

XIV Salão Iniciação Científica da PUCRS

Caracterização do modelo de hipóxia em larvas de zebrafish (*Danio rerio*) para estudos de neuroproteção relacionados ao sistema adenosinérgico

Milene Dornelles Luzardo & Rosane Souza da Silva

Laboratório de Neuroquímica e Psicofarmacologia, Departamento de Biologia Celular e Molecular, Faculdade de Biociências, PUCRS, Porto Alegre, RS.

Resumo

A hipóxia é uma condição caracterizada pela oxigenação inadequada de células e tecidos, a qual pode ocorrer por fluxo inadequado de sangue (hipóxia isquêmica), pressão parcial de oxigênio inadequada (hipóxia hipoxica) ou baixa capacidade de carreamento do oxigênio no sangue arterial (hipóxia anêmica). A hipoxia durante fases iniciais do desenvolvimento podem levar a encefalopatias, bem como, o decréscimo do tamanho corporal e nascimento pré-maturo. A sinalização adenosinérgica tem sido proposta como parte dos mecanismos adaptativos em resposta a condições de disponibilidade limitada de oxigênio. De fato, durante um evento hipóxico as concentrações de adenosina podem aumentar em 100 vezes. Diversos modelos in vivo e in vitro foram desenhados para o estudo da hipóxia em fases iniciais do desenvolvimento. Entretanto, o desenvolvimento intratuterino dos mamíferos apresenta-se como uma barreira para estudos em tais fases iniciais. A utilização do zebrafish tem se demonstrado um modelo de rápida resposta às diversas questões científicas. Modelos de hipóxia em zebrafish têm sido também desenvolvidos, em especial se utilizando da redução do oxigênio dissolvido na água de manutenção dos animais. Outro método de indução de hipóxia é a exposição ao cloreto de cobalto (CoCl_2) o qual é capaz de promover o aumento da expressão de marcadores de hipóxia, como o HIF-1 α , um fator indutível por hipóxia. Desta forma, o objetivo deste estudo é caracterizar o modelo de hipóxia induzido por CoCl_2 em larvas de peixe-zebra para o estudo da participação das principais fontes de adenosina na resposta a hipóxia. Larvas de peixe-zebra de 13dpf foram expostas as concentrações de 0, 0.1, 0.5 e 5mM de CoCl_2 por 24h. Após a exposição ao CoCl_2 foi analisada a mortalidade e a atividade da enzima Lactato desidrogenase. As concentrações de CoCl_2 obtiveram taxa de mortalidade 12,5%(0,1mM), 57,5%(0,5mM), 82%(1mM) e 90% (5mM) e o grupo controle 10%. O tempo de incubação e a concentração de proteína para a determinação do delta de extinção para a reação da Lactato desidrogenase foram definidas através de curvas como 30 minutos de incubação e 3mg/ml de concentração de proteínas. O delta de extinção para a Lactato desidrogenase não demonstrou diferença entre as doses testadas de CoCl_2 . Amostras de larva total foram separadas para a avaliação da expressão gênica do Hif-alfa, como um marcador de indução de hipóxia.

Palavras-chave

Hipóxia; Cloreto de Cobalto; desenvolvimento; peixe-zebra