INFLUÊNCIA DO TRATAMENTO INSULÍNICO SOBRE A PLASTICIDADE SINÁPTICA E REATIVIDADE GLIAL EM CAMUNDONGOS NOD DIABÉTICOS

Laboratório de Regeneração Nervosa

Benitez, S.U.; Oliveira, A. L. R.
LABORATÓRIO DE REGENERAÇÃO NERVOSA, DEPARTAMENTO DE ANATOMIA, BIOLOGIA CELULAR, FISIOLOGIA E BIOFÍSICA, UNICAMP, Campinas, SP

UNICAMP

IB Instituto de Biologia

Palavras-Chave: Plasticidade Sináptica - Células de Schwann - Motoneurônios - Diabetes Mellitus Tipo I - Insulina.

Introdução

O diabetes mellitus tipo I é uma doença autoimune que causa estresse oxidativo no organismo, o que pode desencadear alterações na homeostase, como diminuição da plasticidade sináptica no hipocampo, mudanças na neurotransmissão mediada por glutamato e complicações vasculares que culminam com a diminuição do aporte de oxigênio e fatores tróficos para diversos tecidos. Ocorrem também danos no sistema visual, rins e coração. O sistema nervoso periférico é acometido por neuropatias que causam perda de sensibilidade, com degeneração de fibras nervosas. A doença pode causar diminuição da quantidade de vesículas neurotransmissoras em terminais pré-sinápticos, dificultando a plasticidade sináptica. Pacientes diabéticos são mais propensos a desenvolverem depressão, demência e mal de Alzheimer. Além disso, um estudo relatou alteração na pressão plantar de pacientes diabéticos enquanto caminhavam. Contudo, o impacto sobre a doença no sistema nervoso central e, em particular, sobre os motoneurônios espinais e células gliais é pouco conhecido e sua melhor compreensão pode auxuliar no desenvolvimento de estratégias visando a preservação dos circuitos medulares. Um modelo animal para a doença é o camundongo NOD o qual desenvolve espontaneamente o diabetes mellitus tipo I. Assim, o objetivo deste trabalho foi investigar possíveis alterações sinápticas ao redor de motoneurônios medulares de animais controle, diabéticos e com tratamento insulínico e avaliar a viabilidade das células de Schwann perante a instalação da doença.

Metodologia

Camundongos adultos fêmeas da linhagem NOD foram divididos em 3 grupos experimentais para microscopia eletrônica de transmissão (MET) (controle, diabético, tratado com insulina) e em 2 grupos para a cultura de células de Schwann (controle e diabético). Os animais foram sacrificados 14 dias após o estabelecimento do quadro hiperglicêmico (perfusão transcardíaca para MET, e dose letal de anestesia para cultura de células). A glicemia dos animais controle permaneceu ao redor de 120mg/dl, dos animais diabéticos foi maior que 600mg/dl e do grupo tratado ficou ao redor de 400mg/dl durante os 14 dias experimentais. A intumescência lombar da medula espinal foi processada para MET. Para a cultura de células, explantes dos nervos isquiáticos foram colocados em placas de cultura e analisada a capacidade de migração das células de Schwann.

Resultados

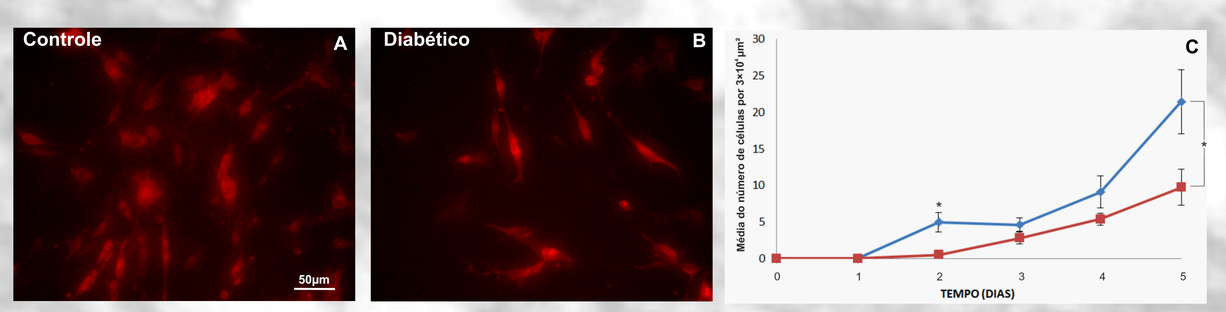

Figura 1. A e B. Imunomarcação para p75NTR evidenciando a presença de células de Schwann na cultura de explantes de animais controle (A) e diabéticos (B). **C.** Gráfico da quantidade de células de Schwann que migraram dos explantes de nervos isquiáticos dos animais controle e diabético. A média ± erro padrão da quantidade de células migrantes na placa de cultura foi calculada para cada animal para cada dia. Curva azul corresponde ao grupo controle e a curva vermelha ao grupo diabético. Sugere-se que as células de Schwann sejam afetadas pela evolução da doença. Tal fato pode estar relacionado a um aumento de apoptose ou redução da capacidade proliferativa.

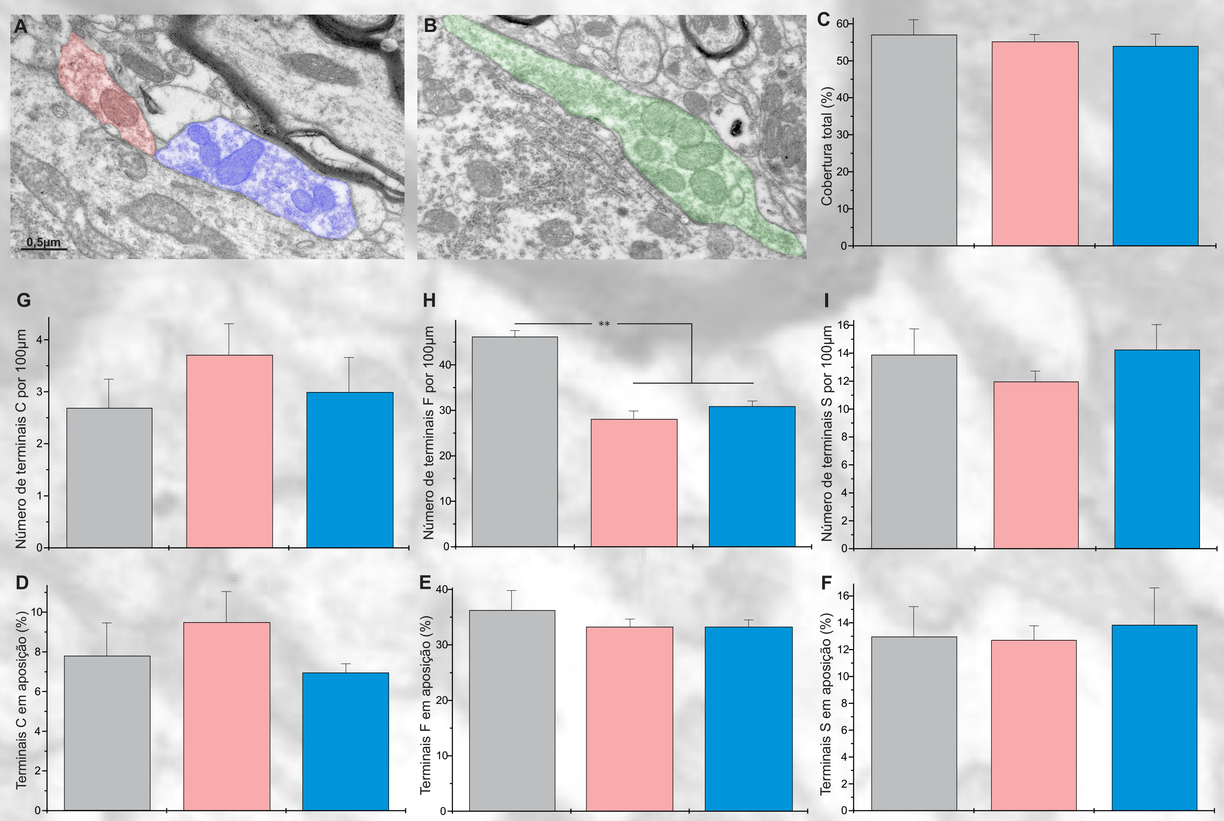

Fig. 2. A. Imagem ilustrando os terminais inibitórios tipo F (vermelho) e glutamatérgicos tipo S (azul) **B.** Imagem ilustrando um terminal sináptico colinérgico tipo C. Aumento de 11000x. **C.** Gráfico da cobertura total de terminais sinápticos em aposição com a membrana do motoneurônio. A cobertura sináptica total não foi alterada pela elevada glicemia durante os 14 dias experimentais. **D.** Gráfico do número de terminais C por 100µm de membrana. Não houve alteração estatisticamente siginificativa nos animais diabéticos nem nos animais tratados. **E.** Gráfico do número de terminais F por 100µm de membrana, evidenciando que houve redução na quantidade de terminais F nos animais diabético. Este quadro não foi normalizado com o tratamento insulínico (**=p<0,01). **F.** Gráfico do número de terminais S por 100µm de membrana. Não houve alteração estatisticamente siginificativa nos animais diabéticos nem nos animais tratados. **G, H e I.** Os gráficos mostram que a porcentagem de cobertura de terminais C, F e S respectivamente não se alterou durante o curso do diabetes nem durante o tratamento insulínico. Nos gráficos grupo controle em cinza, grupo diabético em rosa e grupo tratato em azul.

Conclusões

- Sugere-se que as células de Schwann estão presentes em menor quantidade ou possuem sua função prejudicada nos animais diabéticos, apresentando menor potencial migratório e/ou mitótico.
- O tempo de exposição à doença causou alterações na cobertura sináptica ao redor de motoneurônios.
- O tratamento insulínico não foi suficiente para reverter as alterações sinápticas decorrentes da doença.

contato: sbenitez@unicamp.br

Apoio financeiro: PIBIC/CNPq