

# Efeito do dimorfismo sexual e da lateralização hemisférica a diferentes tipos celulares após a hipóxia-isquemia cerebral neonatal em ratos imaturos.

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, ICBS, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS)

## Introdução

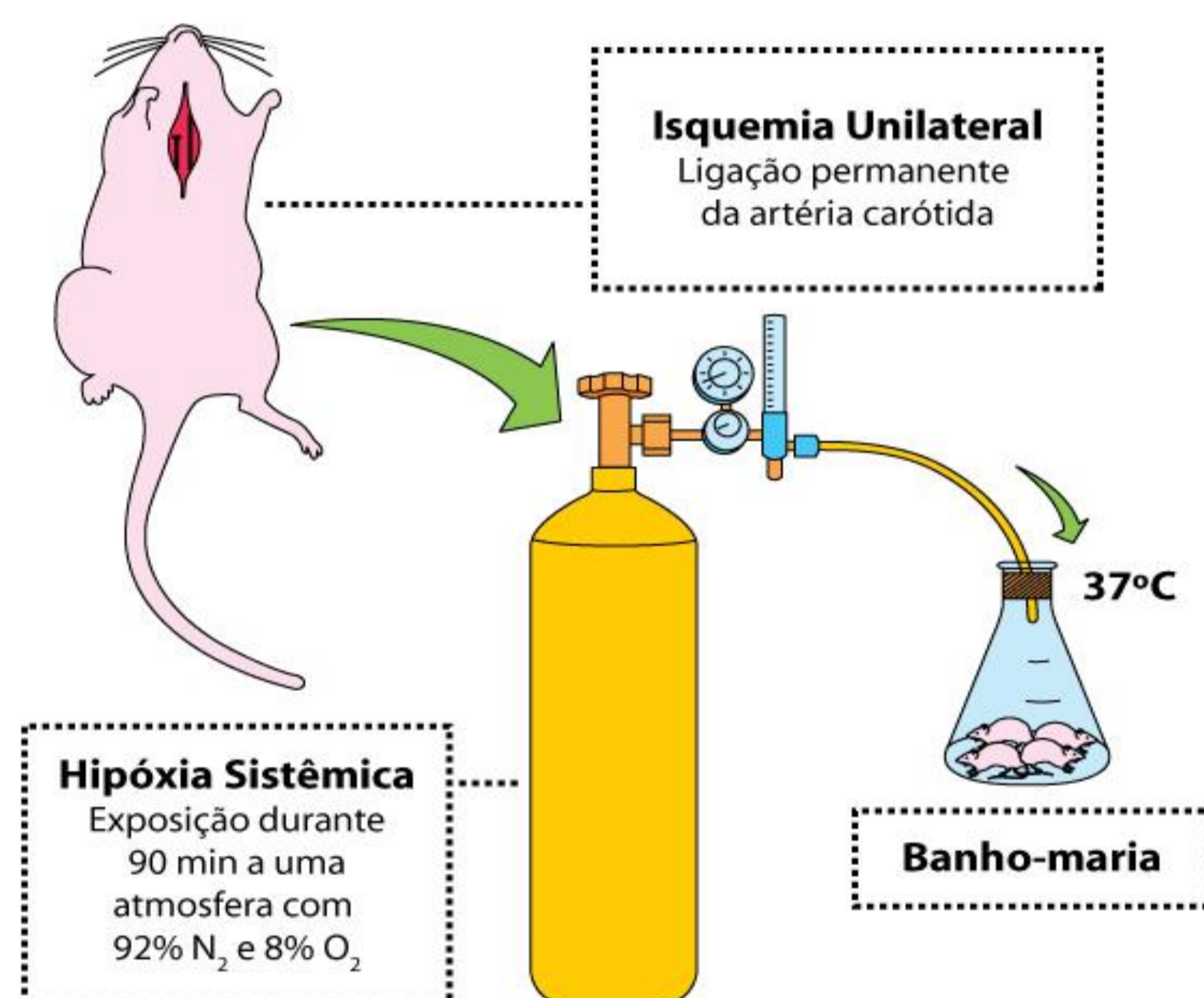
A Hipóxia-Isquemia Cerebral neonatal (HI) é uma das mais importantes causas de morbi-mortalidade no período neonatal. A HI está relacionada a déficits neurológicos e é considerada uma das causas de patologias como a epilepsia, a paralisia cerebral e o retardo mental<sup>[1]</sup>. A HI vem sendo observada com mais frequência em recém-nascidos prematuros. Para fins experimentais, o encéfalo de ratos aos 3 dias de vida (DPN3) é comparável ao de recém-nascidos humanos prematuro quanto ao crescimento e diferenciação celular. O modelo de HI com esta idade (HIP3), mimetiza em roedores o evento observado em humanos prematuros<sup>[2]</sup>. Estudos recentes de nosso grupo de pesquisa demonstraram que tanto o sexo quanto o hemisfério lesionado determinam as alterações bioquímicas, histológicas e comportamentais após a lesão HIP3, sendo o sexo feminino e o hemisfério esquerdo os mais afetados<sup>[3][4]</sup>. A hipótese deste trabalho é que os tipos celulares envolvidos na HIP3 (oligodendrócitos, neurônios, astrócitos e microglia) também possuam vulnerabilidade seletiva dependente desses dois fatores.

## Objetivo

Verificar os efeitos do dimorfismo sexual e da lateralização hemisférica sobre a imunomarcagem dos tipos celulares envolvidos na HIP3 (oligodendrócitos, neurônios, microglia, astrócitos) em regiões cerebrais mais acometidas (zona subventricular, córtex parietal, corpo caloso e hipocampo) em diferentes tempos após a HIP3.

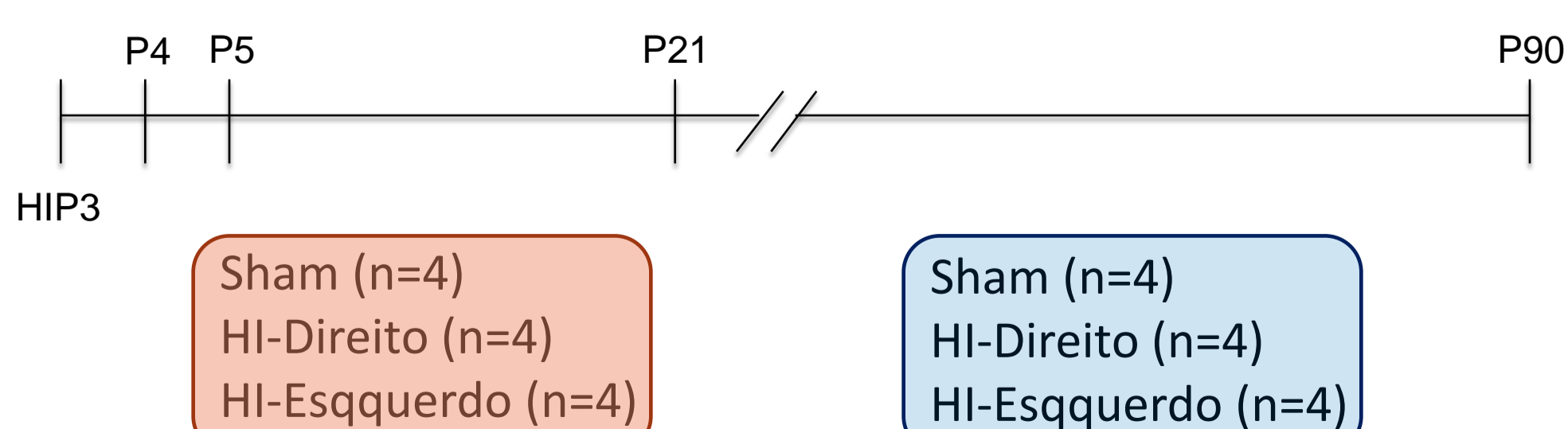
## Materiais e métodos

### Hipóxia-isquemia (HIP3)<sup>[3][4]</sup>



Os animais permaneceram em ambiente padrão de biotério. 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. Os animais Sham foram anestesiados e foi feita a incisão, sem a oclusão da carótida. Após a HIP3, os animais foram divididos em seis grupos de acordo com o sexo e o hemisfério lesionado.

Foi realizada a perfusão transcardíaca com solução salina seguida de paraformaldeído (4%) seguida de crioproteção em soluções com concentração crescente de sacarose 15 e 30% (por 2 dias). Os animais foram sacrificados nos tempos de 24h, 48h, 21 dias e 90 dias após a HI. Os encéfalos foram cortados em criostato na espessura de 20µm (24 e 48h) e 50µm (21 e 90 dias). Com isso temos:

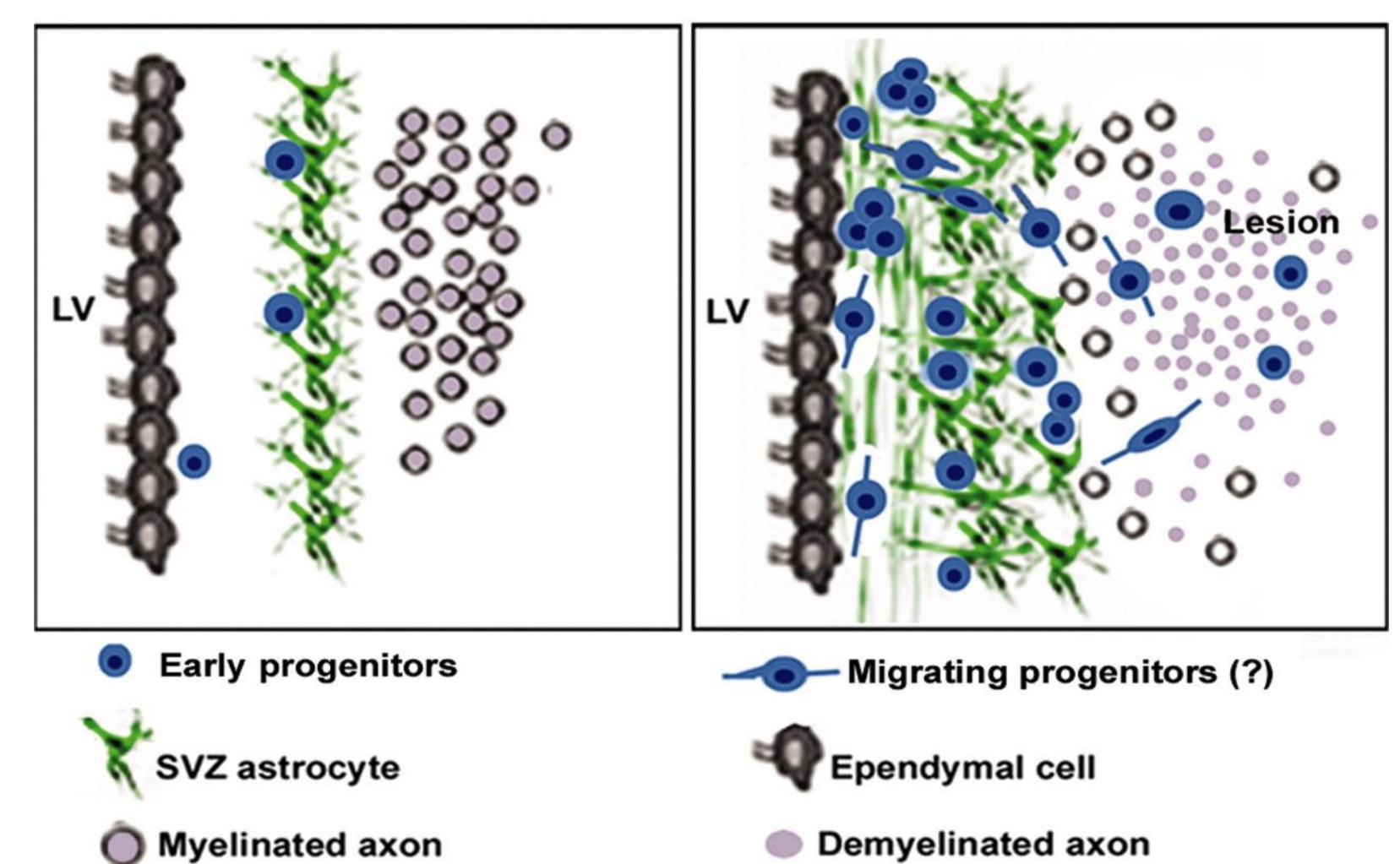
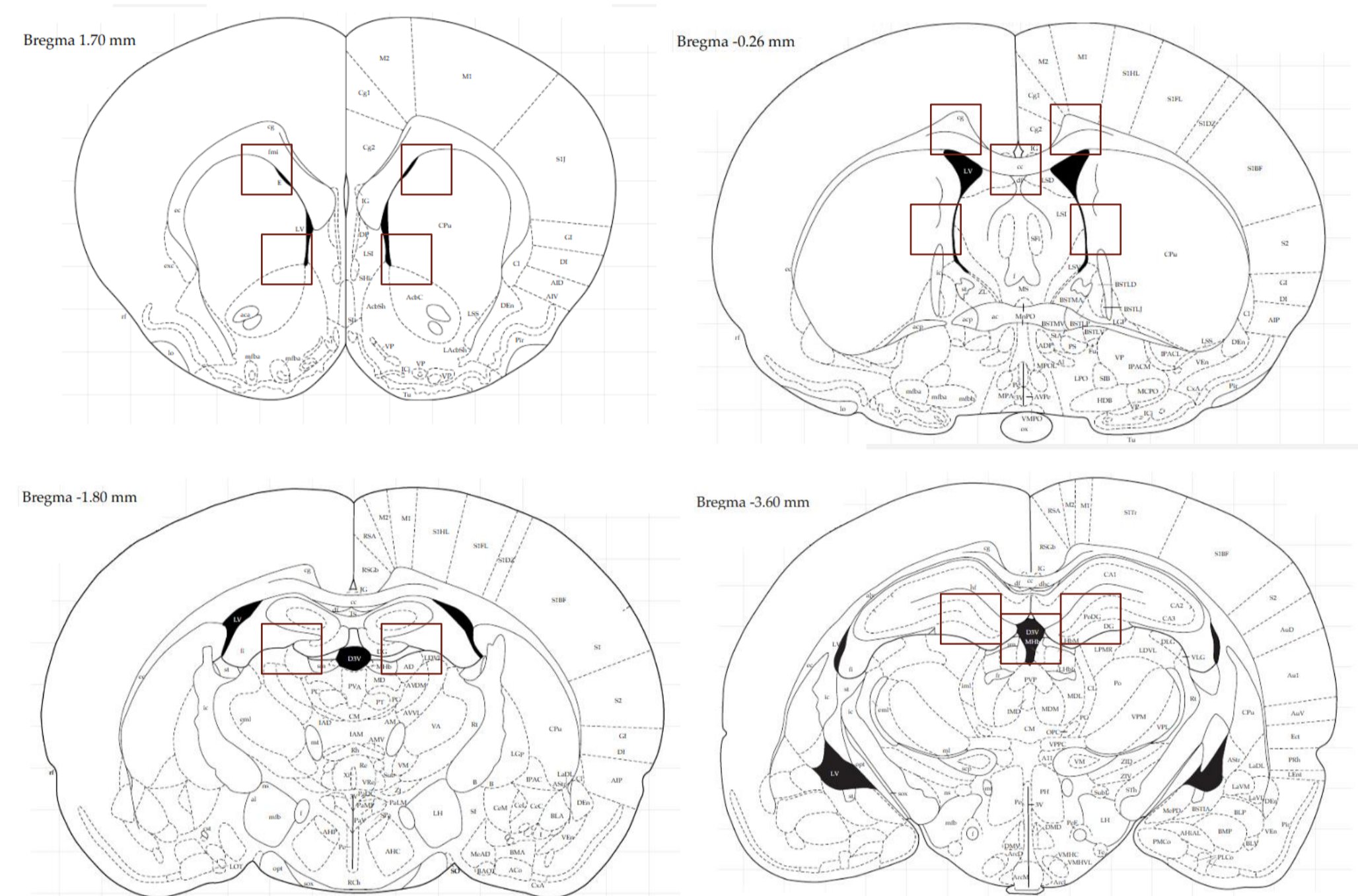


## Imunofluorescência

Nos tempos 24 e 48h, será analisada a morte celular por apoptose através da marcação com Hoechst 33342 (Sigma®) associado aos anticorpos anti-O4 (pré-oligodendrócitos e oligo imaturos), anti-O1 (oligodendrócitos imaturos), anti-GFAP (astrócitos) e anti-CD11b (microglia) bilateralmente nas zonas subventricular, corpo caloso, córtex e hipocampo.

## Imunoistoquímica

Aos 21 e 90 dias, além da imunofluorescência para GFAP será realizada a análise da mielinização através de imunohistoquímica para MBP.



## Perspectivas

A literatura evidencia que danos encefálicos são capazes de ocasionar alteração na produção e atividade de citocinas a depender do hemisfério lesionado<sup>[5]</sup>. Além disso, o fato de as fêmeas possuírem maior propensão à morte celular por apoptose após a HI poderá ser avaliada neste estudo. Esperamos aumentar as evidências da lateralização hemisférica e do dimorfismo sexual sobre a lesão HIP3. Esses resultados se somarão às evidências bioquímicas encontradas (redução da atividade da Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase), histológicas (maior volume da lesão) e comportamentais (déficits cognitivos), dependentes do hemisfério e do sexo e que poderão nos ajudar a entender o por quê desta resposta diferenciada e auxiliar na melhor compreensão da patologia.

