

EFEITO DA CETAMINA SOBRE A MORTE NEURONAL E AS ALTERAÇÕES COMPORTAMENTAIS CAUSADAS PELO "STATUS EPILEPTICUS" INDUZIDO POR LICL-PILOCARPINA EM RATOS JOVENS.

Marcela Mendonça Cavalheiro, Cássio Morais Loss, Sandro Daniel Córdova, Diogo Losch de Oliveira.
Departamento de Bioquímica – ICBS – UFRGS, Porto Alegre/RS

INTRODUÇÃO

As epilepsias são distúrbios crônicos do sistema nervoso central (SNC) caracterizadas por crises convulsivas recorrentes e espontâneas, atingindo aproximadamente 50 milhões de pessoas no mundo. Crises epiléticas com duração igual ou superior a 30 minutos, denominadas *status epilepticus* (SE), podem levar à morte neuronal e alterações comportamentais, principalmente quando ocorridas durante o desenvolvimento cerebral.

Bioquimicamente, o que acontece durante as crises é um desbalanço entre os sistemas glutamatérgico e GABAérgico. A cetamina é um antagonista do receptor N-metil-D-aspartato (rNMDA), um dos subtipos de receptores glutamatérgicos, e estudos anteriores indicam um possível envolvimento destes receptores na morte neuronal, causada pelo SE. Assim, o objetivo deste trabalho foi analisar um possível efeito neuroprotetor da cetamina sobre a morte neuronal e alterações comportamentais induzidas pelo SE em ratos jovens.

METODOLOGIA



Para indução dos animais ao SE, foi seguido o protocolo de Hirsch *et al.*, 1992, o qual consiste num tratamento com cloreto de lítio (LiCl) entre 12 a 18 horas antes da administração de pilocarpina, reduzindo, desta forma, a quantidade necessária da mesma para induzir o SE.

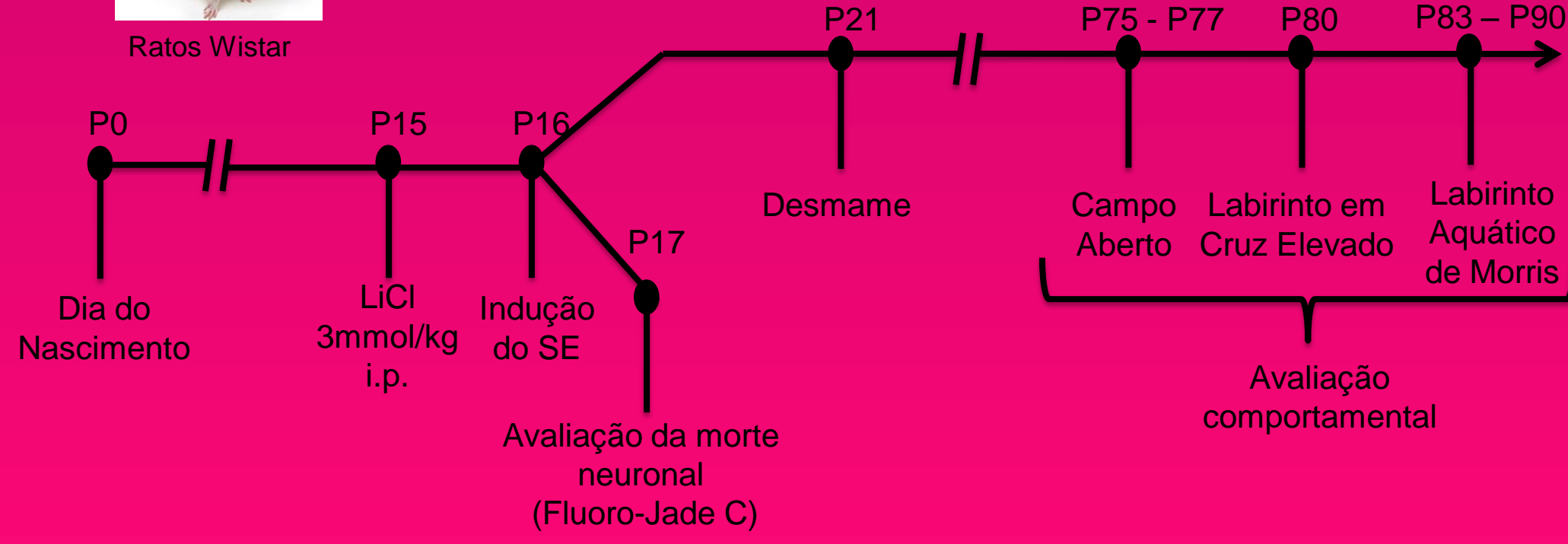


Tabela 1: Experimento de P16. Indução do SE, tratamento com cetamina e observação do padrão convulsivo**.

Grupos:	Soluções injetadas*:
CON	Solução salina 0,9%
CET	Cetamina (22,5 mg/kg)
SE	Pilocarpina (60 mg/kg)
SE + CET 15'	Pilocarpina (60 mg/kg) + Cetamina (22,5 mg/kg) 15 minutos após a administração da pilocarpina
SE + CET 60'	Pilocarpina (60 mg/kg) + Cetamina (22,5 mg/kg) 60 minutos após a administração da pilocarpina

* Todas as injeções foram administradas i.p.

** A observação do padrão convulsivo dos animais teve duração de 3 horas após a administração da pilocarpina.

RESULTADOS

Padrão convulsivo:

Os animais tratados com LiCl-pilocarpina apresentaram um aumento na defecação, salivação, tremor corporal e agitação no período de 2 a 5 minutos após a administração da pilocarpina. Este padrão comportamental progrediu, entre 8 a 13 minutos, para um aumento nos níveis de atividade motora culminando no SE em todos os animais. O SE foi caracterizado por clonismos orofaciais repetitivos, salivação, mastigação, clonismos de patas dianteiras, perda de equilíbrio e queda. Os grupos SE + CET 15' e SE + CET 60', apresentaram uma diminuição progressiva das manifestações motoras após a administração da cetamina. Em doses acima de 22,5 mg/kg (45 e 90 mg/kg), a cetamina administrada após a indução do SE, provocou a morte dos animais (dados não mostrados).

Morte neuronal (Técnica de Fluoro-Jade C):

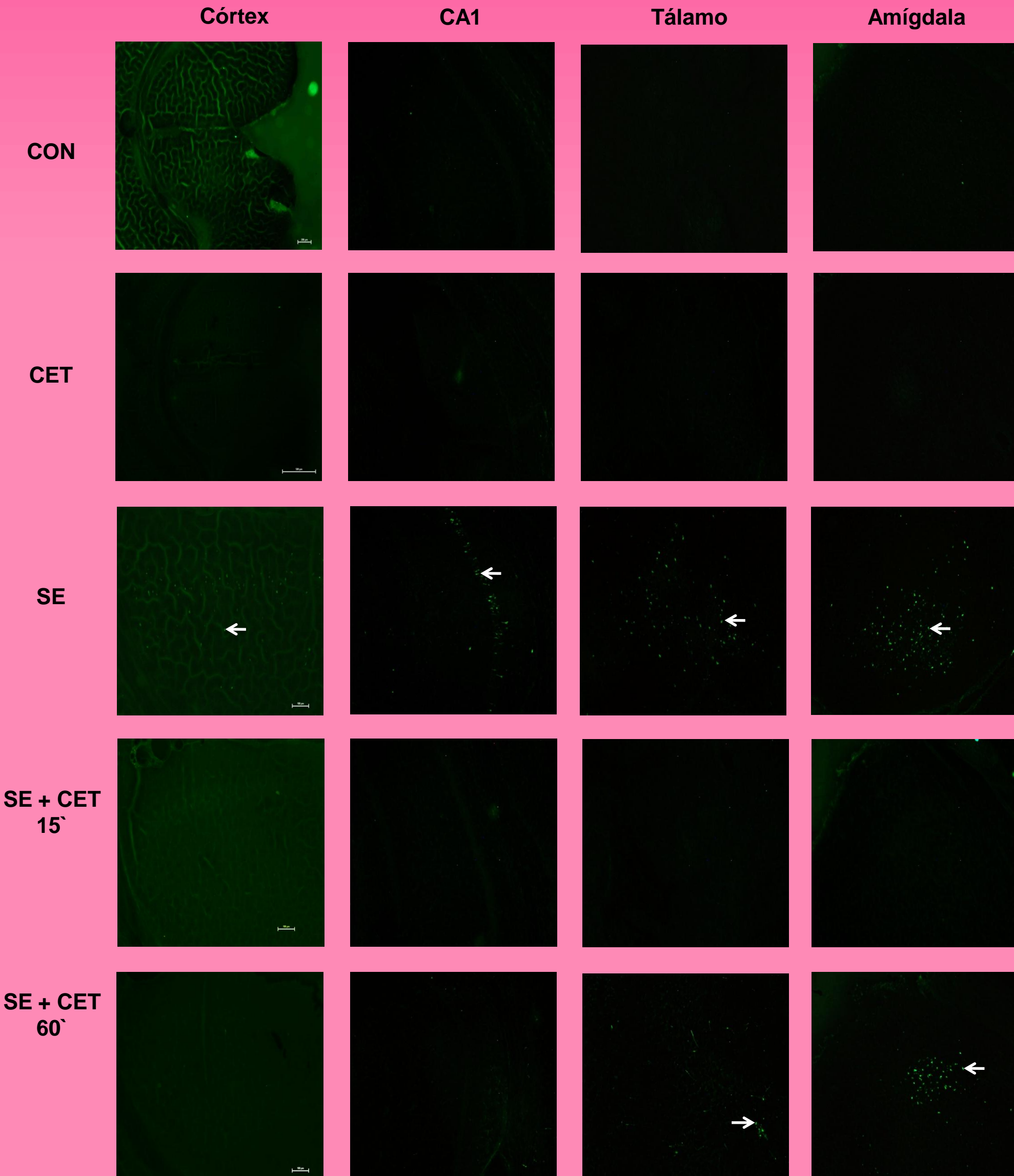


Fig. 1 – Morte neuronal. As setas indicam a localização de um neurônio positivamente marcado para Fluoro-Jade C. CON n=2, CET n=2, SE n= 2, SE + CET 15' n= 2 e SE + CET 60' n=2.

Tabela 2: Peso corporal. Os dados estão expressos como média \pm desvio padrão. (ANOVA de medidas repetidas, seguido pelo teste de Bonferroni). CON n=11, CET n=11, SE n= 13, SE + CET 15' n= 10 e SE + CET 60' n=10.

Grupos:	Tempo (dias)						
	P15	P16	P17	P18	P19	P20	P21
CON	26.10 \pm 3.75	26.20 \pm 3.19	29.50 \pm 3.47	31.90 \pm 3.69	34.80 \pm 4.84	37.20 \pm 5.37	39.90 \pm 6.01
CET	28.09 \pm 3.41	28.09 \pm 3.21	31.63 \pm 3.41	34.09 \pm 3.78	36.45 \pm 4.32	39.73 \pm 4.67	42.54 \pm 5.16
SE	28.15 \pm 2.57	27.84 \pm 2.58	23.77 \pm 2.31**	24.38 \pm 3.38 ^b	26.00 \pm 4.16 [#]	28.38 \pm 4.61 [#]	31.15 \pm 5.18 [#]
SE + CET 15'	28.10 \pm 3.28	27.90 \pm 2.84	25.00 \pm 2.45	27.90 \pm 3.44	31.20 \pm 4.16 ^b	34.20 \pm 4.08 ^c	37.60 \pm 4.72 ^c
SE + CET 60'	27.00 \pm 2.71	27.10 \pm 2.80	23.90 \pm 3.11*	25.30 \pm 4.45**	28.20 \pm 5.77**	30.90 \pm 6.54**	33.70 \pm 7.10**

* P < 0,05 comparado a CON.

** P < 0,01 comparado a CON.

[#] P < 0,001 comparado a CON.

^b P < 0,05 comparado a SE.

^c P < 0,01 comparado a SE.

Campo Aberto: Habituação ao aparato durante o teste e ao longo dos dias

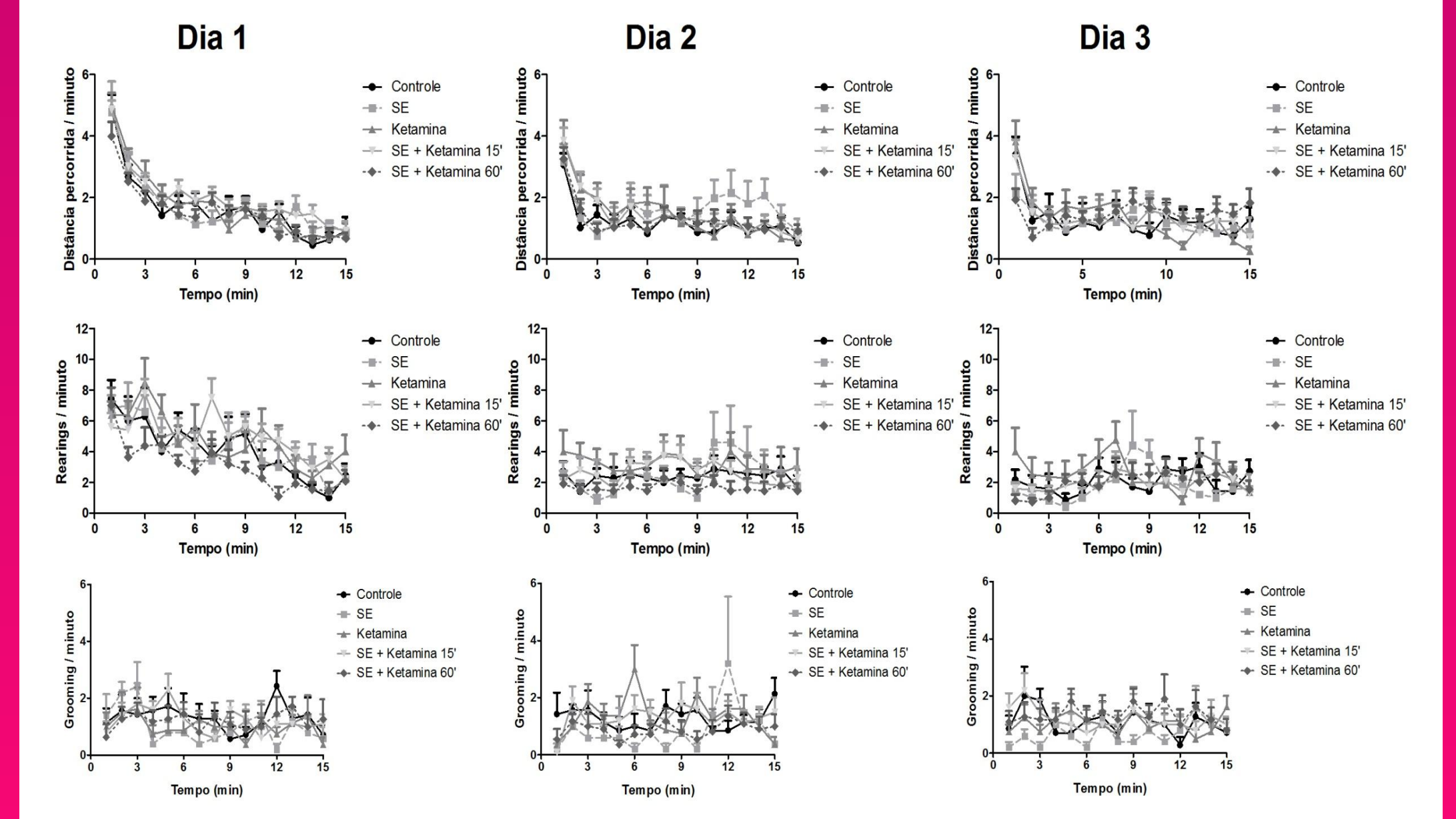


Fig. 2 – Campo aberto. Os dados estão expressos como média \pm erro padrão (ANOVA de medidas repetidas, seguido pelo teste de Bonferroni). CON n=7, CET n=8, SE n= 5, SE + CET 15' n= 10 e SE + CET 60' n=11.

Tabela 3: Campo Aberto. Comparação da atividade e organização espacial dos diferentes tratamentos no primeiro dia de teste. Os dados estão expressos como média \pm desvio padrão. (ANOVA de 1 via, seguido pelo teste de Tukey). CON n=7, CET n=8, SE n= 5, SE + CET 15' n= 10 e SE + CET 60' n=11.

Grupos:	Atividade			Organização Espacial		
	Distância percorrida (m)	Tempo móvel (s)	Nº de paradas	Distância entre as paradas (m)	Distância percorrida na periferia (%)	Tempo gasto na periferia (%)
CON	24.95 \pm 6.50	355.8 \pm 94.95	61.64 \pm 7.96	0.409 \pm 0.118	84.28 \pm 10.67	94.22 \pm 4.93
CET	25.31 \pm 6.60	356.8 \pm 75.31	66.82 \pm 5.25	0.377 \pm 0.080	82.31 \pm 5.96	93.12 \pm 3.96
SE	25.18 \pm 7.31	340.1 \pm 57.47	67.75 \pm 7.77	0.367 \pm 0.081	85.72 \pm 11.35	94.62 \pm 4.44
SE + CET 15'	29.86 \pm 7.56	428.5 \pm 82.25	67.00 \pm 10.33	0.458 \pm 0.143	84.29 \pm 6.40	93.27 \pm 3.02
SE + CET 60'	23.01 \pm 7.37	309.8 \pm 73.96	64.27 \pm 11.13	0.356 \pm 0.089	85.99 \pm 9.37	95.40 \pm 2.11

Labirinto em Cruz Elevado

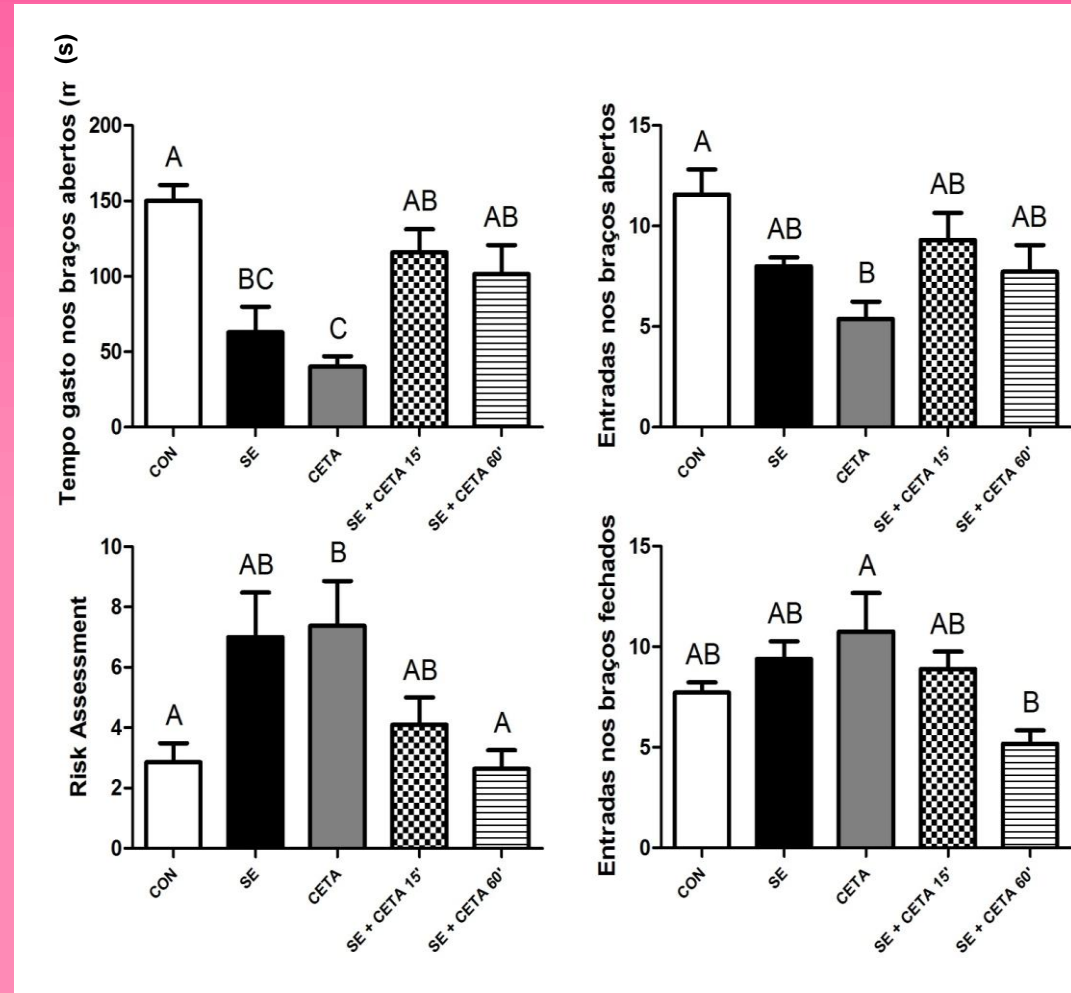


Fig. 3 – Labirinto em cruz elevado. Os dados estão expressos como média \pm erro padrão (ANOVA de 1 via, seguido pelo teste de Tukey). CON n=7, CET n=8, SE n= 5, SE + CET 15' n= 10 e SE + CET 60' n=11.

Labirinto Aquático de Morris

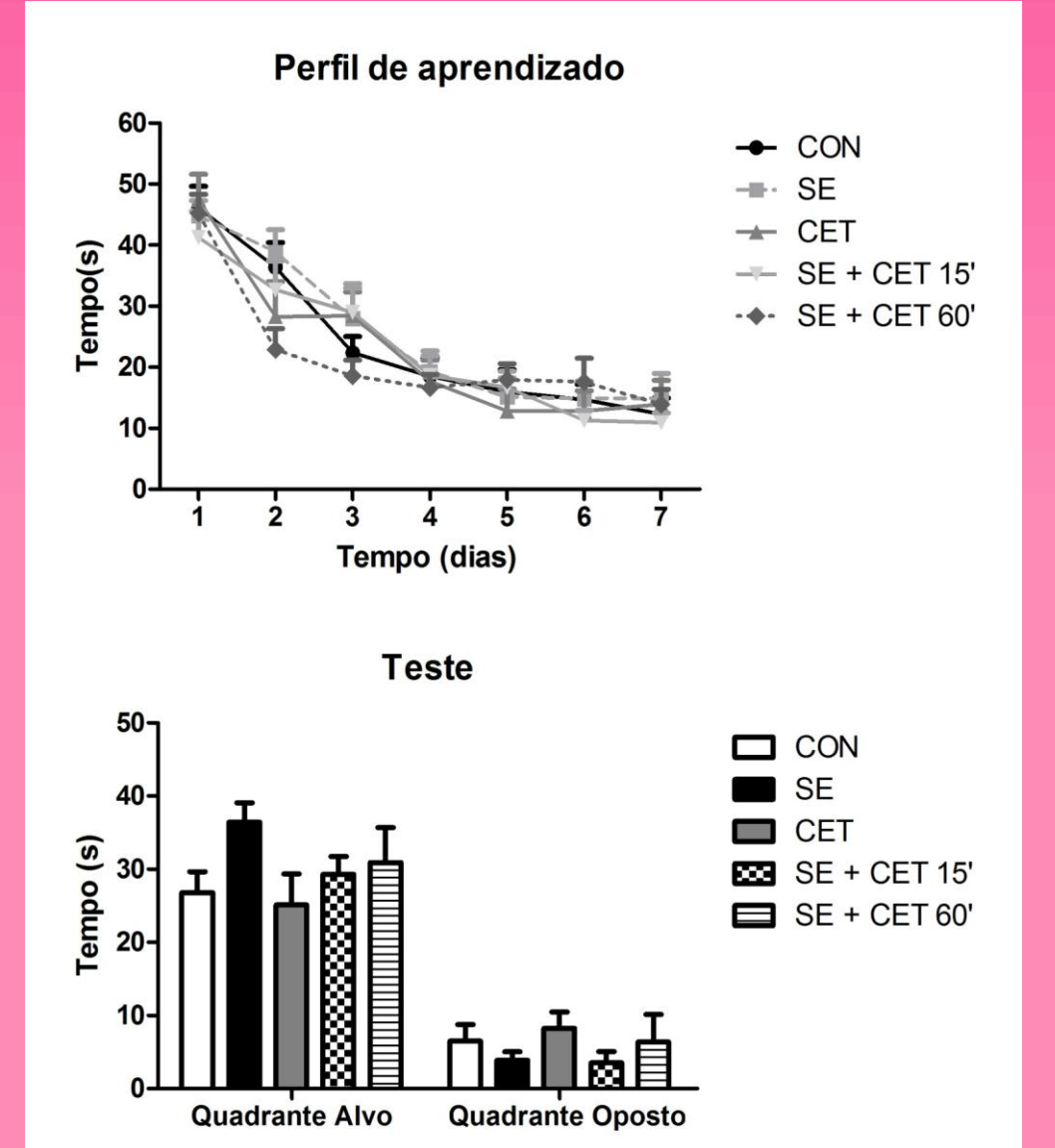


Fig. 4 – Labirinto aquático de Morris. Os dados estão expressos como média \pm erro padrão (ANOVA de 2 via, seguido pelo teste de Bonferroni). CON n=7, CET n=8, SE n= 5, SE + CET 15' n= 10 e SE + CET 60' n=11.

CONCLUSÃO

Nosso estudo mostrou que a cetamina foi capaz de:

- reverter as crises convulsivas prolongadas induzidas por Li-pilocarpina em ambos os tempos testados;
- prevenir a perda progressiva de peso corporal;
- prevenir a morte neuronal, indicando assim, o envolvimento dos rNMDA nesse processo;
- reverter o efeito ansiogênico do SE na idade adulta.

APOIO FINANCEIRO: CAPES, CNPq, INCT-EN e IBN-Net