

A Hipóxia – Isquemia cerebral neonatal em ratos Wistar aos 3 dias de vida provoca diminuição da atividade da enzima Na⁺/K⁺-ATPase e prejuízos morfológicos.

Pereira, SW¹, Sanches, EF², Arteni, NS², Kolling, J², Scherer, EBS², Nicola, F³, Boisserand, L³, Wyse, AT², Netto, CA^{1,2}
¹Faculdade de Farmácia, ²Departamento de Bioquímica, Instituto de Ciências Básicas da Saúde,
 Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS)

Introdução

A Hipóxia- Isquemia (HI) é uma das principais causas de mortalidade e morbidade neurológica crônica em recém nascidos. O dano HI envolve consequências diretas do déficit energético sobre o metabolismo [1]. A falência energética gerada pela HI causa uma diminuição da atividade de bombas como a Na⁺/K⁺-ATPase [2]. Estudos de nosso laboratório apontam que o sexo e o hemisfério lesado influenciam a lesão causada pela HI realizada no sétimo dia de vida [3]. Desta forma, o objetivo do estudo foi verificar os efeitos da lateralização e do sexo na HI neonatal sobre a atividade da Na⁺/K⁺-ATPase e o dano histológico, após a HI realizada no 3º dia de vida.

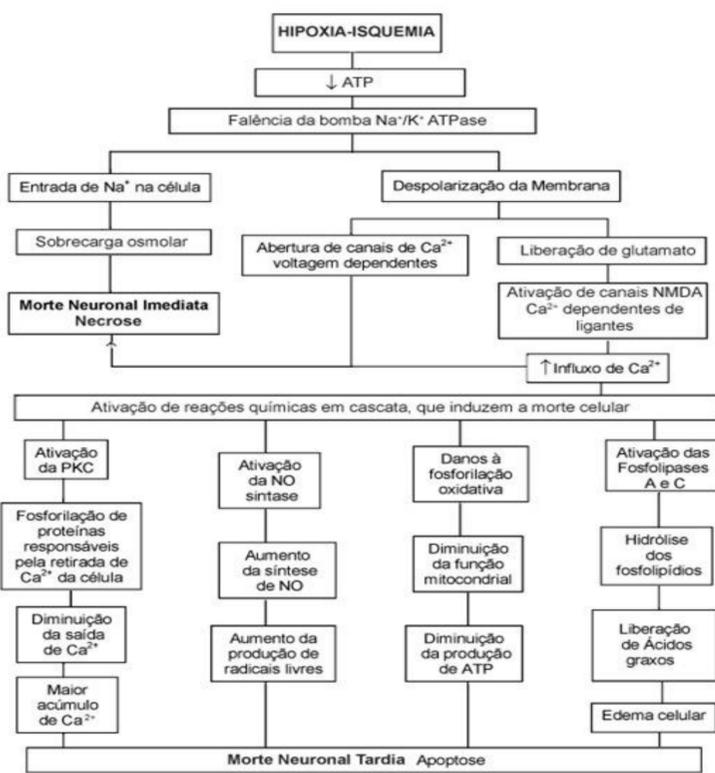
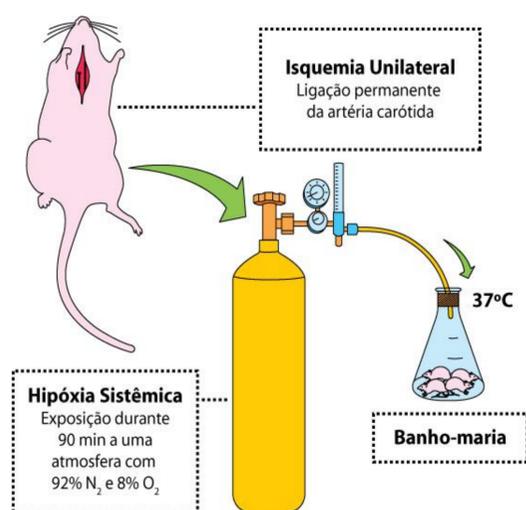


Figura 1: Esquema ilustrativo dos eventos ocorridos após a HI neonatal.

Materiais e Métodos

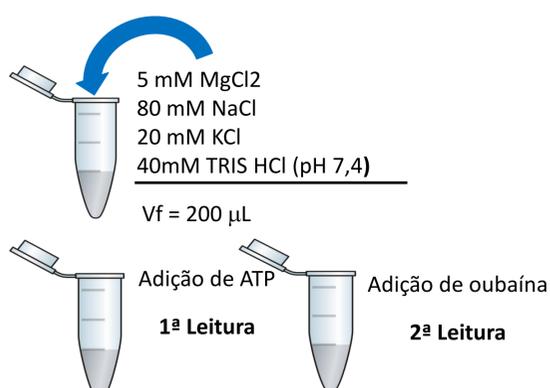
Hipóxia-isquemia

Os animais permaneceram em ambiente padrão. No terceiro dia de vida (DPN3) ratos Wistar de ambos os sexos foram anestesiados e submetidos à oclusão da artéria carótida esquerda ou direita. Após recuperação de 2 horas foram expostos a uma atmosfera hipóxica (8% de O₂ por 90min). Os animais foram divididos em 6 grupos de acordo com o sexo e o hemisfério lesado (n=5-8 animais por grupo).



Dosagem enzimática

2 e 24 horas após a HI, os animais foram sacrificados por decapitação e os hemisférios cerebrais foram dissecados, congelados em N₂ líquido e estocados em freezer -80°C até a realização do ensaio bioquímico. A dosagem da atividade da enzima Na⁺/K⁺-ATPase foi realizada da seguinte forma:



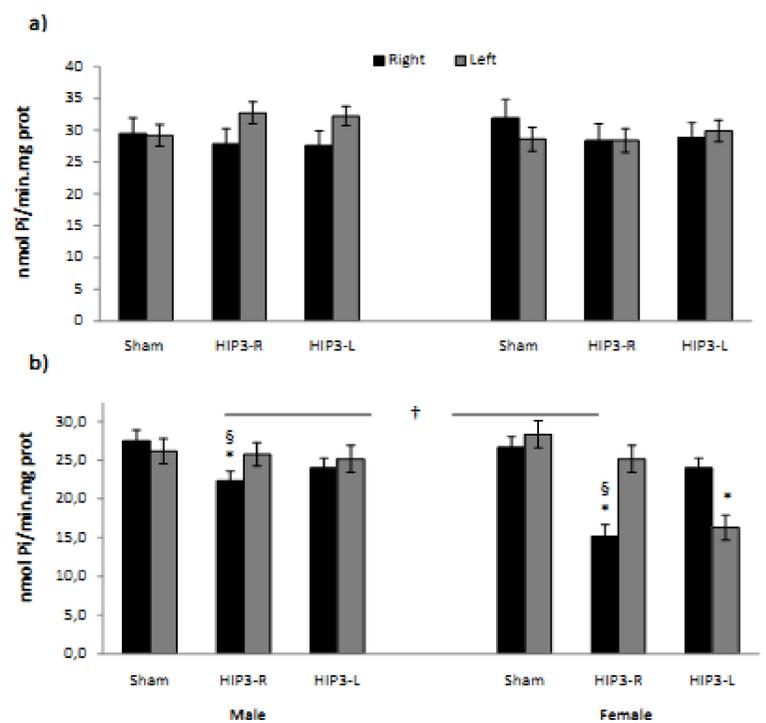
Referências: [1] Volpe, 2008. *Neurobiology of the newborn*. 5th ed. Saunders, Philadelphia .
 [2] Wyse et al., 2000. *Neurochem research*, 25, 971-975.
 [3] Arteni et al., 2010. *Behavioural brain research*, 210, 92-98 Apoio CAPES e CNPq.

Análise histológica

Aos 21 e 90 dias de idade os animais foram perfundidos em salina seguido de paraformaldeído 4%. Os encéfalos foram removidos e pós fixados na mesma solução e corados com Violeta de Cresil. Foram medidos o volume dos hemisférios cerebrais, do hipocampo e a área do corpo caloso.

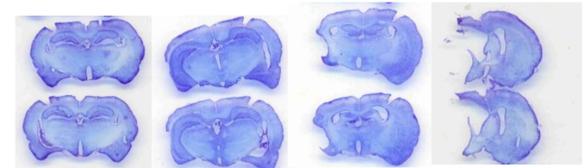
Resultados

Atividade da enzima Na⁺/K⁺-ATPase



As barras representam a atividade da enzima Na⁺/K⁺-ATPase nos hemisférios 2 (a) e 24 horas (b) após a HI. Os valores foram considerados significativos quando p<0,05. * ANOVA: HI x Sham. †ANOVA, efeito do sexo. § Diferença entre os hemisférios (teste-t).

Análise morfológica



PND21	Hemisphere (mm ³)		Hippocampus (mm ³)		Corpus callosum area Percentage (Ipsi / (Contra + Ipsi))			
	Ipsi	Contra	Ipsi	Contra	+1.70mm	-0.28mm	-1.88mm	-3.3mm
Male								
Sham	169.71±12.01	166.31±11.8	34.49±4.25	36.91±4.17	47.92±1.65	48.01±2.56	46.72±1.71	48.97±1.96
HIP3-R	158.91±12.97	164.85±12.84	21.58±4.59	23.90±4.51	51.50±1.79	49.23±2.76	50.66±1.84	43.65±2.12
HIP3-L	167.97±12.01	166.97±11.89	29.74±4.25	26.36±4.17	51.81±1.65	48.57±2.56	48.98±1.71	48.24±1.96
Female								
Sham	168.38±14.21	170.52±14.07	26.32±4.59	28.48±4.51	47.62±1.96	51.98±3.03	48.30±2.02	52.08±2.32
HIP3-R	149.41±12.97	151.60±12.84	22.95±4.59	23.90±4.51	49.04±1.96	52.14±3.03	48.22±2.02	51.10±2.32
HIP3-L*	137.30±14.21	155.02±14.07	26.08±5.03	26.33±4.94	50.26±1.96	46.66±3.03	42.00±2.02	42.06±2.32*
PND90								
Male								
Sham	381.38±23.32	373.30±13.61	89.14±6.99	80.72±6.23	49.72±1.29	49.34±3.51	49.96±2.91	50.48±2.43
HIP3-R	377.68±23.32	384.52±13.61	77.84±6.99	81.52±6.23	47.30±1.29	48.58±3.51	49.88±2.91	49.10±2.43
HIP3-L	309.16±23.32	353.80±13.61	74.70±6.99	75.24±6.23	48.64±1.29	48.74±3.51	47.42±2.91	43.50±2.43
Female								
Sham	372.06±23.21	367.82±13.61	80.30±6.38	79.55±5.69	51.02±1.29	45.32±3.51	48.73±2.66	47.98±2.43
HIP3-R	327.48±21.28	327.83±12.42	72.38±6.38	70.08±5.69	49.53±1.18	50.23±3.23	53.05±2.66	50.72±2.22
HIP3-L*	277.00±21.28*	359.91±12.42	63.75±6.38	77.35±5.69	47.11±1.18	45.58±3.21	41.00±2.66*	38.13±2.22*

Os resultados estão expressos como média ± EP dos valores absolutos. A análise foi realizada por ANOVA de duas vias seguido *post hoc* de Duncan. A significância foi aceita quando p<0.05. * HIP3 vs. Sham group.

Conclusão

Os resultados mostram a influência do dimorfismo sexual e da lateralização hemisférica sobre a atividade enzimática e os prejuízos morfológicos após a HI. As fêmeas apresentaram foram mais afetadas, apresentando menor atividade da enzima Na⁺/K⁺-ATPase sem apresentar diferença entre os hemisférios. A redução significativa no volume hemisférico e na área do corpo caloso ipsilateral a lesão nas fêmeas com lesão aos hemisfério esquerdo aos 21 e aos 90 dias confirma que a maior vulnerabilidade destes animais à lesão.