1988.
- TAINER, J. A., GETZOFF, E. D., RICHARDSON, J. S., RICHARDSON, D. C. Structure and mechanism of copper, zinc superoxide dismutase. *Nature*, v. 306, p. 284-287, 1983.
- TAKAHASHI, S., DRISCOLL, B. F., LAW, M. J., SOKOLOFF, L. Role of sodium and potassium ions in regulation of glucose metabolism in cultured astroglia. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, v. 92, p. 4616-4620, 1995.
- TATE, S. S., ROSS, L. L., MEISTER, A. The  $\gamma$ -glutamyl cycle in the choroid plexus: its possible function in amino acid transport. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, v. 70, p. 1447-1449, 1973.
- TAVERAS, J. M. & WOOD, E. H. (Eds.) *Diagnostic neuroradiology*. Baltimore: The Williams & Wilkins, 1976. cap. 4: Selection of diagnostic procedure, p. 987-1020.
- TIRIBELLI, C., LUNAZZI, G. C., SOTTOCASA, G. L. Biochemical and molecular aspects of hepatic uptake of organic anions. *Biochim. Biophys. Acta*, v. 1031, p. 261-275, 1990.
- TOGASHI, H., KIMURA, S., MATSUMOTO, M., YOSHIOKA, M., MINAMI, M., SAITO, H. Chlinergic changes in the hippocampus of stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *Stroke*, v. 27, p. 520-526, 1996.
- TYMIANSKI, M. The central role of calcium ions and calcium-permeable channels in ischemic brain injury. In: GINSBERG, M. D., BOGOUSSLAVSKY, J. (Eds.) *Cerebrovascular disease: pathophysiology, diagnosis and management*. Massachussets: Blackwell Science, 1998. p. 371-390.

- URBAN, L., NEILL, K. H., CRAIN, B. J., NADLER, J. V., SOMJEN, G. G. Postischemic synaptic excitation and N-methyl-D-aspartate receptor activation in gerbils. *Stroke*, v. 21, suppl. 3, p. 3-27, 1990a.
- \_\_\_\_\_. Effects of transient forebrain ischemia in area CA1 of the gerbil hippocampus: an in vitro study. *Adv. Exp. Med. Biol.*, v. 268, p. 491-500, 1990b.
- \_\_\_\_\_. Postischemic synaptic physiology of CA1 hippocampal pyramidal cells. *Prog. Clin. Biol. Res.*, v. 361, p. 415-420, 1990c.
- VAN GIJN, J. Leukoaraiosis and vascular dementia. *Neurology*, v. 51, suppl. 3, p. S3-S8, 1998.
- VINGERHOETS, F., BOGOUSSLAVSKY, J. Silent strokes. In: GINSBERG, M. D., BOGOUSSLAVSKY, J. (Eds.) *Cerebrovascular disease: pathophysiology, diagnosis and management*. Massachusetts: Blackwell Science, 1998. p.1182-1186.
- VRIESMAN, M. F., HAENEN, G. R., WESTERVELD, G. J., PAQUAY, J. B., VOSS, H. P., BAST, A. A method of measuring nitric oxide radical scavenging activity. Scavenging properties of sulfur-containing compounds. *Pharm. World Sci.*, v. 19, p. 283-286, 1997.
- WAKAI, S., ARITAKE, K., ASANO, T., TAKAKURA, K. Selective destruction of the outer leaflet of arachidonic acid in the rat. *Acta Neuropathol.*, v. 58, p. 303-313, 1982.
- WANG, W., BALLATORI, N. Endogenous glutathione conjugates: occurrence and biological functions. *Pharmacol. Rev.*, v.50, p. 335-356, 1998.
- WANG, Y. T., SALTER, M. W. Regulation of NMDA receptors by tyrosine kinases and phosphatases. *Nature*, v. 369, p. 233-235, 1994.
- WANG, Y. T., YU, X. M., SALTER, M. W. Ca<sup>2+</sup>-independent reduction of N-methyl-D-aspartate channel activity by protein tyrosine phosphatase. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, v. 93, p. 1721-1725, 1996.
- WATANABE, Y., KONO, Y., NANBA, E., OHAMA, E., NAKASHIMA, K. Instability of expressed Cu/Zn superoxide dismutase with 2 bp deletion found in familial amyotrophic lateral sclerosis. *FEBS Lett.* V. 400, p. 108-112, 1997.
- WATKINS, J. C., EVANS, R. H. Excitatory amino acids transmitters. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, v. 21, p. 165-204, 1981.
- WAXHAM, M. N. Neurotransmitter receptors. In: ZIGMOND, M. J., BLOOM, F. E., LANDIS, S. C., ROBERTS, J. L., SQUIRE, L. R. (Eds.) *Fundamental neuroscience*. San Diego: Academic Press, 1999. p. 235-267.
- WELLINGTON, C. L., BRINKMAN, R. R., OKUSKY, J. R., HAYDEN, M. R. Toward understanding the molecular pathology of Huntington's disease. *Brain Pathol.*, v. 7, p. 979-1002, 1997.

- WELSH, F. A. Ischemic energy failure. In: GINSBERG, M. D., BOGOUSLAVSKY, J. (Eds.) *Cerebrovascular disease: pathophysiology, diagnosis and management*. Massachusetts: Blackwell Science, 1998. p. 217-226.
- WELSH, F. A., DURITY, F., LANGFITT, T. W. The appearance of regional variation in metabolism at a critical level of diffuse cerebral oligoemia. *J. Neurochem.*, v. 28, p. 71-79, 1977a.
- WELSH, F. A., GREENBERG, J. H., JONES, S. C., GINSBERG, M. D., REIVICH, M. Correlation between glucose utilization and metabolite levels during focal ischemia in cat brain. *Stroke*, v. 11, p. 79-84, 1980a.
- WELSH, F. A., GINSBERG, M. D., RIEDER, W., BUDD, W. W. Deleterious effect of glucose pretreatment on recovery from diffuse cerebral ischemia in the cat. II. Regional metabolite levels. *Stroke*, v. 11, p. 355-363, 1980b.
- \_\_\_\_\_. Diffuse cerebral ischemia in the cat: II. Regional metabolites during severe ischemia and recirculation. *Ann. Neurol.*, v. 3, p. 493-501, 1978.
- WELSH, F. A., O'CONNOR, M. J., LANGFITT, T. W. Regions of cerebral ischemia located by pyridine nucleotide fluorescence. *Science*, v. 198, p. 951-953, 1977b.
- WELSH, F. A., O'CONNOR, M. J., MARCY, V. R. Effect of oligoemia on regional metabolite levels in cat brain. *J. Neurochem.*, v. 31, p. 311-319, 1978.
- WEPFER, J., J. apud McHENRY Jr., L. A History of stroke. *Int. J. Neurol.*, v. 15, p. 314-326, 1981.
- WHITEMAN, M., TRITSCHLER, H. J., HALLIWELL, B. Protection against peroxynitrite-dependent tyrosine nitration and alpha 1-antiproteinase inactivation by oxidized and reduced lipoic acid. *FEBS Lett.*, v. 379, p. 74-76, 1996.
- WIEBERS, D. O., ADAMS, H. P., WHISNANT, J. P. Animal models of stroke: are they relevant to human disease? *Stroke*, v. 21, p. 1-3, 1990.
- WIELOCH, T., HU, B-R., BORIS-MÖLLER, A., CARDELL, M., KAMME, F., KURIHARA, J., SAKATA, K. Intracellular signal transduction in the postischemic brain. In: SIESJÖ, B. K., WIELOCH, T. (Eds.) *Advances in neurology: cellular and molecular mechanisms of ischemic brain damage*. Philadelphia: Lippincott-Raven, 1996. v. 71, p. 371-388.
- WIELOCH, T., KAMME, F. Cell Signaling and Ischemic Neuronal Death. In: GINSBERG, M. D., BOGOUSLAVSKY, J. (Eds.) *Cerebrovascular disease: pathophysiology, diagnosis and management*. Massachusetts: Blackwell Science, 1998. p. 440-454.
- WILSON, J. X. Antioxidant defense of the brain: a role for astrocytes. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, v. 75, p. 1149-1163, 1997.

- WINEGARD, C. Successful treatment of severe hypothermia and prolonged cardiac arrest with closed thoracic cavity lavage. *J. Emerg. Med.*, v. 15, p. 629-632, 1997.
- WINQUIST, R. J., KERR, S. Cerebral ischemia-reperfusion injury and adhesion. *Neurology*, v. 49, suppl. 4, p. S23-S26, 1997.
- WISE, R. J., BERNARDI, S., FRACKOWIAK, R.S., LEGG, N. J., JONES, T. Serial observations on the pathophysiology of acute stroke. The transition from ischaemia to infarction as reflected in regional oxygen extraction. *Brain*, v. 106, p. 197-222, 1983.
- WOLZ, P., KRIEGLSTEIN, J. Neuroprotective Effects of  $\alpha$ -Lipoic acid and its enantiomers demonstrated in rodent models of focal cerebral ischemia. *Neuropharmacology*, v. 35, p. 369-375, 1995.
- WOODS, B. T., SCHOENE, W., KNEISLEY, L. Are hippocampal lesions sufficient to cause lasting amnesia? *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry*, v. 45, p. 243-246, 1982.
- WRIGHT, I. S., McDEVITT, E. Cerebral vascular disease: significance, diagnosis, and present treatment, including selective use of anticoagulant substances. *Ann. Int. Med.*, v. 41, p. 682-698, 1954.
- YASARGIL, M. G., KRAYENBUHL, H. A., JACOBSON, J. H. apud CHANG, S. D., STEINBERG, G. K. Other Surgical Options for Stroke Prevention. In: GINSBERG, M. D., BOGOUSLAVSKY, J. (Eds). *Cerebrovascular disease: pathophysiology, diagnosis and management*. Massachusetts: Blackwell Science, 1998, p. 1845-1963.
- YUDKOFF, M., PLEASURE, D., CREGAR, L., LIN, Z., STERN, J., NISSIM, I. Glutathione turnover in cultured astrocytes: studies with  $^{15}\text{N}$ -glutamate. *J. Neurochem.*, v. 55, p. 137-145, 1990.
- ZAGREAN, L., VATASESCU, R., OPRICA, M., NITIU, O., FERECHEDE, D. A comparative study of EEG suppressions induced by global cerebral ischemia and anoxia. *Rom. J. Physiol.*, v. 32, p. 1-4, 39-44, 1995.
- ZAMAN, K., RATAN, R. R. Glutathione and the regulation of apoptosis in the nervous system. In: SHAW, C. A. (Ed.) *Glutathione in the nervous system*. Washington D. C.: Taylor & Francis, 1998. p. 117-136.
- ZHANG, F., IADECOLA, C. Stimulation of the fastigial nucleus enhances EEG recovery and reduces tissue damage after focal cerebral ischemia. *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, v. 12, p. 962-970, 1992.
- ZHANG, J., DAWSON, V. L., DAWSON, T. M., SNYDER, S. H. Nitric oxide activation of poly(ADP-ribose) synthetase in neurotoxicity. *Science*, v. 263, p. 687-9, 1994.
- ZIMMERMAN, J. J. Redox/radical repertoire rapport: pathophysiology and therapeutics. *Acta Anaesthesiol. Scand.*, v. 42, p. 1-3, 1998.

ZLOKOVIC, B. V., BEGLEY, D. J., DJURICIC, B. M., MITROVIV, D. M. Measurement of solute transport across the blood-brain barrier in the perfused guinea pig brain: method and application to N-methyl- $\alpha$ -aminobutiric acid. *J. Neurochem.*, v. 46, p. 1444-1451, 1986.