

A Hipóxia-isquemia neonatal causa mudanças duradouras em parâmetros de estresse oxidativo no hipocampo e no baço

Lucas Dutra Freitas
Prof. Carlos Alexandre Netto

Departamento de Bioquímica, Universidade Federal do Rio Grande do Sul

INTRODUÇÃO

A **hipóxia-isquemia** neonatal (HI) faz parte da etiologia de diversas patologias neurológicas e é causa de graves sequelas. Os mecanismos patofisiológicos dessa lesão começam imediatamente após a HI e se estendem por dias ou semanas, pelo aumento da liberação de espécies reativas de oxigênio associada a redução das defesas antioxidantes. Duas enzimas desempenham papéis fundamentais neste processo: a superóxido dismutase (SOD), que converte o superóxido em peróxido de hidrogênio; e a catalase (CAT), que catalisa a reação de peróxido de hidrogênio em água e oxigênio. O dano celular causado diretamente pela lesão e acentuado pelo estresse oxidativo provocam um processo inflamatório no qual o baço possui um papel central. Portanto, considerando a importância do estresse oxidativo e o papel fundamental que o baço desempenha na resposta inflamatória, este estudo visa investigar as mudanças nas espécies reativas de oxigênio (EROs), bem como a atividade de SOD e CAT 24h, 96h e 38 dias após o insulto.

OBJETIVOS

Avaliar o efeito da isquemia de hipoxia neonatal na formação de espécies reativas de oxigênio e na atividade de enzimas antioxidantes CAT e SOD em diferentes períodos pós-lesão no hipocampo ipsilateral, sendo o hipocampo a estrutura cerebral mais afetada, e no baço, um órgão que regula a resposta imune que é afetada pela HI

METODOLOGIA

Foram utilizados ratos Wistar no dia pós-natal 7 (DPN7), provenientes do biotério de Bioquímica (projeto aprovado no CEUA UFRGS, n. 28088).

Os animais foram avaliados em função da produção de EROs e a atividade das enzimas anti-oxidantes SOD e CAT, que foram avaliadas 24h, 96h e 38 dias após a HI. Foram divididos em dois grupos: Sham (controle cirúrgico) tiveram a carótida exposta, mas não ocluída e não sofreram hipóxia, e HI, que foram submetidos à combinação da oclusão unilateral da artéria carótida direita e, após 2 horas de repouso, exposição a uma atmosfera hipóxica (8% de O₂) durante 60 minutos (Figura 1).

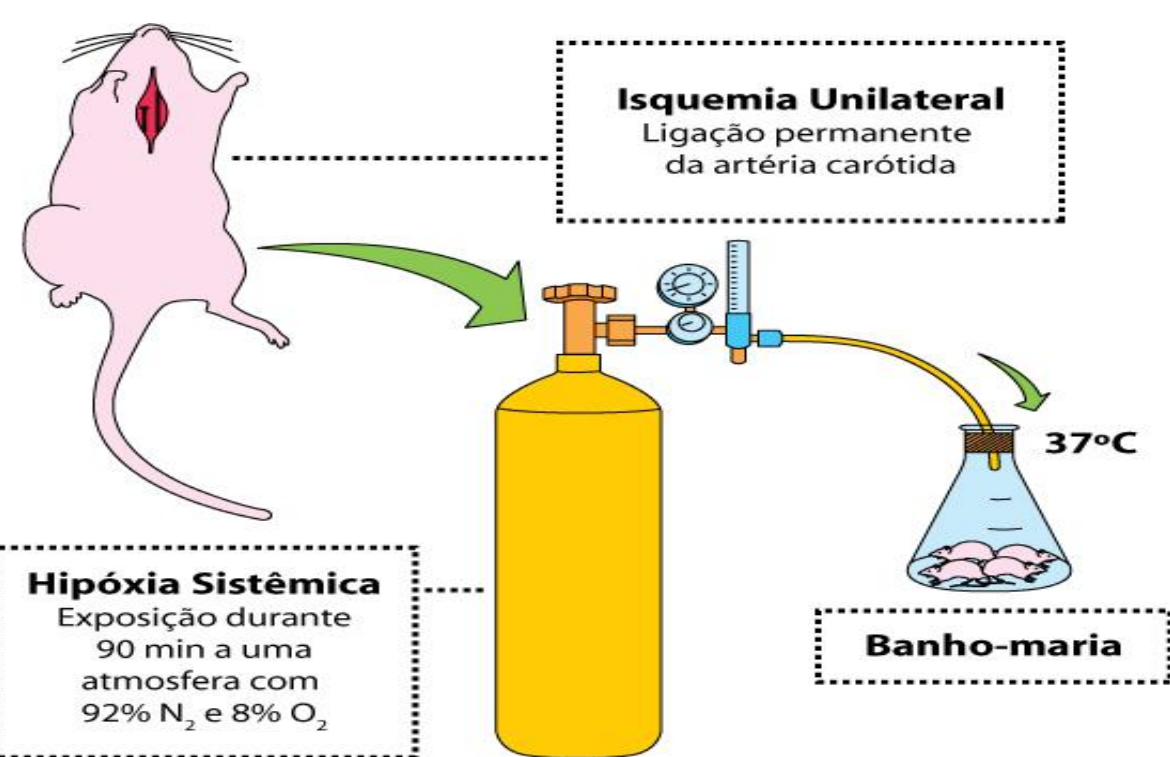


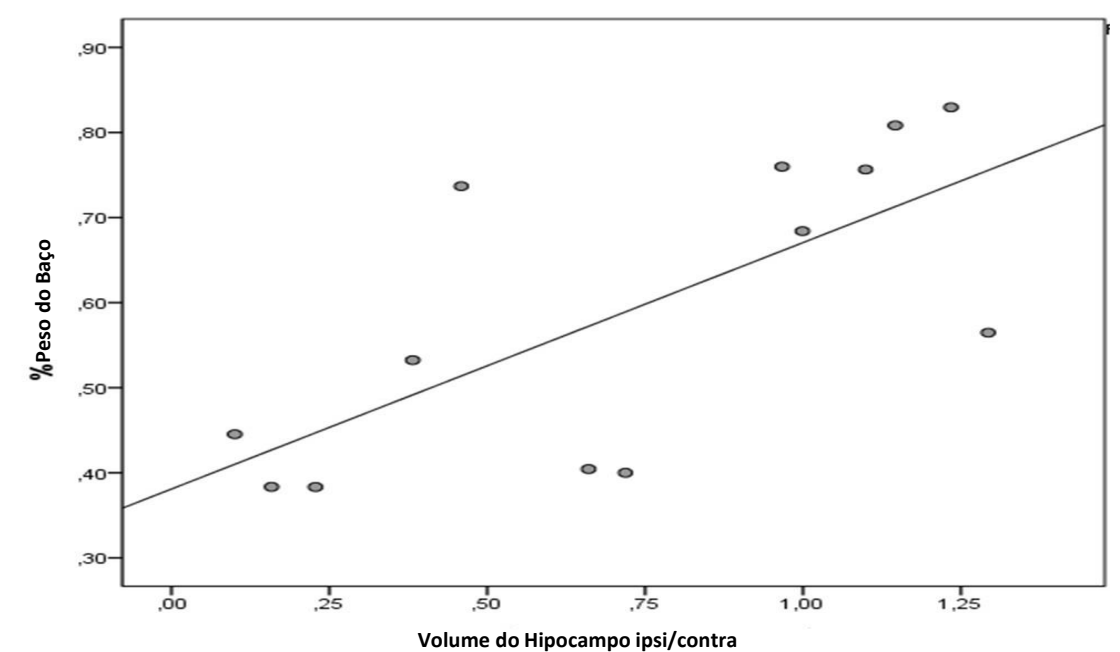
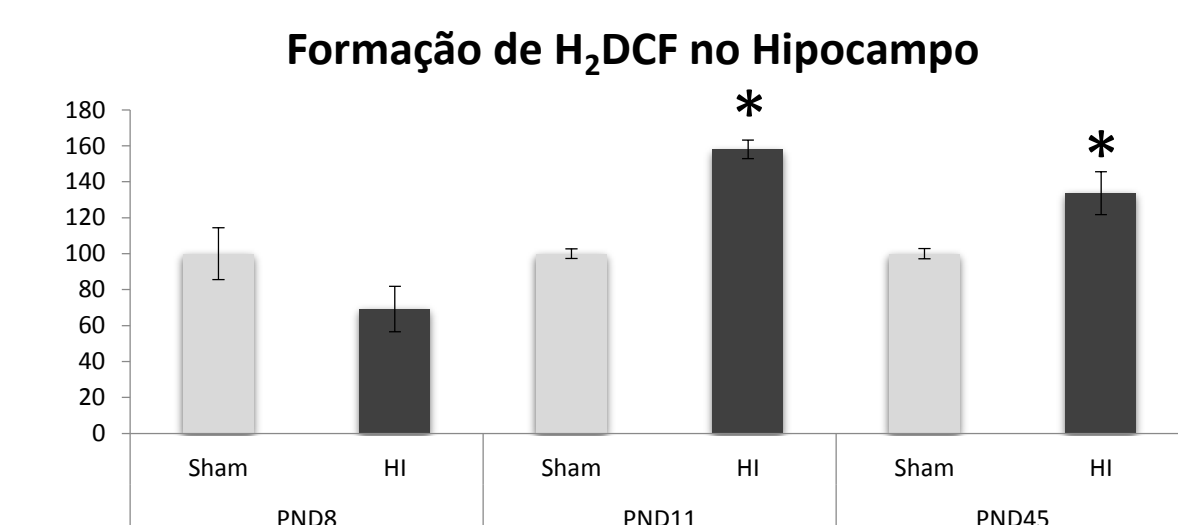
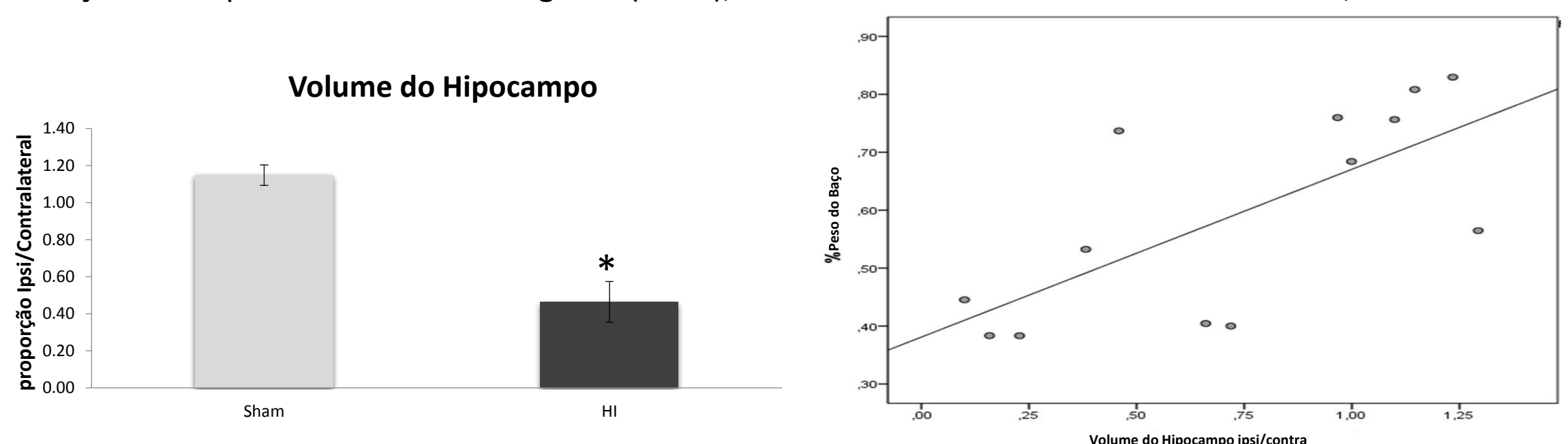
Figura 1 Representação esquemática do modelo de hipóxia-isquemia neonatal.

RESULTADOS

No DPN45 foi feita a análise do volume das estruturas encefálicas que demonstrou uma redução da relação do hemisfério ipsi / contralateral no grupo HI em relação ao grupo Sham. O peso do baço controlado para o peso corporal também mostrou um efeito significativo da lesão, com animais HI apresentando baços proporcionalmente menores quando comparados ao Sham. Além disso, o peso do baço mostrou maior correlação com o volume do hipocampo do que o volume do hemisfério, sugerindo uma relação interessante entre a lesão do hipocampo e a atrofia do baço após o HI. A análise da oxidação de H₂DCF no hipocampo ipsilateral à oclusão carotídea foi avaliada em PNDs 8, 11 e 45, mostrando que os níveis de DCF foram aumentados no grupo HI quando comparados ao grupo Sham no PND 11 (96h pós-HI), que neste mesmo grupo apresentou atividade da enzima antioxidante CAT no hipocampo ipsilateral à oclusão da carótida aumentada, mostrando que HI apenas altera a atividade dessa enzima 96h após o insulto. A atividade de SOD no baço foi inicialmente aumentada 24h após HI, no entanto, no PND 45, houve uma redução. Esses resultados mostram que a atividade de SOD é aumentada nas primeiras horas após HI, mas diminui lentamente com o tempo e é reduzida a longo prazo. Já a atividade da enzima CAT foi reduzida apenas no PND 45, mostrando que a HI tem um efeito a longo prazo sobre a atividade desta enzima antioxidante.

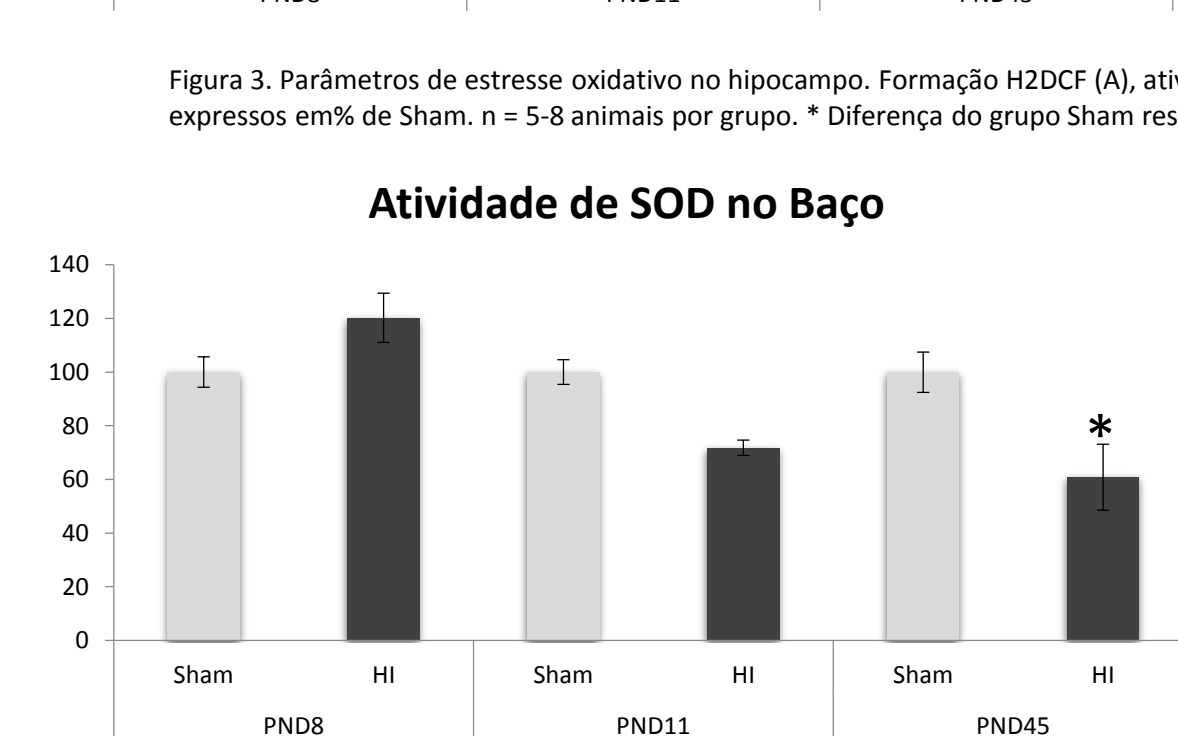
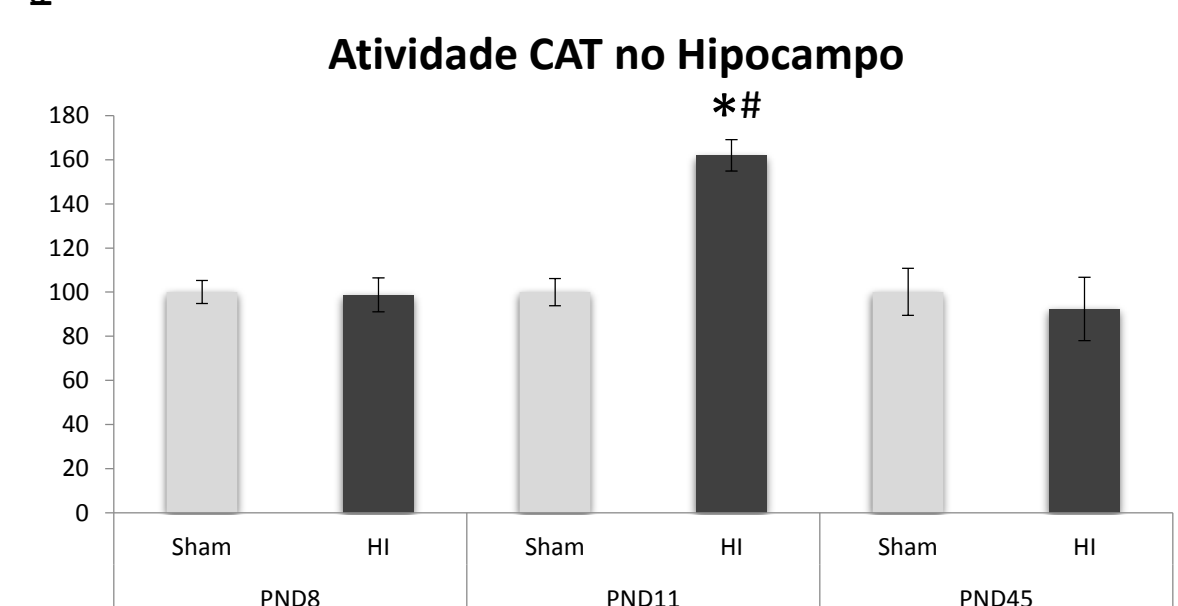
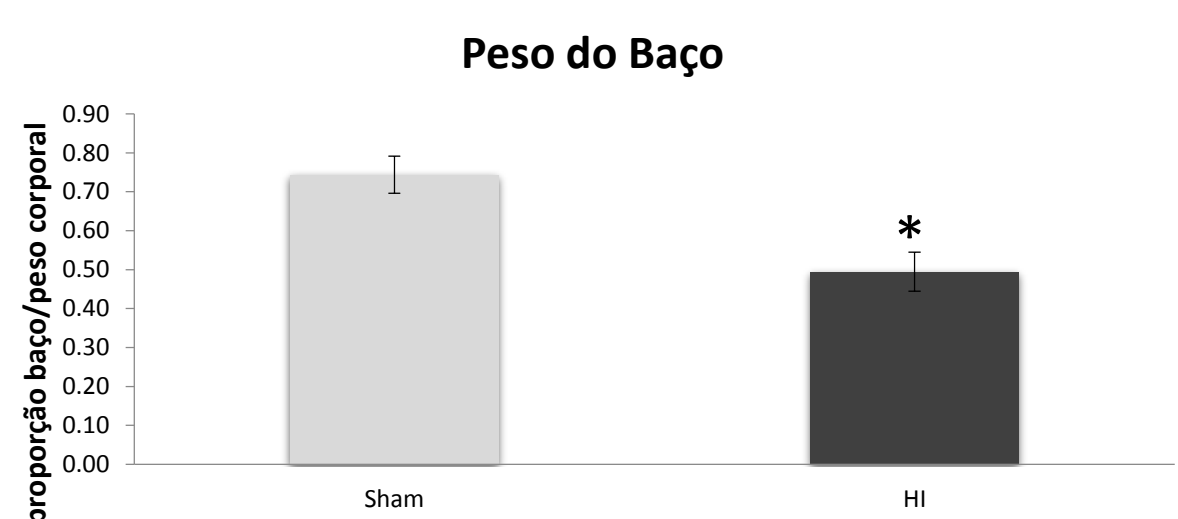
CONCLUSÕES

No total, os resultados atuais mostram que HI induz mudanças de longo prazo nos parâmetros de estresse oxidativo, tanto o hipocampo quanto o baço. O fato de que as alterações mais pronunciadas foram encontradas apenas vários dias após a lesão sugerem a existência de uma janela terapêutica mais ampla que pode permitir um tratamento tardio para melhorar o resultado após o HI. São necessários mais estudos para elucidar a relevância clínica dessas mudanças de longo prazo, uma vez que podem ser um alvo importante para o tratamento tardio da isquemia de hipoxia neonatal.



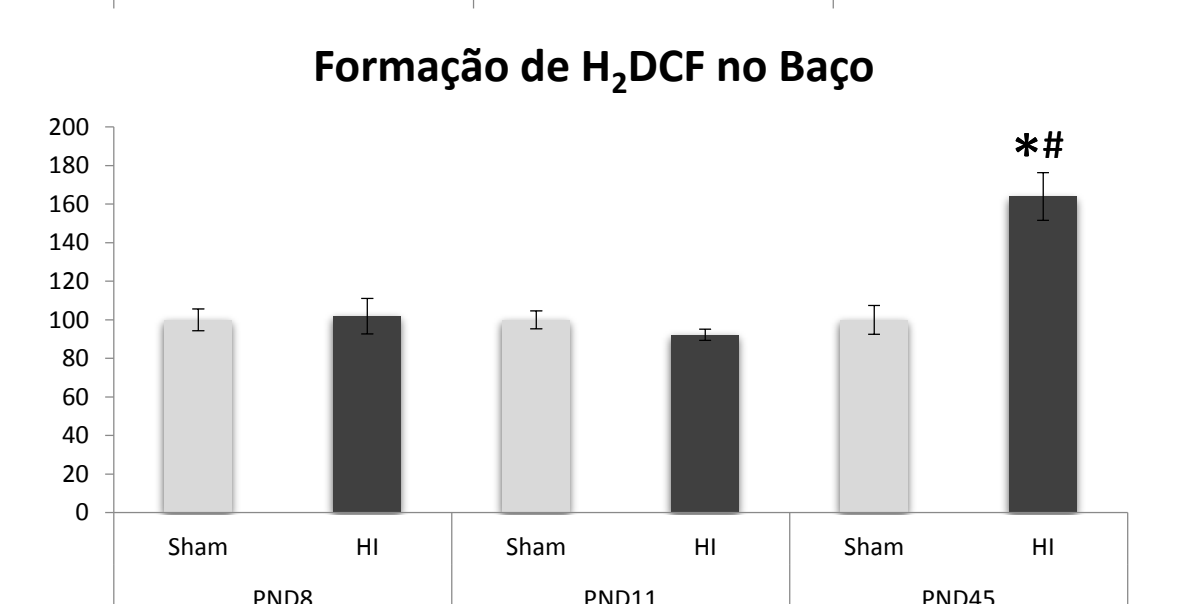
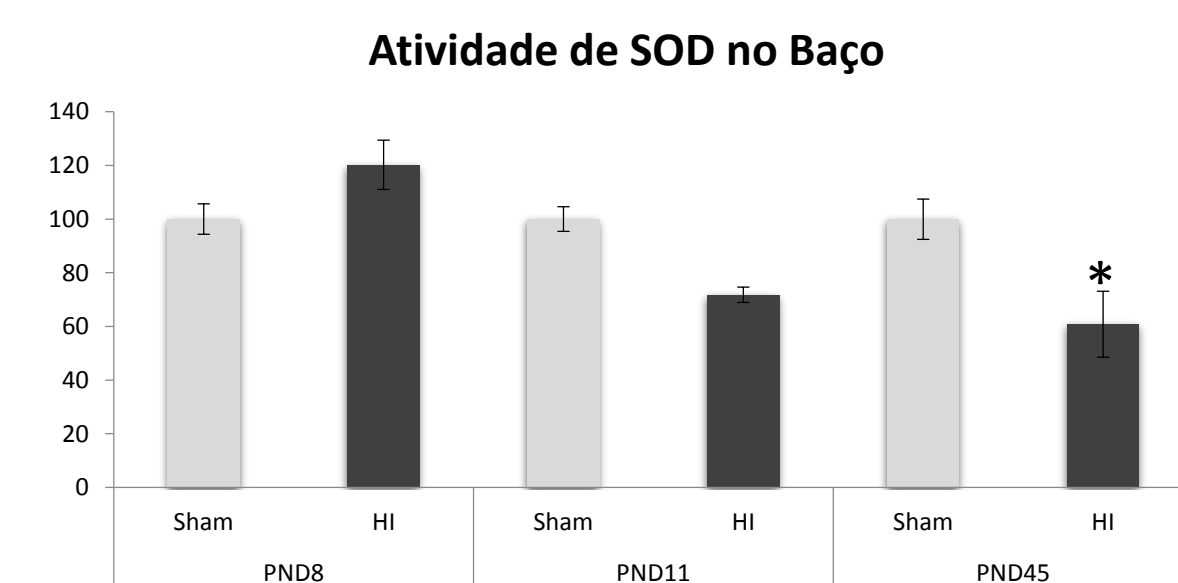
HI afetou o tamanho do baço e diminuiu o volume do hipocampo em animais com a lesão

Figura 2. Relação entre o baço e o hipocampo. Volume do hipocampo expresso em ipsi / em relação de volume contralateral (A). Peso do baço expresso em razão do baço / peso corporal (B). n = 5-8 animais por grupo. * Diferença do grupo Sham respectivo. # Diferença dos outros grupos HI. Correlação entre o peso do baço e o volume do hipocampo (C).



HI alterou a atividade da enzima somente 96h após HI e a produção de EROs podem permanecer aumentadas até 38 após a lesão.

Figura 3. Parâmetros de estresse oxidativo no hipocampo. Formação H₂DCF (A), atividade SOD (B) e atividade CAT (C). Dados expressos em% de Sham. n = 5-8 animais por grupo. * Diferença do grupo Sham respectivo. # Diferença dos outros grupos HI.



HI aumenta SOD nas primeiras horas após a lesão, diminuindo a longo prazo e tem um efeito a longo prazo sobre a atividade da enzima CAT

Figura 4. Parâmetros de estresse oxidativo no baço. Formação H₂DCF (A), atividade SOD (B) e atividade CAT (C). Dados expressos em% de Sham. n = 5-8 animais por grupo. * Diferença do grupo Sham respectivo. # Diferença dos outros grupos HI.