

Aristimunha, D.<sup>1</sup>, Sanches, EF.<sup>2</sup>, Vanzella, C.<sup>3</sup>, Vizuete, A.<sup>3</sup>, Furtado, J.<sup>4</sup>, Gonçalves, CA<sup>3</sup>, Netto, CA<sup>3</sup>.

<sup>1</sup> Universidade do Rio Grande do Sul- Faculdade de Farmácia <sup>2</sup> Universidade do Rio Grande do Sul- PPG Neurociências <sup>3</sup> Universidade do Rio Grande do Sul- PPG Bioquímica <sup>4</sup> Universidade do Rio Grande do Sul- Faculdade de Biomedicina

## INTRODUÇÃO

A Hipóxia-isquemia neonatal (HI) é uma das principais causas de mortalidade e morbidade neurológica em recém-nascidos. A Hipóxia-isquemia decorre da isquemia (a diminuição do suprimento sanguíneo para o tecido) e da hipóxia (diminuição do teor de oxigênio tecidual)<sup>[1]</sup>. Para mimetizar a HI em roedores com desenvolvimento do Sistema Nervoso Central de humanos recém-nascidos prematuros com idade gestacional entre 24 e 28 semanas, utilizamos o modelo de HIP3<sup>[2]</sup>. Nosso grupo vem demonstrando que há influência do sexo e hemisfério sobre as consequências da lesão HI<sup>[3]</sup>. Os astrócitos apresentam fundamental importância no funcionamento encefálico, pois tem participação no metabolismo energético, ajudam na regulação do equilíbrio iônico, sintetizam o antioxidante glutatona (ou GSH), recaptam o glutamato no espaço extracelular e o convertem em glutamina por meio da glutamina sintetase (GS)<sup>[4]</sup>.

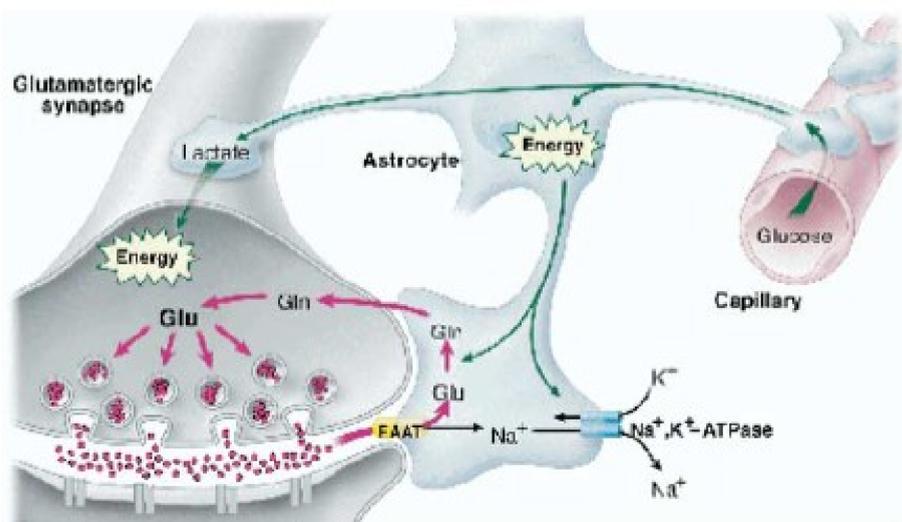


Figura 1. Desenho esquemático de uma sinapse glutamatérgica.

## OBJETIVO

Avaliar os efeitos de longo prazo da lesão HIP3 sobre parâmetros bioquímicos relacionados aos astrócitos considerando os efeitos da lateralização cerebral e do dimorfismo sexual.

## METODOLOGIA

A HI é realizada aos 3 dias após o nascimento dos animais. Ela consiste na oclusão de uma das carótidas. Após 2 horas de recuperação os animais foram colocados em uma câmara de hipóxia onde foram expostos por 90 minutos a uma atmosfera de 92% de nitrogênio e apenas 8% de oxigênio<sup>[2]</sup>.

Após a cirurgia, os animais foram divididos em 6 grupos: sham macho e fêmea, HI direita macho e fêmea e HI esquerdo macho e fêmea. Cada grupo teve entre 6 e 8 animais. Aos 90 dias após a cirurgia, foram coletadas 30µL do líquido céfalo-raquidiano (LCR) por punção da cisterna magna para análise da S100B e em seguida os animais foram decapitados para coleta do soro e hipocampo. As fatias hipocâmpais foram cortadas em chopper (300µm) e congeladas a -80°C. No dia de realização das técnicas, as amostras foram descongeladas e homogeneizadas para a realização de análises da GFAP e dos níveis de GS e GSH<sup>[4]</sup>.

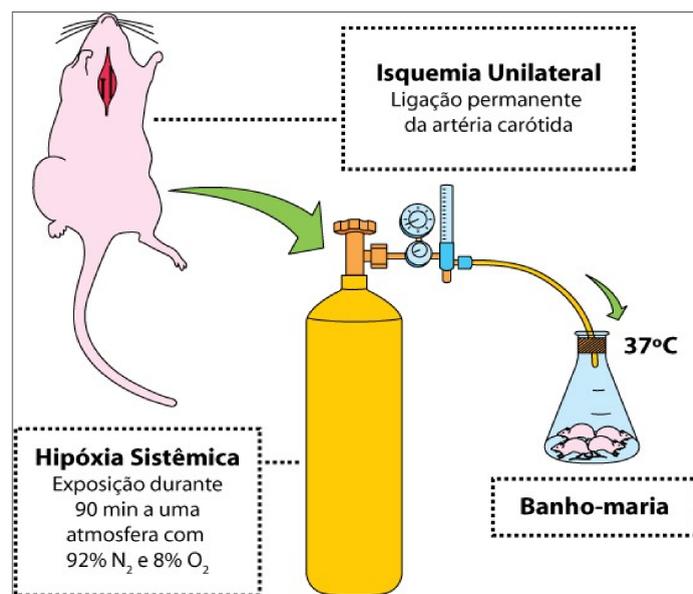


Figura 2. Representação esquemática do modelo de hipóxia-isquemia neonatal

## RESULTADOS

No LCR, houve redução do imunoconteúdo da S100B nos machos com lesão à direita. Nas fatias hipocâmpais houve aumento do imunoconteúdo da S100B nos hemisférios contralaterais à lesão. A concentração de GFAP aumentou nos hemisférios ipsilaterais à lesão (quando à direita e nas fêmeas). Os níveis da GS e da GSH foram alterados no hemisfério esquerdo dos machos (independente do hemisfério lesionado). As fêmeas mostraram aumento na formação de espécies reativas de oxigênio no hemisfério ipsilateral (independente do hemisfério lesionado).

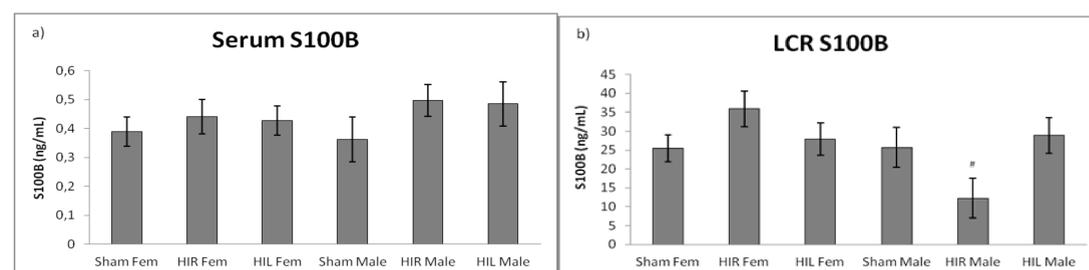


Figura 3. Imunoconteúdo de S100B no (a) soro e (b) líquido céfalo raquidiano (LCR) medido por ELISA. Valores estão expressos em média ± erro padrão de 6-8 ratos por grupo. \*Diferente de fêmea HIR e macho HIL (Anova de duas vias, seguida do teste de Duncan, p<0,05.).

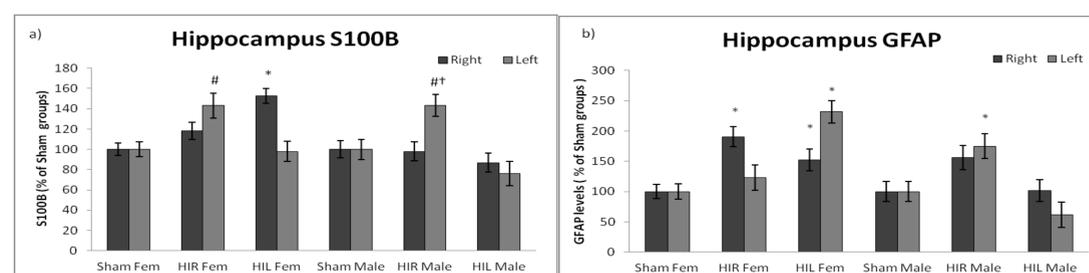


Figura 4. Conteúdo de S100B, GFAP e GS hipocâmpais em ratos submetidos a HIP3. Hipocâmpos ipsi e contra laterais foram dissecados e os conteúdos de S100B (A) e GFAP (B) glutamina sintetase © foram medidos por ELISA. Valores estão representados em porcentagem com relação ao Sham ± erro padrão de 6-8 animais por grupo. \*Diferença significativa para o grupo Sham (Anova de duas vias, seguida do teste de Duncan, p<0,05.). † Diferença entre hemisférios direito e esquerdo através de Teste-T.

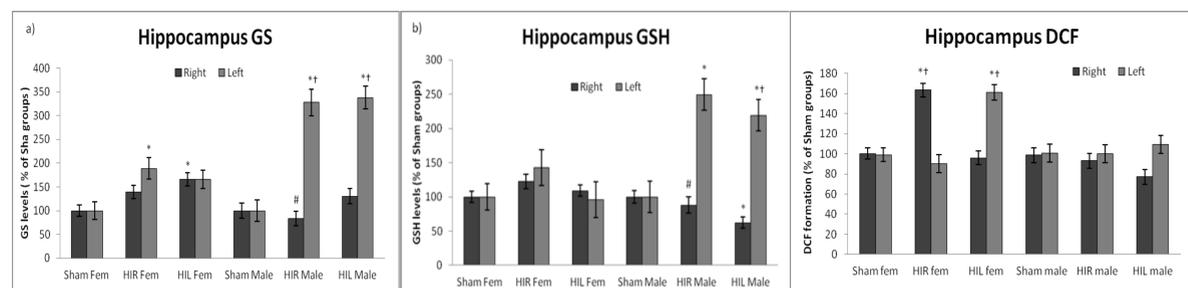


Figura 5. Níveis de Glutamina sintetase (GS) (a), glutatona (GSH) (b) e formação de DCF (c) no hipocampo de ratos submetidos a HIP# nos hipocâmpos ipsi e contralaterais (a). Valores representados em porcentagem em relação ao grupo Sham ± erro padrão de 6-8 animais por grupo. \*Diferença significativa para o grupo Sham (Anova de duas vias, seguida do teste de Duncan, p<0,05.). † Diferença entre hemisférios direito e esquerdo através de Teste-T.

## CONCLUSÕES

Nossos resultados indicam que após a HIP3 os parâmetros astrocitários permaneceram alterados mesmo 90 dias após a lesão. Além disso, as medidas hipocâmpais de todos os parâmetros astrocitários analisados (além da medida de estresse oxidativo) sofreram forte influência do dimorfismo sexual e da lateralização, corroborando os trabalhos prévios de nosso grupo.

[1] Volpe (2009) 8(1):110-24; [2] Sizonenko et al., (2003) 54:263-9 [3] Sanches et al., 2013 Neuroscience, v. 237, p. 208-15 [4] Vizuete, A., (2013), Life Sciences 92;923-8.