



## Prêmio de Incentivo em Ciência e Tecnologia para o SUS - 2009

# EFEITOR NEUROPROTETOR DO PEPTÍDEO NAP SOBRE O DANO OXIDATIVO HIPOCAMPAL DE RATOS NEONATOS SUBMETIDOS AO MODELO DE CRISES CONVULSIVAS INDUZIDAS POR HIPÓXIA

Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul  
Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação  
Faculdade de Medicina  
Programa de Pós-Graduação em Pediatria e Saúde da Criança

**Samuel Greggio**  
**Orientador: Jaderson Costa Dacosta**



Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos  
Ministério da Saúde

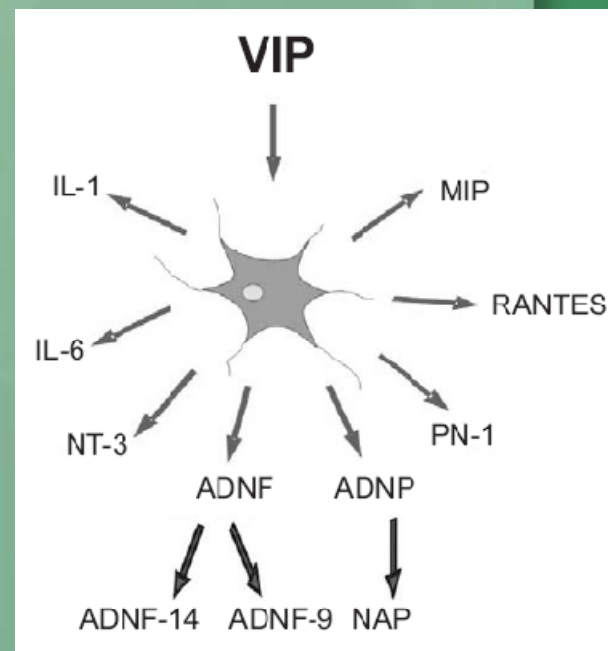


## Crises Convulsivas associadas à Hipóxia Neonatal

- Crises convulsivas ocorrem com maior frequência no período neonatal, com incidência de 1-4/1000 nascidos vivos (Bartha *et al.*, 2007);
- Principal causa etiológica: encefalopatia hipóxico-isquêmica (Volpe, 2001).
- ↑ mortalidade (16%) e morbidade (33%): déficits neurocognitivos, epilepsia refratária e paralisia cerebral (Lombroso, 2007);
- Refratariedade ao controle farmacológico (Sankar & Painter, 2005);
- Drogas anticonvulsivantes com efeitos deletérios sobre o SNC em desenvolvimento (Bittigau *et al.*, 2002; Booth & Evans, 2004);
- Vulnerabilidade do SNC imaturo frente ao estresse oxidativo (Maiti *et al.*, 2006; Buonocore & Groenendaal, 2007).

## Neuropeptídeo NAP

- NAP é um fragmento peptídico ativo da proteína ADNP, que é secretada pelas células gliais em resposta ao peptídeo vasoativo intestinal (VIP) (Bassan *et al.*, 1999);
- Constituído por apenas 8 aminoácidos (NAPVSIPQ), sendo altamente lipofílico;
- Extensa neuroproteção *in vitro* e *in vivo* (Gozes *et al.*, 2005);
- Mecanismos de ação:
  - Estabilização do citoesqueleto (Divinski *et al.*, 2006);
  - Mobilização de cálcio (Visochek *et al.*, 2005);
  - Regulação imunológica (Quintana *et al.*, 2006);
  - Modulação do sistema antioxidativo (Offen *et al.*, 2000; Spong *et al.*, 2001).



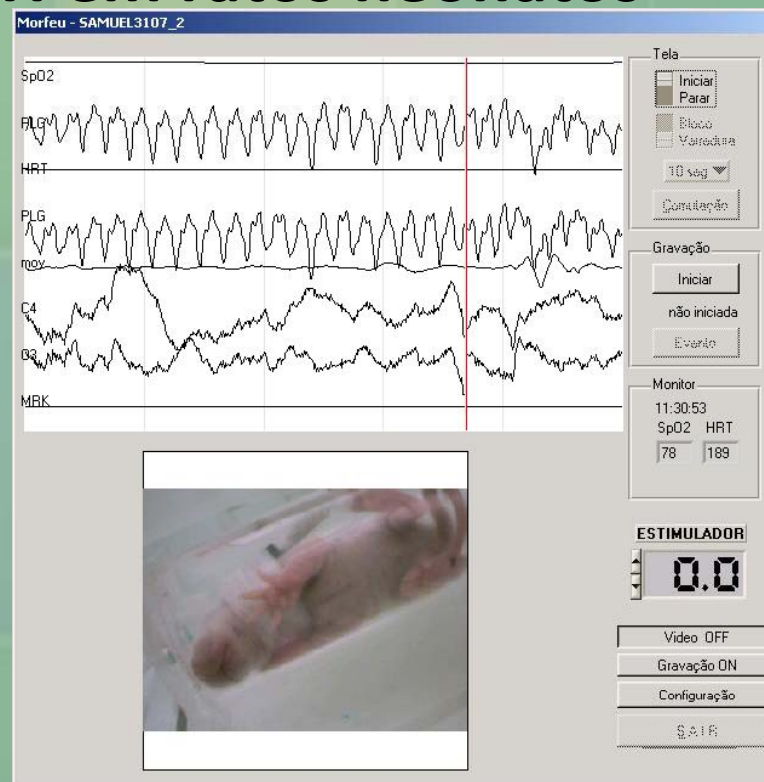
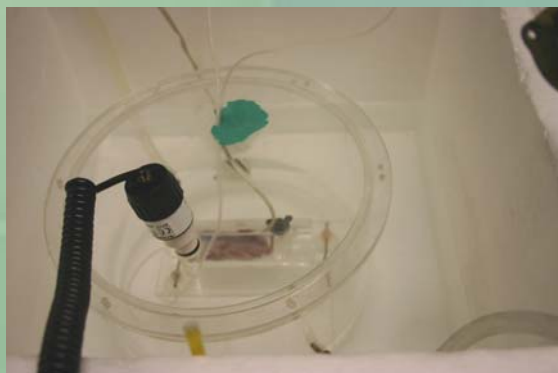
Dejda *et al.*, 2005

## Objetivos do Estudo

1. Determinar se crises convulsivas induzidas por hipóxia geram estresse oxidativo no hipocampo de ratos neonatos;
2. Verificar se o neuropeptídeo NAP tem a capacidade de prevenir a ocorrência deste dano oxidativo hipocampal.



## Indução de CCH em ratos neonatos

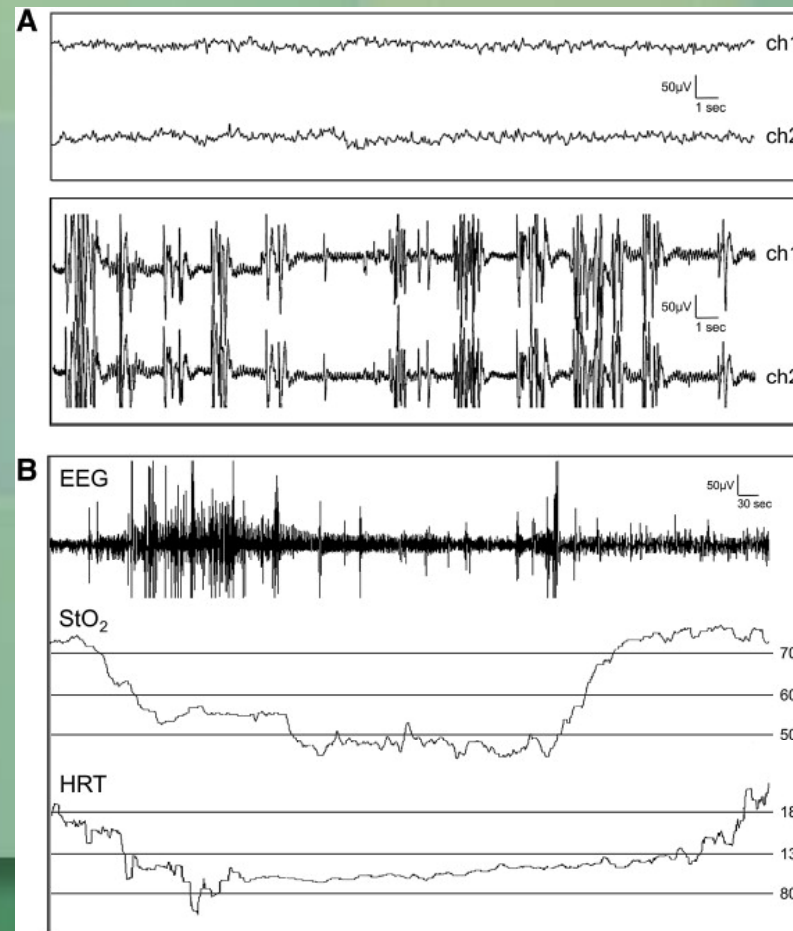


- Permanência por 12 minutos em hipóxia (5-7% O<sub>2</sub>) (Jensen *et al.*, 1991, 1995);
- Critérios de inclusão: StO<sub>2</sub> menor que 20% da basal, e atividade epileptiforme caracterizada por pontas de alta frequência e/ou padrão surto-supressão.

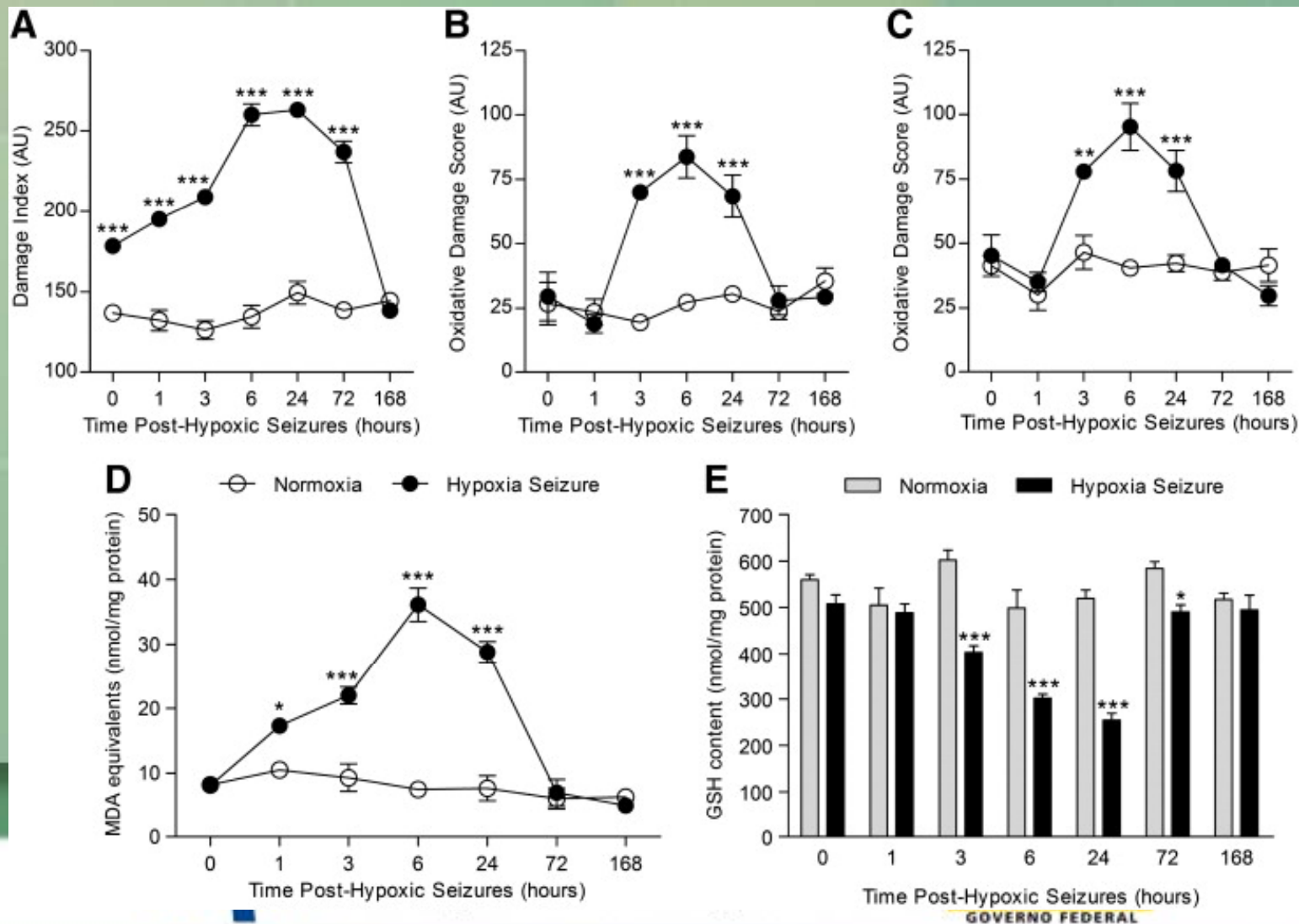
## Determinação de estresse oxidativo

- **Ensaio Cometa Alcalino:** identificação de quebras simples e duplas, sítios abásicos, sítios álcali-lábeis e ligações cruzadas no DNA (Singh et al., 1988; Collins, 2009);
  - Enzimas: Endo III (pirimidinas) e Fpg (purinas).
- **Teste TBARS:** detecção de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico, como o malondialdeído (Salgo & Pryor, 1996);
- **Níveis de GSH:** identificação do ácido 2-nitro-5-mercapto-benzóico (TNB), produto da reação entre GSH e ácido 5,5'-ditio-bis-(2-nitrobenzóico) (DTNB) (Arkerboom & Sies, 1981).

## Alterações fisiológicas induzidas por hipóxia global em ratos neonatos

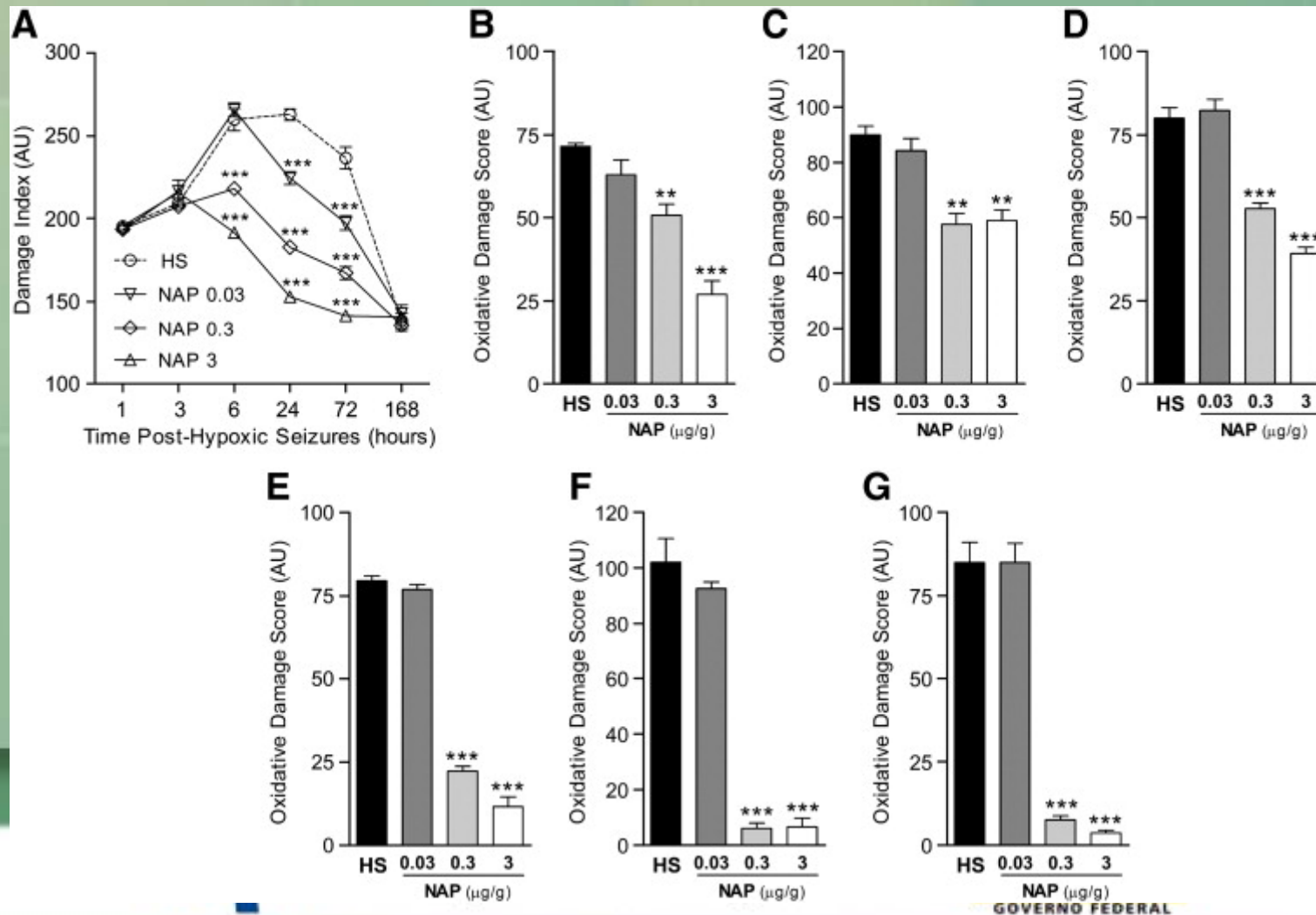


## Estresse oxidativo hipocampal nas CCH

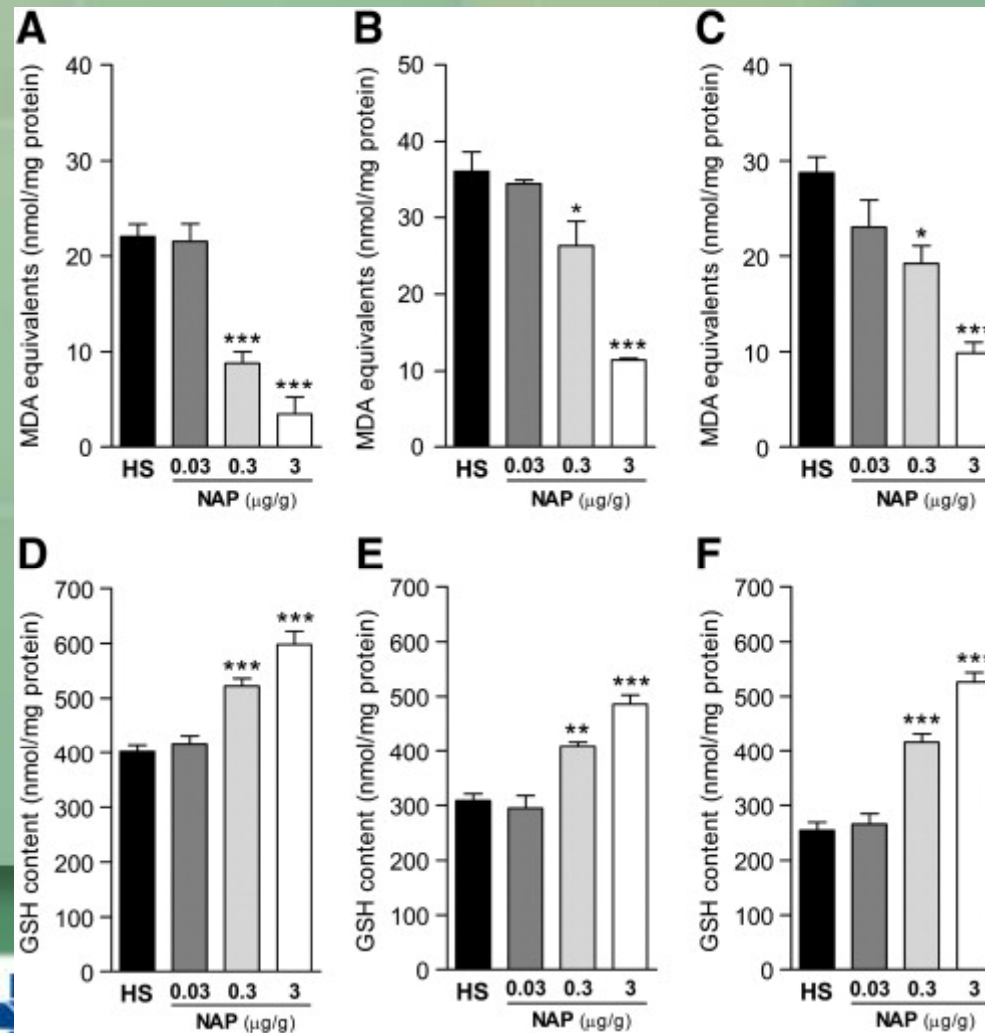




## Neuropeptídeo NAP protege a integridade do DNA hipocampal nas CCH



## Neuropeptídeo NAP previne peroxidação lipídica e depleção de GSH hipocampal nas CCH



## Conclusões do Estudo

- Existe uma forte relação entre estresse oxidativo e crises convulsivas associadas à hipóxia no cérebro em desenvolvimento;
- Estabeleceu-se a formação temporal de alguns marcadores de dano oxidativo no hipocampo imaturo de ratos submetidos ao modelo;
- Neuropeptídeo NAP previne, de forma dose-dependente, a formação de danos no DNA e membranas lipídicas, em paralelo à modulação do sistema glutatona;
- NAP torna-se um candidato em potencial para o aprimoramento da abordagem terapêutica nas crises convulsivas neonatais.