



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMACOLOGIA E BIOQUÍMICA

LUAN OLIVEIRA FERREIRA

**G1, AGONISTA GPER, MELHORA OS DESFECHOS
NEUROLÓGICOS E HISTOPATOLÓGICOS EM MODELO
MURINO DE ISQUEMIA CEREBRAL**

BELÉM-PA

2023

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMACOLOGIA E BIOQUÍMICA

**G1, AGONISTA GPER, MELHORA OS DESFECHOS
NEUROLÓGICOS E HISTOPATOLÓGICOS EM MODELO
MURINO DE ISQUEMIA CEREBRAL**

Autor(a): LUAN OLIVEIRA FERREIRA

Orientador(a): Prof.^a Dr.^a DIELLY CATRINA FAVACHO LOPES RÊGO

Documento de Dissertação apresentada
ao Programa de Pós-graduação em
Farmacologia e Bioquímica do Instituto
de Ciências Biológicas da Universidade
Federal do Pará como requisito para a
obtenção do título de Mestre em
Farmacologia e Bioquímica.

BELÉM-PA

2023

DEDICATÓRIA/AGRADECIMENTOS

Gostaria de oferecer meus sinceros agradecimentos:

À Professora, orientadora e “mãe” Dielly Catrina Favacho Lopes Rêgo pela oportunidade oferecida, pelo suporte científico, por todo apoio e pela amizade.

Ao professor colaborador e grande amigo, Moisés Hamoy, sem o seu entusiasmo e apoio, esse trabalho não teria nascido; e para cada nova ideia, sempre tinha um “bora fazer?”.

Ao Professor Rafael Rodrigues e a todos os colegas do Laboratório de Biologia Estrutural e Funcional que sempre estiveram dispostos a ajudar.

À Laine pelo suporte técnico oferecido.

Aos amigos do Laboratório de Neuropatologia Experimental, minha casa por quase 9 anos, que se tornaram família, Kayo, Gerson, Victoria, Rafael, Bruna, Cleiton, Leonan e Esther.

À minha mãe e meus irmãos por todo amor e dedicação, sem vocês eu não teria conseguido nada.

Aos meus amigos, a melhor rede de apoio que eu poderia ter, Emerson, Jamille, Ruthneya, Luiz, Matheus, Nathália, Léo, Silvana e Aline. Obrigado pela força, vocês são fundamentais.

E por último e não menos importante, um agradecimento especial a todos os animais utilizados neste trabalho e que merecem o mais profundo obrigado.

RESUMO

O acidente vascular encefálico (AVE) é uma das principais doenças cerebrovasculares e é responsável pela maioria dos prejuízos funcionais na população idosa. Descobertas recentes instituíram o eletroencefalograma (EEG) como parte da avaliação complementar e prognóstica. O presente estudo descreve as alterações eletroencefalográficas, comportamentais e histológicas que ocorrem após isquemia cerebral associada ao tratamento com G1, agonista do receptor de estrogênio acoplado à proteína G-1 (GPER1). Nesse sentido, o tratamento com G1 atenuou os déficits neurológicos induzidos pelo AVE isquêmico a partir do segundo dia e reduziu o tamanho da área de infarto. O tratamento com G1 também melhorou a potência total das ondas cerebrais, bem como a atividade das ondas teta e alfa especificamente, e restaurou a potência da banda delta para níveis semelhantes aos observados nos grupos controle. Além disso, o tratamento com G1 também foi capaz de atenuar os picos de atividade lesiva observados nos índices no EEG, além de reduzir a área infarto e preservar os neurônios das camadas corticais. Essas melhorias nas atividades das ondas cerebrais indicam que o GPER1 desempenha um papel fundamental na mediação da melhora da lesão cerebral e no resultado comportamental no déficit neurológico, sugerindo que o tratamento com G1 pode ser uma estratégia farmacológica importante para a terapia do AVE no futuro.

Palavras-chave: acidente vascular encefálico; oclusão da artéria cerebral média; GPER1A; neuroproteção, estrogênio.

ABSTRACT

Stroke is one of the main cerebrovascular diseases and accounts for the majority of functional impairments in the elderly population. Recent discoveries have instituted the electroencephalographic (EEG) as part of the complementary and prognostic evaluation. The present study describes the EEG, behavioral, and histological changes that occur following cerebral ischemia associated with treatment by G1, G protein-coupled estrogen receptor 1 (GPER1) agonist. In this sense, treatment with G1 attenuated the neurological deficits induced by ischemic stroke from the second day onward and reduced the size of the infarction area. The G1 treatment also improved the total brainwave power, as well as the theta and alpha wave activity specifically, and restored the delta bandpower to levels similar to those observed in the control groups. Moreover, G1 treatment also was capable to attenuate the peaks of harmful activity observed in the EEG indices, in addition to reducing the infarct area and preserving the neurons of the cortical layers. These improvements in the brainwave activities indicate that GPER1 plays a fundamental role in the mediation of cerebral injury and in the behavioral outcome of is-chemic brain injury, suggesting that treatment with G1 may be a pharmacological strategy for the therapy of stroke in the future.

Keywords: stroke; MCAO; GPER1; neuroprotection, estrogen.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Tipo de acidente vascular encefálico (A) e esquema representativo da lesão (B).

..... 1

Figura 2. A relação do fluxo sanguíneo cerebral (FSC) com o eletroencefalograma (EEG)..... 5

LISTA DE SIGLAS E SÍMBOLOS

AHA - American Heart Association

Akt - Protein kinase B

AMPA - α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid

ASA - American Stroke Association

ATP - Adenosina trifosfato

AVE - Acidente Vascular Encefálico

DAMPs - Damage-associated molecular patterns

DNA - deoxyribonucleic acid

EEG - Eletroencefalograma

eNOS - endothelial nitric oxide synthase)

ER - Estrogen Receptor

ERK - Extracellular signal-regulated kinases

FSC - Fluxo Sanguíneo Cerebral

GPER - G protein-coupled estrogen receptor

MAPK - mitogen activated protein kinases

MEK - Mitogen-activated protein kinase kinase

NADPH - nicotinamide adenine dinucleotide phosphate

NaKATPase - Bomba de Sódio e Potássio

NMDA - N-methyl-D-aspartat

PI3K - Phosphatidylinositol-3-kinase

PKC - Protein kinase C

RM - Ressonância Magnética

RNA - Ribonucleic acid

TC - Tomografia Computadorizada

SUMÁRIO

1. VISÃO INTEGRADORA DO PROBLEMA.....	1
2. ARTIGO 1: Aumento da Potência Relativa da Banda Delta e Índices Delta Revelados pelo Monitoramento Contínuo de qEEG em Modelo Murino de Isquemia-Reperfusão	9
3. ARTIGO 2: G1, agonista de GPER1, reduz a lesão cerebral, melhora o qEEG e o resultado comportamental após acidente vascular cerebral isquêmico (Manuscrito) 10	
4. ARTIGO 3: A ativação do receptor de estrogênio acoplado à proteína G atenua o dano neuronal induzido por isquemia (Manuscrito).....	11
5. CONCLUSÕES INTEGRADORAS.....	12
6. REFERÊNCIAS	13
7. COMPROVANTE DE SUBMISSÃO/ACEITE DE ARTIGO CIENTÍFICO	19
8. Anexos.....	21
Artigo 1	21
Artigo (Manuscrito) 2	32
Artigo (Manuscrito) 3	55

1. VISÃO INTEGRADORA DO PROBLEMA

As doenças cardiocerebrovasculares são uma das condições clínicas mais prevalentes ao redor do mundo e possuem um papel importante na assistência hospitalar (1). O acidente vascular encefálico, membro desse grupo de doenças, é a segunda maior causa de morte em todo o mundo, com uma taxa de mortalidade anual de cerca de 5,5 milhões; além de também ser a principal causa de incapacidade global, com mais de 70% dos sobreviventes evoluindo para disfunção motora e/ou cognitiva crônica (2,3).

Nos relatórios anuais da *American Heart Association* e da *American Stroke Association*, no ano de 2020 o AVE foi responsável por mais de 7 milhões das internações hospitalares nos Estados Unidos, que resultaram em mais de 800 mil de mortes (4). Dados nacionais são escassos, porém estudos prospectivos indicam que a ocorrência desta condição clínica está aumentando, com uma em cada quatro pessoas em todo o mundo sendo afetada pelo AVE pelo uma vez durante a vida (5).

Não obstante, o envelhecimento da população somado aos fatores de risco contribui para o aumento na incidência do AVE ao longo do tempo. Esses fatores de risco incluem fibrilação atrial, hipertensão arterial, dislipidemia, diabetes, tabagismo, sedentarismo, maus hábitos alimentares, obesidade abdominal e consumo de álcool (6,7). Entre estes, a hipertensão arterial é de longe o fator de risco mais importante para o AVE e que responde por aproximadamente 54% de todos os acidentes vasculares encefálicos associados à comorbidades (7–9).

Dessa forma, o AVE pode ser de natureza isquêmica (ateromatosa ou cardioembólica) ou hemorrágica (Figura 1A). O AVE isquêmico, forma mais prevalente, é causado por uma redução do suprimento de sangue para uma determinada região do cérebro devido a obstrução do fluxo sanguíneo, seja por placa ateromatosa ou com tromboembolismo. Em contraste, o AVE hemorrágico ocorre devido à ruptura de um vaso sanguíneo no cérebro, causando sangramento no parênquima ou no espaço subaracnóideo (10,11).

Primeiramente, a progressão do dano cerebral isquêmico após o comprometimento do fluxo sanguíneo envolve a formação inicial de um núcleo de tecido necrótico lesionado no leito vascular afetado (núcleo), seguido pelo desenvolvimento de uma lesão com potencial reversível, de desenvolvimento lento

(horas a dias) na área peri-infarto, uma região potencialmente recuperável ao redor do núcleo (penumbra). Essa é a área onde os esforços são concentrados e as pesquisas buscam encontrar estratégias para recuperação, pois a recuperação desta área pode tornar a área de lesão menor, como consequência, as sequelas neurológicas também (Figura 1B) (12–14).

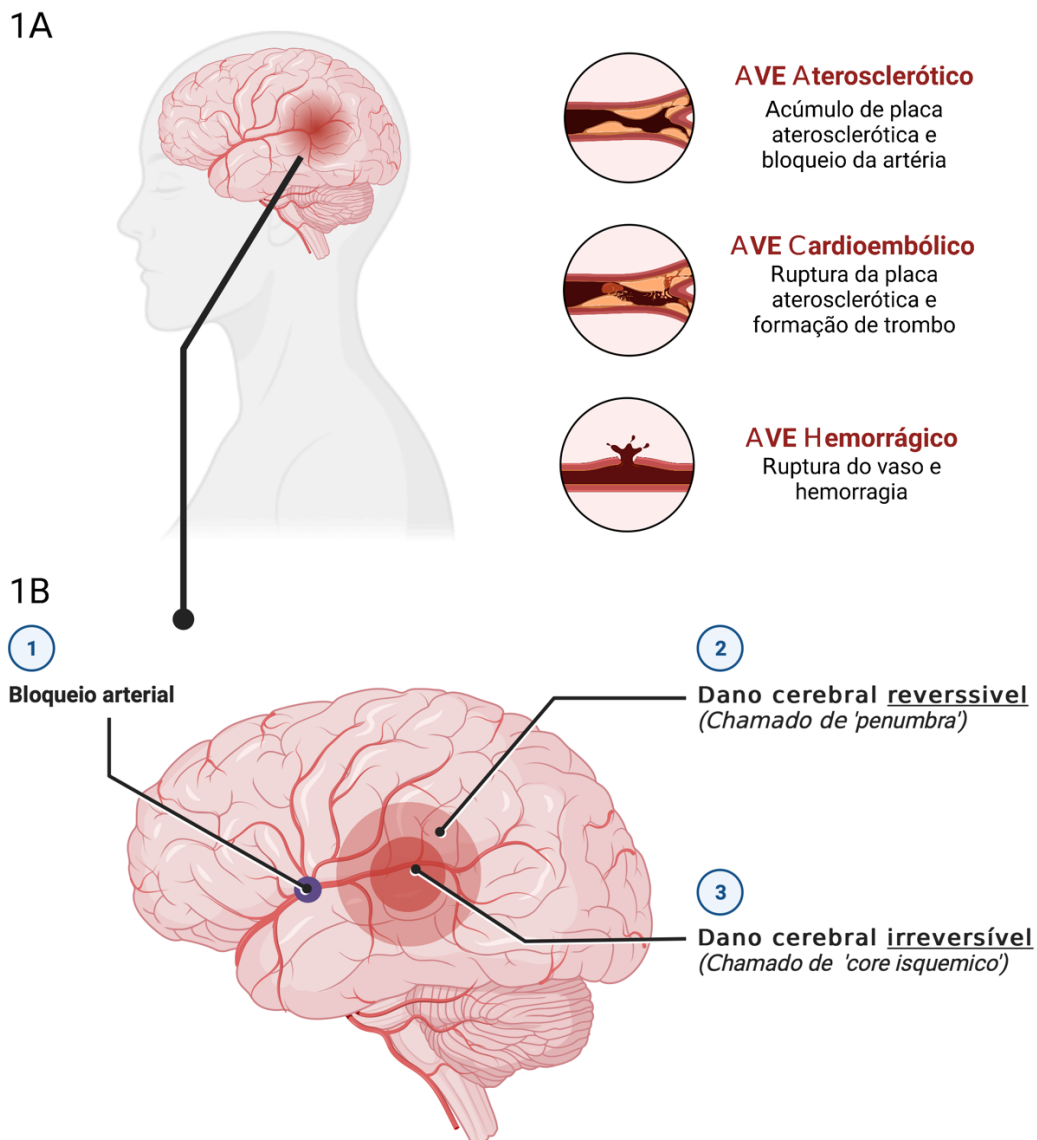


Figura 1. Tipo de acidente vascular encefálico (A) e esquema representativo da lesão (B).

Nesse sentido, a fisiopatologia do dano cerebral isquêmico envolve a ativação de uma série de vias de sinalização prejudiciais ao neurônio. De início, a privação de oxigênio e suprimento de glicose para o tecido cerebral levam a uma falha imediata de bombas e canais de íons dependentes de energia, resultando na despolarização celular sustentada e liberação de concentrações potencialmente tóxicas de

neurotransmissores excitatórios e, subsequentemente, morte dos neurônios. Essa atividade elétrica exacerbada está intimamente ligada ao fluxo de sangue para o cérebro, em escala espaço-temporal, que é muitas vezes referido como acoplamento neurovascular (15). Se o fluxo sanguíneo for interrompido, há uma disfunção dessa unidade, o que leva metabolicamente a um desequilíbrio elétrico no cérebro (15,16).

A liberação excessiva do neurotransmissor excitatório glutamato é, sem dúvida, um elemento primordial que inicia a progressão do dano cerebral através da ativação dos receptores pós-sinápticos do tipo NMDA (do inglês, *N-methyl-D-aspartat*), AMPA (do inglês, *α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid*) e canais de cálcio (Ca^{2+}) dependentes de voltagem tipo L (17,18). O influxo de cálcio intracelular através desses receptores leva à ativação de uma série de cascatas de sinalização intracelular (por exemplo, despolarização mitocondrial, ativação da fosfolipase A2, catálise do ácido araquidônico pela ciclooxygenase-2 e ativação da NADPH oxidase (do inglês, *nicotinamide adenine dinucleotide phosphate*), resultando em um aumento da geração de radicais livres (19).

Somado a esses eventos, o aumento do estresse oxidativo causado pelos radicais livres é ainda agravado pela restauração do suprimento de oxigênio após a reperfusão (conhecido como dano de reperfusão), induzindo peroxidação lipídica, oxidação de proteínas e danos ao DNA (do inglês, *deoxyribonucleic acid*) durante a isquemia e reperfusão (19). Além disso, ocorre a liberação de moléculas nocivas induzida por estresse oxidativo que causam danos a membrana celular (conhecido como padrões moleculares associados a danos [DAMPS]) que desencadeiam resposta inflamatória com ativação da micróglia, aumento da permeabilidade da barreira hematoencefálica (BHE) e infiltração periférica de células imunes (20,21).

Evidências crescentes indicam que a inflamação pós-isquêmica pode ser uma das responsáveis pela progressão secundária do dano cerebral por isquemia, e a gravidade do resultado do AVE parece depender da extensão dessa resposta inflamatória (22–24). Além disso, é importante destacar, também, que as lesões causadas pelos AVE isquêmicos não são visualizadas em exames de imagem de rotina pelo menos nas primeiras 12-24h, após o início do evento, o que torna o monitoramento cerebral em tempo real imprescindível para estabelecer estratégias eficazes de tratamento e previsão de desfecho (25).

Com os avanços nos equipamentos de monitoramento da função cerebral não invasiva, várias modalidades eficientes de imagem e ferramentas de avaliação foram desenvolvidas para monitorar e avaliar a condição cerebral pós-AVE. Entre eles, a tomografia computadorizada (TC) e a ressonância magnética (RM) são as modalidades mais utilizadas devido a sua sensibilidade às alterações isquêmicas ou hemorrágicas e ao fornecimento de informações estruturais (26). Por isso, recomenda-se que os pacientes admitidos em hospitais com suspeita de acidente vascular cerebral sejam submetidos a uma avaliação imediata por imagem cerebral (27).

No entanto, essas modalidades de neuroimagem são caras e podem não estar disponíveis em alguns serviços, além de dependerem da estabilidade hemodinâmica do paciente. Assim, o uso de TC ou RM para monitoramento repetitivo também é limitado, apesar de serem as ferramentas diagnósticas de escolha para a detecção de AVE, na emergência (27). Contudo, essas ferramentas não avaliam o estado funcional do cérebro, embora forneçam informações anatômicas detalhadas. Como fator restritivo, a exposição à radiação ionizante torna-se contraindicado o monitoramento repetido da lesão por esses métodos, associado aos altos custos, o que limitam sua viabilidade como uma ferramenta de acompanhamento (28).

Nesse contexto, surge a eletroencefalografia (EEG), um exame que mede diretamente a atividade cortical e reflete as informações espaço-temporais do cérebro de forma precisa. Comparado a outras técnicas de imagem cerebral, é relativamente barata, simples e quase não tem contraindicações. Além disso, oferece uma alta resolução temporal e fornece informações eletrofisiológicas, de forma complementar, que outras modalidades de imagem ou exames clínicos não fornecem (29). Especificamente, o EEG permite a avaliação do cérebro em tempo real e quantifica a função cerebral de forma objetiva, independentemente da cooperação ou do estado hemodinâmico do paciente (30).

Além disso, o EEG reflete as correntes extracelulares principalmente dos dendritos das células piramidais corticais e tem sido relatado como sensível o suficiente para detectar alterações isquêmicas cerebrais (Figura 2) (31). Consequentemente, inúmeros estudos de EEG foram realizados nas últimas décadas que se concentraram em avaliar a função cerebral e identificar os biomarcadores de

EEG relacionados a lesões e recuperação cerebral (32). Ainda, vários relatos indicam que o EEG quantificado com base na análise do espectro de potência permite categorização da gravidade do AVE e previsão de desfecho clínico (32–35). Além disso, a avaliação da conectividade cerebral através da quantificação da assimetria espectral entre os hemisférios não apenas se correlaciona com o grau da lesão, mas também fornece informações sobre a reorganização cerebral (36).

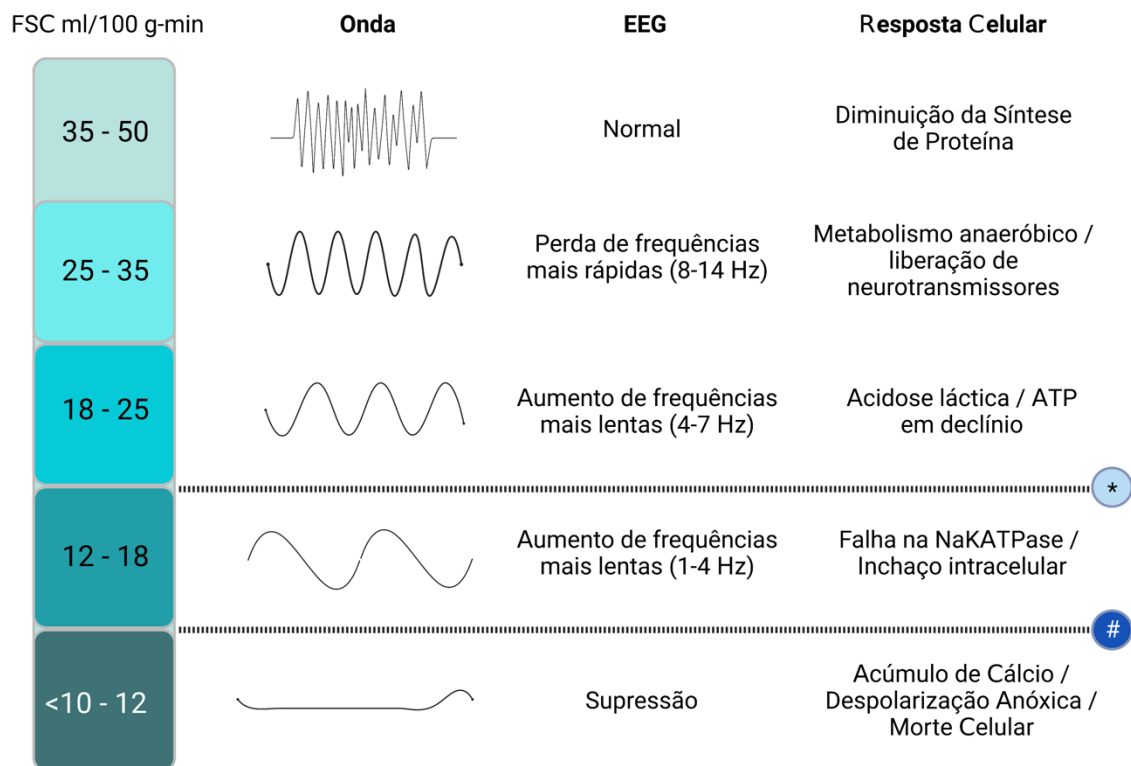


Figura 2. A relação do fluxo sanguíneo cerebral (FSC) com o eletroencefalograma (EEG). Adenosina trifosfato (ATP). Bomba de Sódio e Potássio (NaKATPase). *: Limiar de isquemia. #: Limiar de infarto. Adaptado de Foreman e Claassen (37).

A prevenção secundária do AVE é uma das questões mais importantes na fase subaguda, uma vez que a transformação hemorrágica ou o reinfarto podem piorar o prognóstico, principalmente em homens e mulheres menopausadas (38,39). Portanto, a avaliação sequencial do estado neurológico e a detecção precoce da progressão do AVE são primordiais na admissão e no acompanhamento durante a internação. No entanto, no AVE, poucos estudos focaram em monitorar o cérebro diretamente e continuamente, bem como em terapias experimentais (40,41), e não há estudos suficientes que avaliem as correlações da lesão anatômica do cérebro com os

resultados do EEG, já que a maioria dos estudos acerca do uso da EEG foram direcionados, apenas, aos desfechos clínicos.

Nos últimos relatórios da AHA/ASA o AVE se encontra como a quarta, entre as cinco principais, causa de morte em mulheres adultas, compreendendo o intervalo de 18-60 anos; e após esse intervalo passa a responder como a segunda maior causa (2,4). Apesar da incidência elevada, a severidade do AVE durante a menacme, período reprodutivo da mulher e de maior concentração de estrogênios, é menor, quando comparado ao gênero oposto em períodos de idade semelhantes, porém esse desfecho muda completamente com início da menopausa. Dada a falência ovariana, as mulheres passam a apresentar um risco maior e com quadros isquêmicos mais severos, tão graves quanto dos homens (39).

Essa proteção cerebral durante o período reprodutivo da mulher pode estar relacionada aos hormônios ovarianos circulantes, sobretudo o estrogênio (17β -estradiol), principal hormônio feminino biologicamente ativo (39,42,43). Ele pode agir em diversos sistemas; na fisiologia vascular, os esteroides sexuais femininos atuam no controle da reatividade vascular e do fluxo sanguíneo cerebral, além de poder influenciar nos mecanismos seletivos da BHE; do contrário, também podem favorecer a formação de lesões endoteliais e eventos trombóticos (44).

Na perspectiva do AVE, o 17β -estradiol possui importante efeito vasodilatador, além de reduzir a vasoconstrição induzida pelas citocinas inflamatórias liberadas no microambiente infartado. Além disso, o seu uso terapêutico de forma experimental em modelos de isquemia cerebral tem demonstrado efeitos protetores e com perspectivas promissoras (45). Nesse sentido, diversos estudos têm caracterizado os mecanismos pelos quais o 17β -estradiol desenvolve seu efeito benéfico na lesão isquêmica, sendo qualificado como um agente pleiotrópico, ativando vias por ações lentas (genômicas) e rápidas (não-genômicas) (43,45–47).

Essas ações por via genômicas se dão pelos receptores estrogênicos (ER; do inglês, *estrogen receptor*) clássicos do tipo alfa e beta ($ER\alpha$ e $ER\beta$), os quais podem ser ativados tanto a nível citoplasmático, como nuclear, tendo como alvo, por exemplo, a ativação de via de sinalização de proliferação celular, reprodução, sobrevivência, crescimento e outras, que podem levar horas ou dias para se efetivarem (48,49). Essas ações genômicas clássicas através dos receptores nucleares de estrogênio

envolvem dimerização do receptor após a ativação do ligante e eventual ligação aos elementos de resposta ER nos promotores de genes-alvo para facilitar a regulação da expressão gênica (50,51). Não obstante, a via rápida é mediada pelo receptor de estrógeno acoplado a proteína G (GPER; do inglês, *G protein-coupled estrogen receptor*) e autores tem relatado que o efeito neuroprotetor do 17 β -estradiol seja mediado, principalmente, pelo GPER, exercendo seus efeitos na ativação de vias anti-apoptóticas e de regulação de atividade glial (46,52–55).

De início, as ações do 17 β -estradiol, como um importante modulador dos eventos complexos que regulam as funções fisiológicas em múltiplos tecidos, são mediadas por seus múltiplos receptores, já mencionados. Além das respostas genômicas, o 17 β -estradiol também evoca sinalização não genômica rápida através de outro ER, o receptor de estrogênio acoplado à proteína G (GPER, anteriormente conhecido como GPR30) (56,57).

Dessa forma, o GPER que inicialmente foi apontado como um receptor órfão (58), demonstrou ser um receptor que liga fortemente ao 17 β -estradiol e com alta afinidade e ativa várias vias não genômicas, bem como genômicas (56,59,60), sendo expresso em diversos tipos de células e tecidos, incluindo tecidos reprodutivos, endócrinos, hematopoiéticos, adiposos, muscular esquelético, sistema nervoso central, coração, intestino e células inflamatórias (61). Não somente isso, relatos adicionais indicam que a estimulação do GPER ativa uma infinidade de vias de sinalização celular, incluindo MAPK (do inglês, *mitogen activated protein kinases*), PKC (do inglês, *protein kinase C*), PI3K (do inglês, *phosphatidylinositol-3-kinase*), adenilil ciclase, eNOS (do inglês, *endothelial nitric oxide synthase*) e mobilização de Ca²⁺ intracelular (60,62–64). No entanto, apesar da presença em diversos sistemas, ele não modula ações voltadas ao desenvolvimento de características sexuais secundárias femininas, o que poderia ser um estratégia farmacológica importante para ambos os sexos (65).

No cérebro, o GPER possui alta densidade (receptor/área) em regiões cerebrais importante, como nas áreas corticais e hipocampal, com forte expressão também observada no tronco encefálico, tálamo e estriado dorsal (66,67). Estudos que exploraram o papel e as funções do GPER no cérebro empregaram G1, um agonista sintético seletivo para GPER, com o intuito de entender as funções

fisiológicas do receptor nessas regiões em ambos os sexos e como elas se relacionam com neuropatologias ainda são escassos (68,69). Importante destacar que os relatos na literatura mostram que a ligação do GPER via administração de G1 pode ativar rapidamente as vias de sinalização rápida da quinase PI3K-Akt e MEK-ERK no hipocampo e exercer forte neuroproteção contra o dano cerebral isquêmico (67).

Nesse sentido, o objetivo geral do trabalho se concentrou em avaliar os possíveis efeitos neurorreparadores mediados pelo receptor de estrógeno acoplado à proteína G em modelo murino de isquemia cerebral focal transitória. Além disso, os objetivos específicos se concentraram em avaliar os desfechos comportamentais; o traçado eletroencefalográfico e decomposição das ondas cerebrais; além de investigar os achados histopatológicos (área de infarto e reatividade glial) e as alterações bioquímicas de estresse oxidativo em ratos machos submetidos à isquemia cerebral focal transitória e tratados com G1;

No próximo tópico segue a sequência de 3 artigos publicados/submetidos em ordem cronológica dos experimentos. No artigo 1 é abordado a caracterização das ondas cerebrais no período agudo de isquemia e reperfusão e como essas ondas se comportaram no período subagudo. No Manuscrito 1 avaliamos a participação do G1, agonista GPER, na isquemia cerebral e a relação com as ondas cerebrais, comportamento, área de lesão e densidade neuronal. No Manuscrito 2, avaliamos os aspectos celulares, com a utilização de técnicas avançadas de estudo de biológica molecular, como RNA de interferência para avaliar a ausência do receptor no processo de isquemia celular.

2. ARTIGO 1: Aumento da Potência Relativa da Banda Delta e Índices Delta Revelados pelo Monitoramento Contínuo de qEEG em Modelo Murino de Isquemia-Reperfusão



Increased Relative Delta Bandpower and Delta Indices Revealed by Continuous qEEG Monitoring in a Rat Model of Ischemia-Reperfusion

Luan Oliveira Ferreira¹, Bruna Gerrits Mattos¹, Vanessa Jôia de Mello², Arnaldo Jorge Martins-Filho³, Edmar Tavares da Costa¹, Elizabeth Sumi Yamada¹, Moisés Hamoy² and Dielly Catrina Favacho Lopes^{1*}

¹ Laboratory of Experimental Neuropathology, João de Barros Barreto University Hospital, Federal University of Pará, Belém, Brazil, ² Laboratory of Pharmacology and Toxicology of Natural Products, Institute Biological Science, Federal University of Pará, Belém, Brazil, ³ Pathology Section, Evandro Chagas Institute, Ananindeua, Brazil

OPEN ACCESS

Edited by:

Johannes Boltze,
University of Warwick,
United Kingdom

Reviewed by:

Nahid Aboutaleb,
Iran University of Medical
Sciences, Iran
Jiangwen Yin,
Sichuan University, China

*Correspondence:

Dielly Catrina Favacho Lopes
dclopes@ufpa.br

Specialty section:

This article was submitted to
Stroke,
a section of the journal
Frontiers in Neurology

Received: 11 January 2021

Accepted: 11 March 2021

Published: 07 April 2021

Citation:

Ferreira LO, Mattos BG, Jôia de Mello V, Martins-Filho AJ, Costa ET, Yamada ES, Hamoy M and Lopes DCF (2021) Increased Relative Delta Bandpower and Delta Indices Revealed by Continuous qEEG Monitoring in a Rat Model of Ischemia-Reperfusion. *Front. Neurol.* 12:645138. doi: 10.3389/fneur.2021.645138

The present study describes the electroencephalographic changes that occur during cerebral ischemia and reperfusion in animals submitted to transient focal cerebral ischemia by middle cerebral artery occlusion (MCAO) for 30 min. For this, male Wistar rats were divided into two groups ($n = 6$ animals/group): (1) sham (control) group, and (2) ischemic/reperfusion group. The quantitative electroencephalography (qEEG) was recorded during the ischemic and immediate reperfusion (acute) phases, and then once a day for 7 days after the MCAO (subacute phase). The acute phase was characterized by a marked increase in the relative delta wave band power ($p < 0.001$), with a smaller, but significant increase in the relative alpha wave bandpower in the ischemic stroke phase, in comparison with the control group ($p = 0.0054$). In the immediate reperfusion phase, however, there was an increase in the theta, alpha, and beta waves bandpower ($p < 0.001$), but no alteration in the delta waves ($p = 0.9984$), in comparison with the control group. We also observed high values in the delta/theta ratio (DTR), the delta/alpha ratio (DAR), and the (delta+theta)/(alpha+beta) ratio (DTABR) indices during the ischemia ($p < 0.05$), with a major reduction in the reperfusion phase. In the subacute phase, the activity of all the waves was lower than that of the control group ($p < 0.05$), although the DTR, DAR, and DTABR indices remained relatively high. In conclusion, early and accurate identification of decreased delta wave bandpower, DTR, DAR, and DTABR indices, and an increase in the activity of other waves in the immediate reperfusion phase may represent an important advance for the recognition of the effectiveness of reperfusion therapy.

Keywords: quantitative electroencephalography, ischemic stroke, middle cerebral artery occlusion, delta wave, brain injury, delta/alpha ratio

INTRODUCTION

Worldwide, stroke is one of the main causes of motor and functional impairment, adult-onset disability (1), and reduced quality of life (2). In the acute phase of cerebral ischemia, however it can be difficult to predict whether individuals with severe neurological deficits will recover their functions fully or partially, or whether they will die (3). Although the anatomical location and the

3. MANUSCRITO 1: G1, agonista de GPER1, reduz a lesão cerebral, melhora o qEEG e o resultado comportamental após acidente vascular cerebral isquêmico (Manuscrito)

G1, GPER1 agonist, reduces brain injury, improves the qEEG and the behavioral outcome following ischemic stroke

Luan Oliveira Ferreira, MD¹, Rafael Dias de Souza¹, Leonan Lima Teixeira¹, Laine Celestino Pinto, PhD¹, Joao Cleiton Martins Rodrigues¹, Arnaldo Jorge Martins-Filho, PhD², Edmar Tavares da Costa, PhD¹, Moisés Hamoy, PhD³ and Dielly Catrina Favacho Lopes, PhD^{1*}

¹ Laboratory of Experimental Neuropathology, Joao de Barros Barreto University Hospital, Federal University of Pará, Belém, Brazil;

² Pathology Section, Evandro Chagas Institute, Ananindeua, Brazil.

³ Laboratory of Pharmacology and Toxicology of Natural Products, Biological Sciences Institute, Federal University of Pará, Belém, Brazil;

* Send correspondence to: Dielly Catrina Favacho Lopes, PhD, Laboratory of Experimental Neuropathology, Joao de Barros Barreto University Hospital, Rua dos Mundurucus, 4487, Guamá, Belém, 66073-000 Brasil. Email: dclopes@ufpa.br

Funding: This work was funded in part by PROPESP-UFPA.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

Abstract: Stroke is one of the main cerebrovascular diseases and accounts for the majority of functional impairments in the elderly population. Recent discoveries have instituted the electroencephalographic (EEG) as part of the complementary and prognostic evaluation. The present study describes the EEG, behavioral, and histological changes that occur following cerebral ischemia associated with treatment by G1, the agonist of the G protein-coupled estrogen receptor 1 (GPER1). In this sense, treatment with G1 attenuated the neurological deficits induced by ischemic stroke from the second day onward, and reduced the size of the infarction. The G1 treatment also improved the total brainwave power, as well as the theta and alpha wave activity specifically, and restored the delta bandpower to levels similar to those observed in the control groups. Moreover, G1 treatment also was capable to attenuate the peaks of harmful activity observed in the EEG indices. These improvements in the brainwave activities indicate that GPER1 plays a fundamental role in the mediation of cerebral injury and in the behavioral outcome of ischemic brain injury, suggesting that treatment with G1 may be a pharmacological strategy for the therapy of stroke in the future.

Keywords: stroke; MCAO; GPER1; neuroprotection, estrogen.

4. MANUSCRITO 2: A ativação do receptor de estrogênio acoplado à proteína G atenua o dano neuronal induzido por isquemia (Manuscrito)



1 **G-protein Coupled Estrogen Receptor Activation Attenuates Ischemia-** 2 **induced Neuronal Damage**

3 **Dielly C. F. Lopes^{1,2}; Luan O. Ferreira^{1,2}; Erica A. Duque¹; Marília B. Malta¹; Cristoforo**
4 **Scavone³; Carolina D. Munhoz^{1*}**

5 ¹Laboratório de Neuroendocrinofarmacologia e Imunomodulação, Instituto de Ciências Biomédicas,
6 Departamento de Farmacologia, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brazil.

7 ²Laboratório de Neuropatologia Experimental, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal
8 do Pará, Belém, Brazil.

9 ³Laboratório de Neurofarmacologia Molecular, Instituto de Ciências Biomédicas, Departamento de
10 Farmacologia, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brazil.

11
12 *** Correspondence:**
13 Carolina D. Munhoz
14 cdmunhoz@usp.br

15 **Keywords: Glia, neuroprotection, oxygen/glucose deprivation, reperfusion; stroke**

16

5. CONCLUSÕES INTEGRADORAS

Assim, os resultados apresentados mostram que a aplicação de G1, um agonista seletivo de GPER1, modula positivamente a atividade elétrica no cérebro após acidente vascular cerebral isquêmico. Esses achados representam um grande avanço para o acompanhamento da lesão cerebral, uma vez que informações valiosas sobre a atividade cerebral podem ser obtidas sem submeter o paciente a procedimentos cirúrgicos ou exames de imagem desnecessários. A soma das evidências aqui apresentadas indica que o GPER1 desempenha um papel fundamental na mediação da lesão cerebral e no resultado comportamental da lesão cerebral isquêmica.

Além disso, nossos achados reforçam que a ativação do GPER1 é crucial para os efeitos neuroprotetores induzidos por E2 no AVE. Nossos resultados também reforçam que as terapias têm uma janela de oportunidade precisa para atenuar os danos pós-AVE. A busca por novos agonistas do GPER1 pode revolucionar o atual paradigma terapêutico e melhorar substancialmente os desfechos e o prognóstico do AVE, inclusive em pacientes do sexo masculino.

6. REFERÊNCIAS

1. Feske SK. Ischemic Stroke. *Am J Med* (2021) **134**:1457–1464. doi:10.1016/j.amjmed.2021.07.027
2. Donkor ES. Stroke in the 21st Century: A Snapshot of the Burden, Epidemiology, and Quality of Life. *Stroke Res Treat* (2018) **2018**:1–10. doi:10.1155/2018/3238165
3. Katan M, Luft A. Global Burden of Stroke. *Semin Neurol* (2018) **38**:208–211. doi:10.1055/s-0038-1649503
4. Virani SS, Alonso A, Benjamin EJ, Bittencourt MS, Callaway CW, Carson AP, Chamberlain AM, Chang AR, Cheng S, Delling FN, et al. Heart Disease and Stroke Statistics—2020 Update: A Report From the American Heart Association. *Circulation* (2020) **141**: doi:10.1161/CIR.0000000000000757
5. Global, Regional, and Country-Specific Lifetime Risks of Stroke, 1990 and 2016. *N Engl J Med* (2018) **379**:2429–2437. doi:10.1056/NEJMoa1804492
6. O'Donnell MJ, Chin SL, Rangarajan S, Xavier D, Liu L, Zhang H, Rao-Melacini P, Zhang X, Pais P, Agapay S, et al. Global and regional effects of potentially modifiable risk factors associated with acute stroke in 32 countries (INTERSTROKE): a case-control study. *Lancet* (2016) **388**:761–775. doi:10.1016/S0140-6736(16)30506-2
7. Boehme AK, Esenwa C, Elkind MSV. Stroke Risk Factors, Genetics, and Prevention. *Circ Res* (2017) **120**:472–495. doi:10.1161/CIRCRESAHA.116.308398
8. Benjamin EJ, Muntner P, Alonso A, Bittencourt MS, Callaway CW, Carson AP, Chamberlain AM, Chang AR, Cheng S, Das SR, et al. Heart Disease and Stroke Statistics—2019 Update: A Report From the American Heart Association. *Circulation* (2019) **139**: doi:10.1161/CIR.0000000000000659
9. Lawes CM, Hoorn S Vander, Rodgers A. Global burden of blood-pressure-related disease, 2001. *Lancet* (2008) **371**:1513–1518. doi:10.1016/S0140-6736(08)60655-8
10. Amarenco P, Bogousslavsky J, Caplan LR, Donnan GA, Hennerici MG. Classification of Stroke Subtypes. *Cerebrovasc Dis* (2009) **27**:493–501. doi:10.1159/000210432
11. Donnan GA, Fisher M, Macleod M, Davis SM. Stroke. *Lancet (London, England)* (2008) **371**:1612–23. doi:10.1016/S0140-6736(08)60694-7
12. Astrup J, Siesjo BK, Symon L. Thresholds in cerebral ischemia - the ischemic penumbra. *Stroke* (1981) **12**:723–725. doi:10.1161/01.STR.12.6.723
13. Dirnagl U, Iadecola C, Moskowitz MA. Pathobiology of ischaemic stroke : an integrated view. (1999)391–397.
14. Ramos-Cabrera P, Campos F, Sobrino T, Castillo J. Targeting the Ischemic Penumbra. *Stroke* (2011) **42**: doi:10.1161/STROKEAHA.110.596684
15. Guhathakurta D, Dutta A. Computational Pipeline for NIRS-EEG Joint Imaging

- of tDCS-Evoked Cerebral Responses—An Application in Ischemic Stroke. *Front Neurosci* (2016) **10**: doi:10.3389/fnins.2016.00261
16. Povlsen GK, Longden TA, Bonev AD, Hill-Eubanks DC, Nelson MT. Uncoupling of neurovascular communication after transient global cerebral ischemia is caused by impaired parenchymal smooth muscle K_{ir} channel function. *J Cereb Blood Flow Metab* (2016) **36**:1195–1201. doi:10.1177/0271678X16638350
 17. Fann DY-W, Lee S-Y, Manzanero S, Chunduri P, Sobey CG, Arumugam T V. Pathogenesis of acute stroke and the role of inflammasomes. *Ageing Res Rev* (2013) **12**:941–966. doi:10.1016/j.arr.2013.09.004
 18. Brait VH, Arumugam T V, Drummond GR, Sobey CG. Importance of T Lymphocytes in Brain Injury, Immunodeficiency, and Recovery after Cerebral Ischemia. *J Cereb Blood Flow Metab* (2012) **32**:598–611. doi:10.1038/jcbfm.2012.6
 19. Sun M-S, Jin H, Sun X, Huang S, Zhang F-L, Guo Z-N, Yang Y. Free Radical Damage in Ischemia-Reperfusion Injury: An Obstacle in Acute Ischemic Stroke after Revascularization Therapy. *Oxid Med Cell Longev* (2018) **2018**:1–17. doi:10.1155/2018/3804979
 20. Gülke E, Gelderblom M, Magnus T. Danger signals in stroke and their role on microglia activation after ischemia. *Ther Adv Neurol Disord* (2018) **11**:175628641877425. doi:10.1177/1756286418774254
 21. Banjara M, Ghosh C. Sterile Neuroinflammation and Strategies for Therapeutic Intervention. *Int J Inflam* (2017) **2017**:1–20. doi:10.1155/2017/8385961
 22. Veltkamp R, Gill D. Clinical Trials of Immunomodulation in Ischemic Stroke. *Neurotherapeutics* (2016) **13**:791–800. doi:10.1007/s13311-016-0458-y
 23. Lakhan SE, Kirchgessner A, Hofer M. Inflammatory mechanisms in ischemic stroke: therapeutic approaches. *J Transl Med* (2009) **7**:97. doi:10.1186/1479-5876-7-97
 24. Chamorro Á, Meisel A, Planas AM, Urra X, van de Beek D, Veltkamp R. The immunology of acute stroke. *Nat Rev Neurol* (2012) **8**:401–410. doi:10.1038/nrneurol.2012.98
 25. Finnigan SP, Rose SE, Chalk JB. Rapid EEG changes indicate reperfusion after tissue plasminogen activator injection in acute ischaemic stroke. *Clin Neurophysiol* (2006) **117**:2338–2339. doi:10.1016/j.clinph.2006.06.718
 26. Provost C, Soudant M, Legrand L, Ben Hassen W, Xie Y, Soize S, Bourcier R, Benzakoun J, Edjlali M, Boulouis G, et al. Magnetic Resonance Imaging or Computed Tomography Before Treatment in Acute Ischemic Stroke. *Stroke* (2019) **50**:659–664. doi:10.1161/STROKEAHA.118.023882
 27. Powers WJ, Rabinstein AA, Ackerson T, Adeoye OM, Bambakidis NC, Becker K, Biller J, Brown M, Demaerschalk BM, Hoh B, et al. 2018 Guidelines for the Early Management of Patients With Acute Ischemic Stroke: A Guideline for Healthcare Professionals From the American Heart Association/American Stroke Association. *Stroke* (2018) **49**: doi:10.1161/STR.000000000000158

28. Borich MR, Brown KE, Lakhani B, Boyd LA. Applications of Electroencephalography to Characterize Brain Activity. *J Neurol Phys Ther* (2015) **39**:43–51. doi:10.1097/NPT.0000000000000072
29. Sejnowski TJ, Churchland PS, Movshon JA. Putting big data to good use in neuroscience. *Nat Neurosci* (2014) **17**:1440–1441. doi:10.1038/nn.3839
30. Michel CM, Murray MM. Towards the utilization of EEG as a brain imaging tool. *Neuroimage* (2012) **61**:371–385. doi:10.1016/j.neuroimage.2011.12.039
31. Finnigan S, van Putten MJAM. EEG in ischaemic stroke: Quantitative EEG can uniquely inform (sub-)acute prognoses and clinical management. *Clin Neurophysiol* (2013) **124**:10–19. doi:10.1016/j.clinph.2012.07.003
32. Finnigan S, Wong A, Read S. Defining abnormal slow EEG activity in acute ischaemic stroke: Delta/alpha ratio as an optimal QEEG index. *Clin Neurophysiol* (2016) **127**:1452–1459. doi:10.1016/j.clinph.2015.07.014
33. Finnigan SP, Walsh M, Rose SE, Chalk JB. Quantitative EEG indices of sub-acute ischaemic stroke correlate with clinical outcomes. *Clin Neurophysiol* (2007) **118**:2525–2532. doi:10.1016/j.clinph.2007.07.021
34. Cuspidada E, Machado C, Galán L, Aubert E, Alvarez MA, Llopis F, Portela L, García M, Manero JM, Ávila Y. QEEG Prognostic Value in Acute Stroke. *Clin EEG Neurosci* (2007) **38**:155–160. doi:10.1177/155005940703800312
35. Leon-Carrion J, Martin-Rodriguez JF, Damas-Lopez J, Barroso y Martin JM, Dominguez-Morales MR. Delta–alpha ratio correlates with level of recovery after neurorehabilitation in patients with acquired brain injury. *Clin Neurophysiol* (2009) **120**:1039–1045. doi:10.1016/j.clinph.2009.01.021
36. Sheorajpanday RVA, Nagels G, Weeren AJTM, De Surgeloose D, De Deyn PP. Additional value of quantitative EEG in acute anterior circulation syndrome of presumed ischemic origin. *Clin Neurophysiol* (2010) **121**:1719–1725. doi:10.1016/j.clinph.2009.10.037
37. Janszky J, Hoppe M, Clemens Z, Janszky I, Gyimesi C, Schulz R, Ebner A. Spike frequency is dependent on epilepsy duration and seizure frequency in temporal lobe epilepsy. *Epileptic Disord* (2005) **7**:355–9. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16338679>
38. Motto C, Ciccone A, Aritzu E, Boccardi E, De Grandi C, Piana A, Candelise L. Hemorrhage After an Acute Ischemic Stroke. *Stroke* (1999) **30**:761–764. doi:10.1161/01.STR.30.4.761
39. Welten SJGC, Onland-Moret NC, Boer JMA, Verschuren WMM, van der Schouw YT. Age at Menopause and Risk of Ischemic and Hemorrhagic Stroke. *Stroke* (2021) **52**:2583–2591. doi:10.1161/STROKEAHA.120.030558
40. Rogers JM, Bechara J, Middleton S, Johnstone SJ. Acute EEG Patterns Associated With Transient Ischemic Attack. *Clin EEG Neurosci* (2019) **50**:196–204. doi:10.1177/1550059418790708
41. Wu J, Srinivasan R, Burke Quinlan E, Solodkin A, Small SL, Cramer SC. Utility of EEG measures of brain function in patients with acute stroke. *J Neurophysiol* (2016) **115**:2399–2405. doi:10.1152/jn.00978.2015

42. Shao B, Cheng Y, Jin K. Estrogen, Neuroprotection and Neurogenesis after Ischemic Stroke. *Curr Drug Targets* (2012) **13**:188–198. doi:10.2174/138945012799201702
43. Sohrabji F. Estrogen-IGF-1 interactions in neuroprotection: Ischemic stroke as a case study. *Front Neuroendocrinol* (2015) **36**:1–14. doi:10.1016/j.yfrne.2014.05.003
44. Krause DN, Duckles SP, Pelligrino DA. Influence of sex steroid hormones on cerebrovascular function. *J Appl Physiol* (2006) **101**:1252–1261. doi:10.1152/japplphysiol.01095.2005
45. Liu R, Yang S-H. Window of opportunity: Estrogen as a treatment for ischemic stroke. *Brain Res* (2013) **1514**:83–90. doi:10.1016/j.brainres.2013.01.023
46. Murata T, Dietrich HH, Xiang C, Dacey RG. G protein-coupled estrogen receptor agonist improves cerebral microvascular function after hypoxia/reoxygenation injury in male and female rats. *Stroke* (2013) **44**:779–785. doi:10.1161/STROKEAHA.112.678177
47. Filardo EJ, Thomas P. Minireview: G Protein-Coupled Estrogen Receptor-1, GPER-1: Its Mechanism of Action and Role in Female Reproductive Cancer, Renal and Vascular Physiology. *Endocrinology* (2012) **153**:2953–2962. doi:10.1210/en.2012-1061
48. Schreihöfer DA, Ma Y. Estrogen receptors and ischemic neuroprotection: Who, what, where, and when? *Brain Res* (2013) **1514**:107–122. doi:10.1016/j.brainres.2013.02.051
49. Merchenthaler I, Dellovade TL, Shughrue PJ. Neuroprotection by Estrogen in Animal Models of Global and Focal Ischemia. *Ann N Y Acad Sci* (2003) **1007**:89–100. doi:10.1196/annals.1286.009
50. Dahlman-Wright K, Cavailles V, Fuqua SA, Jordan VC, Katzenellenbogen JA, Korach KS, Maggi A, Muramatsu M, Parker MG, Gustafsson J-Å. International Union of Pharmacology. LXIV. Estrogen Receptors. *Pharmacol Rev* (2006) **58**:773–781. doi:10.1124/pr.58.4.8
51. Jia M, Dahlman-Wright K, Gustafsson J-Å. Estrogen receptor alpha and beta in health and disease. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* (2015) **29**:557–568. doi:10.1016/j.beem.2015.04.008
52. Côté M, Bourque M, Poirier A-A, Aubé B, Morissette M, Di Paolo T, Soulet D. GPER1-mediated immunomodulation and neuroprotection in the myenteric plexus of a mouse model of Parkinson's disease. *Neurobiol Dis* (2015) **82**:99–113. doi:10.1016/j.nbd.2015.05.017
53. Kosaka Y, Quillinan N, Bond CT, Traystman RJ, Hurn PD, Herson PS. GPER1/GPR30 Activation Improves Neuronal Survival Following Global Cerebral Ischemia Induced by Cardiac Arrest in Mice. *Transl Stroke Res* (2012) **3**:500–507. doi:10.1007/s12975-012-0211-8
54. Guan J, Yang B, Fan Y, Zhang J. GPER Agonist G1 Attenuates Neuroinflammation and Dopaminergic Neurodegeneration in Parkinson Disease. *Neuroimmunomodulation* (2017) **24**:60–66. doi:10.1159/000478908

55. Zhao T-Z, Ding Q, Hu J, He S-M, Shi F, Ma L-T. GPER expressed on microglia mediates the anti-inflammatory effect of estradiol in ischemic stroke. *Brain Behav* (2016) **6**: doi:10.1002/brb3.449
56. Prossnitz ER, Arterburn JB, Smith HO, Oprea TI, Sklar LA, Hathaway HJ. Estrogen Signaling through the Transmembrane G Protein–Coupled Receptor GPR30. *Annu Rev Physiol* (2008) **70**:165–190. doi:10.1146/annurev.physiol.70.113006.100518
57. Levin ER. Extranuclear Steroid Receptors Are Essential for Steroid Hormone Actions. *Annu Rev Med* (2015) **66**:271–280. doi:10.1146/annurev-med-050913-021703
58. Owman C, Blay P, Nilsson C, Lolait SJ. Cloning of Human cDNA Encoding a Novel Heptahelix Receptor Expressed in Burkitt's Lymphoma and Widely Distributed in Brain and Peripheral Tissues. *Biochem Biophys Res Commun* (1996) **228**:285–292. doi:10.1006/bbrc.1996.1654
59. Barton M, Filardo EJ, Lolait SJ, Thomas P, Maggiolini M, Prossnitz ER. Twenty years of the G protein-coupled estrogen receptor GPER: Historical and personal perspectives. *J Steroid Biochem Mol Biol* (2018) **176**:4–15. doi:10.1016/j.jsbmb.2017.03.021
60. Prossnitz ER, Arterburn JB. International Union of Basic and Clinical Pharmacology. XCVII. G Protein–Coupled Estrogen Receptor and Its Pharmacologic Modulators. *Pharmacol Rev* (2015) **67**:505–540. doi:10.1124/pr.114.009712
61. Prossnitz ER, Barton M. The G-protein-coupled estrogen receptor GPER in health and disease. *Nat Rev Endocrinol* (2011) **7**:715–726. doi:10.1038/nrendo.2011.122
62. Prossnitz ER, Barton M. Estrogen biology: New insights into GPER function and clinical opportunities. *Mol Cell Endocrinol* (2014) **389**:71–83. doi:10.1016/j.mce.2014.02.002
63. Revankar CM. A Transmembrane Intracellular Estrogen Receptor Mediates Rapid Cell Signaling. *Science* (80-) (2005) **307**:1625–1630. doi:10.1126/science.1106943
64. Filardo EJ, Quinn JA, Bland KI, Frackelton AR. Estrogen-Induced Activation of Erk-1 and Erk-2 Requires the G Protein-Coupled Receptor Homolog, GPR30, and Occurs via Trans-Activation of the Epidermal Growth Factor Receptor through Release of HB-EGF. *Mol Endocrinol* (2000) **14**:1649–1660. doi:10.1210/mend.14.10.0532
65. Otto C, Rohde-Schulz B, Schwarz G, Fuchs I, Klewer M, Brittain D, Langer G, Bader B, Prelle K, Nubbemeyer R, et al. G Protein-Coupled Receptor 30 Localizes to the Endoplasmic Reticulum and Is Not Activated by Estradiol. *Endocrinology* (2008) **149**:4846–4856. doi:10.1210/en.2008-0269
66. Alexander A, Irving AJ, Harvey J. Emerging roles for the novel estrogen-sensing receptor GPER1 in the CNS. *Neuropharmacology* (2017) **113**:652–660. doi:10.1016/j.neuropharm.2016.07.003

67. Tang H, Zhang Q, Yang L, Dong Y, Khan M, Yang F, Brann DW, Wang R. GPR30 mediates estrogen rapid signaling and neuroprotection. *Mol Cell Endocrinol* (2014) **387**:52–58. doi:10.1016/j.mce.2014.01.024
68. Bologa CG, Revankar CM, Young SM, Edwards BS, Arterburn JB, Kiselyov AS, Parker MA, Tkachenko SE, Savchuck NP, Sklar LA, et al. Virtual and biomolecular screening converge on a selective agonist for GPR30. *Nat Chem Biol* (2006) **2**:207–212. doi:10.1038/nchembio775
69. Dennis MK, Field AS, Burai R, Ramesh C, Petrie WK, Bologa CG, Oprea TI, Yamaguchi Y, Hayashi S-I, Sklar LA, et al. Identification of a GPER/GPR30 antagonist with improved estrogen receptor counterselectivity. *J Steroid Biochem Mol Biol* (2011) **127**:358–366. doi:10.1016/j.jsbmb.2011.07.002

7. COMPROVANTE DE SUBMISSÃO/ACEITE DE ARTIGO CIENTÍFICO

Journal of Neuropathology and Experimental Neurology
G1, GPER1 agonist, reduces brain injury, improves the qEEG and the behavioral outcome following ischemic stroke
 --Manuscript Draft--

Manuscript Number:	
Full Title:	G1, GPER1 agonist, reduces brain injury, improves the qEEG and the behavioral outcome following ischemic stroke
Article Type:	Original Article
Keywords:	stroke; MCAO; GPER1; neuroprotection, estrogen
Corresponding Author:	Dielly Catrina Favacho Lopes, Ph.D. Universidade Federal do Para Belém, Pará BRAZIL
Corresponding Author Secondary Information:	
Corresponding Author's Institution:	Universidade Federal do Para
Corresponding Author's Secondary Institution:	
First Author:	Luan Oliveira Ferreira, MD
First Author Secondary Information:	
Order of Authors:	Luan Oliveira Ferreira, MD Rafael Dias de Souza, MSc Leonan Lima Teixeira, Undergraduation Laine Celestino Pinto, PhD João Cleiton Martins Rodrigues, Undergraduation Arnaldo Jorge Martins-Filho, PhD Edmar Tavares da Costa, PhD Moisés Hamoy, PhD Dielly Catrina Favacho Lopes, Ph.D.
Order of Authors Secondary Information:	
Abstract:	Stroke is one of the main cerebrovascular diseases and accounts for the majority of functional impairments in the elderly population. Recent discoveries have instituted the electroencephalographic (EEG) as part of the complementary and prognostic evaluation. The present study describes the EEG, behavioral, and histological changes that occur following cerebral ischemia associated with treatment by G1, the agonist of the G protein-coupled estrogen receptor 1 (GPER1). In this sense, treatment with G1 attenuated the neurological deficits induced by ischemic stroke from the second day onward, and reduced the size of the infarction. The G1 treatment also improved the total brainwave power, as well as the theta and alpha wave activity specifically, and restored the delta bandpower to levels similar to those observed in the control groups. Moreover, G1 treatment also was capable to attenuate the peaks of harmful activity observed in the EEG indices. These improvements in the brainwave activities indicate that GPER1 plays a fundamental role in the mediation of cerebral injury and in the behavioral outcome of is-chemic brain injury, suggesting that treatment with G1 may be a pharmacological strategy for the therapy of stroke in the future.

Powered by Editorial Manager® and ProduXion Manager® from Aries Systems Corporation

G-protein Coupled Estrogen Receptor Activation Attenuates Ischemia-induced Neuronal Damage.

Dielly Catrina Favacho Lopes^{1,2}, Luan O. Ferreira^{2,1}, Erica D. Duque¹, Marília B. Malta¹, Cristoforo Scavone¹, Carolina D. Munhoz^{1*}

¹Universidade de São Paulo Instituto de Ciências Biomédicas, Brazil, ²Federal University of Pará, Brazil

Submitted to Journal:
Frontiers in Molecular Neuroscience

Specialty Section:
Brain Disease Mechanisms

Article type:
Original Research Article

Manuscript ID:
1213381

Received on:
27 Apr 2023

Journal website link:
www.frontiersin.org

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) de acordo com ISBD
Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do Pará
Gerada automaticamente pelo módulo Ficat, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

O48g OLIVEIRA FERREIRA, LUAN.
G1, AGONISTA GPER, MELHORA OS DESFECHOS
NEUROLÓGICOS E HISTOPATOLÓGICOS EM MODELO
MURINO DE ISQUEMIA CEREBRAL / LUAN OLIVEIRA
FERREIRA. — 2023.
91 f. : il. color.

Orientador(a): Profª. Dra. Dielly Catrina Favacho Lopes Rêgo
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Pará,
Instituto de Ciências Biológicas, Programa de Pós-graduação em
Farmacologia e Bioquímica, Belém, 2023.

1. acidente vascular encefálico. 2. oclusão da artéria
cerebral média. 3. GPER1. 4. neuroproteção. 5. estrogênio. I.
Título.

CDD 610