

AValiação de Parâmetros Neuroquímicos em Fatias de Hipocampo de Rato Submetidas à Privação de Oxigênio e Glicose

Camila Aguilar Delgado¹, Denise Barbosa Ramos¹, Jean Pierre Osés^{1,2}, Marina Concli Leite¹, Julia Dubois Moreira¹, Liz M.B.P. Brum³, Carlos Alberto Gonçalves¹, Luis Valmor Portela¹, Diogo Onofre Souza¹, Gisele Hansel¹.

1. Departamento de Bioquímica, ICBS, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil.

2. Departamento de Psicologia, Católica de Pelotas University, Pelotas, RS, Brasil.

3. Instituto de Cardiologia do Rio Grande do Sul, FUC, Porto Alegre, RS, Brasil.

Introdução

No Brasil as doenças cerebrovasculares são a principal causa de morte, sendo que a isquemia é a 3^a causa de morte em países industrializados. Além da elevada mortalidade, 40% das pessoas que sofrem deste insulto acabam permanecendo com sequelas irreversíveis, levando esta doença um grande problema de saúde pública. Mesmo com esta incidência, o mecanismo relacionado a essa doença é polêmico e ainda não está claro.

Objetivo

O presente estudo foi direcionado para identificar diversos parâmetros neuroquímicos ao mesmo tempo, com o intuito de mostrar diferenças entre tipos de células neuronais, avaliando os efeitos de privação de oxigênio e glicose (POG) em fatias de hipocampo de ratos adultos durante períodos de isquemia e de reoxigenação.

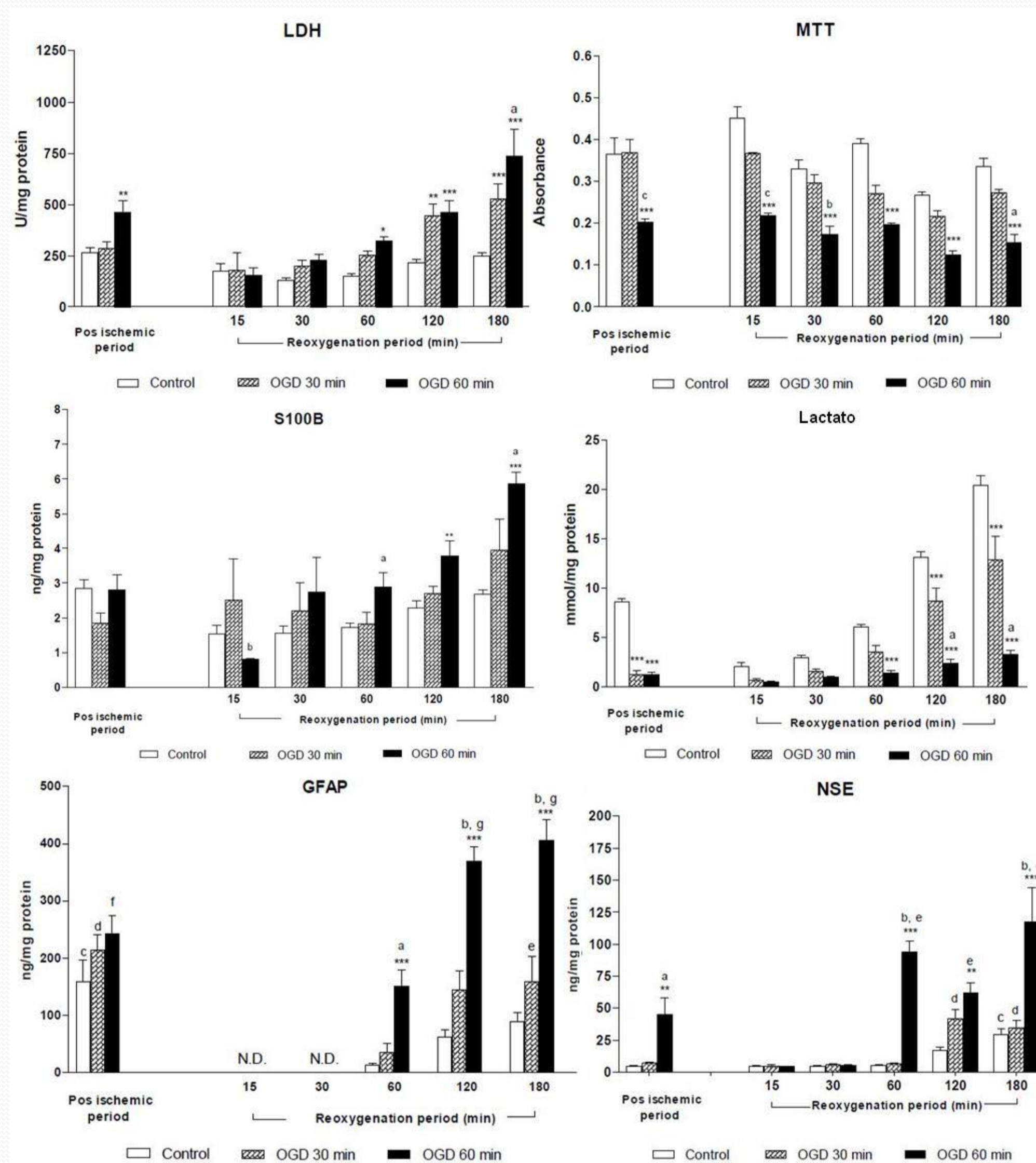
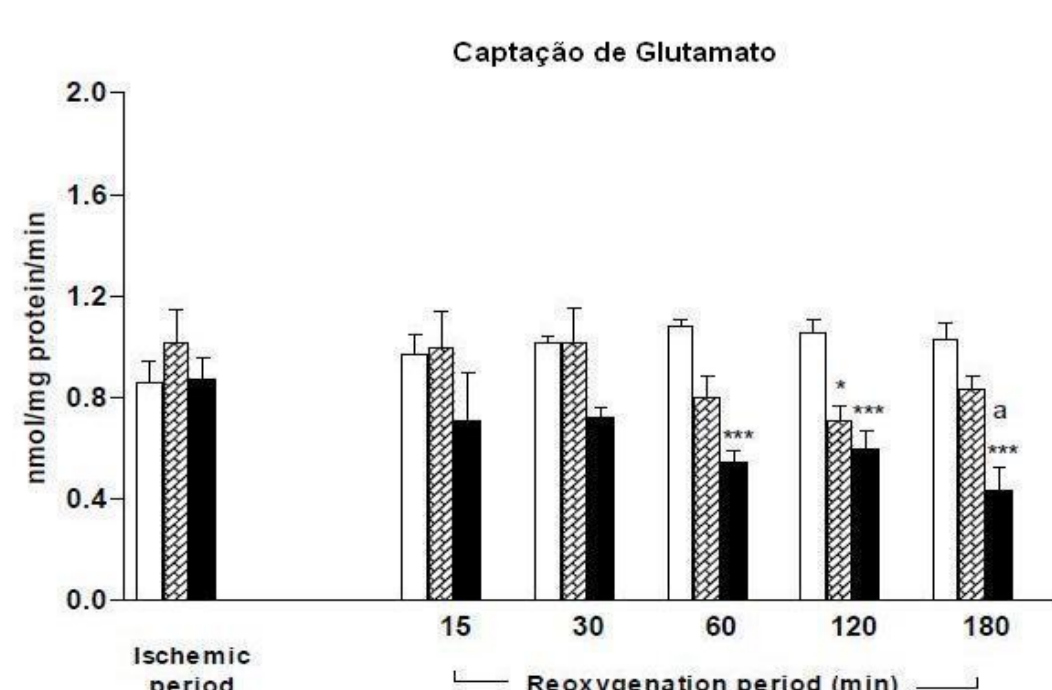
Materiais e Métodos

Foi utilizada a técnica *in vitro* de POG em fatias de hipocampo. Certas fatias foram submetidas a privação de oxigênio e glicose (grupo POG) e outras não (grupo controle) durante o período de isquemia. Depois de um período estipulado, o meio foi trocado por um meio com glicose na presença de oxigênio para as fatias de ambos os grupos (período de reoxigenação). Após a técnica, foram avaliados parâmetros de viabilidade (LDH), mitocondriais (MTT), neurais (NSE), astrogliais (GFAP e S100B) e metabólicos neuroquímicos (Captação de glutamato e níveis de glutamato e lactato) em diferentes períodos de isquemia e de reoxigenação.

Resultados e Discussão

Tabela 1. Níveis de glutamato no sobrenadante de fatias hipocâmpais

	Controle	POG 30 min	POG 60 min
Período pós-isquêmico	6.9 ± 0.9	108.8 ± 12.5*** ^b	121.4 ± 8.5*** ^b
Período de reoxigenação			
15 min	4.6 ± 0.4	4.0 ± 0.8	6.8 ± 0.5
30 min	3.5 ± 0.4	5.7 ± 0.9	8.9 ± 2.2
60 min	5.1 ± 1.0	7.1 ± 0.9	20.7 ± 2.3***
120 min	5.4 ± 0.5	9.2 ± 1.4	22.3 ± 2.3***
180 min	11.8 ± 1.3 ^c	20.1 ± 2.6 ^d	38.5 ± 5.2*** ^{a,e}



Os resultados mostraram que a atividade mitocondrial diminuiu devido à falta de energia durante o insulto isquêmico e permaneceu durante o período de reoxigenação. No sobrenadante, LDH, NSE e níveis de glutamato aumentaram e o lactato diminuiu por causa da insuficiência de energia observada durante a isquemia. Parâmetros como GFAP, S100B e captação de glutamato sofreram alterações somente no período de reoxigenação.

Conclusão

Esses resultados demonstraram alterações em parâmetros neuroquímicos específicos na POG, mostrando uma maior vulnerabilidade dos neurônios frente ao insulto isquêmico. Entretanto, também foram observados danos tardios em parâmetros astrocitários no momento de reoxigenação, o que demonstra diferenças de resistência entre tipos celulares na POG.

Referências

- Almeida, R. F., A. P. Thomazi, et al. (2010). "Effects of depressive-like behavior of rats on brain glutamate uptake." *Neurochem Res* 35(8): 1164-71
- Armstead, W. M., K. Ganguly, et al. (2010). "Signaling, delivery and age as emerging issues in the benefit/risk ratio outcome of tPA For treatment of CNS ischemic disorders." *J Neurochem* 113(2): 303-12.
- Danbolt, N. C. (2001). "Glutamate uptake." *Prog Neurobiol* 65(1): 1-105.
- Diaz-Ruiz, A., C. Rios, et al. (2009). "Neuroprotective effect of DAHK peptide in an occlusive model of permanent focal ischemia in rats." *Neurochem Res* 35(2): 343-7.
- Joseph, M. H. and C. Marsden, A. (1986). "Amino acids and small peptides. In: Lim CK, editor. HPLC of small peptides. Oxford: IRL Press." 13-27.
- Moreira, J. D., L. Knorr, et al. (2010). "Dietary omega-3 fatty acids attenuate cellular damage after a hippocampal ischemic insult in adult rats." *J Nutr Biochem* 21(4): 351-6.
- Tramontina, F., M. C. Leite, et al. (2007). "Immunoassay for glial fibrillary acidic protein: antigen recognition is affected by its phosphorylation state." *J Neurosci Methods* 162(1-2): 282-6.
- portal.saude.gov.br/portal/arquivos/.../coletiva_saude_061008.pdf