

# A Hipóxia- Isquemia cerebral neonatal em ratos Wistar imaturos causa prejuízos de memória aversiva e espacial na idade adulta.

Pereira, SW<sup>1</sup>, Sanches, EF<sup>2</sup>, Netto, CA<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Faculdade de Farmácia, <sup>2</sup> Departamento de Bioquímica, Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS).

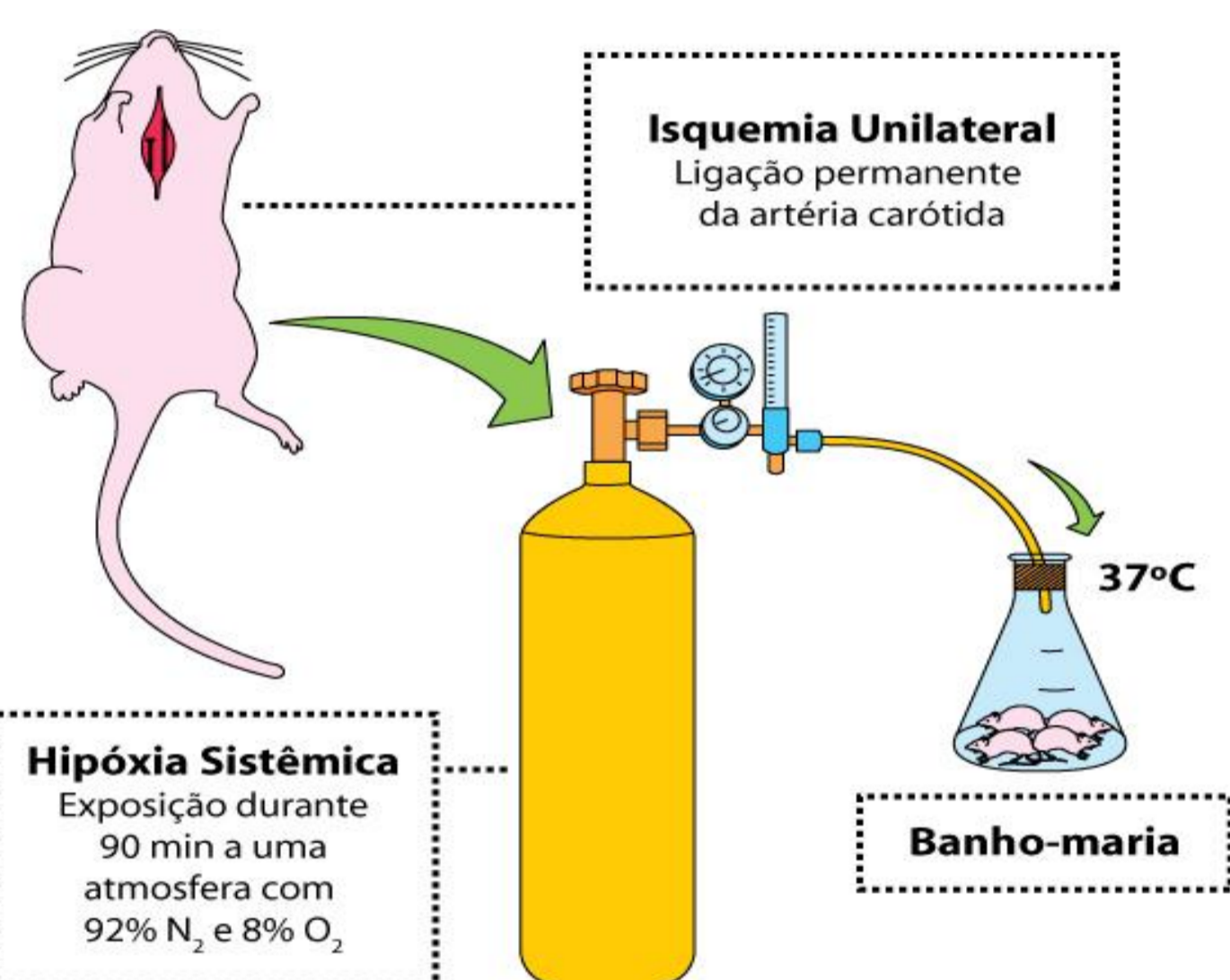
## Introdução

A Hipóxia- Isquemia Cerebral neonatal (HI) é uma das mais importantes causas de morbi-mortalidade no período neonatal em recém nascidos a termo e prematuros. A HI está relacionada a futuros déficits neurológicos e a patologias como a epilepsia, a paralisia cerebral e o retardo mental<sup>[1]</sup>. O aumento nas taxas de sobrevivência de prematuros está correlacionada às observações clínicas de comprometimento neurológico futuro como as decorrentes da hipóxia- isquemia neonatal. O encéfalo do recém-nascido humano pré-termo (entre 24 e 28 semanas) é similar quanto ao crescimento e diferenciação ao de ratos aos 3 dias de vida pós-natal (DPN3) e o modelo se utilizando de ratos em DPN3 mimetiza em roedores a ocorrência de HI em humanos nascidos prematuros<sup>[2]</sup>. Diversos estudos vêm demonstrando que os precursores de oligodentrócitos são as células-alvo no modelo de HIP3<sup>[3]</sup> e que os mecanismos de dano cerebral incluem a excitotoxicidade, formação de EROs, neuroinflamação levando a morte neuronal, perda de substância branca e hipomielinização<sup>[4]</sup>. Apesar de existir vasta literatura nos campos bioquímico e morfológico, no campo comportamental, ainda há carência de estudos no modelo HI-P3.

## Objetivo

Verificar se os animais HIP3 apresentarão déficits de memória aversiva e espacial a partir dos 60 dias de vida e a possível influência do sexo e do hemisfério lesionado sobre o modelo.

### Hipóxia-isquemia<sup>[4]</sup> (DPN3)



### Avaliação Comportamental<sup>[3][5]</sup> (DPN60)



#### Labirinto Aquático de Morris

- Protocolo de Referência (4 trials/5 dias)
- Tempo de trial (60s)
- Tempo intertrial (10min)

#### Esquiva Inibitória

- Treino (0.5 mA/2seg)
- Teste 90min (STM)
- Teste 24h (LTM)

## Materiais e Métodos

Os animais permaneceram em ambiente padrão,  $\pm 22^{\circ}\text{C}$  de temperatura num ciclo claro/escuro de 12h, com ração e água à vontade. No terceiro dia de vida (DPN3) ratos Wistar de ambos os sexos foram anestesiados com halotano, submetidos à oclusão da artéria carótida esquerda ou direita e após período de recuperação de 2 horas foram expostos a uma atmosfera hipóxica (8% de O<sub>2</sub>) por 90 min. Após a HI, os animais foram divididos em seis grupos de acordo com o sexo e o hemisfério lesionado. Os procedimentos foram aprovados pelo CEUA da UFRGS.

## Resultados

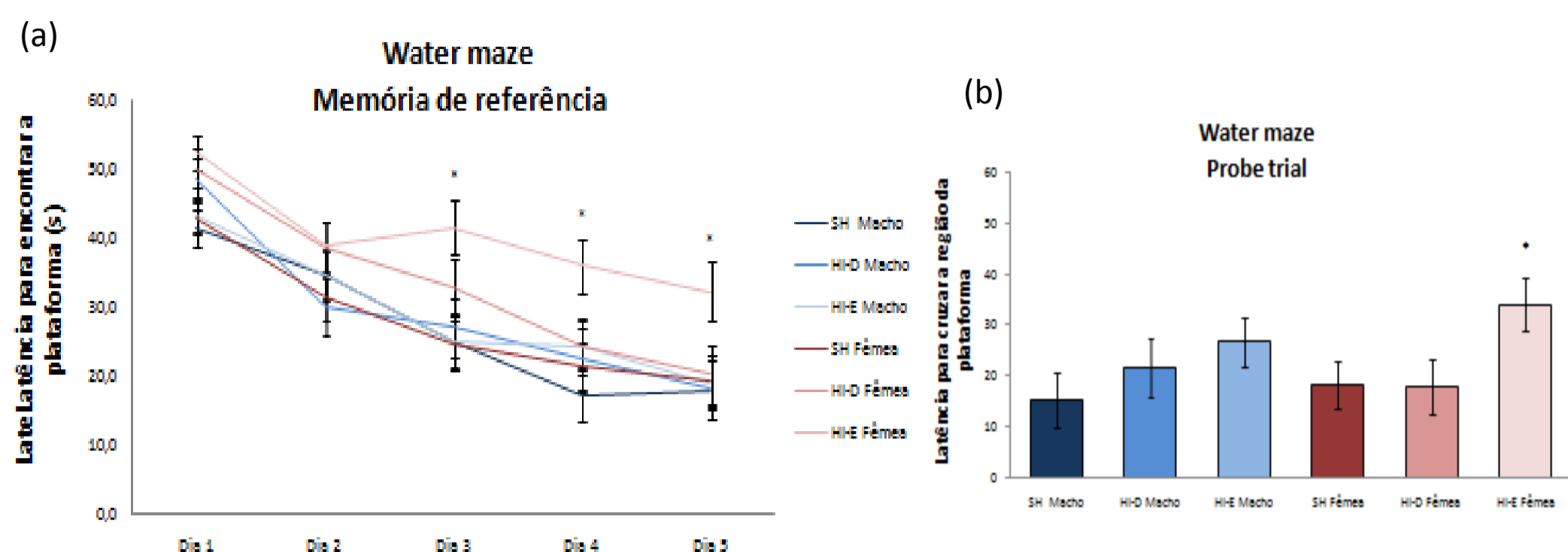


Figura 1 – Labirinto Aquático de Morris: Memória de Referência. (a) Média  $\pm$  EP das latências para alcançar a plataforma em cada sessão de treino (n= 12- 18 animais por grupo). Os resultados foram analisados por ANOVA de medidas repetidas seguido de post-hoc de Duncan. (b) Média  $\pm$  EP das latências para cruzar a região da plataforma no probe. Significância (p<0,05). \* HI-E-Fem vs. SH-Fem.

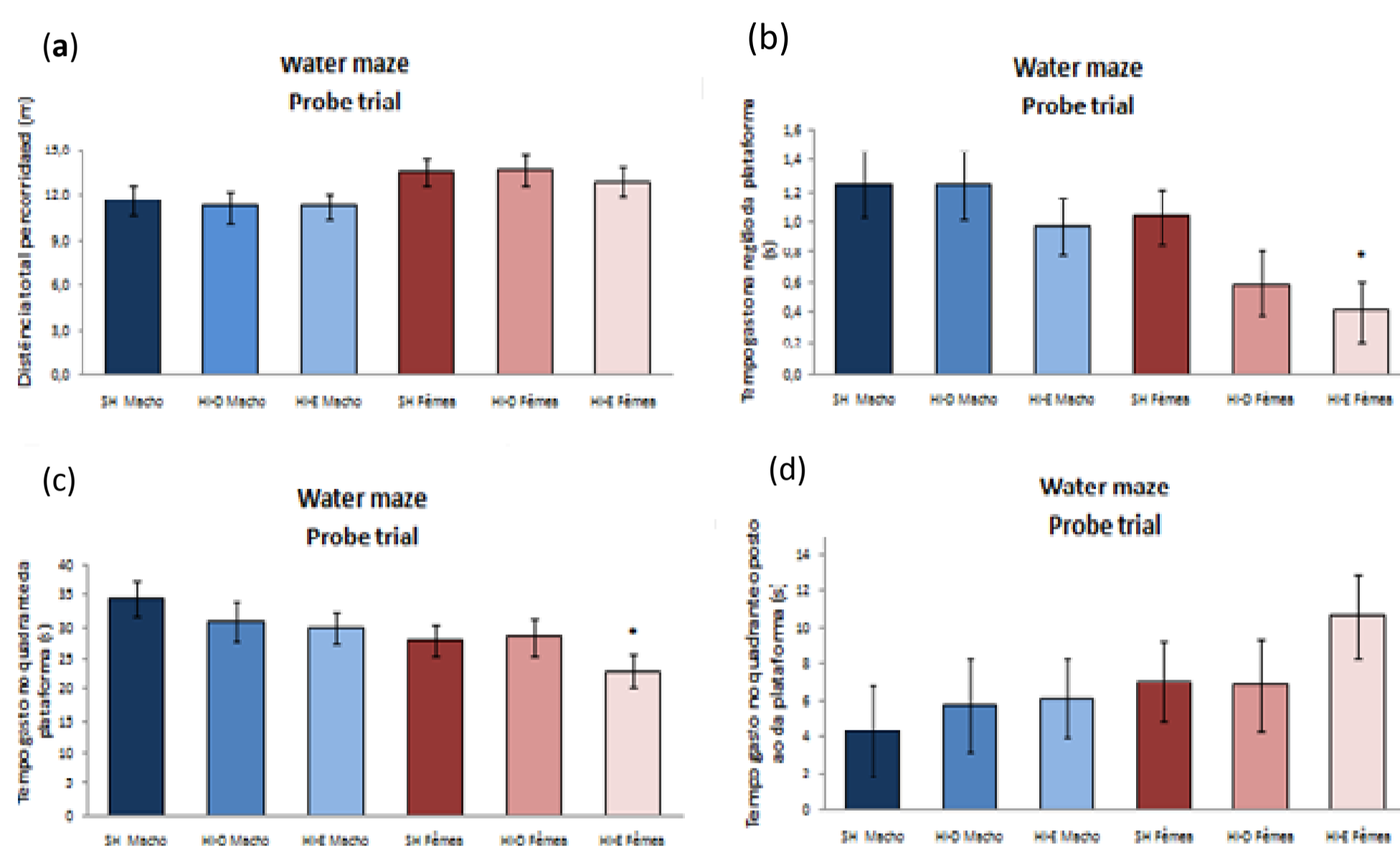


Figura 2 – Labirinto Aquático de Morris: Probe trial. Os gráficos representam médias  $\pm$  EP da: (a) distância total para chegar a plataforma (m), (b) tempo de permanência na ponto da plataforma (s), (c) tempo de permanência no quadrante da plataforma (s) e (d) tempo de permanência no quadrante oposto ao da plataforma (s) (n=12-18 animais por grupo). Os resultados foram analisados por ANOVA de 2 vias seguido de post-hoc de Duncan. Significância (p<0,05). \* HI-E-Fem vs. SH-Fem.

### Esquiva inibitória

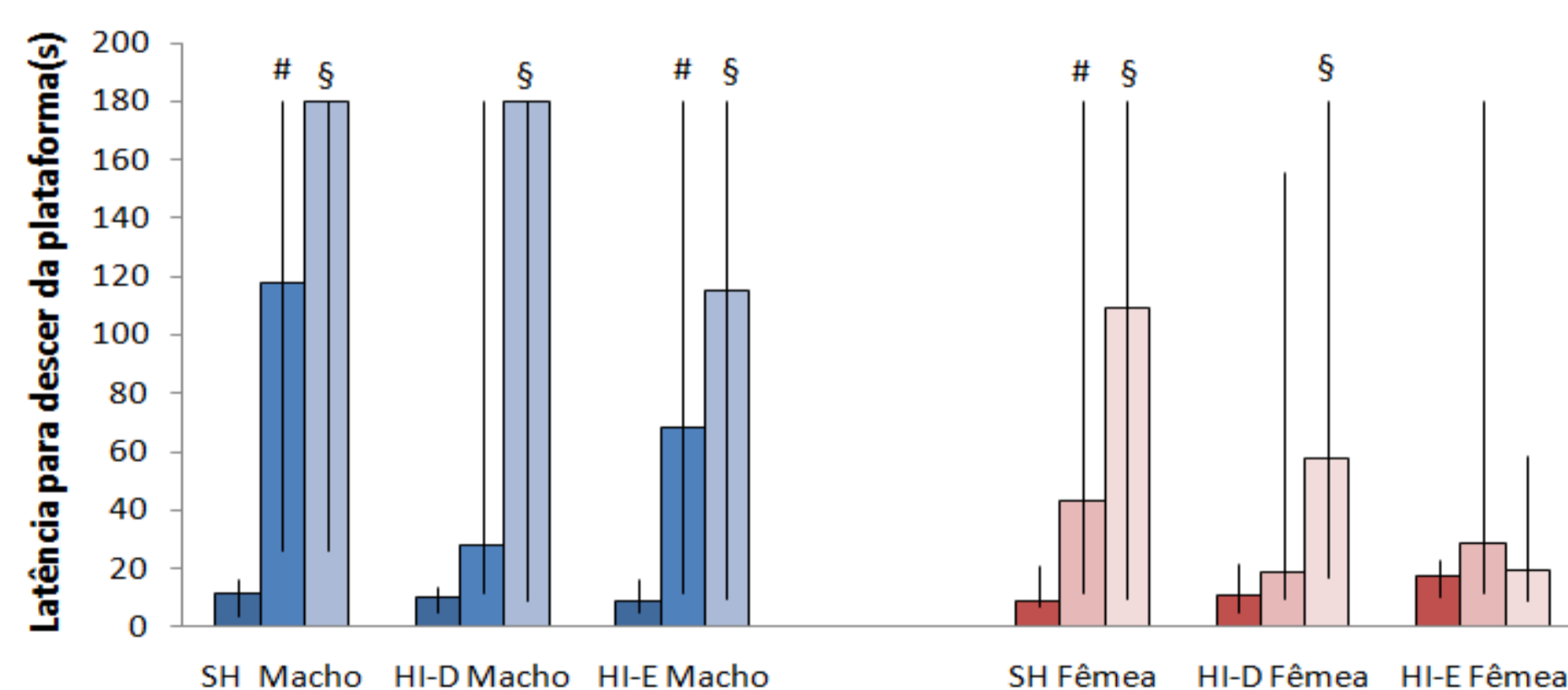


Figura 3 - Esquiva Inibitória: Latência para descer da plataforma nas sessões treino, teste 1,5h e 24h. As colunas em azul representam os machos, as colunas em vermelho as fêmeas. Os resultados estão expressos como medianas e intervalos interquartis 25% e 75%. Utilizou-se o teste de Kruskal-Wallis seguido de Mann-Whitney. Valores significativos para p<0,05. \* diferença entre teste 90' e treino. § Diferença entre teste 24 e treino. # diferença entre grupo HI-E e controle no teste 24hs

## Conclusão

Nosso modelo de HIP3 causou alterações comportamentais na idade adulta em tarefas de memória no labirinto aquático de Morris e esquiva inibitória. Não foram observados déficits motores entre os animais dos diferentes grupos experimentais (similar distância total percorrida no water maze), o que poderia interferir no teste. As fêmeas com a carótida esquerda ocluída apresentaram significativo aumento das latências para encontrar a plataforma no probe (F(2,88)= 4,18, p<0,01) do labirinto aquático, bem como diminuída latência para descer da plataforma nos testes (90min e 24hs) na esquiva inibitória evidenciando prejuízos de memória espacial e aversiva. Nossos resultados ainda sugerem que neste modelo (Isquemia em DPN3 + Hipóxia de 90min) as fêmeas são mais vulneráveis que os machos em tarefas espaciais e aversivas, apontando para a influência do dimorfismo sexual e lateralização hemisférica no modelo.