

Aline Matté\*; Fabrício Simão; Carlos A. Netto; Christianne Gazzana Salbego e Vera M. Treis Trindade

Departamento de Bioquímica, Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Laboratório de Neuroproteção e Sinalização Celular

Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil

\*E-mail: linematte@gmail.com

## INTRODUÇÃO

A isquemia cerebral global (ICG) resulta do bloqueio transitório do fluxo sanguíneo para todo o cérebro, semelhante ao que ocorre durante uma parada cardíaca. Em decorrência disso, pode ocorrer uma perda de função neurológica devido ao aporte insuficiente de metabólitos e oxigênio<sup>1</sup>.

A avaliação da extensão da lesão tecidual e a presença de neurônios em degeneração pode ser obtida através da análise histológica com coloração de Nissl (violeta de cresila) e Fluoro Jade C, respectivamente<sup>2</sup>.

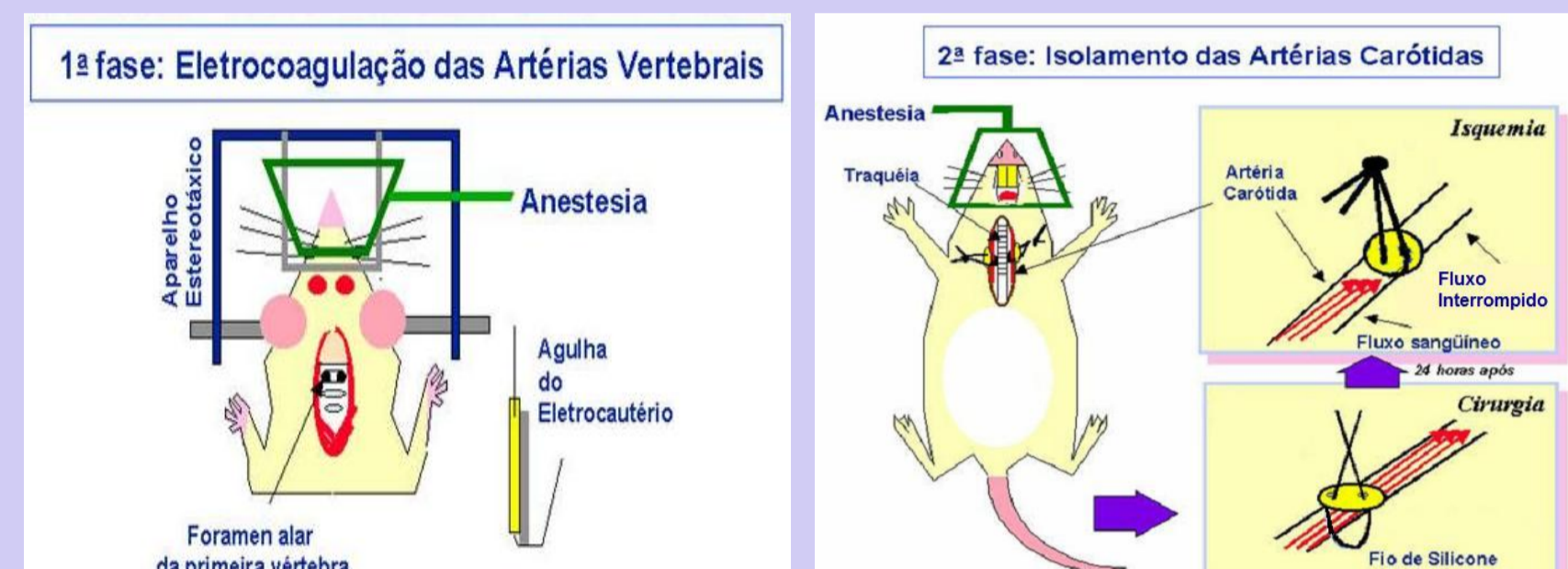
O estresse oxidativo é conceituado como um desequilíbrio entre a produção de espécies reativas e de antioxidantes. As espécies reativas de oxigênio (EROs), que são produzidas principalmente na mitocôndria, estão envolvidas na patogênese de uma série de doenças neurodegenerativas, bem como a isquemia<sup>3</sup>. Durante o período de reperfusão após isquemia, o aumento de oxigênio resulta na superprodução de EROs que está envolvido no processo de morte celular. Radicais superóxido e hidroxila causam danos severos a membrana celular pela indução da peroxidação lipídica. Além disso, óxido nítrico sintase induzida (iNOS) é regulada após ICG, o que resulta em excesso de óxido nítrico (NO). Esse excesso de NO reage com superóxido para formar peroxinitrito, um potente radical que pode induzir a morte neuronal após ICG<sup>4</sup>.

O resveratrol (RSV; *trans*-3,4',5-trihidroxiestilbeno) é um composto polifenólico natural, encontrado em uvas, vinho tinto e uma variedade de fontes alimentares. Têm sido descrito que o RSV possui propriedades antioxidantes, antiinflamatórias, cardio e neuroprotetoras<sup>5</sup>. O RSV demonstrou proteger o rim, o cérebro e o coração do dano promovido pela isquemia/reperfusão<sup>6</sup>.

Considerando que a EROs e NO desempenham um papel importante na patogênese da lesão isquêmica após a ICG, o objetivo deste trabalho foi investigar o efeito do RSV sobre os parâmetros da promoção do estresse oxidativo em hipocampo e córtex de ratos submetidos à isquemia cerebral global, bem como alterações histológicas nos mesmos.

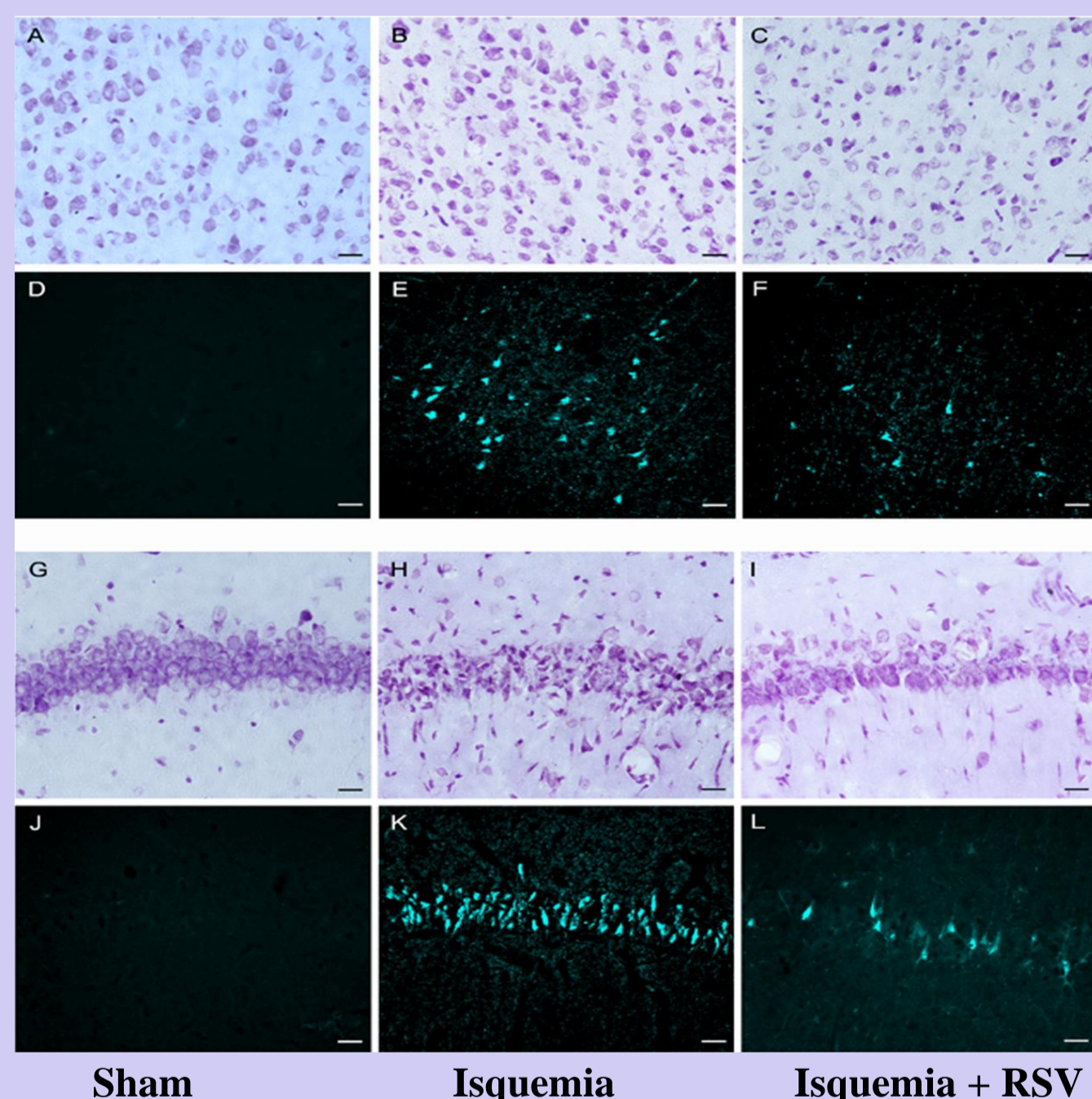
## MATERIAIS E MÉTODOS

- ✓ Ratos Wistar adultos (290-330 g; 90 dias)
- ✓ Isquemia cerebral global – método de oclusão dos quatro vasos (10 min – 37°C)
- ✓ Pré-tratamento com RSV:
  - RSV (etanol 50%): 30 mg/Kg i.p. por 7 dias;
  - Veículo (etanol 50%, v/v): 1 mL/Kg por 7 dias.
- ✓ Reperusão: 1h; 24h e 7d.

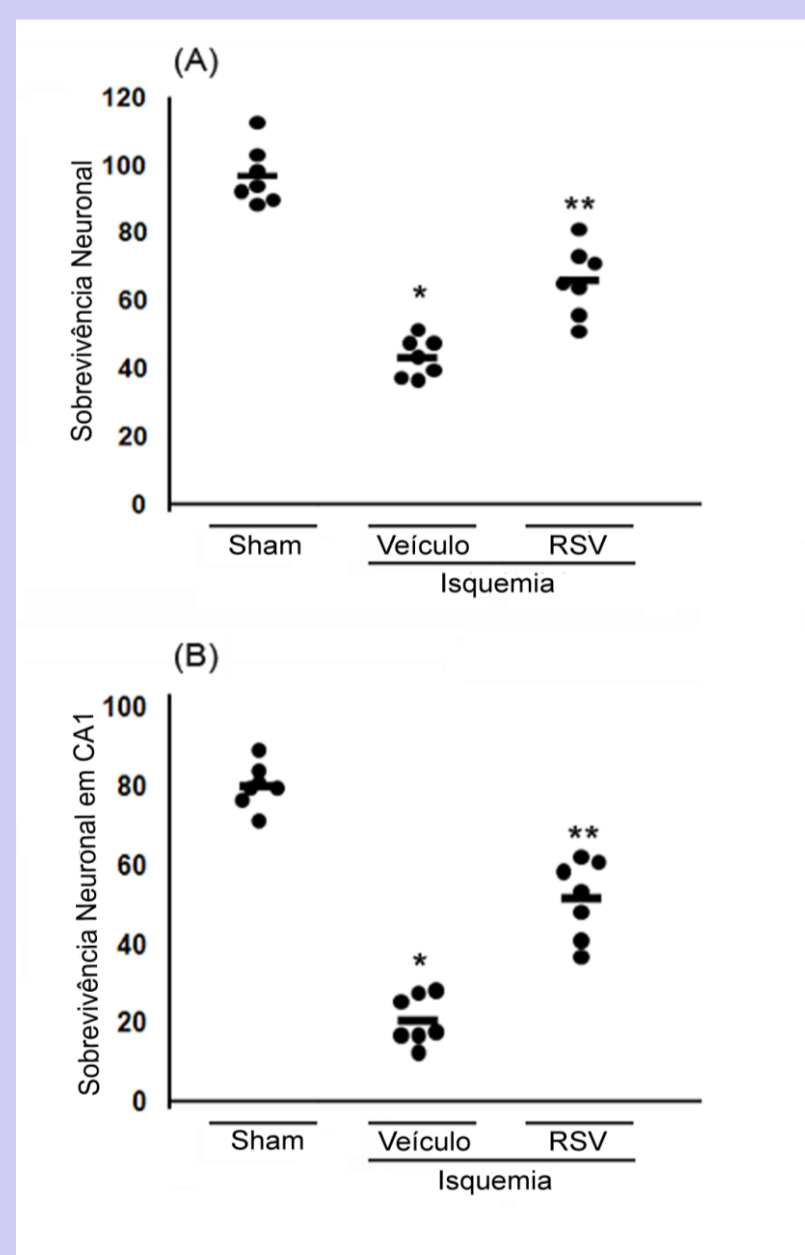


- Análise Histológica:
  - Coloração de Nissl
  - Fluoro Jade C
- Análise de EROs: 2',7'-diclorofluorescína (DCFH-DA)<sup>7</sup>
- Determinação dos níveis de NO através do reagente de Griess<sup>4</sup>

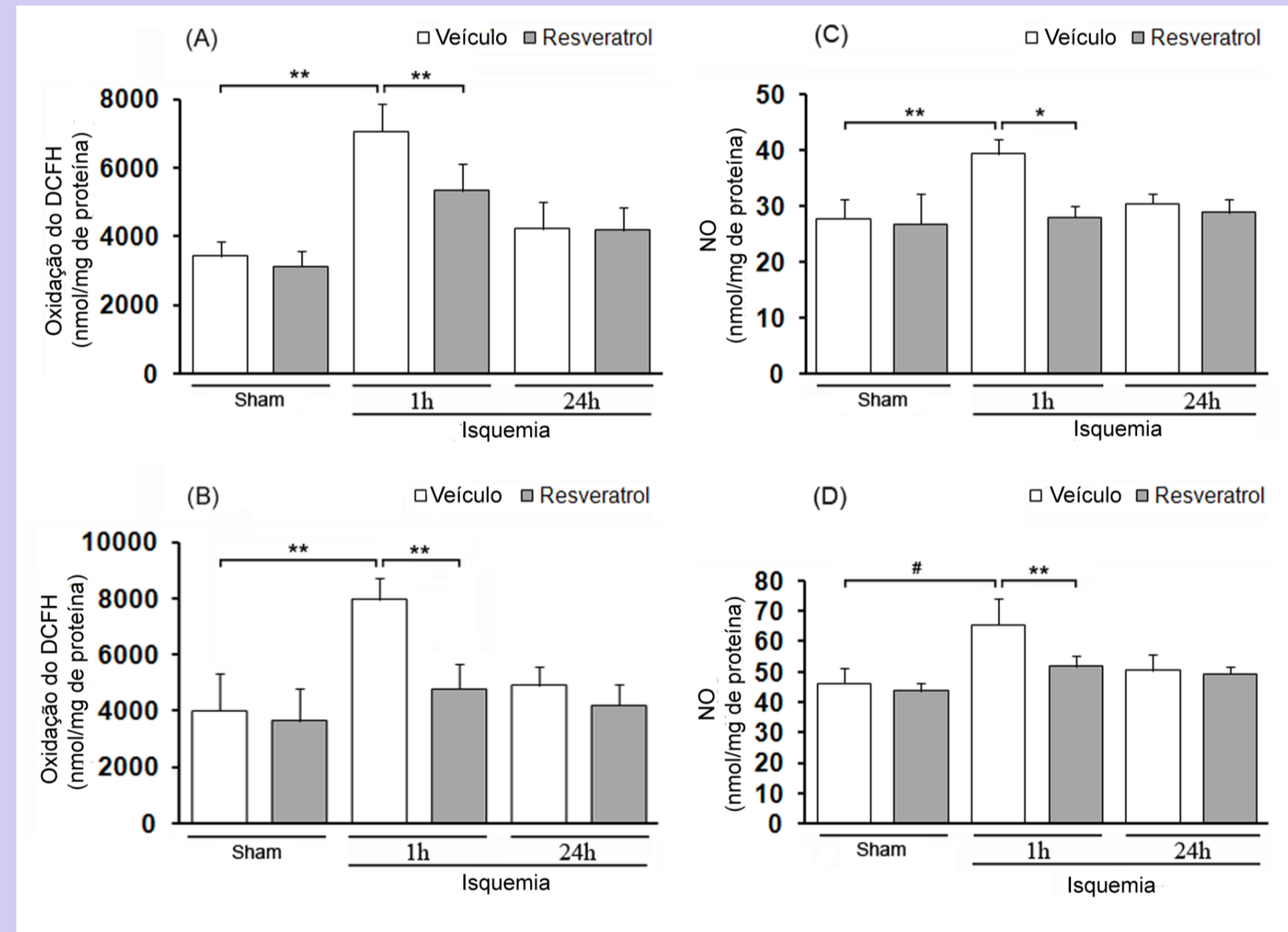
## RESULTADOS



**Figura 1:** Fotos representativas de células coradas com violeta de cresila e Fluoro Jade C em córtex e hipocampo (CA1). Grupo controle tratado com veículo (A e D); grupo isquêmico tratado com veículo (B e E); e grupo isquêmico tratado com resveratrol (C e F) submetidos a 10 minutos de isquemia cerebral global após 7 dias de reperfusão, em córtex. Grupo controle tratado com veículo (G e J); grupo isquêmico tratado com veículo (H e K); e grupo isquêmico tratado com resveratrol (I e L) submetidos a 10 minutos de isquemia cerebral global após 7 dias de reperfusão, em hipocampo. Ampliação, 400x, Escala da barra = 50mm.



**Figura 2:** Influência do resveratrol sobre o número de neurônios sobreviventes em córtex (A) e hipocampo (CA1) (B) em ratos após 7 dias de reperfusão. Os dados estão representados como média ± DP (n=7 cada). ANOVA de uma via mostrou interação significativa entre isquemia e resveratrol. \* $P < 0.001$  comparado com o grupo controle tratado com veículo, \*\* $P < 0.01$  comparado com o grupo isquêmico tratado com veículo.



**Figura 3:** Efeito do resveratrol sobre a formação de ERO (A e B) e conteúdo de NO (C e D) no córtex (A e C) e hipocampo (B e D) em ratos submetidos à isquemia cerebral global após 1h e 24h de reperfusão. Os níveis de ERO foram determinados através do ensaio da diclorofluorescína. O conteúdo de NO foi medido utilizando-se o reagente de Griess. Os dados estão expressos como média ± DP (n=6 cada). \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$  e \*\*\* $P < 0.001$ .

## CONCLUSÃO

✓ Nossos resultados demonstram que a ICG promoveu danos celulares na região de CA1 do hipocampo e córtex cerebral 7 dias após a reperfusão. A administração de RSV reduziu a perda neuronal na região de CA1 hipocampal e no córtex.

✓ Os ratos que sofreram ICG apresentaram aumento na produção de EROs no córtex e hipocampo após 1h de reperfusão, retornando aos níveis basais após 24h de reperfusão. O RSV diminui a produção de EROs após 1h de reperfusão.

✓ A administração de RSV inibiu significativamente o aumento de NO no córtex e hipocampo quando comparado ao grupo isquêmico.

✓ Essas observações sugerem que o RSV pode ser um agente clinicamente viável de proteção contra uma variedade de condições nas quais o dano celular é uma consequência do estresse oxidativo. Além disso, os resultados sugerem que o resveratrol pode ser usado na prevenção de doenças neurodegenerativas, tal como a ICG.

## REFERÊNCIAS

- 1- Taylor J. et al. Neurochem. Res. 1996, 21:1013-1021.
- 2- Kundrotiene J. et al. Acta Neurobiol Exp 2004, 64: 153- 162.
- 3- Halliwell R. and Gutteridge T. Free Radicals in Biology and Medicine. 2007.
- 4- Miranda K. et al. Nitric oxid 2001, 1: 62-71.
- 5- Das K. et al. Am. J. Physiol. 2005, 288:328-335.
- 6- Huang O. et al. Life Sci. 2001, 59:1057-1065.
- 7- Siqueira IR. et al. Brain Research 2004, 1-2: 226-230.

Apoio financeiro:

