

INFLUÊNCIA DO TRATAMENTO INSULÍNICO SOBRE A PLASTICIDADE SINÁPTICA E REATIVIDADE GLIAL DURANTE O CURSO DO DIABETES EM CAMUNDONGOS NOD

Laboratório de
Regeneração
Nervosa

Benitez, S.U.; Carneiro, E.M.; Oliveira, A. L. R.



Laboratório de Regeneração Nervosa, Departamento de Anatomia, Biologia Celular, Fisiologia e Biofísica, UNICAMP, Campinas, SP

Apoio: SAE/UNICAMP

Palavras-chave: plasticidade sináptica, reatividade glial, diabetes mellitus tipo I, insulina.

Introdução

O diabetes mellitus tipo I é uma doença autoimune e que desencadeia uma série de alterações na homeostase, como diminuição da plasticidade sináptica no hipocampo, mudanças na neurotransmissão mediada por glutamato, complicações vasculares que causam danos no sistema visual, rins, coração e vasos sanguíneos. A doença também causa diminuição da quantidade de vesículas neurotransmissoras em terminais pré-sinápticos, dificultando a plasticidade sináptica. Contudo, o impacto do diabetes no Sistema Nervoso Central e, em particular, sobre os motoneurônios espinais e células gliais circunjacentes é pouco conhecido, e sua melhor compreensão pode auxiliar no desenvolvimento de estratégias visando a prevenção dos circuitos medulares durante o curso da doença. Neste sentido, um modelo animal de grande utilidade é o camundongo NOD, o qual desenvolve espontaneamente diabetes mellitus tipo 1. Assim, o objetivo deste trabalho foi investigar fenômenos de plasticidade sináptica e reatividade glial em motoneurônios alfa de animais submetidos ou não ao tratamento insulínico.

Metodologia

Camundongos adultos fêmeas da linhagem NOD foram divididos em 4 grupos: controle, diabético, placebo, tratado. Foram sacrificados após 14 dias do estabelecimento do quadro hiperglicêmico no grupo diabético, e após 14 dias de tratamento com insulina no grupo tratado. Os animais controle e placebo permaneceram 14 dias com a glicemia ao redor de 120mg/dl, os animais diabéticos tiveram a glicemia maior que 600mg/dl e os animais tratados permaneceram 14 dias com a glicemia ao redor de 400mg/dl. Após a perfusão transcardíaca as medulas foram processadas para imunistoquímica e microscopia eletrônica de transmissão.

Resultados

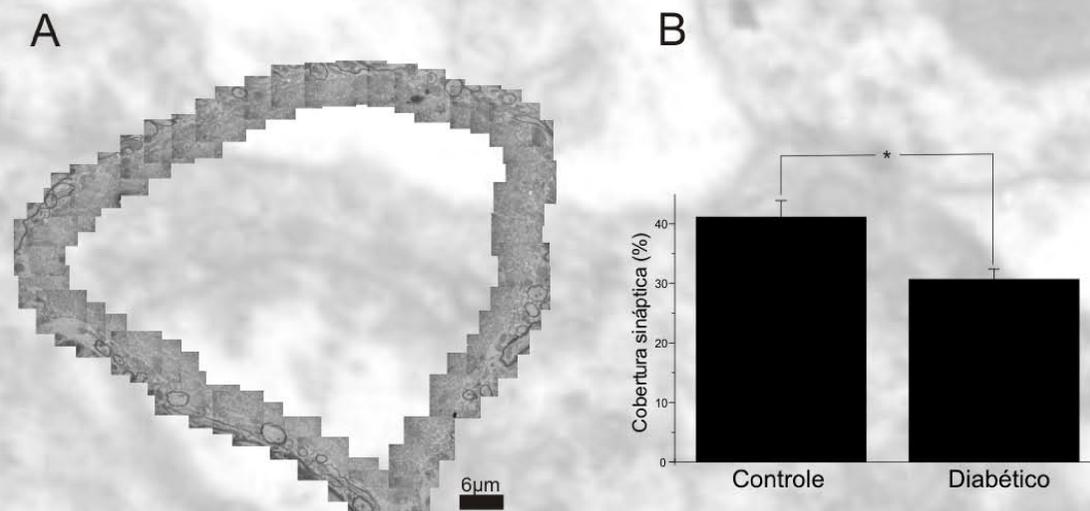


Figura 1. A. Sequência de fotomicrografias utilizadas para a reconstrução de um motoneurônio alfa para a medição do corpo neuronal e cobertura total dos terminais sinápticos. **B.** Gráfico mostrando a porcentagem de redução da superfície de aposição dos terminais sinápticos em contato com os motoneurônios.

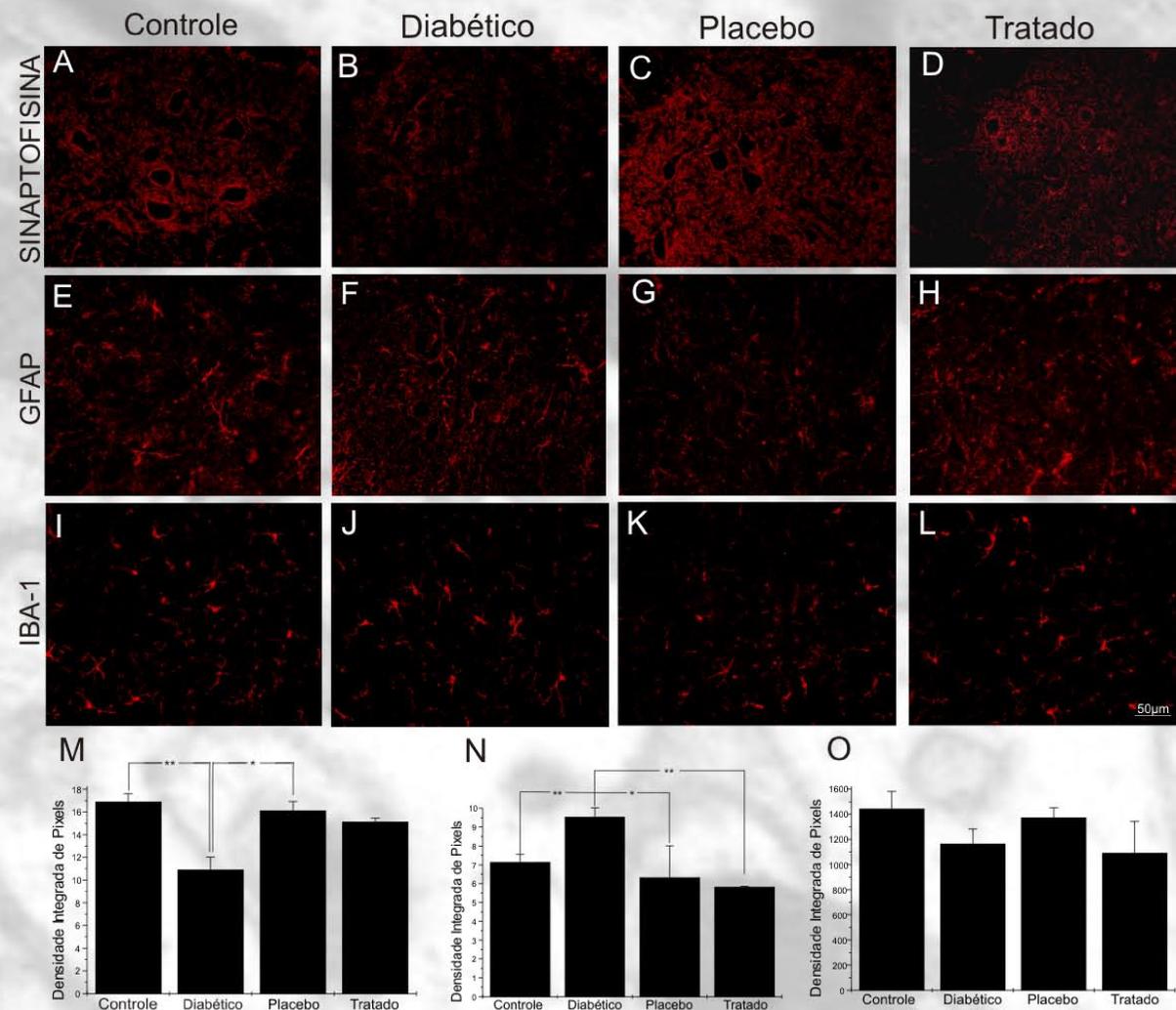


Figura 2. A-D. Imunomarcagem para Sinaptofisina (marcador sináptico). Observa-se diminuição da marcação para sinaptofisina no grupo diabético. O grupo tratado não difere estatisticamente dos grupos controle, placebo, e diabético. **E-H.** Imunomarcagem para GFAP (marcador de astrócitos). Repare no aumento de expressão da proteína ao redor dos motoneurônios do grupo diabético em relação ao controle. O grupo tratado reduziu os níveis de expressão ao redor dos motoneurônios em relação ao grupo diabético. **I-L.** Imunomarcagem para IBA-1 (marcador para microglia). Não houve alteração da resposta microglial ao redor dos motoneurônios alfa sem e com o tratamento insulínico. **M-O.** Gráficos da densidade integrada de pixels x 10³. **M.** O gráfico indica a média da densidade integrada de pixels x 10³ para sinaptofisina, mostrando que o grupo diabético apresenta danos nos circuitos medulares com a evolução da doença. **N.** O gráfico indica a média da densidade integrada de pixels x 10³ para GFAP, e vemos que a doença desencadeia aumento da resposta de astrócitos no animal diabético e redução da resposta no animal tratado. **O.** O gráfico indica a média da densidade integrada de pixels x 10³ para IBA-1, e sugere que não houve alteração na resposta microglial ao redor dos motoneurônios medulares.

Conclusões

- O diabetes mellitus causou redução na cobertura sináptica de motoneurônios medulares, identificável pela diminuição da expressão de sinaptofisina. Tal alteração foi confirmada em nível ultraestrutural, através de microscopia eletrônica de transmissão. O tratamento insulínico não foi suficiente para prevenir a perda sináptica.
- A doença causou aumento da resposta de astrócitos no microambiente dos motoneurônios alfa, resposta esta que foi prevenida com o tratamento insulínico.
- Não houve alteração de resposta microglial perante à exposição de glicemia elevada por duas semanas ou ao tratamento insulínico.