

Mônia Sartor, Diogo Lösch de Oliveira

Departamento de Bioquímica, Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Sul - UFRGS

INTRODUÇÃO

O traumatismo cranioencefálico (TCE) é uma das maiores causas de mortalidade no mundo. É classificado em leve, moderado ou grave - dependendo do local e intensidade da lesão - podendo causar prejuízos cognitivos, motores e induzir alterações no metabolismo cerebral. O risco de desenvolver doenças neurodegenerativas é aumentado após o TCE e estudos demonstram que a hiperglicemia e hipoglicemia contribuem para o agravamento da lesão cerebral após o impacto. Dados epidemiológicos comprovam que pacientes diabético que sofrem TCE tem maior mortalidade quando comparados a pacientes normoglicêmicos, necessitando cuidados mais intensivos nas emergências hospitalares. Assim, o controle glicêmico seria benéfico para a recuperação do paciente após o TCE.

Este trabalho objetiva investigar se o diabetes apresenta maior morbidade e/ou mortalidade após o TCE, seu impacto na memória e os mecanismos associados a via de sinalização da insulina.

MATERIAIS E MÉTODOS

Animais: camundongos C57BL/6 machos e adultos divididos nos grupos: sham salina (SS); sham insulina (SI); TCE salina (TS); TCE insulina (TI).

Indução do diabetes: realizado por meio da injeção de streptozotocina (150mg/kg) - via intraperitoneal (Fig.1, desenho experimental).

Tratamento: injeções diárias de insulina (20mg/kg) e salina NO intervalo de 12 horas - via subcutânea.

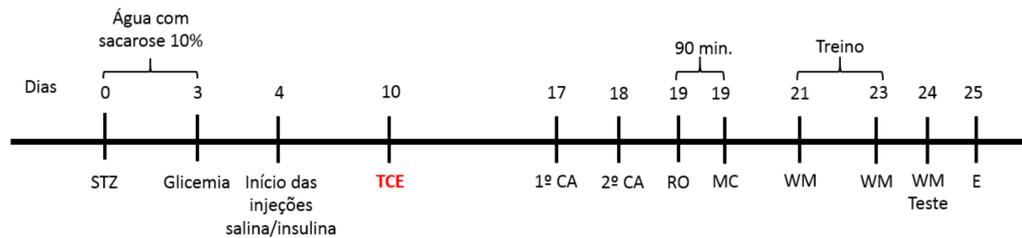
Escolha da dose do tratamento: realizou-se uma curva de dose de insulina nas concentrações de 5, 10 e 20U/kg.

Indução do TCE nos grupos TI e TS: a cirurgia estereotáxica e o impacto cortical controlado foi realizado duas horas após a administração de insulina/salina.

Testes comportamentais: funções cognitivas e motoras dos animais.

- Labirinto Aquático de Morris (WM, do inglês *Water Maze*): avaliar a memória espacial
- Campo aberto: habituação dos animais ao aparato e avaliação da atividade locomotora
- Reconhecimento de objetos: avaliação da memória de reconhecimento.

Memória curta - 90 minutos após o treino.



Legenda: STZ - Streptozotocina
TCE - Traumatismo crânio encefálico
CA - Campo aberto
RO - Reconhecimento de objetos
MC - Memória Curta
WM - Water Maze
E - Eutanásia

Figura 1: Desenho experimental.

RESULTADOS

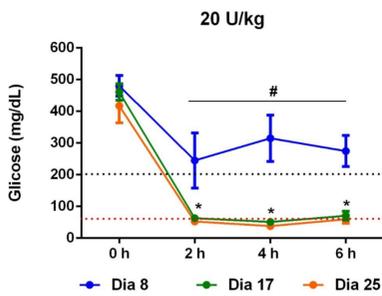


Figura 2: curvas glicêmicas em 8, 17 e 25 dias de administração de insulina 20U/kg. As glicemias foram medidas em 0, 2, 4 e 6 horas de jejum. Há diferenças estatísticas entre a glicemia medida no momento da administração de insulina (0h) e as horas de jejum subsequentes ($p < 0,0001$) e entre a curva glicêmica do dia 8 e as curvas dos dias 17 e 25 no tempo de 2, 4 e 6 horas de jejum ($p < 0,0001$). ANOVA de duas vias, $n=7$. Dados das curvas de 5 e 10U/kg não são mostrados.

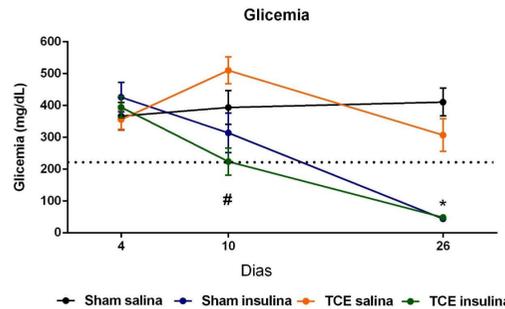


Figura 3: dosagem glicêmica realizada em diferentes dias de experimento ($n=10$ /grupo). No dia 3, todos os animais apresentam glicemia acima de 250mg/dL, indicando que todos se tornaram diabéticos. A glicemia também foi monitorada no momento da cirurgia (dia 10); $\#p < 0,05$ (SS e TS \neq TI). No dia da eutanásia, há diferenças entre os tratamentos (SS e TS \neq SI e TI); $*p < 0,05$.

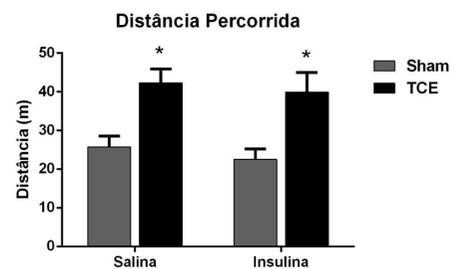


Figura 4: primeiro dia do teste de campo aberto. A distância percorrida pelos animais TS e TI é maior que os grupos SS e SI sendo que * representa as diferenças estatísticas entre SSxTS e SIxTI, com $p < 0,01$. ANOVA de duas vias, ($n=10$ /grupo),

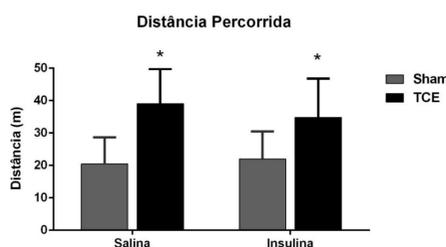


Figura 5: segundo dia do teste de campo aberto. A distância percorrida pelos animais TS e TI é maior que os grupos SS e SI, sendo que * representa as diferenças estatísticas entre SSxTS ($p < 0,01$) e SIxTI ($p < 0,05$). ANOVA de duas vias, ($n=10$ / grupo),

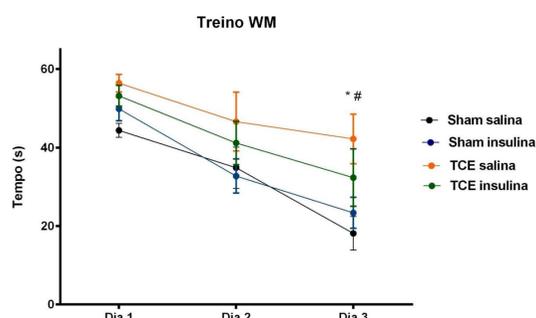


Figura 6: cada animal ($n=10$ /grupo) foi submetido a quatro sessões diárias (60 segundos), durante três dias consecutivos. O gráfico mostra a média do tempo gasto para encontrar a plataforma submersa. Há variação entre os dias de treino (ANOVA duas vias, $p < 0,0001$), com diferenças entre os grupos no terceiro dia: $*p < 0,01$ (SS \neq TS) e $\#p < 0,05$ (SI \neq TS).

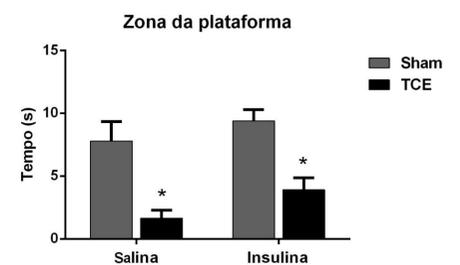


Figura 7: tempo de permanência na zona da plataforma - teste do WM. Os grupos TS e TI permaneceram menos tempo na zona da plataforma, sendo que * representa as diferenças estatísticas entre SSxTS e SIxTI ($p < 0,0001$). ANOVA de duas vias, $n=10$ /grupo

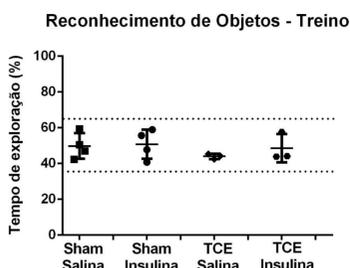


Figura 8: sessão treino de reconhecimento de objetos ($n=4$ /grupo). Os animais exploraram de forma uniforme os objetos.

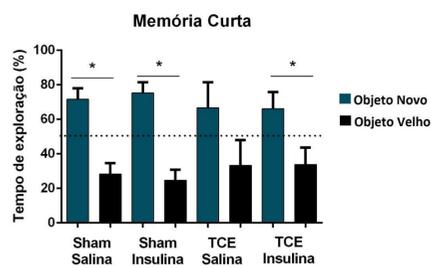


Figura 9: teste realizado 90 minutos após o treino. Os animais de todos os grupos, exceto TS, exploraram mais o objeto novo. SS: $p=0,006$; SI: $p=0,004$; TS: $p=0,18$; TI: $p=0,045$. Column statistics - One-sample t test - valor hipotético: 50, ($n=4$ /grupo).

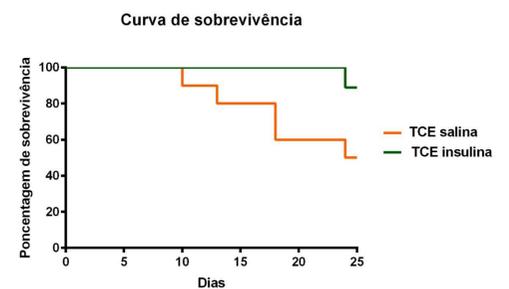


Figura 10: animais tratados com salina que sofreram TCE apresentam tendência para maior mortalidade após o trauma. n -inicial=10/grupo, $p=0,06$.

DISCUSSÃO

Houve uma tendência a maior mortalidade no grupo diabético não tratado submetido ao TCE. No WM, os grupos TI e TS permaneceram menos tempo na zona da plataforma, indicando um déficit de memória espacial. No teste de MC, todos os grupos exploraram mais o objeto novo, exceto o grupo TS, indicando que animais diabéticos não tratados submetidos ao TCE apresentam prejuízo na memória de reconhecimento.

Preliminarmente, conclui-se que os animais submetidos ao TCE, apresentam prejuízo na memória espacial. A administração de insulina, preveniu o declínio na memória de reconhecimento no grupo diabético submetido ao TCE. A taxa de mortalidade foi maior no grupo TS, sugerindo que o modelo corrobora com resultados encontrados em pacientes. Sabe-se que, além da regulação metabólica periférica, a insulina tem ação neurotrófica e neuromoduladora, que pode estar associada com a melhora cognitiva dos animais.