



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOCÊNCIA ANIMAL

**ALTERAÇÕES NOS PADRÕES DO ECOG DE RATOS INDUZIDOS AO
DIABETES MELLITUS TIPO 2**

Eva Luana Almeida da Silva

Recife

2018



**ALTERAÇÕES NOS PADRÕES DO EC₆₀G DE RATOS INDUZIDOS AO
DIABETES MELLITUS TIPO 2**

Eva Luana Almeida da Silva

Orientador:

Prof. Dr. Romildo de Albuquerque Nogueira

Co-Orientadora:

Prof^a. Dr^a. Daniella Tavares Pessoa

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biociência Animal da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como pré-requisito para obtenção do grau de Mestre em Biociência Animal.

Recife

2018

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema Integrado de Bibliotecas da UFRPE
Biblioteca Central, Recife-PE, Brasil

S586a Silva, Eva Luana Almeida da
Alterações nos padrões do ECoG de ratos induzidos ao diabetes
mellitus tipo 2 / Eva Luana Almeida da Silva. – 2018.
75 f. : il.

Orientador: Romildo de Albuquerque Nogueira.
Coorientadora: Daniella Tavares Pessoa.
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal Rural de
Pernambuco, Programa de Pós-Graduação em Biociência Animal,
Recife, BR-PE, 2018.
Inclui referências.

1. DFA 2. Espectro de potência 3. Fractal 4. Diabetes I. Nogueira,
Romildo de Albuquerque, orient. II. Pessoa, Daniella Tavares,
coorient. III. Título

CDD 636.089

Sonhe,
Sonhe na medida do seu esforço,
Quanto maior o sonho, maior a luta para alcançá-lo.
Nem sempre a luta vale o sonho,
Mas sempre o sonho vale a luta.

Autor desconhecido

AGRADECIMENTOS

Ao meu bom Deus, por me acompanhar e me guiar para cada um de minhas conquistas.

Ao meu avô, Seu China, meu padrinho, Tulinho, e à minha mãe, Solange, pela base forte, apoio incondicional e pela compreensão nos momentos de ausência. À minha prima Andreza que nas etapas finais de execução desta dissertação se prontificou a cuidar de Heitor tão bem quanto eu sempre que precisei faltar.

Ao Prof. Romildo Nogueira, pela orientação, desde o primeiro período da graduação, não apenas na vida acadêmica, mas em todos os aspectos, tal qual um pai para um filho querido. Quando foi preciso sempre me deu seu apoio, carinho e atenção, agradeço também por confiar e acreditar em mim.

À Prof^a Maria José de Sena, minha querida reitora, pois assim que me conheceu moveu céus e terras para me dar condições de me manter dentro desta universidade me dedicando às atividades no laboratório. Esta doce e aringueira senhora também cuidou de mim para que nada me faltasse, uma mãezona aqui dentro do meu coração. Eu sei que ela faria isso por qualquer aluno, porém, nesse caso fui eu (risos).

Aos meus irmãos, que não são poucos: Monguinha, Bombinho, Mirthys, Renildo, Gabi e Júlia. Meus irmãos independente de estarem ao meu lado ou distantes, sempre me dão forças para continuar em frente, seguindo meus sonhos, não sei como não amá-los com todo meu coração, mesmo que não diga sempre.

Aos meus amigos que sempre entenderam minha ausência, e a outros que até hoje não a aceitam: Regina, Waldir, Gi, Cleyton, Fatinha, Bruno, Mi, David, amigos por assim dizer, mas não são menos que irmãos do coração, para esta e muitas outras vidas. Sempre confiarei nos sentimentos que cada um deles dedica a mim. Grata sempre por tê-los!

À minha família do LABTEC, em especial minha co- Dani, Hannitcha, Jeinelds, Ed Lola, esses anjinhos são responsáveis pelo meu desejo de estar no laboratório produzindo ciência (risos) eles criaram uma atmosfera de energias muito positivas, uma cumplicidade, humildade, companheirismo, entre altos e baixos todos sempre nos respeitamos e sempre fortalecemos nossa amizade. Esses amorecos me amam tanto eu a eles. A Leandrino e Márcia, que me apoiaram demais, me

aconselham e me querem muito bem, chamo todos eles de família porque sei que a qualquer hora, a qualquer momento vocês estarão para o que der e vier, e em muitos momentos de estresse com os experimentos, vocês que me fizeram parar de resmungar, refazer tudo e seguir em frente. E a todos que fazem parte deste laboratório: Gesilda, sempre tão carinhosa, Marli, Renatinha, meu querido Rada, que tem toda paciência do mundo comigo, Emmanuel sempre com palavras de conforto e confiança, Felipe, Thaís. E esse agradecimento se estende à copa do DMFA, aos laboratórios de histologia com pessoas maravilhosas: Isma (amoreca), Cintia, Carol, Welma, Solis, Hilda, Aline, Marina, Rebeca e Fabi Felix.

Aos professores da Biologia e do DMFA, pessoas maravilhosas que me apoiaram, compreenderam e sempre confiaram em mim.

À minha família da residência estudantil: Edejane, pessoa maravilhosa que amo demais, Brício queridinho, Tam, Jai, Dija, e Bia, que compreenderam cada estresse, vocês são os melhores.

Aos meus grandes amigos da graduação e agora de toda a vida Hanitcha, Netinho, Marcelinha, Nati e Pri, por me acolherem na cidade grande e me proporcionaram grandes momentos de felicidade durante a graduação e compartilharem as angústias da vida universitária.

Aos meus cunhados queridos, Panzito, que está sempre do meu lado, Felipe que mesmo distante ajuda como pode.

À Fundação de Amparo a Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE) pela bolsa de Iniciação Científica (PIBIC) durante dois anos. À Comissão de Aperfeiçoamento de Pessoal do Nível Superior (CAPES), Conselho Nacional de Pesquisa (CNPq), Departamento de Morfologia e Fisiologia da Universidade Federal Rural de Pernambuco (DMFA – UFRPE) e Centro de Apoio a Pesquisa (CENAPESQ)-UFRPE.

Por último, porém não menos importante, gostaria de agradecer ao meu marido, Dilles, que aguentou cada estresse, apesar de causar outros tantos, enfim, obrigada por estar ao meu lado dia após dia, e, ao nosso filho Heitor, que não facilitou a execução desta dissertação, mas sem dúvida é o maior incentivo para que eu siga em frente apesar de cada dificuldade.

Amo todos vocês!

Resumo

O diabetes mellitus (DM) é atualmente a doença que mais mata no mundo e o número de pacientes aumenta a cada ano, devido ao modo de vida das populações nos diferentes países, sendo os principais fatores que contribuem para este aumento o sedentarismo e a alimentação de má qualidade. O DM tipo 2 (DM2) é uma doença na qual o paciente produz insulina em quantidade insuficiente ou possui resistência à insulina, que se caracteriza pela não absorção da glicose pelas células. O diagnóstico do DM2 geralmente é tardio e, algumas vezes, decorre das próprias complicações do diabetes. A literatura apresenta vários estudos que buscam verificar o envolvimento do DM2 sobre a atividade cerebral e conseqüentemente, sobre os processos de cognição, tanto em humanos quanto em outras espécies. Entretanto, não há trabalho na literatura que analise diretamente a influência das oscilações de glicose, comuns aos pacientes com DM, sobre a atividade elétrica cortical. No presente trabalho, buscou-se verificar os efeitos do DM2, em modelo experimental, sobre os parâmetros da atividade elétrica cortical de ratos adultos machos. O eletrocorticograma (ECoG) dos animais foi usado para o registro da atividade elétrica cerebral. A análise desse sinal eletrofisiológico foi realizada pelos métodos do espectro de potência, análise de flutuação destendenciada (DFA) e dimensão fractal do espaço de fase reconstruído. Dez ratos Wistar machos de 60 dias foram subdivididos em dois grupos experimentais: um grupo controle (GC) e outro induzido ao DM2 (GD2) através da estreptozotocina. Os métodos matemáticos de DFA e Análise fractal propostos foram sensíveis em detectar alterações no comportamento dos padrões eletrocorticográficos dos animais dos grupos experimentais causadas pelo diabetes somente quando aplicados em regiões específicas do espectro, porém quando aplicado ao ECoG total não foram observadas alterações significativas.

Palavras-chave: DFA, espectro de potência, fractal, diabetes

Abstract

Diabetes mellitus (DM) is currently the disease with the highest mortality rate in the world. The number of patients increases each year, due to the population lifestyle in different countries, being sedentary lifestyle and poor quality food the main factors that contribute to this increase. DM type 2 (DM2) is a disease in which the patient produces insulin insufficiently or has insulin resistance, which is characterized by the non-uptake of glucose by the cells. Its diagnosis is usually late and sometimes stems from the complications of diabetes itself. The literature presents several studies that seek to verify the involvement of DM2 in brain activity and, consequently, on the cognitive processes, both in humans and other species. However, there is no work in the literature that directly analyzes the influence of glucose oscillations, common to DM patients, on cortical electrical activity. In the present work, we sought to verify the DM2 effects, in an experimental model, on the cortical electric activity parameters of male adult rats. The electrocorticogram (ECoG) of the animals was used to record the brain electrical activity. The analysis of this electrophysiological signal was performed by the power spectrum, detrended fluctuation analysis (DFA) and fractal dimension of the reconstructed phase space. Ten male Wistar rats of 60 days were subdivided into two experimental groups: one control group (CG) and another group DM2 induced (GD2) through streptozotocin. The mathematical methods proposed of DFA and Fractal Analysis were sensitive to detect changes in the behavior of the animals electrocorticographic patterns in experimental groups caused by diabetes only when applied in specific spectrum regions, but when applied to total ECoG no significant changes were observed.

Keywords: DFA, power spectrum, fractal, diabetes

Sumário

1. INTRODUÇÃO.....	13
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	15
2.1 O cérebro	15
2.2 A glicose	18
2.3 Metabolismo da glicose e o cérebro.....	21
2.4 Importância da insulina para o cérebro	25
2.6 Diabetes Mellitus tipo 2 e Resistência à insulina.....	28
2.6.1 DM2 e Doença de Alzheimer: Diabetes tipo 3 (DM3)	30
2.7 Eletroencefalograma (EEG) e Eletrocorticograma (ECoG)	31
2.7.1 Atividade elétrica cerebral e sistemas caóticos	33
2.7.2 Métodos de análise.....	34
3. OBJETIVOS 43	
3.1 Objetivo Geral	43
3.2 Objetivos Específicos	43
4. METODOLOGIA	44
4.1 Animais e agrupamento	44
4.2 Indução e caracterização do diabetes mellitus tipo 2.....	44
4.3 Teste de tolerância intraperitoneal à glicose (IGTT)	44
4.4 Implante do eletrodo e aquisição do ECoG.....	45
4.5 Processamento do sinal.....	47
4.6 Estatística	47
5. REFERÊNCIAS	48
6. CAPÍTULO ÚNICO	52
7. CONSIDERAÇÕES FINAIS	74

Lista de figuras

Figura 1 - SNC: Encéfalo e Medula espinal: FONTE: the A.D.A.M. Editorial team (2018).....	15
Figura 2 - Propagação do potencial de ação. FONTE: "Propagação do impulso nervoso" em Só Biologia (Disponível na Internet em https://www.sobiologia.com.br).	16
Figura 3–Etapas do potencial de ação na membrana neuronal. FONTE: Quillfedt (2005).....	17
Figura 4 - Fenda sináptica e células pré e pós-sináptica. FONTE: https://www.todamateria.com.br/sinapses	18
Figura 5 - Molécula de Glicose. FONTE: ID 11063520 © Barbora Feckova Dreamstime.com	19
Figura 6 - Forma linear e forma cíclica da glicose. FONTE: NEUROtiker	19
Figura 7 - As três principais vias metabólicas da glicose. FONTE: Magistretti e Allaman (2015).....	20
Figura 8 - Características e diferenças em perfis metabólicos entre neurônios e astrócitos. FONTE:Magistretti e Allaman, 2015.....	23
Figura 9 - Ação da metilglioxal na ocludina da barreira hematoencefálica. Fotomicrografia de microvasos no cérebro de ratos diabéticos. FONTE: LI et al., 2015.	24
Figura 10–Interação entre quantidade de glicose no sangue e os hormônios insulina e glucagon. FONTE: (https://www.sobiologia.com.br/conteudos/Corpo/sistemaendocrino2.php).	26
Figura 11 - Resposta à ativação neuronal na membrana do astrócito. FONTE: Fernandez et al., 2017.	27
Figura 12 - Após a administração de insulina (coloração ponderada com base no percentual de insulina presente em cada região). 1 - bulbo olfatório; 2 - córtex; 3 - Hipocampo; 4 - hipotálamo; 5 - cerebelo; e 6 – Restante do cérebro. FONTE: Salameh et al., 2015.	27
Figura 13- Registro de EEG com múltiplos eletrodos. FONTE: http://www.braindynamics.ca/eeg/	31
Figura 14 - Registro de ECoG. FONTE: medscape.com.....	32

Figura 15. Ondas cerebrais em ratos. δ - ondas delta (1 - 4 Hz) - em sono profundo. θ - ondas teta (4 - 8 Hz) - em sonolência ou estados emocionais alterados. α - ondas alfa (8-12 Hz) - em vigília com relaxamento mental. β - ondas beta (12-30 Hz) - em atividade física ou mental específica e estados de tensão, além de estar relacionada ao processo de cognição. FONTE: AGUIAR, 2015.....	33
Figura 16 – Representação esquemática da Transformada de Fourier. A série temporal (em vermelho) é separada nas diferentes faixas de frequência mostradas nos sinais em azul. FONTE: Wikimedia.	35
Figura 17 - Mapas da dinâmica das equações de (a) van der Pol, (b) van der Pol forçada e (c) Duffing, e suas respectivas transformadas de Fourier (GANDUR, 2001).	37
Figura 18 - Série original do ECoG de rato.	38
Figura 19 - Destendenciamento local no algoritmo da DFA. Linhas tracejadas na vertical representam os intervalos de comprimento n . Em cada intervalo é removida a tendência do sinal (linhas contínuas).	38
Figura 20– Gráfico duplo-log representando a função de flutuação para sinais com expoente α -DFA relativos à inclinação da função de regressão obtida para cada sinal.....	39
Figura 21 - Espaço de fase reconstruído a partir de um registro de um ECoG.	41
Figura 22 - Obtenção da dimensão fractal pelo método de contagem por caixas.....	42
Figura 23 - Aparelho utilizado para realização do Teste de Tolerância Intraperitoneal à Glicose (IGTT).....	45
Figura 24 - Posição esquemática de implante dos eletrodos FONTE: Modificado de Paxinos and Watson (1998).	46
Figura 25 - A - momento inicial do implante; B - momento após implante; C - momento após recuperação cirúrgica.	46
Figura 26 - A – animal apto para a aquisição do sinal; B – EMG (amplificador e conversor de sinal analógico para digital; C – Registro do ECoG.	47

1. INTRODUÇÃO

O metabolismo da glicose fornece o combustível para a função cerebral por meio da geração de ATP, que é fundamental para a manutenção das células neuronais e não neuronais, bem como, para a síntese de neurotransmissores. Variações dos níveis glicêmicos no sangue podem desencadear alterações patológicas do cérebro, portanto, se faz necessária a regulação dos níveis de glicose para o adequado funcionamento cerebral (MERGENTHALER, 2013). Tais flutuações são características comuns de indivíduos portadores de diabetes mellitus tipo 2 (DM2).

O DM2 é caracterizado por distúrbios do metabolismo dos carboidratos, apresentando deficiência na secreção de insulina, absorção da glicose (resistência insulínica) ou uma combinação de ambos, resultando em aumento dos níveis plasmáticos de glicose (PRABAKARAN & ASHOKKUMAR, 2013; CRAWFORD, 2017).

A resistência à insulina pode conduzir ao acúmulo de beta-amilóide (A β) e a toxicidade deste peptídeo determina a resistência à insulina no cérebro. Ou seja, os efeitos tóxicos da A β podem agravar a resistência à insulina e o desenvolvimento de uma retroalimentação positiva na neurodegeneração progressiva (DINELEY et al., 2014; FALCO et al., 2016; PARDESHI et al., 2017). Esses dados em conjunto, evidenciam a necessidade atual de pesquisas por novas ferramentas, a fim de entender os reais efeitos do DM2 para dinâmica cerebral e sua estreita relação com degeneração cognitiva.

No Sistema Nervoso Central (SNC), os neurônios conduzem o impulso nervoso através de potenciais de ação e sinapses (KANDEL et al., 2014). A sobreposição de potenciais pós-sinápticos de populações de neurônios é responsável pela atividade elétrica cerebral detectável pelo Eletrocorticograma (ECoG). Apesar de ser aparentemente aleatório, o sinal do ECoG apresenta propriedades caóticas. Os fenômenos caóticos apresentam como principal característica a sensibilidade crítica às condições iniciais, ou seja, uma pequena diferença num estímulo inicial pode resultar em respostas bastante diferentes (SAVI, 2005).

Na atividade elétrica cerebral, como em qualquer sistema fisiológico, a capacidade de auto-regulação é que define a regra do caos. Uma vez que o cérebro apresenta-se como um sistema dinâmico não-linear caótico, a aplicação de métodos matemáticos lineares e não-lineares, como o espectro de potência, a dimensão fractal do espaço de fase reconstruído e a análise de flutuação destendenciada, pode auxiliar na compreensão de aspectos importantes sobre o efeito do DM2 sobre a atividade elétrica cerebral.

Apesar de haver vários estudos na literatura que buscam verificar o envolvimento do DM2 sobre a atividade cerebral e a cognição, tanto em humanos quanto em outras espécies, não encontramos nenhum estudo que analise diretamente a influência das oscilações de glicose, comuns aos pacientes com DM2, na atividade elétrica cortical. No presente trabalho investigou-se, usando-se métodos matemáticos, possíveis efeitos do DM2 sobre a atividade elétrica cortical em ratos adultos machos.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 O cérebro

O Sistema Nervoso Central (SNC) é formado pelo encéfalo e medula espinhal (Figura 1). O cérebro é o órgão mais desenvolvido do encéfalo e é responsável pelo recebimento, processamento e resposta aos estímulos do próprio organismo ou do meio ambiente. No SNC há mais de 100 bilhões de neurônios e dez vezes mais células gliais. Frequentemente, o cérebro é comparado a um computador, pois, possui sinais de entrada, de armazenamento e de saída. Tais sinais interagem de maneira complexa para a manutenção da homeostase em respostas a determinados estímulos (GUYTON; HALL, 2017).

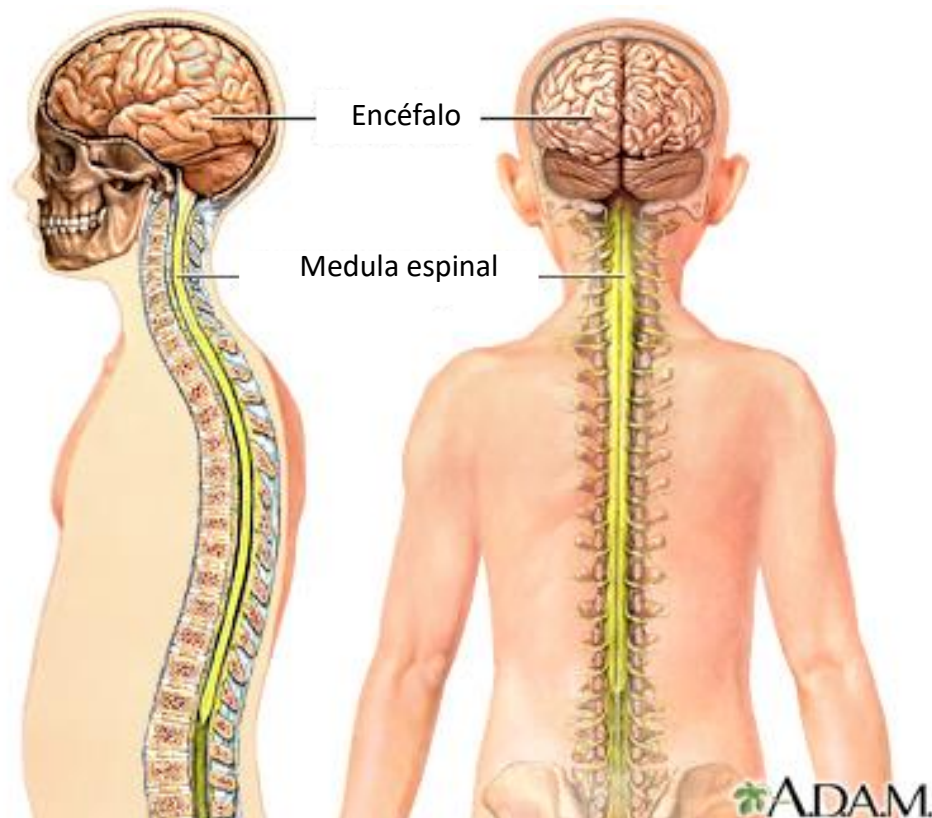


Figura 1 - SNC: Encéfalo e Medula espinhal: FONTE: the A.D.A.M. Editorial team (2018)

A maior parte das informações é transmitida para o SNC através dos impulsos nervosos, os potenciais de ação (PA). O PA que se estabelece na área da membrana estimulada perturba a área vizinha, levando à despolarização desta última. O impulso nervoso se propaga em um único sentido na fibra nervosa. Dendritos sempre conduzem o impulso em direção ao corpo celular. O axônio, por

sua vez, conduz o impulso em direção as extremidades, isto é, para longe do corpo celular (KANDEL et al., 2014) (Figura 2).

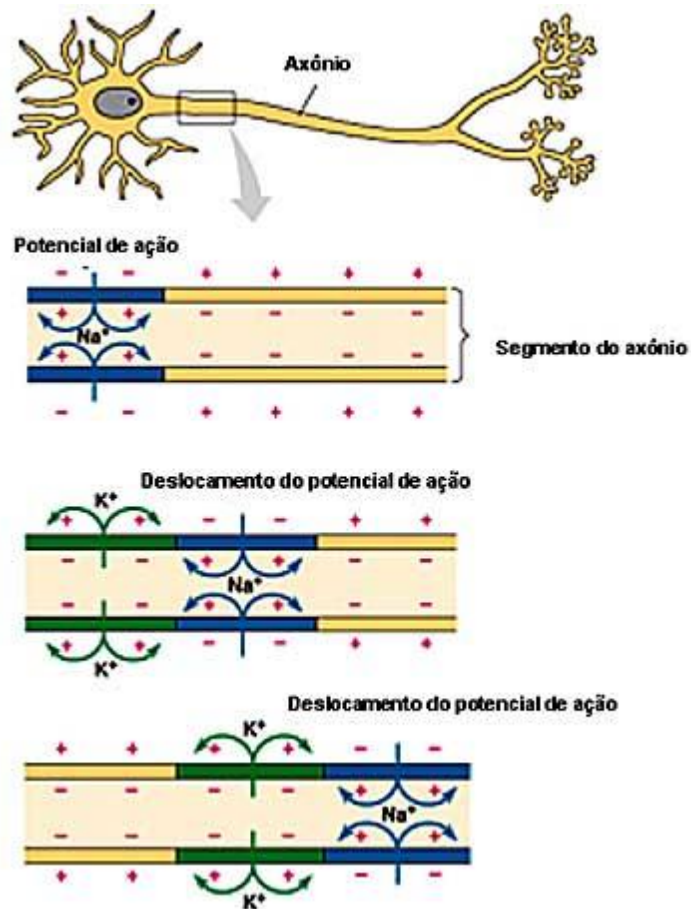


Figura 2 - Propagação do potencial de ação. FONTE: "Propagação do impulso nervoso" em sobiologia.com.

A estimulação de um neurônio segue a lei do tudo ou nada. Isso significa que ou o estímulo é suficientemente intenso para excitar o neurônio, desencadeando o potencial de ação, ou nada acontece. Não existe potencial de ação mais forte ou mais fraco; ele apresenta sempre a mesma intensidade e duração, independente da intensidade do estímulo, desde que seja limiar ou supra limiar. Estímulo limiar é o menor estímulo capaz de gerar potencial de ação (QUILLFEDT, 2005) (Figura 3).

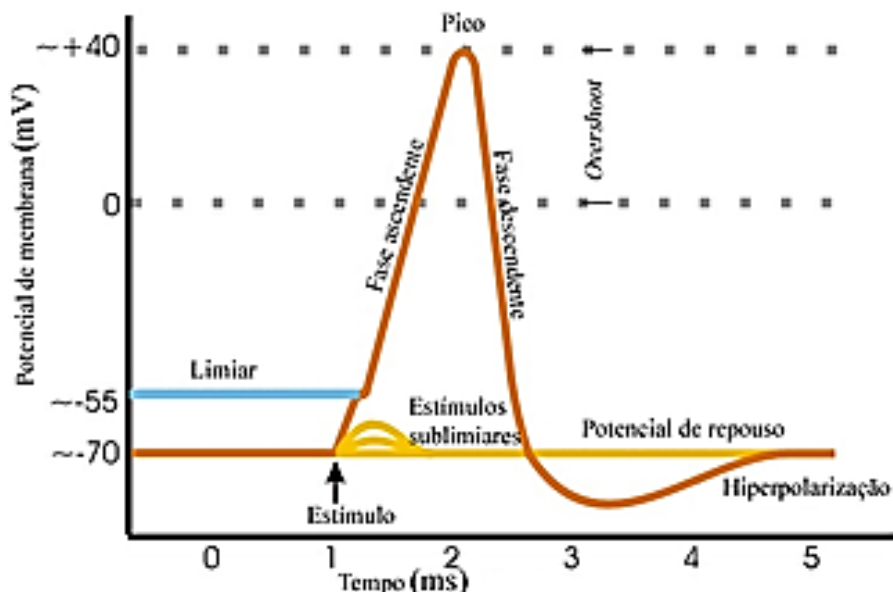


Figura 3 – Etapas do potencial de ação na membrana neuronal. FONTE: Quillfedt (2005).

As junções entre a terminação de um neurônio e a membrana de outro neurônio são denominadas sinapses. Elas fazem a conexão entre células vizinhas, dando continuidade à propagação do impulso nervoso por toda a rede neuronal. O espaço entre as membranas das células é chamada fenda sináptica (GUYTON; HALL, 2017).

Existem dois tipos de sinapses: a sinapse química e a elétrica. A sinapse química se inicia no terminal do axônio da célula pré-sináptica, que contém vesículas com neurotransmissores. Com o PA na célula pré-sináptica, estas vesículas se fundem na membrana do neurônio pré-sináptico e liberam o seu conteúdo (neurotransmissores) na fenda sináptica. Os ligantes são reconhecidos por receptores químicos da membrana da célula pós-sináptica, desencadeando o potencial pós-sináptico, propagando assim o sinal elétrico para outras células (GUYTON; HALL, 2017; KANDEL et al, 2014) (Figura 4).

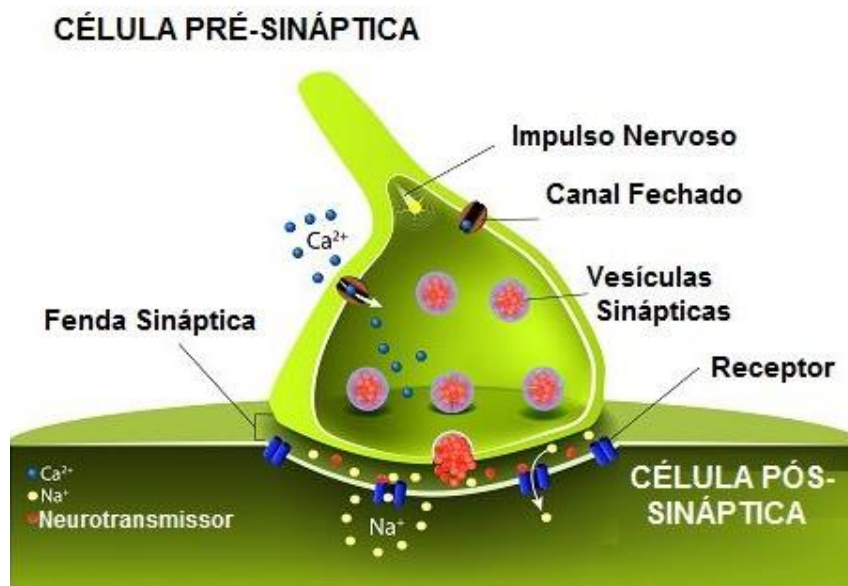


Figura 4 - Fenda sináptica e células pré e pós-sináptica. FONTE: todamateria.com/sinapses.

O segundo tipo de sinapse trata-se da sinapse elétrica, na qual não há participação de neurotransmissores, e o sinal elétrico é conduzido diretamente de uma célula a outra através das junções comunicantes. Essas junções são na realidade canais que conduzem íons, obtendo respostas quase imediatas, isso quer dizer que o PA se propaga de uma célula a outra por vias de baixa resistência (GUYTON;HALL, 2017; KANDEL et al, 201).

2.2 A glicose

A glicose é um carboidrato simples e é a principal forma de obtenção de energia para o nosso organismo. Esta molécula é composta por seis átomos de carbono e um grupo aldeído (Figura 5).

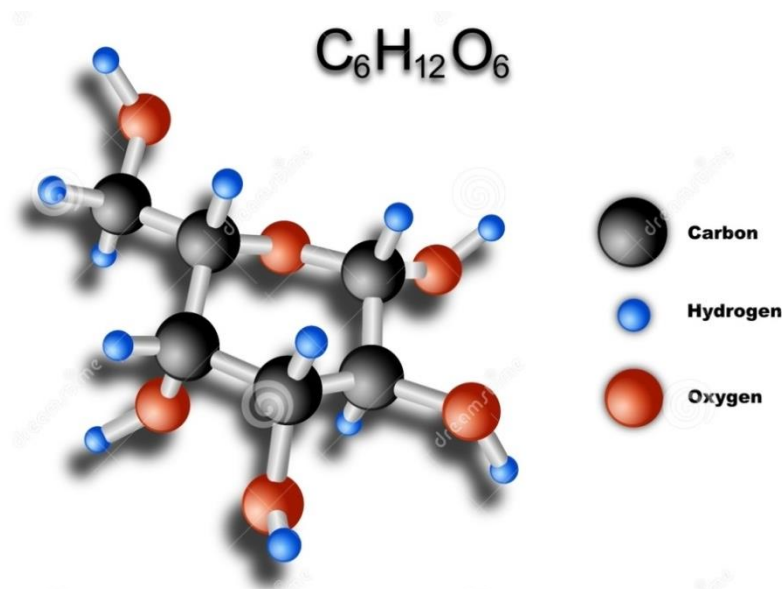


Figura 5 - Molécula de Glicose. FONTE: ID 11063520 © Barbora Feckova | Dreamstime.com

Além disso, a molécula pode ser encontrada em sua forma de cadeia aberta (acíclica) e de anel (cíclica)(Figura 6).

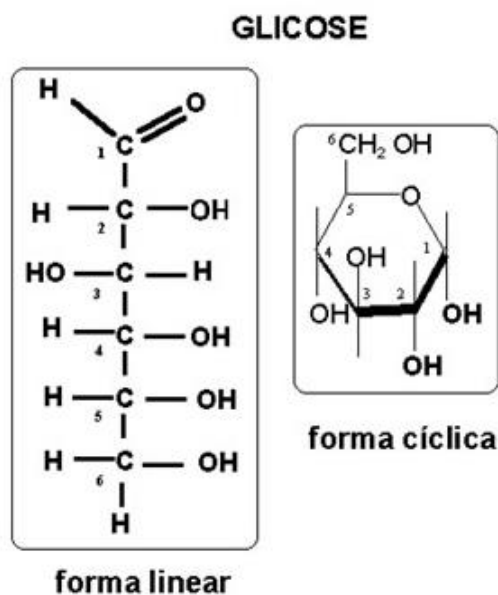


Figura 6 - Forma linear e forma cíclica da glicose. FONTE: NEUROtiker

A glicose é de extrema importância e pode participar em diferentes vias metabólicas. A forma como a célula utiliza a glicose, seguindo determinada rota, implica em efeitos sobre diversas outras vias no organismo (NELSON e COX, 2014).

A glicose entra nas células através de transportadores de glicose (GLUTs) e é fosforilada pela hexoquinase para produzir glicose-6-fosfato (glicose-6P). A glicose-

6P pode ser processada através de três vias metabólicas principais: 1 – a via glicolítica; 2 – a via das pentoses fosfato; e, 3 – a via de síntese de glicogênio (NELSON e COX, 2014) (Figura 7).

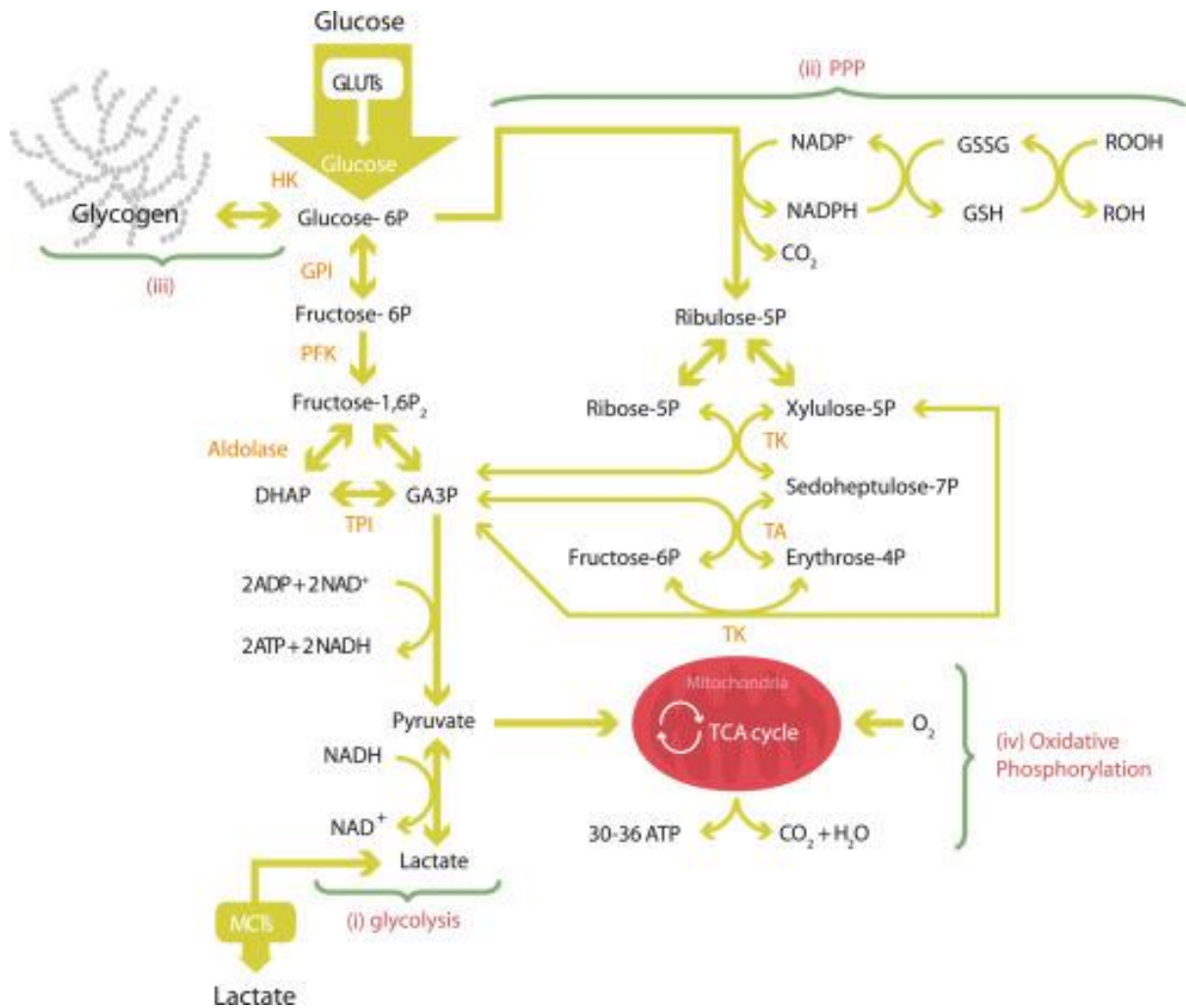


Figura 7 - As três principais vias metabólicas da glicose. FONTE: Magistretti e Allaman (2015).

No processo de glicólise, uma molécula de glicose dá origem a duas moléculas de piruvato, gerando ATP e nicotinamida adenina dinucleotídeo (na forma reduzida) (NADH). O piruvato metabolizado através do ciclo do ácido cítrico e da fosforilação oxidativa, gera ATP e gás carbônico (CO₂) enquanto consome oxigênio (O₂). O piruvato também é passível de redução a lactato pela enzima lactato desidrogenase. Este lactato pode ser liberado no espaço extracelular através de transportadores de monocarboxilato. A oxidação completa da glicose produz uma quantidade maior de ATP nas mitocôndrias (30-36 ATPs) em comparação com a glicólise (2 ATPs) (SALWAY, 2009).

Por meio da via das pentoses fosfato, uma molécula de glicose gera equivalentes redutores na forma de nicotinamida adenina dinucleotídeo fosforado (na forma reduzida) NADPH. O NADPH produzido nesta via é importante para a defesa contra o estresse oxidativo através do metabolismo do tripeptídeo glutathiona (GSH), um doador de elétrons em várias reações, incluindo a desintoxicação de reativos de oxigênio (ROS). A glutathiona oxidada formada como resultado é reciclada de volta para glutathiona pela ação da enzima glutathiona redutase usando NADPH como doador de elétrons (MAGISTRETTI & ALLAMAN, 2015).

A glicose-6P também pode participar da via de síntese de glicogênio, a forma de reserva de glicose nos animais. Para o cérebro, glicogênio é a única forma de reserva de energia, e precisa ser armazenada exclusivamente pelos astrócitos (MAGISTRETTI & ALLAMAN, 2015).

O metabolismo da glicose fornece o combustível para a função cerebral por meio da geração de ATP. O ATP é fundamental para a manutenção das células neuronais e não neuronais, e para síntese de neurotransmissores. (MERGENTHALER, 2013).

A carência de glicose pode trazer graves consequências ao cérebro pois a energia obtida por este órgão é proveniente, em sua maioria, do metabolismo dessa molécula ($\approx 90\%$). Poucos minutos de privação de glicose são suficientes para que o indivíduo perca a consciência, e em seguida, se o suprimento não for restaurado, pode levar o indivíduo à morte (NELSON e COX, 2014).

2.3 Metabolismo da glicose e o cérebro

O transporte da glicose através de GLUTs (transportadores de glicose) ocorre a favor do gradiente de concentração, por difusão facilitada em praticamente todas as células, com exceção da célula do lúmen intestinal e do túbulo renal (BROWN, 2000).

A insulina aumenta de 10 a 20 vezes a velocidade de transporte da glicose, em relação à velocidade observada na ausência da secreção de insulina, produzida pelo pâncreas. A quantidade de glicose passível de se difundir para o interior da maioria das células na ausência de insulina é insuficiente para o metabolismo energético, com exceção dos hepatócitos, neurônios e nefrons. Logo, nestes

últimos, o transporte de glicose não é dependente da insulina (MAGISTRETTI & ALLAMAN, 2015).

A expressão dos transportadores de glicose nos tecidos está ligada aos seus diferentes metabolismos. Conforme a demanda e utilização, a quantidade e tipo de transportadores variam. Diferentes isoformas de GLUTs foram identificadas no cérebro. No córtex, as isoformas de GLUT altamente expressas incluem GLUT1 e GLUT3, que são independentes de insulina. O GLUT1 é preferencialmente expresso em células endotélias e astrócitos, enquanto os neurônios expressam principalmente GLUT3 (BROWN, 2000).

No hipocampo, região afetada pela Doença de Alzheimer (DA), o GLUT4 é expresso principalmente nos neurônios e pode ser regulado pela insulina e pela proteína quinase ativada por monofosfato de adenosina (AMPK), que promovem a localização deste transportador na membrana em resposta ao aumento da absorção de glicose (BROWN, 2000).

Nenhum glicogênio é armazenado nos neurônios, enquanto os astrócitos são as únicas células do cérebro que o armazenam. Nos neurônios, a expressão reduzida e a atividade de 6-fosfofruto-2-quinase / frutose-2,6-bifosfatase 3 (Pfkfb3), um modulador positivo chave da glicólise, contrasta com altos níveis de expressão deste modulador e sua atividade em astrócitos. O diferencial específico da célula do neurônio e do astrócito permite que a partir da piruvato quinase se resultem a expressão da isoforma PKM1 exclusivamente nos neurônios e da isoforma PKM2 em astrócitos (FALKOWSKA et al, 2015) (Figura 8).

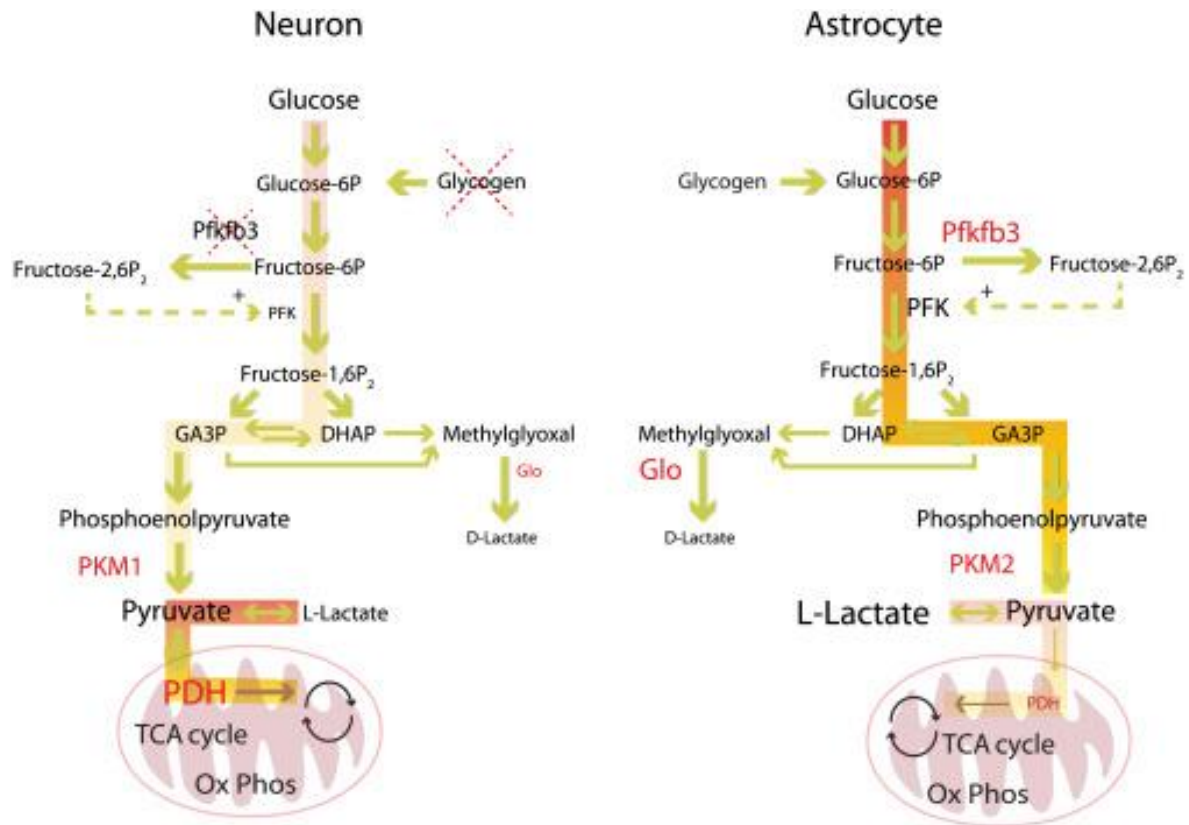


Figura 8 - Características e diferenças em perfis metabólicos entre neurônios e astrócitos. FONTE:Magistretti e Allaman, 2015.

A atividade da piruvato desidrogenase (PDH) é alta em neurônios e baixa em astrócitos, devido ao alto grau de fosforilação nos astrócitos. Em conjunto, esses perfis de expressão e atividade específicos de células resultam em uma capacidade limitada de glicólise e em um ciclo do ácido tricarboxílico (CAT) ativo e fosforilação oxidativa em neurônios. Já em astrócitos, a glicólise é mais ativa e pode ser autorregulada, enquanto que o processamento de piruvato no CAT é limitado (FALKOWSKA et al, 2015).

A expressão e atividade do sistema de glicoxalase que podem desintoxicar células de metilglioxal (MG) são consideravelmente maiores em astrócitos. Este conjunto de dados indica que a glicose é predominantemente utilizada nos neurônios para manter o estado antioxidante e não para fins bioenergéticos. Isto conclui, consequentemente, que os astrócitos são responsáveis pela maior produção de ATP (MAGISTRETTI & ALLAMAN, 2015).

A metilglioxal é uma espécie reativa de carbonilas com ação de glicação, formada pela degradação de proteínas glicadas, intermediários glicolíticos e peroxidação lipídica, reagem com proteínas e resultam em produtos finais da glicação avançada (AGEs). O DM pode produzir AGEs capazes de causar disfunção na barreira hematoencefálica, apresentando microvasos cerebrais altamente glicosados e menor expressão da proteína ocludina que o cérebro normal (SCHMIDT, 2008; LI et al., 2017) (Figura 9).

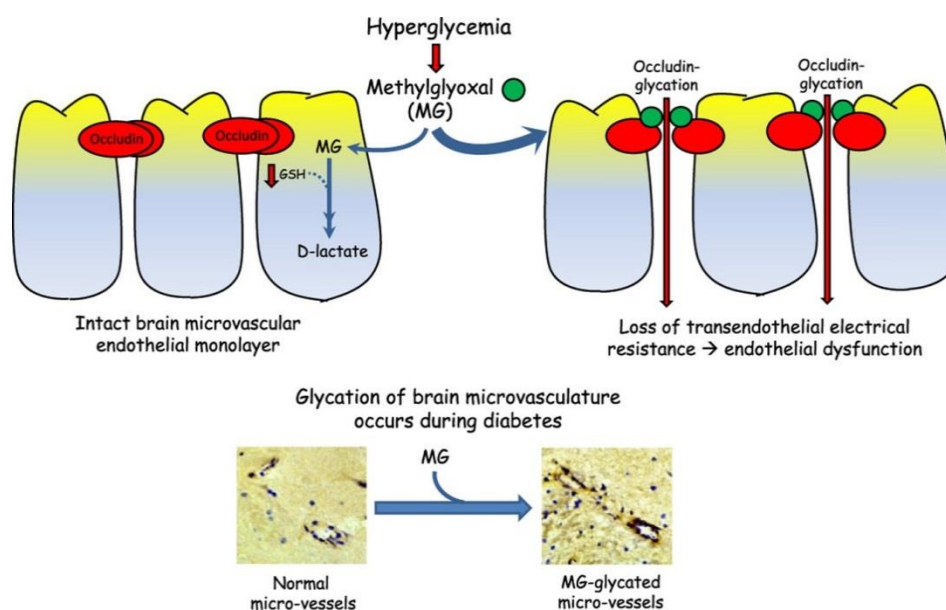


Figura 9 - Ação da metilglioxal na ocludina da barreira hematoencefálica. Fotomicrografia de microvasos no cérebro de ratos diabéticos. FONTE: LI et al., 2015.

Os estudos obtidos por Magistretti e Allaman (2015) indicam que os astrócitos e os neurônios recorrem a duas vias metabólicas complementares para produzir energia a partir da glicose. Ou seja, os neurônios processam predominantemente a glicose através da via das pentoses fosfato para produzir o poder de redução (NADPH) necessário para eliminar as moléculas que produzem estresse oxidativo resultantes da sua alta atividade oxidativa mitocondrial.

Desta maneira, os neurônios utilizam substratos como o piruvato e o lactato oriundos da glicólise para alimentar o CAT e a fosforilação oxidativa e produzir o ATP. Em contraste, os astrócitos, embora dotados de certo grau de capacidade oxidativa, processam predominantemente glicose através da glicólise para produzir lactato e piruvato. Uma complementaridade metabólica parece existir entre astrócitos e neurônios, pelo que a glicose, o substrato de energia quase exclusivo do

cérebro, é processada diferencialmente por neurônios e astrócitos (MAGISTRETTI & ALLAMAN, 2015).Essas vias metabólicas, específicas das células neuronais e astrocitárias, incluem uma transferência de substratos de três carbonos (lactato e, em menor quantidade, piruvato) dos astrócitos para os neurônios, onde são oxidados para produzir ATP (FALKOWSKA et al, 2015).

Embora a utilização neuronal da glicose para a síntese de glicogênio tenha sido discutida há anos, os neurônios podem efetivamente usar glicose para gerar glicogênio, uma função tipicamente atribuída aos astrócitos. No entanto, este glicogênio pode induzir a morte das células neuronais por meio da formação de agregados de glicogênio. Desta forma, é de suma importância a contínua regulação das vias pertencentes ao metabolismo da glicose (FALKOWSKA et al, 2015)..

As diversas vias metabólicas relacionam-se entre si de maneira complexa, de forma a permitir uma regulação adequada. Este relacionamento envolve a regulação enzimática de cada uma das vias, o perfil metabólico característico de cada órgão e o controle hormonal. O controle hormonal das vias metabólicas da glicose é efetuado principalmente por dois hormônios sintetizados pelo pâncreas: a insulina e o glucagon (SALWAY, 2009).

2.4 Importância da insulina para o cérebro

A insulina é liberada pelo pâncreas (células beta) quando a concentração de glicose no sangue está elevada. A insulina estimula a entrada de glicose no músculo, a síntese de glicogênio e a síntese de triacilglicerídeos pelo tecido adiposo, além de inibir a degradação do glicogênio e a gliconeogênese. O glucagon é liberado pelo pâncreas (células alfa) quando os níveis de glicose no sangue estão baixos, sendo este hormônio antagônico aos efeitos da insulina. No fígado, o glucagon vai estimular a degradação do glicogênio e a absorção de aminoácidos gliconeogênicos, e também inibe a síntese do glicogênio e promove a liberação de ácidos graxos do tecido adiposo (GUYTON;HALL, 2017) (FIGURA 10).

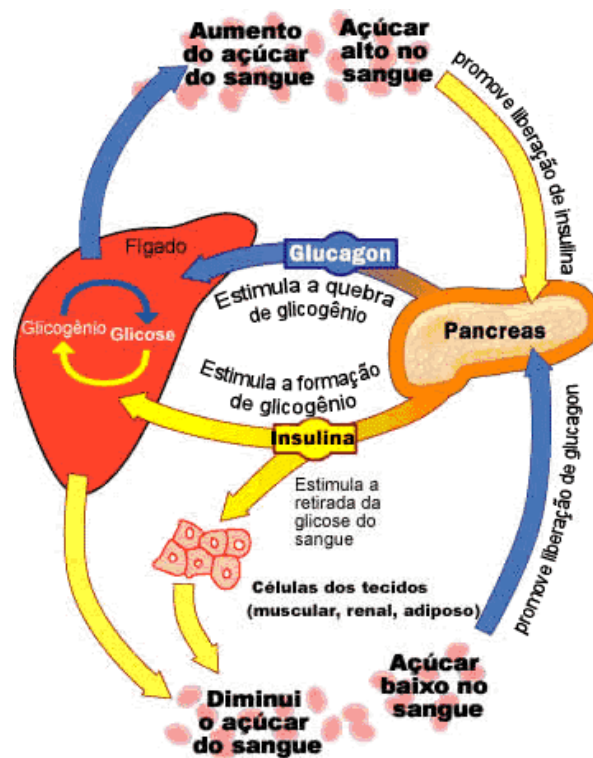


Figura 10 – Interação entre quantidade de glicose no sangue e os hormônios insulina e glucagon.
 FONTE: sobiologia.com/ sistemaendocrino2.

Em resposta à ativação neuronal, a insulina e o fator de crescimento semelhante à insulina I (IGF-I) aumentam e estimulam localmente seus receptores cognatos para aumentar a captação de glicose em astrócitos através de GLUT1. O aumento da disponibilidade de insulina e IGF-I em regiões cerebrais estimuladas é oriundo da liberação de neurônios ativos e retirada da circulação sanguínea. Por sua vez, a insulina e o IGF-I estimulam a absorção de glicose por astrócitos, maiores níveis de glicose serão usados para produzir lactato através da glicólise nos astrócitos e transferi-lo para neurônios e para reabastecer as reservas de glicogênio (FERNANDEZ et al., 2017) (Figura 11).



Figura 11 - Resposta à ativação neuronal na membrana do astrócito. FONTE: Fernandez et al., 2017.

A insulina se liga a receptores específicos no cérebro, a maioria dos quais estão localizados no córtex cerebral, hipocampo, bulbo olfatório, cerebelo e hipotálamo. Como alguns destes receptores se encontram em áreas do cérebro pertinentes à cognição, é esperado que haja associação entre a insulina e a cognição (RHEA E BANKS, 2017). Para a identificação de regiões com maior atividade da insulina, Salameh e colaboradores administraram insulina intranasal em ratos, e em seguida, destacaram em quais locais ocorria maior metabolismo da substância, verificando uma maior prevalência nas regiões do bulbo olfatório e hipotálamo, seguido do hipocampo (Figura 12).

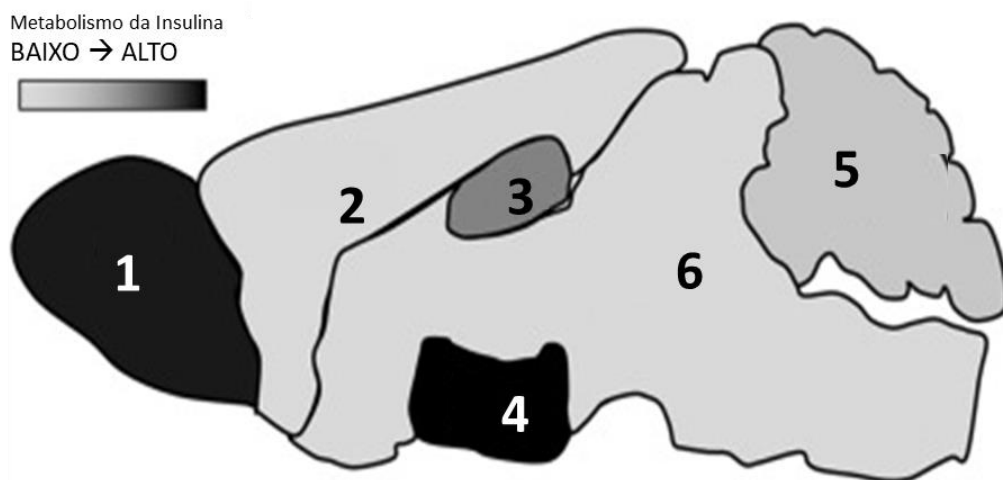


Figura 12 - Após a administração de insulina (coloração ponderada com base no percentual de insulina presente em cada região). 1 - bulbo olfatório; 2 - córtex; 3 - Hipocampo; 4 - hipotálamo; 5 - cerebelo; e 6 – Restante do cérebro. FONTE: Salameh et al., 2015.

Existe um efeito hormonal da insulina no cérebro, no qual alta sinalização de insulina pode levar a uma ativação acima do normal e envelhecimento celular

precoce. Por outro lado, uma baixa sinalização de insulina prejudica a cognição. Manter um equilíbrio adequado da sinalização de insulina no SNC com o envelhecimento parece crucial na preservação da memória (RHEA e BANKS, 2017).

Ainda segundo Rhea e Banks (2017), a insulina é importante no processamento da memória, tem a capacidade de atravessar a barreira hematoencefálica e é produzida constitutivamente no tecido cerebral.

2.6 Diabetes Mellitus tipo 2 e Resistência à insulina

No Brasil, há cerca de 13 milhões de pessoas vivendo com diabetes, representando 6,9% da população brasileira (Sociedade Brasileira de Diabetes (SBD), 2017). Estudos da Organização Mundial de Saúde (OMS) indicam que em 2030 haverá cerca de 328 milhões de casos de diabetes no mundo (MATHERS & LONCAR, 2006).

O DM é caracterizado por distúrbios do metabolismo dos carboidratos, apresentando deficiência na secreção ou ação da insulina (resistência insulínica) ou uma combinação de ambos, resultando em aumento dos níveis plasmáticos de glicose (PRABAKARAN & ASHOKKUMAR, 2013; CRAWFORD, 2017).

Têm sido identificadas complicações relacionadas ao DM e o sistema nervoso central (SNC), como exemplo a encefalopatia diabética (BIESSELS & LUCHSINGER, 2009). A partir de técnicas de neuroimagem, pesquisadores forneceram dados sobre os efeitos do DM como mudanças estruturais no cérebro apontando para a atrofia cerebral, caracterizada pela redução do volume da matéria branca no núcleo caudado e regiões talâmicas (ROFEY, 2015).

O diabetes tipo 2, no qual o indivíduo apresenta resistência à insulina, encontra-se frequentemente associada com a hipertensão e dislipidemias, aumentando a incidência da síndrome metabólica e o risco de desenvolver aterosclerose e doenças coronarianas (STOECKLI & KELLER, 2004; AVRAMOGLU, et al., 2006). Deficiências metabólicas foram descritas em quase todos os distúrbios neurodegenerativos (CISTERNAS & INESTROS, 2017).

Estudo recente sugere que picos hiperglicêmicos transitórios estão associados a alterações elétricas cerebrais imediatas, e suas implicações clínicas devem ser pesquisadas mais profundamente (RACHMIEL, 2016). Uma maneira de

investigar os possíveis efeitos do diabetes tipo 2 sobre a atividade elétrica cortical é através do registro dessa atividade.

Um grande número de pacientes com DM2 não controla a glicemia de forma eficiente, tais pacientes podem ser definidos como resistentes ao tratamento e para estes, devem ser propostas estratégias alternativas e um melhor conhecimento das possíveis causas desta resistência (SCHEEN, 2017; CROWLEY et al. 2014).

Após a ligação da insulina ao seu receptor, o complexo insulina-receptor é internalizado através da invaginação pela membrana circulante para formar um endossoma. Os receptores são reciclados para a superfície celular, mas a insulina é degradada em lisossomas (BAYNES & DOMINICZAK, 2015).

Várias são as possibilidades em relação a defeitos dos receptores de insulina que promovam a resistência. Tais defeitos podem ser encontrados pré-receptor (a partir de anticorpos contra o receptor de insulina) considerado raro; No receptor (com a redução de quantidade ou afinidade dos receptores de insulina) considerado não significativo no diabetes; e, pós receptor (por exemplo, defeitos na transdução de sinal e na translocação de GLUT-4 para a membrana celular, ou mesmo concentração elevada de ácidos graxos) considerado o tipo mais comum de resistência à insulina (BAYNES & DOMINICZAK, 2015).

A resistência à insulina pode conduzir ao acúmulo de beta-amilóide (A β) e a toxicidade deste peptídeo determina a resistência à insulina no cérebro. Ou seja, os efeitos tóxicos da A β podem promover resistência à insulina e o desenvolvimento de uma retroalimentação positiva na neurodegeneração progressiva (DINELEY et al., 2014; FALCO et al., 2016; PARDESHI et al., 2017).

As características da DA (doença de Alzheimer) detectadas no cérebro de pacientes em autópsia são, principalmente, depósitos de A β fora dos neurônios e emaranhados neurofibrilares dentro dos neurônios e, geralmente, são co-localizados com perda neuronal e sináptica (CATTANEO et al., 2017). De forma geral, pacientes com Doença de Alzheimer apresentam diminuição da concentração de insulina e menor número de receptores da mesma. Quando estes sintomas são corrigidos por fármacos há uma melhora nos processos cognitivos dos pacientes (RHEA e BANKS, 2017).

2.6.1 DM2 e Doença de Alzheimer: Diabetes tipo 3 (DM3)

O AMPK e o AKT (serina / treonina quinase, integrador central da sinalização de insulina) estão envolvidos no metabolismo da energia cortical e hipocampal e se estimulados, contribuem para melhorar a função cognitiva e reduzir a deposição de A β . Por conseguinte, retardam o declínio da memória e a deposição de A β na DA (DINELEY et al., 2014; LIU et al., 2017).

A absorção de glicose dos neurônios segue quase que exclusivamente a via da glicólise para a produção de piruvato. Em condições normais, os neurônios não produzem glicogênio e possuem baixo nível de atividade da via das pentoses fosfato (PPP). A hipótese de interação astrocitária-neurônio sugere que, em condições ativas, os neurônios diminuem a sua taxa glicolítica e aumentam gradualmente a atividade da PPP, o que diminui os níveis de piruvato (MAGISTRETTI e ALLAMAN, 2015).

Nessas condições, os neurônios utilizam o lactato como fonte de energia. Os neurônios não podem produzir lactato, uma vez que não expressam a lactato desidrogenase (LDH). No entanto, os astrócitos são capazes de produzir lactato a partir do piruvato através da ação da isoforma LDH correta. O lactato derivado de astrócitos é exportado para os neurônios, para ser utilizado como fonte de energia (RHEA e BANKS, 2017).

A deposição de A β induz uma diminuição na absorção de glicose e uma diminuição na produção de ATP nos neurônios. Uma desregulação da glicose pela deposição de A β e uma diminuição na síntese de glicogênio em astrócitos. A resistência à insulina e a deficiência de IGF1 podem prejudicar o estabelecimento de plasticidade sináptica neuronal, alterando a estrutura neuronal e a produção de acetilcolina, estabelecendo assim uma ligação celular entre DM2 e DA, prejudicando a função cognitiva (KANDIMALLA et al., 2017).

O DM2 e a DA foram considerados anteriormente como dois distúrbios metabólicos independentes. Contudo, mudanças fisiopatológicas comuns e vias de sinalização como a sinalização de estresse neuronal e vias inflamatórias indicam haver uma relação entre as duas patologias. Por exemplo: a atrofia cerebral, o metabolismo reduzido da glicose cerebral e a resistência à insulina no SNC são

características de DA e DM2. Por isso, atualmente tais doenças são denominadas de diabetes mellitus tipo 3 (DM3) (VERDILE et al., 2015; KANDIMALLA et al., 2017).

2.7 Eletroencefalograma (EEG) e Eletrocorticograma (ECoG)

O eletroencefalograma (EEG) e o eletrocorticograma (ECoG) são ferramentas importantes para verificar a atividade elétrica cerebral dentro do padrão de normalidade ou detectar disfunções (GENG et al., 2014; PESSOA et al., 2017). Um EEG é produzido através da amplificação e registro da tensão elétrica (ddp-diferença de potencial) entre os eletrodos colocados no couro cabeludo em relação a um ponto de terra ao longo do tempo, e refletem a atividade elétrica no cérebro (GENG et al., 2014). Essa forma de registro é ilustrada na figura 13.

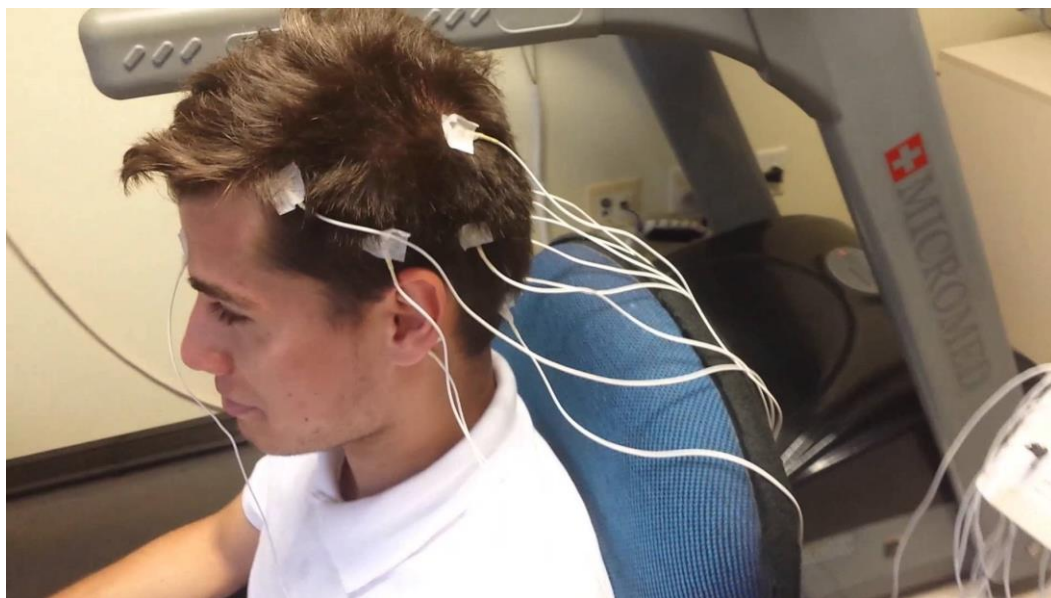


Figura 13- Registro de EEG com múltiplos eletrodos. FONTE: <http://www.braindynamics.ca/eeg/>

No ECoG a aquisição do sinal elétrico é semelhante ao do EEG, porém enquanto o EEG é um exame não invasivo, no ECoG os eletrodos são dispostos diretamente no córtex cerebral (Figura 14). O ECoG é utilizado quando se deseja analisar a atividade elétrica diretamente do córtex. Tanto o EEG como o ECoG registram a voltagem em função do tempo no cérebro, originando uma série temporal (PESSOA et al., 2017).

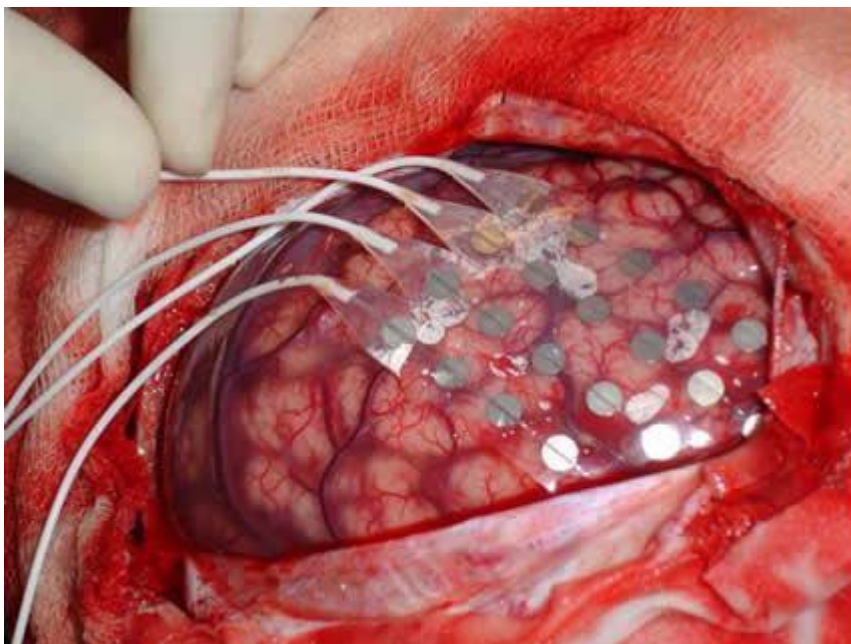


Figura 14 - Registro de ECoG. FONTE: medscape.com.

A atividade elétrica cortical é gerada por dois tipos de biopotenciais: O PA e o potencial pós-sináptico. O potencial pós-sináptico é a alteração no potencial de membrana pós-sináptica, produzida a partir da ação do neurotransmissor no receptor pós-sináptico, que transforma o sinal químico num sinal elétrico, esse se atingir o limiar de excitação da célula desencadeia o potencial de ação (PESSOA et al., 2017).

A contribuição desses potenciais pós-sinápticos para os registros corticais decorrem do fato de que os mesmos tem duração de vários milissegundos, culminando na excitação contínua do neurônio, fazendo com que esta célula transmita uma sequência de impulsos elétricos. O potencial de ação, gerado pela transmissão de impulsos eletroquímicos através do axônio pouco contribui com o registro da atividade elétrica cortical, uma vez que são assíncronos, de curta duração e se apresentam em direções ortogonais à superfície do escalpo (CAPARELLI, 2007; LOPES, 2005).

O registro da atividade elétrica cerebral pode ser decomposto (como mostrado na figura 15) em faixas distintas de frequência: delta (1 - 4 Hz), em sono profundo; teta (4 - 8 Hz), em sonolência ou estados emocionais alterados; alfa (8 - 12 Hz), em vigília com relaxamento mental; beta (12 - 30 Hz), em atividade física ou mental específica e estados de tensão, além de estar relacionada ao processo de

cognição e gama (30 - 70 Hz), que ocorrem principalmente durante estados comportamentais que envolvem expectativas como na atenção, na motivação e na excitação (KUNICKI, 2011; GENG et al., 2014). Embora o EEG possa conter todas essas frequências, haverá predominância de um ritmo de onda (PESSOA, et al., 2016) (Figura 15).

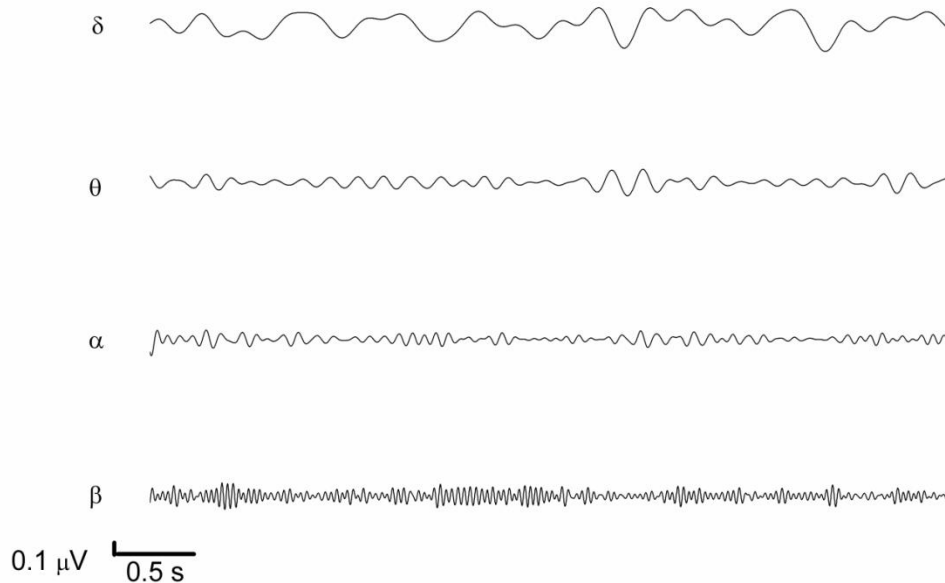


Figura 15. Ondas cerebrais em ratos. δ - ondas delta (1 - 4 Hz) - em sono profundo. θ - ondas teta (4 - 8 Hz) - em sonolência ou estados emocionais alterados. α - ondas alfa (8-12 Hz) - em vigília com relaxamento mental. β - ondas beta (12-30 Hz) - em atividade física ou mental específica e estados de tensão, além de estar relacionada ao processo de cognição. FONTE: AGUIAR, 2015.

2.7.1 Atividade elétrica cerebral e sistemas caóticos

Por estar relacionada a uma série de fatores, a atividade cerebral comporta-se como parte de um sistema dinâmico determinístico não-linear e ao longo dos últimos anos, tem sido estudado sobre o ponto de vista da teoria do caos. Um sistema dinâmico determinístico tem o seu estado em um instante dependente de seu estado num instante precedente. A não-linearidade de um sistema, por sua vez, diz respeito à imprevisibilidade dos efeitos de pequenas mudanças nas condições iniciais de suas variáveis. Outra questão é a impossibilidade de compreensão do sistema pelo estudo de partes isoladas (superposição). Assim, ao contrário dos

sistemas lineares, a resposta total não pode ser conhecida simplesmente pelo somatório das partes constituintes (proporcionalidade e superposição) (SAVI, 2005).

Neste contexto, o termo caótico teria uma conotação positiva, refletindo uma situação fisiológica, na qual o organismo processa a informação mais rapidamente e pode ter uma maior variedade de respostas às mudanças abruptas do meio na qual está inserido (WANG et al., 2010). Mesmo quando são analisados a partir de indivíduos saudáveis, estes registros manifestam o caos no sistema nervoso (SARBADHIKARI; CHAKRABARTY, 2001). Por outro lado, a perda da complexidade do sistema (ou a ausência do caos) pode refletir uma condição patológica, onde o sistema perde sua complexidade vital (FERREIRA, 2010). Neste contexto, o registro do ECoG pode ser considerado a saída desse sistema (WANG et al., 2010).

Como a batida irregular do coração, impulsos elétricos do cérebro são caóticos. A atividade caótica no cérebro permite as rápidas transições de estado. Tais transições são essenciais para o processamento de informações. Sem eles, a cognição e a percepção seriam imensamente lentas (IVES, 2004).

Embora um sistema caótico opere de acordo com regras estabelecidas, a retroalimentação constante, atrasos, e pequenas mudanças fazem o sistema se comportar de forma aparentemente aleatória, sem repetição (TSUDA; FUJII, 2007). Estes sistemas têm sensibilidade extraordinária para as condições iniciais, o que os torna inerentemente imprevisíveis em longo prazo. Quando os dados caóticos são representados em três dimensões, os chamados "atratores estranhos" emergem (MACIVER; BLAND, 2014; SARBADHIKARI; CHAKRABARTY, 2001).

2.7.2 Métodos de análise

Os processos dinâmicos podem ser analisados por técnicas baseadas na análise direta da série temporal, tais como a transformada de Fourier (MACIVER; BLAND, 2014; VARGHESE et al., 2014), a análise de flutuação destendenciada e outras técnicas de análise de sinais. Outras técnicas são baseadas na geometria do atrator, como a dimensão fractal do espaço de fase reconstruído a partir da série temporal (KRAKOVSKA, 2009; MACIVER; BLAND, 2014).

Transformada de Fourier

Segundo o teorema de Fourier, todo sinal oscilatório pode ser decomposto em vários outros sinais senoidais com diferentes frequências. É o que acontece com o EEG e ECoG, um sinal complexo que pode ser decomposto em sub-ritmos e representados no domínio da frequência. Depois de decomposto o sinal, pode-se calcular a potência média de cada faixa de frequência. A utilização desse teorema torna possível a decomposição de um sinal periódico $f(t)$ nas suas componentes frequenciais com a somatória de termos senos e cossenos harmonicamente relacionados na forma da seguinte expressão (PESSOA et al., 2017):

$$F(f) = \int_{-\infty}^{\infty} f(t)e^{-i\omega t} dt \quad (1)$$

A Transformada de Fourier (TF) torna possível o conhecimento da contribuição de cada componente de frequência presente numa série temporal. A TF é calculada a partir da decomposição do sinal complexo oscilatório em suas frequências componentes. A função $F(f)$ é a transformada de Fourier da função temporal $F(t)$, que representa as amplitudes das várias frequências de ondas que constituem o sinal $F(t)$; passando uma informação no tempo para o domínio da frequência. Então, $F(f)$ representa o grau de participação das componentes frequenciais da função $F(t)$ (PESSOA et al., 2017), como representado na figura 16.

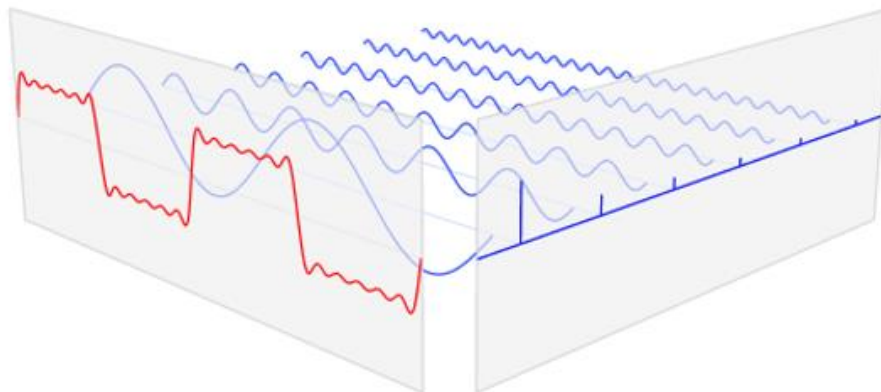


Figura 16 – Representação esquemática da Transformada de Fourier. A série temporal (em vermelho) é separada nas diferentes faixas de frequência mostradas nos sinais em azul. FONTE: Wikimedia.

O quadrado da Transformada de Fourier do ECoG gera seu espectro de potência. A potência média obtida no espectro permite estimar a contribuição dos diferentes ritmos cerebrais no sinal ECoG. Formalmente, o espectro de potência para um registro do ECoG pode ser calculado como segue:

$$\overline{E}_\omega = \frac{\int_{f_s}^{f_e} |F(f)|^2 df}{\int_{f_s}^{f_e} df} \quad (2),$$

onde $F(f)$ é a Transformada de Fourier do sinal $f(t)$, aqui representado pelo ECoG. O \overline{E}_ω é o espectro de potência normalizado por um determinado intervalo de frequência $\omega = [f_s, f_e]$, aqui representado pelos diferentes ritmos.

Ao contrário do que se observa nos sinais periódicos comuns, que apresentam espectro de potência com picos em frequências bem definidas, nos sistemas caóticos o espectro de potência apresenta bandas largas (BAKER & GOLLUB, 1996). Na figura 17 é possível diferenciar o espectro de potência de um sistema periódico de um sistema caótico. Nessa figura pode-se observar o mapa da equação de van der Pol (a) indica uma dinâmica periódica, enquanto o mapa da equação de van der Pol forçada (b) mostra uma dinâmica quase periódica. Por sua vez, o mapa da equação de Duffing (c) indica um sistema caótico, cuja dinâmica é definida por ciclos que nunca se repetem e nunca se tocam.

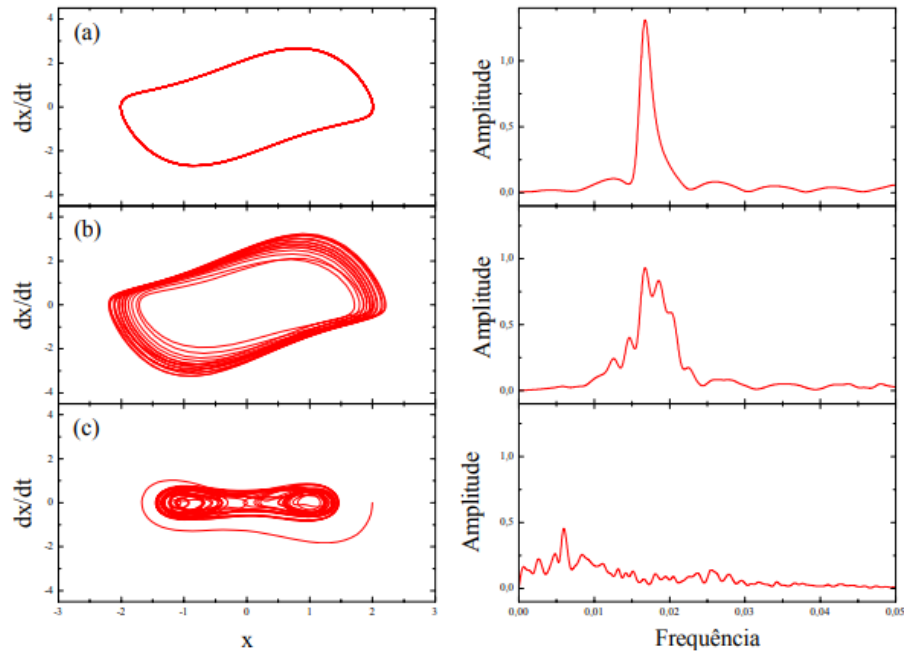


Figura 17 - Mapas da dinâmica das equações de (a) van der Pol, (b) van der Pol forçada e (c) Duffing, e suas respectivas transformadas de Fourier (GANDUR, 2001).

DFA

O DFA é um método não-linear com base em análise de flutuações dos dados após a remoção de tendências em uma série temporal integrada (PENG et al., 1995).

O processo para integrar a série temporal é mostrado através na equação 3:

$$y(k) = \sum_{i=1}^k (y(i) - M) \quad (3)$$

onde M é o valor médio de $y(i)$ com $i = 1, 2, \dots, N$ e k é um número inteiro.

A integração acima transforma a série original (Figura 18) em um processo sem limites. A série $y(k)$ é dividida em intervalos de comprimento n . Cada intervalo é definido usando funções polinomiais, representando a tendência em cada intervalo (Figura 19).

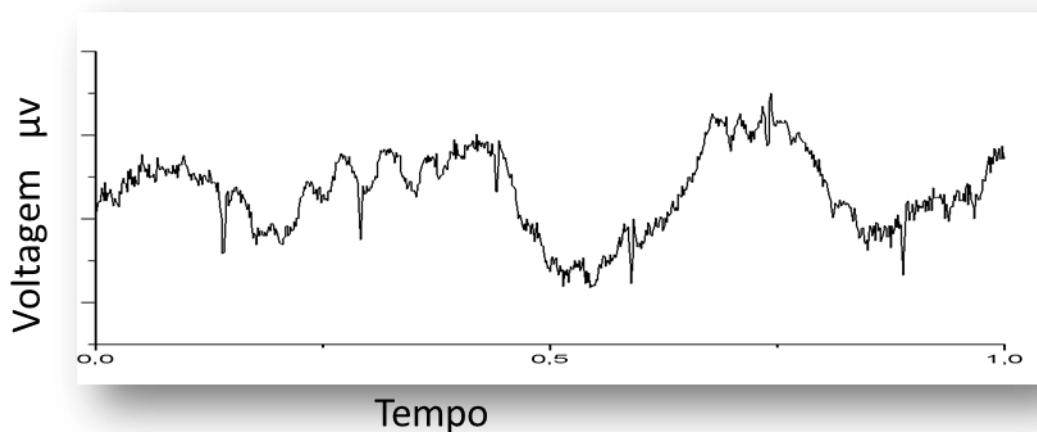


Figura 18 - Série original do ECoG de rato.

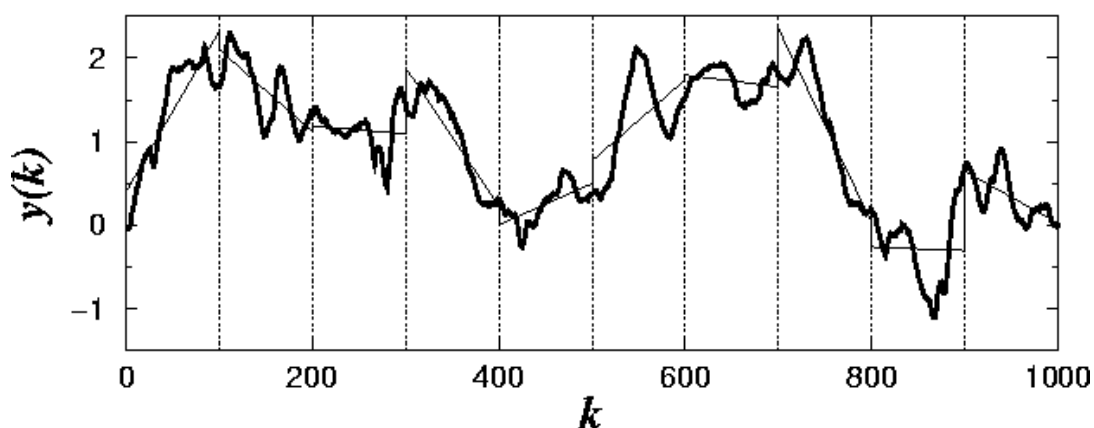


Figura 19 - Destendenciamento local no algoritmo da DFA. Linhas tracejadas na vertical representam os intervalos de comprimento n . Em cada intervalo é removida a tendência do sinal (linhas contínuas).

A função que caracteriza o comprimento das flutuações para um comprimento de n intervalos utilizados para remover a tendência é mostrado pela equação 4:

$$F(n) = \sqrt{\frac{1}{N} \sum_{k=1}^N [y(k) - y_n(k)]^2} \quad (4)$$

O cálculo é repetido em vários comprimentos de intervalo n para determinar a relação entre as flutuações ($F(n)$) e o comprimento do intervalo n . Para processos fractais (auto-similar), $F(n)$ aumenta com n seguindo uma lei de potência, conforme mostrado na equação 5:

$$F(n) \approx n^\alpha \quad (5)$$

A auto-similaridade do expoente α pode ser calculada usando a inclinação obtida por regressão linear de gráfico duplo log da flutuação do sinal $F(n)$ versus comprimento do intervalo n (Figura 20). Se $\alpha = 0,5$ a série é dita decorrelacionada; $\alpha > 0,5$ indica correlações de longo alcance persistentes; $\alpha < 0,5$, mostra uma correlação de longo alcance anti-persistentes. Os outros valores que podem ser encontrados são: $\alpha = 1$ correspondente ao ruído $1/f$; o $\alpha > 1$ existe correlação no sinal, contudo esta não segue a forma de uma lei de potência; $\alpha = 1,5$ - ruído marrom (PENG et al., 1995).

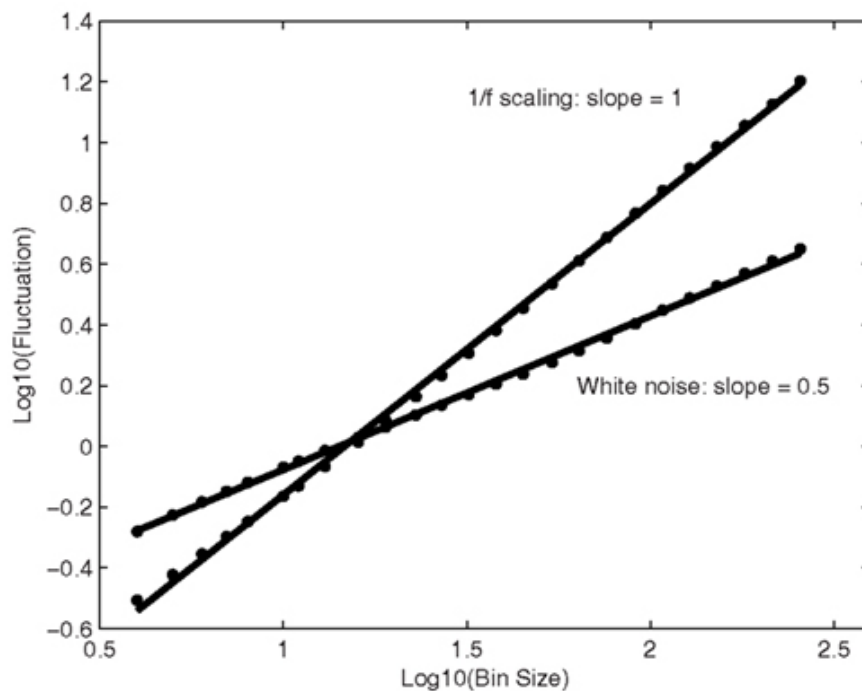


Figura 20 – Gráfico duplo-log representando a função de flutuação para sinais com expoente α -DFA relativos à inclinação da função de regressão obtida para cada sinal.

Espaço de fase reconstruído

Séries temporais experimentais, como o registro da atividade cerebral por meio do EEG/ ECoG, são representações da evolução de uma variável no tempo – que representa uma das componentes da trajetória de um dado sistema dinâmico m-dimensional. Com técnicas como a reconstrução do espaço de fase torna-se possível analisar um sistema dinâmico completo a partir dessa série unidimensional. Nesta técnica, é plotado o gráfico da série contra ela mesma defasada no tempo por um determinado tempo de retardo, sendo o método de imersão de Takens o mais utilizado para o cálculo do tempo de retardo (LOPES, 2013; SIMÃO et al., 2008).

Takens demonstrou que, no espaço de fase formado pelos eixos $x(t), x(t+p), x(t+2p), \dots, x(t+(m-1)p)$, o atrator reconstruído, sobre o qual se conhece apenas a evolução em tempo discreto da variável de estado $x(t)$, é topologicamente equivalente ao atrator no espaço dimensional real. Neste método, chamamos de espaço de imersão o espaço no qual se realiza a reconstrução, m é a dimensão de imersão e p o passo da reconstrução (ou tempo de retardo). Assim, a cada instante t_i , assinala-se o ponto de coordenadas $x(t), x(t+p), x(t+2p), \dots, x(t+(m-1)p)$ no espaço de imersão. Variando-se i de 1 a N obtém-se a trajetória reconstruída (LOPES, 2013).

Na sua demonstração, Takens assumiu que a série temporal é formada por infinitos pontos e que não há ruído. Se essas condições são satisfeitas, as propriedades topológicas do atrator são preservadas e a escolha do tempo de atraso p é na maioria das vezes, arbitrária. Entretanto, séries temporais experimentais são finitas, usualmente contaminadas com ruído externo e obtidas com o uso de filtros.

Deste modo, a escolha do tempo de retardo é importante para a reconstrução correta do espaço de fase, pois se o retardo for muito pequeno $x(t), x(t+p)$ e $x(t+2p)$, por exemplo, terão o mesmo valor e como consequência o atrator reconstruído fica comprimido em torno da diagonal $x = y = z$, ou seja, esse atrator apresentará uma dependência linear, que não ocorre nas componentes reais x, y, z . Por outro lado, como a trajetória real está restrita a um volume finito do espaço de fase, se o valor do tempo de retardo for muito grande, a distância entre os dados considerados no vetor de defasagem serão completamente não correlacionados, cobrindo todo o espaço de fase (COSTA et al., 2013)(Figura 21).

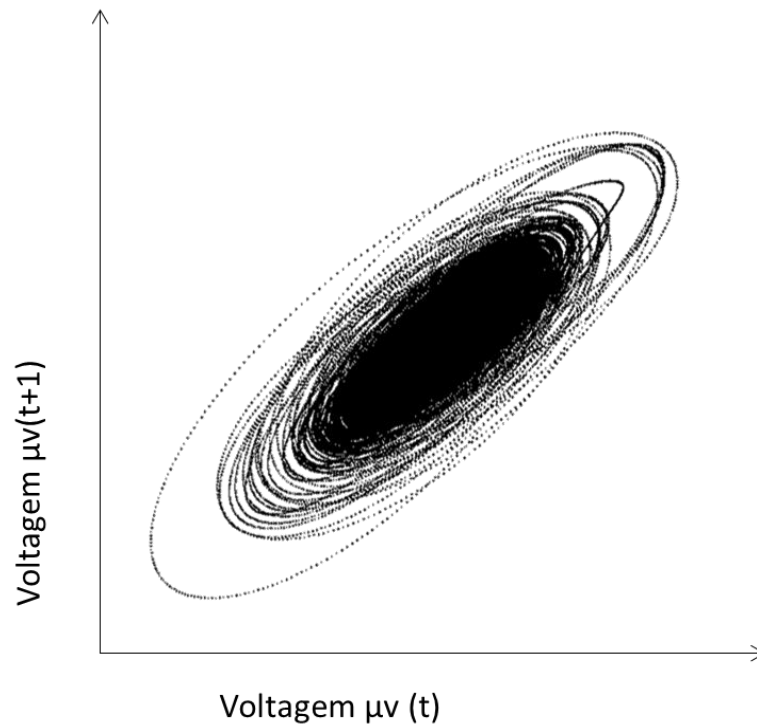


Figura 21 - Espaço de fase reconstruído a partir de um registro de um ECoG.

Dimensão fractal do espaço de fase reconstruído

A geometria euclidiana, com suas dimensões inteiras, não é adequada para aferir a dimensão de objetos auto-similares, como árvores, nuvens, raios ou atratores caóticos. Com a intenção de solucionar esse problema, Mandelbrot desenvolveu o conceito de dimensão fractal. Estruturas fractais são caracterizadas por suas propriedades de: i) auto-similaridade, a qual significa que partes de um objeto ou processo parecem com o objeto ou processo todo; ii) dependência de escala, que significa dizer que a medida da grandeza depende da escala na qual foi medida; iii) dimensão fractal, a qual provê uma descrição quantitativa da auto-similaridade e dependência de escala e iv) as propriedades estatísticas anômalas das grandezas fractais, que se caracterizam pela inexistência de medidas de centralidade e dispersão dos objetos e processos fractais (BASSINGTHWAIGHTE et al., 1991).

Um método bastante usado para medir a dimensão fractal é o método de contagem por caixas, que consiste em cobrir o objeto fractal com $N(r)$ caixas que

tenham pelo menos um ponto (pixel) do objeto fractal. Repete-se o procedimento com caixas de diferentes tamanhos e traça-se um gráfico duplo log de $N(r)$ em função de r (lados das caixas), como ilustrado na figura 22.

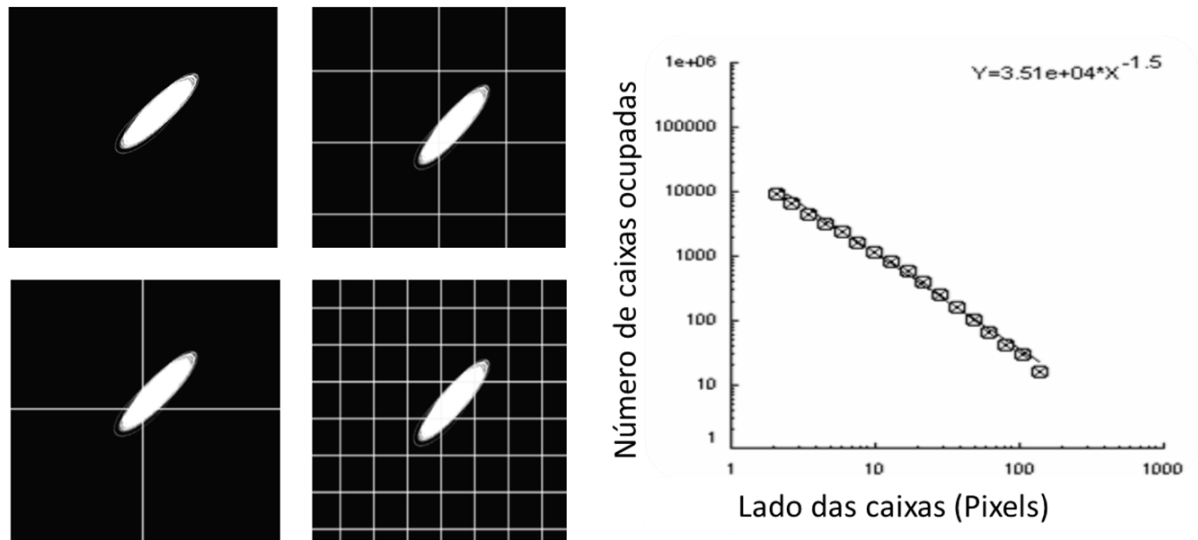


Figura 22 - Obtenção da dimensão fractal pelo método de contagem por caixas.

A dimensão fractal pode ser definida formalmente através da equação 6:

$$DF = -\lim_{\varepsilon \rightarrow 0} \left[\frac{\log N(r + \varepsilon) - \log N(r)}{\log(r + \varepsilon) - \log(r)} \right] \quad (6)$$

onde o ângulo de inclinação desse gráfico com o sinal invertido é a dimensão de contagem por caixas (DF).

Todos os métodos matemáticos mostrados neste trabalho serão usados na análise das séries temporais dos sinais de ECoG's registrados em ratos normais e diabéticos.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Identificar e analisar possíveis alterações nos padrões eletrocorticográficos de ratos submetidos à indução de diabetes tipo 2, a partir de métodos matemáticos.

3.2 Objetivos Específicos

- Identificar a contribuição das principais ondas cerebrais para o ECoG através do Espectro de Potência.
- Identificar existência de correlação de longo alcance através da Análise de Flutuação Destendenciada do ECoG;
- Identificar a existência de correlação de longo alcance através da Análise de Flutuação Destendenciada nas ondas filtradas a partir da Transformada de Fourier;
- Identificar existência de possíveis alterações o Espaço de Fase Reconstruído do ECoG decorrentes do DM2 através da Dimensão Fractal de contagem por caixa.

4. METODOLOGIA

4.1 Animais e agrupamento

Todos os procedimentos utilizando animais neste estudo foram realizados sob a vigência do Comitê de Ética da Universidade Federal Rural de Pernambuco(CEUA/UFRPE) licença nº 050/2014. Foram utilizados 10 ratos machos da linhagem Wistar adultos (90 dias), provenientes do biotério do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal. Foram acondicionados em gaiolas de policarbonato forradas com maravalha de pinus, mantidos em temperatura ambiente de 25°C ± 2°C, expostos a fotoperíodo de 12 horas e com acesso a ração balanceada (Labina para roedores-Purina) e supridos com água *ad libitum*.

Os animais foram divididos em dois grupos: o GC – grupo controle e o GD2 – grupo diabético tipo 2, cada um com cinco animais.

4.2 Indução e caracterização do diabetes mellitus tipo 2

Para a indução do DM2 os animais do GD2 receberam uma dose de 60 mg/kg de STZ e após 15 minutos foi administrada uma dose de 120 mg/kg de nicotinamida (Sigma Chemical - USA) diluída em tampão citrato por via intraperitoneal (NAYAK et al., 2014). Esse procedimento permite que a STZ atue na destruição de ilhotas pancreáticas nos animais, levando a um quadro de hiperlicemia crônica, enquanto que a nicotinamida atue na proteção das células β-pancreáticas, amenizando assim, os impactos ocasionados pela STZ. Desta maneira, o animal é levado a exibir um quadro semelhante ao encontrado em pessoas portadoras de DM2.

Os animais pertencentes ao GC receberam doses contendo apenas o tampão citrato. Após 30 minutos deste procedimento, todos os animais de ambos os grupo foram alimentados normalmente.

4.3 Teste de tolerância intraperitoneal à glicose (IGTT)

O Teste de Tolerância Intraperitoneal à Glicose (IGTT) é um método de referência para o diagnóstico do diabetes ou da intolerância à glicose, no caso da glicemia duas horas após administração de glicose não retornar próxima da concentração basal de glicose ou apresentar-se maior do que 200 mg/dL para humanos (GROSS et al., 2002).

O teste de tolerância intraperitoneal à glicose foi realizado mediante a injeção intra-peritoneal (i.p.) de uma solução de glicose (2g/kg de massa corporal). A glicemia foi determinada nos tempos zero (antes da ip), 30, 60, 90 e 120 minutos após a injeção, utilizando-se glicosímetro e fitas para glicemia da marca Accu Check Performa® (Figura 23).



Figura 23 - Aparelho utilizado para realização do Teste de Tolerância Intraperitoneal à Glicose (IGTT).

Os animais incluídos no estudo para o GD2 apresentaram glicose sanguínea acima de 140 mg/dL, verificada usando um Glicosímetro (Kit Accu-ChekActiv - Roche, Amadora, Lisboa, Portugal), e a glicose sanguínea foi dosada por sangue capilar retirada através de punção da veia caudal.

4.4 Implante do eletrodo e aquisição do ECoG

Aos 83 dias de idade os animais foram anestesiados com uma associação de quetamina (100mg/Kg) e xilazina (20 mg/Kg) por administração intraperitoneal. A temperatura foi controlada em torno de $37,5 \pm 1^\circ\text{C}$. Com a cabeça fixada à base de um estereotáxico, foi realizada uma pequena incisão na pele e removido parte do periósteo, posteriormente, utilizada uma broca para realizar um orifício de 1mm de diâmetro sobre o hemisfério esquerdo nas regiões parietal e frontal do crânio (Figura 24), correspondente ao diâmetro dos dois eletrodos que foram implantados, sempre evitando lesão cerebral.

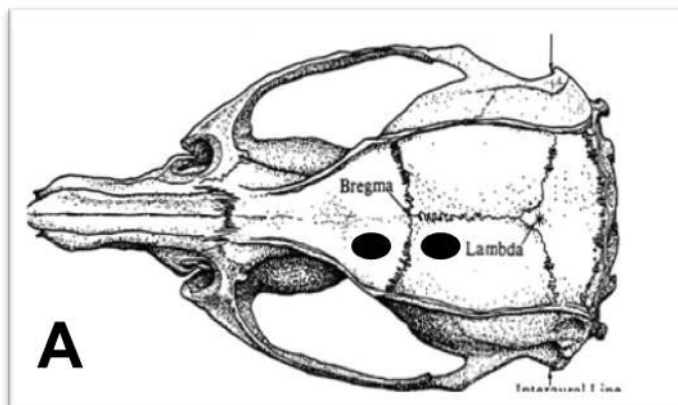


Figura 24 - Posição esquemática de implante dos eletrodos FONTE: Modificado de Paxinos and Watson (1998).

Em seguida, foi colocada resina odontológica para melhor fixação dos eletrodos parafusados nos dois orifícios, após o endurecimento da resina foi realizada sutura e por cinco dias os animais foram medicados com anti-inflamatório (Meloxican – via IP – 0,1mg/kg) e antibiótico (Enrofloxacino –via Oral – 1mg/kg) (Figura25).

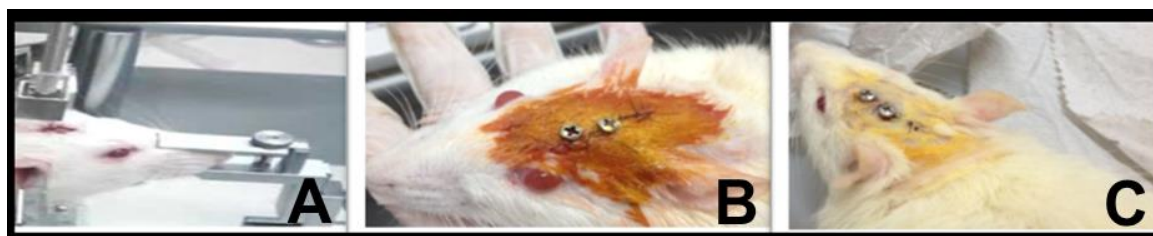


Figura 25 - A - momento inicial do implante; B - momento após implante; C - momento após recuperação cirúrgica.

Ao término deste período os animais estavam aptos para o registro do ECoG. Os sinais do ECoG foram registrados por um período de 30 minutos utilizando o aparelho EMG 410C (EMG System, Brasil) conectado a um computador(Figura26) (DO NASCIMENTO et al., 2010).

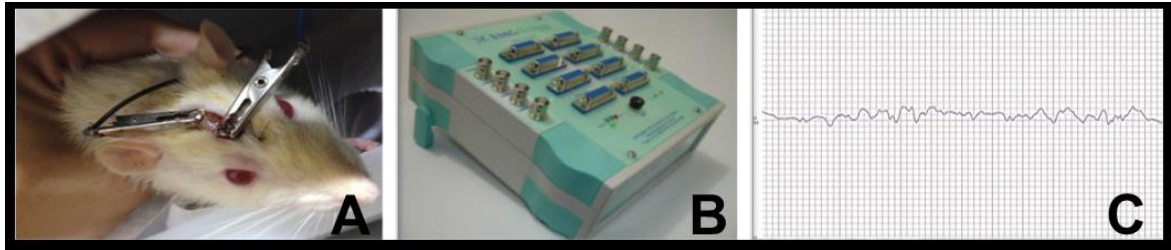


Figura 26 - A – animal apto para a aquisição do sinal; B – EMG (amplificador e conversor de sinal analógico para digital); C – Registro do ECoG.

4.5 Processamento do sinal

Os registros dos ECoG's foram segmentados em uma janelas de cinco minutos. Para cálculo do espectro de potência, os segmentos foram importados para o MATLAB (MATLAB, RRID:SCR_001622) e foi calculada a densidade espectral de potência pelo método de Welch(1967). Os segmentos também foram importados para o software OriginPro 9.0 (OriginPro , RRID: SCR_015636) e filtrados com um filtro passa banda do tipo FFT (Fast Fourirer Transform) para as seguintes frequências: delta (0-4 Hz), teta (4-8 Hz), alfa (8-16 Hz) e beta (16-32 Hz). Posteriormente foram aplicados os seguintes métodos de análise: Espectro de potência (EP); o DFA e aDimensão Fractal do espaço de fase reconstruído. Esses métodos foram aplicados tanto para o ECoG total como para as ondas delta, teta, alfa e beta (AGUIAR et al., 2015; PESSOA et al., 2016; PESSOA, et al., 2017).

4.6 Estatística

Inicialmente foi realizado o teste de NormalidadeShapiro Wilks, o qual evidenciou a distribuição não-paramétrica dos dados. Desta forma, foi aplicado o teste de Mann-Whitney. Os resultados foram expressos através de mediana \pm desvio interquartilico, e, os valores de $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significativos.

5. REFERÊNCIAS

AGUIAR, Leandro Álvaro de Alcantara. **Correlação de longo alcance no eletrocorticograma como um bioindicador de exposição cerebral à radiação ionizante**. Dissertação de Mestrado. [s.l.] Universidade Federal Rural de Pernambuco, 2015.

AVRAMOGLU, Rita Kohen; BASCIANO, Heather; ADELI, Khosrow. Lipid and lipoprotein dysregulation in insulin resistant states. **Clinica chimica acta**, v. 368, n. 1-2, p. 1-19, 2006.

BAKER, Gregory L.; GOLLUB, Jerry P. **Chaotic dynamics: an introduction**. Cambridge university press, 1996.

BASSINGTHWAIGHTE, James B.; LIEBOVITCH, Larry S.; WEST, Bruce J. **Fractal physiology**. Springer, 2013.

BAYNES, John; DOMINICZAK, Marek H. **Bioquímica médica**. Elsevier Brasil, 2015.

BIESSELS, Geert Jan; LUCHSINGER, Jose A. (Ed.). **Diabetes and the brain**. New York, NY, USA: Humana Press, 2009.

BROWN, G. K. Glucose transporters: structure, function and consequences of deficiency. **Journal of inherited metabolic disease**, v. 23, n. 3, p. 237-246, 2000.

CAPARELLI, Thiago Bruno. Projeto e desenvolvimento de um sistema multicanal de biotelemetria para detecção de sinais ECG, EEG e EMG. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Uberlândia, 2007.

CATTANEO, Annamaria et al. Association of brain amyloidosis with pro-inflammatory gut bacterial taxa and peripheral inflammation markers in cognitively impaired elderly. **Neurobiology of aging**, v. 49, p. 60-68, 2017.

CISTERNAS, Pedro; INESTROSA, Nibaldo C. Brain glucose metabolism: role of Wnt signaling in the metabolic impairment in Alzheimer's disease. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 80, p. 316-328, 2017.

COSTA, W. C. A. et al. Classificação de sinais de vozes saudáveis e patológicas por meio da combinação entre medidas da análise dinâmica não linear e codificação preditiva linear. **Revista Brasileira de Engenharia Biomédica**, v. 29, n. 1, 2013.

CRAWFORD, Kate. Review of 2017 Diabetes Standards of Care. **Nursing Clinics of North America**, v. 52, n. 4, p. 621-663, 2017.

CROWLEY, Matthew J. et al. Factors associated with persistent poorly controlled diabetes mellitus: clues to improving management in patients with resistant poor control. **Chronic illness**, v. 10, n. 4, p. 291-302, 2014.

DINELEY, Kelly T.; JAHRLING, Jordan B.; DENNER, Larry. Insulin resistance in Alzheimer's disease. **Neurobiology of disease**, v. 72, p. 92-103, 2014.

DO NASCIMENTO, Rosângela S. et al. Analysis of signal fluctuations of Cortical Spreading Depression: Preliminary findings. **Physica A: Statistical Mechanics and its Applications**, v. 389, n. 9, p. 1869-1873, 2010.

FALCO, Anna De et al. Alzheimer's disease: etiological hypotheses and treatment perspectives. **Quimica Nova**, v. 39, n. 1, p. 63-80, 2016.

FALKOWSKA, Anna et al. Energy metabolism of the brain, including the cooperation between astrocytes and neurons, especially in the context of glycogen metabolism. **International journal of molecular sciences**, v. 16, n. 11, p. 25959-25981, 2015.

FERNANDEZ, Ana M. et al. A network of insulin peptides regulate glucose uptake by astrocytes: Potential new druggable targets for brain hypometabolism. **Neuropharmacology**, 2017.

GANDUR, Marcelo Catanoce. Comportamento dinâmico complexo em desprendimento de fitas adesivas [s.l.]. Tese de Doutorado, Universidade Estadual de Campinas, 2001.

GENG, Shujuan et al. Bifurcation and oscillation in a time-delay neural mass model. **Biological cybernetics**, v. 108, n. 6, p. 747-756, 2014.

GROSS, Jorge L. et al. Diabetes melito: diagnóstico, classificação e avaliação do controle glicêmico. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 46, n. 1, p. 16-26, 2002.

HALL, John E. **Guyton E Hall Tratado De Fisiologia Médica**. Elsevier Brasil, 2017.

KANDEL, Eric et al. **Princípios de Neurociências-5**. AMGH Editora, 2014.

KANDIMALLA, Ramesh; THIRUMALA, Vani; REDDY, P. Hemachandra. Is Alzheimer's disease a type 3 diabetes? A critical appraisal. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease**, v. 1863, n. 5, p. 1078-1089, 2017.

LI, Wei et al. Type 2 diabetes mellitus and cerebrospinal fluid Alzheimer's disease biomarker amyloid β 1-42 in Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative participants. **Alzheimer's & Dementia: Diagnosis, Assessment & Disease Monitoring**, 2017.

LOPES, C. D. **Análise de sinais de eeg utilizando a transformada wavelet discreta e as redes neurais artificiais**. 2005. Tese de Doutorado. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

LOPES, Sara Bárbara Dutra. **Teorema do mergulho de Takens: reconstrução do espaço de fases de um sistema dinâmico usando séries temporais**. 2013. Tese de Doutorado. Instituto Superior de Economia e Gestão.

MAGISTRETTI, Pierre J.; ALLAMAN, Igor. A cellular perspective on brain energy metabolism and functional imaging. **Neuron**, v. 86, n. 4, p. 883-901, 2015.

MATHERS, Colin D.; LONCAR, Dejan. Projections of global mortality and burden of disease from 2002 to 2030. **PLoS medicine**, v. 3, n. 11, p. e442, 2006.

MERGENTHALER, Philipp et al. Sugar for the brain: the role of glucose in physiological and pathological brain function. **Trends in neurosciences**, v. 36, n. 10, p. 587-597, 2013.

NAYAK, Yogendra et al. Antidiabetic activity of benzopyrone analogues in nicotinamide-Streptozotocin induced Type 2 diabetes in rats. **The Scientific World Journal**, v. 2014, 2014.

NELSON, David L.; COX, Michael M. **Princípios de Bioquímica de Lehninger**. Artmed Editora, 2014.

PARDESHI, Rohit et al. Insulin signaling: An opportunistic target to minimize the risk of Alzheimer's disease. **Psychoneuroendocrinology**, v. 83, p. 159-171, 2017.

PAXINOS, G.; WATSON, C. **The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates** (New York: Academic). 1998.

PENG, C.-K. et al. Fractal mechanisms and heart rate dynamics: long-range correlations and their breakdown with disease. **Journal of electrocardiology**, v. 28, p. 59-65, 1995.

PESSOA, Daniella Tavares et al. Analysis of electrocorticographic patterns in rats fed standard or hyperlipidic diets in a normal state or during status epilepticus. **Nutritional neuroscience**, v. 19, n. 5, p. 206-212, 2016.

PESSOA, Daniella Tavares et al. Effect of diet with omega-3 in basal brain electrical activity and during status epilepticus in rats. **Epilepsy research**, v. 137, p. 33-38, 2017.

PRABAKARAN, Dhamodaran; ASHOKKUMAR, Natarajan. Protective effect of esculetin on hyperglycemia-mediated oxidative damage in the hepatic and renal tissues of experimental diabetic rats. **Biochimie**, v. 95, n. 2, p. 366-373, 2013.

QUILLFELDT, Jorge A. Origem dos potenciais elétricos das células nervosas. **Departamento de Biofísica, IB, URGs**, p. 1-18, 2005.

RACHMIEL, M. et al. Hyperglycemia is associated with simultaneous alterations in electrical brain activity in youths with type 1 diabetes mellitus. **Clinical Neurophysiology**, v. 127, n. 2, p. 1188-1195, 2016.

RHEA, Elizabeth M.; BANKS, William A. The SAMP8 mouse for investigating memory and the role of insulin in the brain. **Experimental gerontology**, v. 94, p. 64-68, 2017.

ROFEY, Dana L. et al. Brain volume and white matter in youth with type 2 diabetes compared to obese and normal weight, non-diabetic peers: A pilot study. **International Journal of Developmental Neuroscience**, v. 46, p. 88-91, 2015.

SALAMEH, Therese S. et al. Central nervous system delivery of intranasal insulin: mechanisms of uptake and effects on cognition. **Journal of Alzheimer's Disease**, v. 47, n. 3, p. 715-728, 2015.

SALWAY, J. G. **Metabolismo passo a passo**. Artmed Editora, 2009.

SAVI, M. A. Chaos and order in biomedical rhythms. **Journal of the Brazilian Society of Mechanical Sciences and Engineering**, v. 27, n. 2, p. 157-169, 2005.

SCHEEN, A. J. 'Treatment-resistant type 2 diabetes: Which definition for clinical practice?'. **Diabetes & metabolism**, v. 43, n. 4, p. 295-297, 2017.

SCHMIDT, Betina. Efeitos do glioxal e metilglioxal sobre o metabolismo energético em córtex cerebral de ratos Wistar. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2008.

SIEGELBAUM, Steven A. et al. **Princípios da ciência neural**. Nova York: McGraw-hill, 2000.

SIMÃO, E. M. et al. Determinação dos Parâmetros de Reconstrução do Espaço de Fase para Séries de Sinais de EEG de Sono de Pacientes com Apnéia Obstrutiva. **Scientia Plena**, v. 4, n. 11, 2008.

STOECKLI, R.; KELLER, U. Nutritional fats and the risk of type 2 diabetes and cancer. **Physiology & behavior**, v. 83, n. 4, p. 611-615, 2004.

VERDILE, Giuseppe; FULLER, Stephanie J.; MARTINS, Ralph N. The role of type 2 diabetes in neurodegeneration. **Neurobiology of disease**, v. 84, p. 22-38, 2015.

6. CAPÍTULO ÚNICO

Artigo a ser submetido ao *Journal of Diabetes*

Alterações nos padrões do ECoG de ratos induzidos ao diabetes mellitus tipo 2

Título corrido: Alterações do ECoG por diabetes mellitus

Eva Luana Almeida da Silva¹, Daniella Tavares Pessoa¹, Ardilles Juan Carlos Alves dos Santos¹, Leandro Álvaro de Alcantara Aguiar¹, Edbhergue Ventura Lola Costa¹, Romildo de Albuquerque Nogueira¹

¹ Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, Laboratório de Biofísica Teórico Experimental e Computacional – Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE Dois Irmãos, 52171-900, Recife, Pernambuco, Brasil

Endereço para correspondência:

Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE Dois Irmãos, 52171-900, Recife, Pernambuco, Brasil. ran.pe@terra.com.br

RESUMO

Introdução. A desregulação do metabolismo da glicose pode promover injúrias ao cérebro tanto através da hipoglicemia quanto da hiperglicemia, essas variações dos níveis glicêmicos plasmáticos podem ser apresentadas pelo indivíduo portador de diabetes. O objetivo deste estudo foi investigar, aplicando métodos matemáticos, possíveis alterações nos padrões da dinâmica cerebral, observáveis no registro do ECoG, em ratos induzidos ao diabetes mellitus tipo 2 (DM2).

Metodologia. Eletrocorticograma (ECoG) foi usado para registrar a atividade cerebral de animais induzidos ao DM2. Foram utilizados dez ratos machos, induzidos a diabetes pela estreptozotocina (STZ) e nicotinamida. Na análise da série temporal do sinal do ECoG foram usadas o espectro de potência (EP), a análise de flutuação destendenciada (DFA - Detrended fluctuation analysis) e a dimensão fractal (DF) do espaço de fase reconstruído.

Resultados. O espectro de potência (EP) do ECoG total e suas respectivas ondas não apresentaram diferenças significativas entre os ratos controles e os induzidos ao DM2. Com respeito a correlação de longo alcance (memória) as ondas que compõem o ECoG, quando avaliadas pelo DFA, mostraram diferenças estatisticamente significativas entre os grupos controle e DM2. Com relação a dimensão fractal (DF) do espaço de fase reconstruído somente as ondas alfa e delta do ECoG apresentaram alterações significativas.

Conclusão. As diferentes ondas que compõem o ECoG apresentaram correlação de longo alcance para os dois grupos controle e DM2, porém com o parâmetro alfa do DFA foi significativamente diferente entre os dois grupos, sendo, portanto, um bom indicador do efeito do DM sobre a atividade cerebral. Outro parâmetro útil para

investigar alterações na atividade cerebral em decorrência do DM2 é a dimensão fractal do espaço de fase reconstruído (DF), que revelou alterações significativas entre as DF para ondas alfa e delta do ECoG, enquanto as ondas teta e beta não tiveram suas dimensões fractais alteradas na DM2.

HIGHLIGHT

As diferentes ondas que compõem o ECoG apresentaram correlação de longo alcance, com valores de parâmetros alfa do DFA significativamente diferente para os grupos controle e DM2.

As dimensões fractais dos espaços de fases reconstruídos (DF) do ECoG diferiram significativamente para ondas alfa e delta, enquanto para as ondas teta e beta não houveram alterações significativas entre os grupos.

Palavras-chaves: espectro de potência, análise de flutuação destendenciada, dimensão fractal, ECoG e diabetes mellitus.

INTRODUÇÃO

A glicose é principal fonte da energia para o cérebro dos mamíferos e o metabolismo desta molécula acaba fornecendo energia para funções cerebrais através da geração de ATP. Desregulação do metabolismo da glicose podem promover injúrias ao cérebro tanto através da hipoglicemia quanto da hiperglicemia, essas variações dos níveis glicêmicos plasmáticos podem ser apresentadas pelo indivíduo portador de diabetes. A glicose é a base para manutenção das células neuronais e não neuronais e também serve como precursora para síntese de neurotransmissores (TYCE e WONG, 1980; MERGENTHALER et al., 2013). Desregulação do metabolismo da glicose podem promover injúrias ao cérebro tanto através da hipoglicemia quanto da hiperglicemia (MERGENTHALER et al., 2013), essas variações dos níveis glicêmicos plasmáticos podem ser apresentadas pelo indivíduo portador de diabetes (HOFFMAN et al. 1989; CRYER, 2012).

O Diabetes Mellitus (DM) é uma desordem metabólica caracterizada pela hiperglicemia tanto no estado de jejum quanto pós-prandial, no qual o indivíduo normalmente manifesta polidipsia, poliúria e polifagia (TAPLIN e BARKER, 2008; BASCONES et al., 2011). DM é considerado um sério problema de saúde pública no Brasil e no mundo (FRANCIONI e SILVA, 2007), agravado pelo estilo de vida moderno, caracterizado por atividade física reduzida, obesidade aumentada e envelhecimento da população (WHITING et al, 2011). Segundo a OMS (2017), o número de pessoas diabéticas aumentou de 108 milhões em 1980 para 422 milhões em 2014. Provavelmente, o número de adultos com diabetes irá aumentar em 55% até 2035 (GUARIGUATA et al, 2014). Normalmente de 5 a 10% dos casos de diabetes se deve ao DM tipo 1 (DM1) que é resultado da destruição das ilhotas pancreáticas (TAPLIN e BARKER, 2008; BASCONES et al., 2011). Enquanto que o

DM tipo 2 (DM2) incorpora aproximadamente 90% dos casos da doença, este tipo de diabetes é resultado tanto do aumento da resistência das células à insulina endógena quanto do defeito na secreção deste hormônio (SALTIEL e KAHN, 2001; BASCONES et al., 2011).

Têm sido identificadas complicações relacionadas ao DM e o sistema nervoso central (SNC), como exemplo, a encefalopatia diabética (BIESSELS; LUCHSINGER, 2009). A partir de técnicas de neuroimagem, pesquisadores forneceram dados sobre os efeitos do DM com mudanças estruturais no cérebro apontando para a atrofia cerebral, caracterizada pela redução do volume da matéria branca no núcleo caudado e regiões talâmicas (ROFEY, 2015).

Estudo recente sugere que picos hiperglicêmicos transitórios estão associados a alterações elétricas cerebrais imediatas, e suas implicações clínicas imediatas devem ser pesquisadas mais profundamente (RACHMIEL, 2016). Uma maneira de investigar os possíveis efeitos do DM sobre a atividade elétrica cerebral é através do eletrocorticograma (ECoG). O registro eletrocorticográfico, aparentemente aleatório, permite identificar padrões de ondas distintos que variam de acordo com o estado de consciência e em decorrência de determinadas doenças (AGUIAR et al., 2015).

Atualmente, uma excelente maneira de identificar alterações nos padrões de atividade elétrica cerebral é a aplicação de ferramentas matemáticas e computacionais, tais como: EP, DFA e DF do espaço de fase reconstruído (AGUIAR et al., 2015; PESSOA et al., 2016; PESSOA et al., 2017).

Os sintomas do DM2 podem ser semelhantes aos do DM1, porém mais discretos, por isso, a doença leva mais tempo para ser diagnosticada, geralmente

após o surgimento de complicações decorrentes da mesma (OMS, 2017). Desta forma, a utilização de novas ferramentas que auxiliem o diagnóstico prévio ou previsão de picos hiper ou hipoglicêmicos, comuns aos pacientes com diabetes, se tornam de suma importância.

O objetivo deste estudo foi investigar, aplicando métodos matemáticos, possíveis alterações nos padrões da dinâmica cerebral, observáveis no registro do ECoG, em ratos submetidos à indução de DM2 a partir da STZ.

METODOLOGIA

Animais e grupos

Todos os procedimentos utilizando animais neste estudo foram realizados sob a vigência da Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal Rural de Pernambuco (CEUA/ UFRPE), licença nº. 050/2014. Foram utilizados 10 ratos machos adultos (60 dias) da linhagem Wistar (*Rattus norvegicus* var *albinus*), provenientes do biotério do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal (DMFA). Os animais foram acondicionados em gaiolas de policarbonato forradas com maravalha de pinus, mantidos em $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ e expostos a um período de 12 horas de luz por 12 horas de escuridão. Além disso, os ratos foram alimentados com ração balanceada (Presence, Betel/Paulínia, São Paulo, Brasil) e com acesso à água *ad libitum*.

Os animais foram divididos em dois grupos, o GC – grupo controle e o GD2 – grupo induzido ao diabetes tipo 2, cada um com cinco animais.

Indução e caracterização do diabetes mellitus tipo 2

Para a indução do DM 2 os animais com 60 dias de idade pertencentes ao GD2 receberam uma dose de 60 mg/kg de STZ (Sigma Aldrich, St Louis, Missouri, EUA) e após 15 minutos foi administrada uma dose de 120 mg/kg de nicotinamida (Sigma Aldrich, St Louis, Missouri, EUA) diluída em tampão citrato por via intraperitoneal (NAYAK et al., 2014). Foram incluídos no estudo apenas os animais que apresentaram glicose sanguínea acima de 140 mg/dL, avaliados através do aparelho Accutrend Plus (Roche, Amadora, Lisboa, Portugal) (NAYAK et al., 2014).

Implante do eletrodo e aquisição do ECoG

Aos 83 dias de idade dois eletrodos foram implantados no hemisfério esquerdo nas regiões parietal e frontal do crânio dos animais controle e induzidos a diabetes tipo 2. Após sete dias de administração de antibiótico e anti-inflamatório, os animais foram considerados aptos para o registro do ECoG (PESSOA et al., 2016). Os sinais do ECoG foram registrados aos 90 dias de idade, por um período de 30 minutos utilizando o aparelho EMG 410C (EMG System do Brasil, São José do Campos, São Paulo, Brasil) conectado a um computador .

Processamento do sinal

Os registros dos ECoG's foram segmentados em uma janela de cinco minutos. Para cálculo do EP, os segmentos foram importados para o MATLAB versão 7.8 (MathWorks, Natick, Massachusetts, EUA) e foi calculada a densidade espectral de potência pelo método de Welch (1967) das seguintes frequências: delta

(0-4 Hz), teta (4-8 Hz), alfa (8-16 Hz) e beta (16-32 Hz). O método do DFA foi aplicado no ECoG total e nas ondas delta, teta, alfa e beta.

Os segmentos também foram importados para o software OriginPro 9.0 (OriginLab Corporation, Northampton, Massachusetts, EUA) e filtrados com um filtro passa banda do tipo FFT (Fast Fourier Transform) para as análises de DF (método de contagem por caixas) do espaço de fase reconstruído do ECoG, e também das ondas mencionadas acima (AGUIAR et al., 2015; PESSOA et al., 2016; PESSOA, et al., 2017).

Estatística

Inicialmente foi realizado o teste de Normalidade de Shapiro Wilks, o qual evidenciou a distribuição não paramétrica dos dados. Desta forma, foi aplicado o teste de Mann-Whitney entre o grupo de animais controle e com DM2. Os resultados foram expressos através de mediana \pm desvio interquartilico, e, os valores de $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significativos.

RESULTADOS

Os EP foram construídos para frequências na faixa de 0,5 e 32Hz para os ambos os grupos, GC e GD2. (Figura 1). As análises das potências médias nas diferentes faixas de frequências (teta, delta, alfa e beta) não mostraram diferenças significativas (Figura 2).

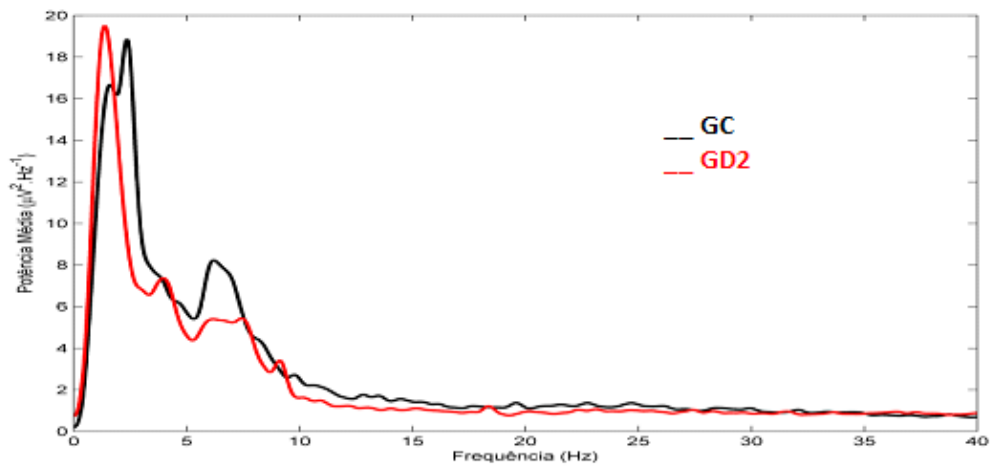
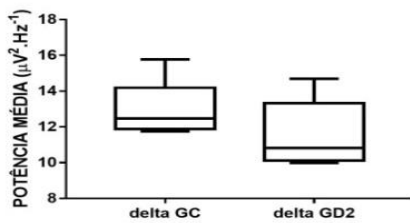
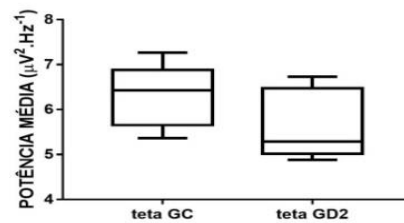


Figura 1 - EP de um animal do GC (preto) e GD2 (vermelho).



A



B

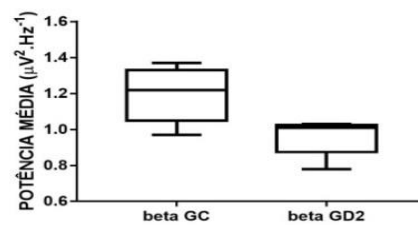
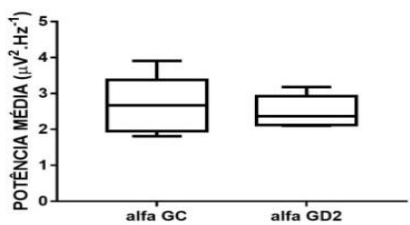


Figura 2 - Potência média das ondas delta, teta, alfa e beta do EP. Nenhuma diferença estatisticamente significativa foi observada.

Ao analisar a correlação de longo alcance (DFA) do ECoG total não houve alteração significativa entre os parâmetros alfa do DFA para os grupos controle e diabético tipo 2 ($p = 0,2143$) (Figura 3). A técnica do DFA foi aplicada às diferentes faixas de frequências (ondas teta, delta, alfa, beta) e os valores dos α do DFA obtidos mostraram diferenças estatisticamente significativas para todas as ondas analisadas (Figura 3).

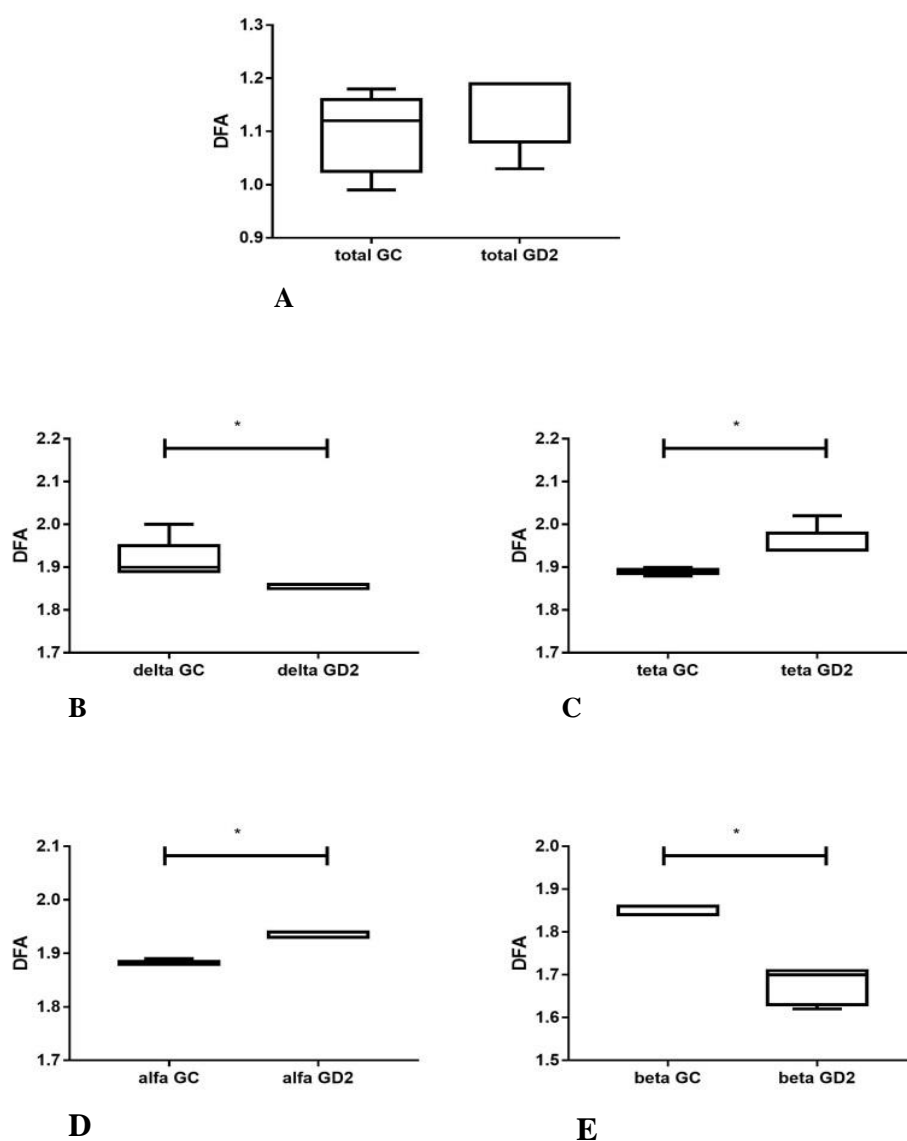


Figura 3 - DFA do ECoG total e das ondas delta, teta, alfa e beta. (*) representa uma diferença estatisticamente significativa ($P < 0,05$).

A DF do espaço de fase reconstruído do ECoG total não revelou alteração significativa, sendo o valor de $p = 0,4206$ (Figura 4 A), confirmando o resultado do DFA.

Para os valores da DF do espaço de fase reconstruído das ondas (Figura 4 e 5) foram identificadas alterações significativas para as ondas delta e alfa.

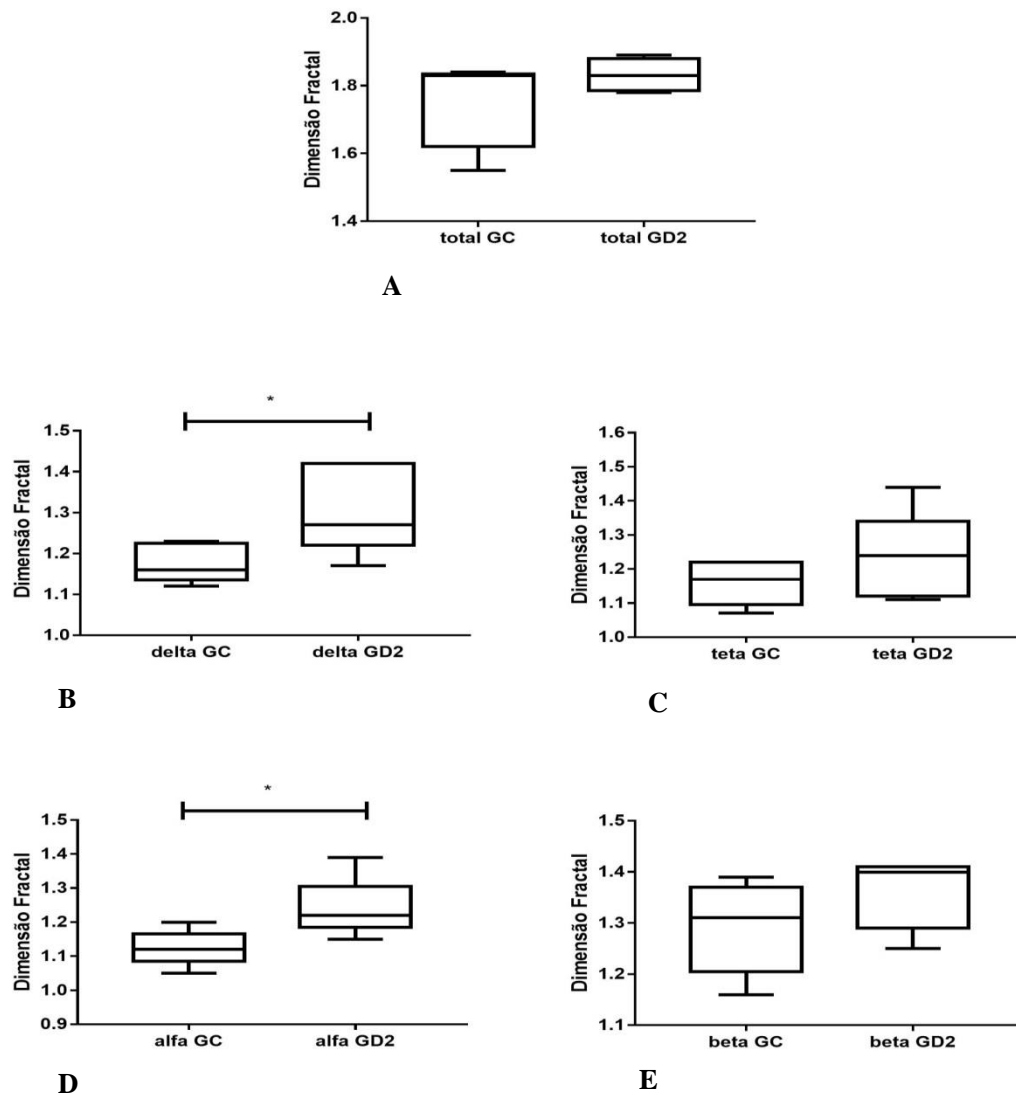


Figura 4 - DF (contagem por caixas) para o ECoG total (A), e as ondas delta (B), teta (C), alfa (D) e beta (E). (*) representa uma diferença estatisticamente significativa ($P < 0,05$).

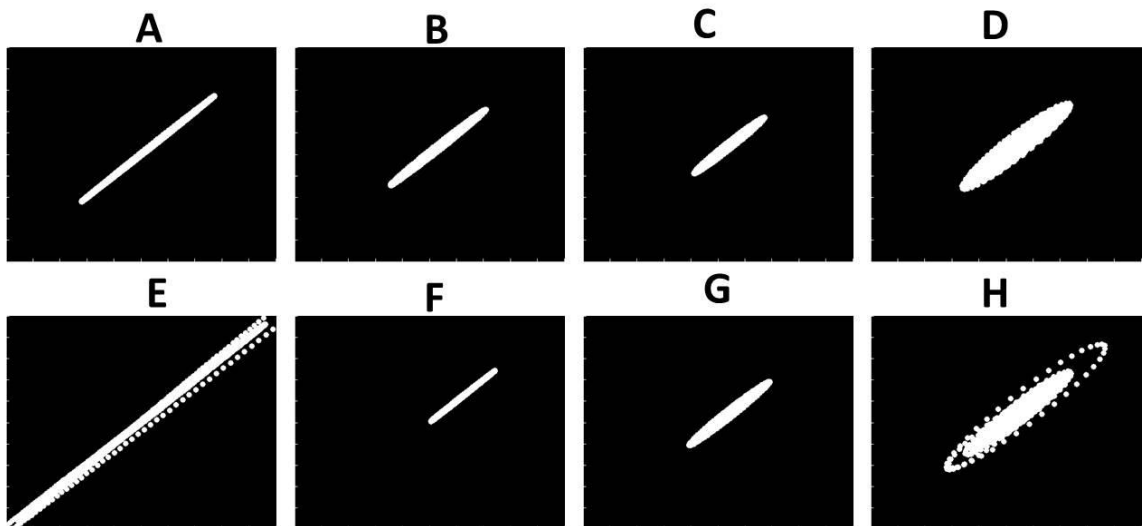


Figura 5 - Espaço de Fase reconstruído correspondente às ondas delta (A), teta (B), alfa (C) e beta (D) de um animal do GC; espaço de fase reconstruído correspondente às ondas delta (E), teta (F), alfa (G) e beta (H) de um animal do GD2.

DISCUSSÃO

Este trabalho mostra a associação entre Diabetes tipo 2 e o comportamento da atividade cerebral registrada pelo ECoG, quando o sinal do ECoG é avaliado por meio de métodos matemáticos. O principal resultado desse estudo mostra que os métodos utilizados fornecem evidências da ação do DM sobre os principais ritmos que compõem o EcoG.

O EP foi uma ferramenta útil para subdividir o ECoG em bandas a serem analisadas pelos métodos não-lineares, entretanto não revelou alterações significativas entre o GC e GD2. Isso se deve ao fato que o parâmetro determinado no espectro de potência é a potência média (WELCH, 1967). Esta potência é

calculada através da integral sob a curva do espectro, e, portanto, apesar das duas curvas (grupo controle e diabético) apresentarem comportamentos distintos quando analisados em cada valor de frequência, quando analisados na média os efeitos se compensam e por isso nenhum efeito significativo foi observado no espectro total. No entanto, mesmo quando a potência média foi analisada nas diferentes faixas do espectro de potência nenhuma diferença entre o grupo controle e diabético foi observada. Esses resultados revelam que o espectro de potência não é um método suficientemente sensível para descrever quantitativamente as diferenças observáveis nos dois espectros (grupo controle e diabético).

No espectro pode ser observado que os ritmos teta e delta prevaleceram nos animais dos dois grupos. Como essas duas ondas estão relacionadas aos diferentes estágios de sono (SCHACTER, 1977) e os registros terem sido realizados durante o dia, a predominância dessas ondas é natural em decorrência dos ratos serem animais noturnos.

Em nossas análises os valores dos α -DFA para o registro total do ECoG para os dois grupos não apresentaram diferenças estatisticamente significativas. Isto pode ser o resultado do ECoG possuir grandes e pequenas flutuações, de maneira que o método do DFA não foi sensível em mensurar a alteração entre os grupos avaliados. Este resultado está de acordo com publicação de Bachmann et al. (2018), no qual é sugerido que o DFA monofractal, pode não descrever a correlação de longo alcance em séries com grandes flutuações.

No entanto, quando o DFA foi aplicado em pequenas faixas de frequências do espectro, foi possível observar alterações significativas para todas as ondas do espectro analisadas. Este resultado indica que o DM2 é capaz de promover

alterações na dinâmica cerebral. O estudo de CUI et al.(2014) mostrou uma redução da atividade de várias regiões do cérebro pela DM2 usando métodos que representam as características dos sinais globais da ressonância magnética funcional em estado de repouso. Os trabalhos de Juhl et al. (2010) e Snogdal et al. (2012) com eletroencefalograma identificaram a hipoglicemia promovida pela DM1, assim mostrando a influência da diabetes na atividade cerebral.

A DF já foi utilizada para estudar a complexidade do sinal de EEG induzido pela hipoglicemia, mostrando que este parâmetro é eficiente como um indicador quantitativo de alterações no EEG. Esta parametrização é importante para compreender como a hipoglicemia afeta a função cerebral e para desenvolver sistemas automáticos capazes de detectar hipoglicemia quase em tempo real e nas condições de vida diária (SCARPA et al., 2017).

Em nossos achados, a DF sempre teve um aumento do GD2 em relação ao GC, apesar disso, assim como no DFA, para o ECoG total não houve alteração significativa ($p = 0,42$). Contudo, as ondas delta e alfa tiveram um aumento considerado estatisticamente significativo, em delta indo de $\approx 1,12$ para $\approx 1,27$ ($p = 0,0238$), e em alfa indo de $\approx 1,12$ para $\approx 1,22$ ($p = 0,0159$).

Nossos resultados mostram que os valores de \square do DFA para os ritmos delta e beta tiveram uma diminuição da correlação de longo alcance persistente, em delta indo de $\approx 1,90$ para $\approx 1,86$ e em beta de $\approx 1,86$ para $\approx 1,61$. Para os ritmos alfa e teta houve um aumento da correlação, em alfa de $\approx 1,88$ para $\approx 1,93$, e em teta de $\approx 1,89$ para $\approx 1,94$. Tais alterações encontradas na eletrofisiologia cerebral podem estar relacionadas com as anormalidades da substância branca e cinzenta do cérebro, essas anormalidade foram observadas em adolescentes com DM2 (NOUWEN et al.,

2017). Inclusive, há indícios de atrofia cerebral, com redução de substância cinza e desmielinização em substância branca em adolescentes com DM2 (WU et al., 2017).

Oscilações de estado hiper e hipoglicêmicos são comuns aos pacientes do DM, e a hipoglicemia que ocorre em pessoas com diabetes tipo 2 que são tratadas com insulina basal podem levar a uma redução da função cognitiva e aumento dos riscos para a morbidade e a mortalidade (BLUMER e CLEMENT, 2017). Estes resultados podem indicar que perante a falta de controle glicêmico dos animais pertencentes ao GD2 pode haver comprometimento da função cognitiva e anormalidades no ECoG, como mostrado por Cooray et al. (2011) e Nayak et al. (2014).

Há relação entre EEG avaliado visualmente, lesões subclínicas da substância branca e as fontes do ritmo alfa em pessoas com comprometimento cognitivo leve (Kramberger et al., 2017). Também, no referido estudo, foi observado atrofia do hipocampo, que é uma área associada ao desenvolvimento de memória e aprendizagem. A pesquisa realizada por Moretti et al (2017) comprova uma relação inversamente proporcional entre a potência alfa e o metabolismo da glicose, em que regiões com possíveis atrofia, a entrada de glicose é prejudicada e com a redução do metabolismo local de glicose surge uma predominância de potência alfa.

Ainda em Moretti et al (2017), há, por exemplo, atrofia hipocampal, responsável pelo desenvolvimento de memória e aprendizagem. Resultados semelhantes encontrados por Kadir et al (2010), no qual identifica o declínio do metabolismo da glicose conforme há o declínio da cognição cerebral durante a confirmação e progressão da doença de Alzheimer (DA).

Atualmente é considerada uma relação íntima entre o DM2 e a DA. Estudos recentes demonstraram que a glicemia elevada em indivíduos não diabéticos aumenta o risco de demência em 18% e está associada ao declínio cognitivo, e à redução do volume hipocampal. Os principais mecanismos celulares e moleculares sobre como os neurônios se tornam resistentes à insulina em DA e como a sinalização de insulina prejudicada na DA está ligada a deficiências sinápticas e de memória. O DM2 se apresenta como um fator de risco para a DA, pois o padrão de A β 1-42 (biomarcador para a DA) do fluido cérebro espinhal e alterações de A β do córtex cerebral em pessoas com DM2 sugerem que o DM2 pode aumentar o risco de DA através de um mecanismo patológico associado à doença. Inclusive já se considera em determinadas literaturas que a DA é uma forma de DM tipo 3 (KANDIMALLA et al 2017; LI et al, 2017; VIEIRA et al 2017).

Em estudo recente, CUEVAS (2017) revelou o comprometimento cognitivo do DM2 e a necessidade de recursos para suporte e monitoramento de detecção de déficits cognitivos. Cerca de 193 milhões de pessoas têm diabetes não diagnosticada e a DM2 é responsável por mais de 90% dos pacientes com diabetes, desta forma, a detecção precoce através de programas de triagem multidisciplinares, podem reduzir a morbidade e a mortalidade prevenindo ou adiando complicações (CHATTERJEE, 2017).

A análise matemática do ECoG pode revelar alterações e contribuir para esse diagnóstico, como foi observado em nossos resultados a partir da análise do DFA e da DF do EFR das ondas do ECoG. Em pesquisa recente realizada por Nakisa et al. (2017), foi sugerida a análise do EEG com base em computação evolutiva, utilizando diferentes algoritmos em combinação de tempo e frequência apresentando desempenho mais eficiente, em comparação com o uso de recursos que só usam

tempo ou frequência, logo, nossos achados podem contribuir para a elaboração de métodos computacionais mais eficientes para serem aplicados na rotina médica.

CONCLUSÃO

Os métodos matemáticos mostraram que a decomposição do sinal do ECoG nas ondas de diferentes bandas de frequência sofreram alterações pela ação do DM. Assim esta doença é capaz de promover alterações na atividade cerebral.

AGRADECIMENTOS

Este trabalho foi apoiado pela Comissão de Aperfeiçoamento de Pessoal do Nível Superior (CAPES), Conselho Nacional de Pesquisa (CNPq), Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia de Pernambuco (FACEPE), Departamento de Morfologia e Fisiologia da Universidade Federal Rural de Pernambuco (DMFA – UFRPE) e Centro de Apoio a Pesquisa (CENAPESQ)-UFRPE.

DIVULGAÇÃO

Os autores declaram não haver conflito de interesses.

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

Aguiar LAA, Silva IMS, Fernandes TS, Nogueira RA. Long-term correlation of the electrocorticogram as a bioindicator of brain exposure to ionizing radiation. *Braz J Med Biol Res.* 2015; 48: 915-922.

Bachmann M, Päeske L, Kalev K, Aarma K, Lehtmets A, Ööpik P, Lass J, & Hinrikus H. Methods for classifying depression in single channel EEG using linear and nonlinear signal analysis. *Comput Methods Programs Biomed.* 2018; 155: 11-17.

Bascones-Martinez A, Matesanz-Perez P, Escribano-Bermejo M, González-Moles MÁ, Bascones-Ilundain J, Meurman JH. Periodontal disease and diabetes-Review of the Literature. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2011; 16: e722-729.

Biessels GJ, Luchsinger JA. Diabetes and the brain. Humana Press, New York, 2009.

Blumer I, Clement M. Type 2 Diabetes, Hypoglycemia, and Basal Insulins: Ongoing Challenges. *Clin Ther.* 2017; 39: S1-S11.

Chatterjee S, Khunti K, Davies MJ. Type 2 diabetes. *The Lancet.* 2017;389: 2239-2251.

Cooray G, Nilsson E, Wahlin Å, Laukka EJ, Brismar K, Brismar T. Effects of intensified metabolic control on CNS function in type 2 diabetes. *Psychoneuroendocrinology* 2011; 36: 77-86.

Cuevas H (2017). Assessment of Cognitive Function in Type 2 Diabetes. *The J Nurse Pract.* 2017; 13: e311-e315.

Cui Y, Jiao Y, Chen YC, Wang K, Gao B, Wen S, Teng, GJ. Altered spontaneous brain activity in type 2 diabetes: a resting-state functional MRI study. *Diabetes*. 2014; 63: 749-760.

Francioni FF, Silva DGVD. The process of people with Diabetes Mellitus living healthful through a living group. *Texto Contexto Enferm*. 2007; 16: 105-111.

Guariguata L, Whiting DR, Hambleton I, Beagley J, Linnenkamp U, Shaw JE. Global estimates of diabetes prevalence for 2013 and projections for 2035. *Diabetes Res Clin Pract*. 2014; 103: 137-149.

Hoffman RG, Speelman DJ, Hinnen DA, Conley KL, Guthrie RA, Knapp RK. Changes in cortical functioning with acute hypoglycemia and hyperglycemia in type I diabetes. *Diabetes care*. 1989; 12:193-197.

Juhl CB, Hojlund KK, Elsborg R, Poulsen MK., Selmar PE, Holst JJ, Beck-Nielsen H. Automated detection of hypoglycemia-induced EEG changes recorded by subcutaneous electrodes in subjects with type 1 diabetes—the brain as a biosensor. *Diabetes Res Clin Pract*. 2010; 88: 22-28.

Kadir A, Marutle A., Gonzalez D., Schöll M, Almkvist O, Mousavi M, Nordberg A. Positron emission tomography imaging and clinical progression in relation to molecular pathology in the first Pittsburgh Compound B positron emission tomography patient with Alzheimer's disease. *Brain*. 2010; 134: 301-317.

Kandimalla R, Thirumala V, Reddy PH. Is Alzheimer's disease a type 3 diabetes? A critical appraisal. *Biochim Biophys Acta - Molecular Basis of Disease*. 2017; 1863: 1078-1089.

Kramberger MG., Giske K, Cavallin L, Kåreholt I, Andersson T, Winblad B, Jelic V. Subclinical white matter lesions and medial temporal lobe atrophy are associated with EEG slowing in a memory clinic cohort. *Clin Neurophysiol.* 2017; 128: 1575-1582.

Li W, Risacher SL, Gao S, Boehm SL, Elmendorf JS, Saykin AJ. Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative. Type 2 diabetes mellitus and cerebrospinal fluid Alzheimer's disease biomarker amyloid β 1-42 in Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative participants. *Alzheimers Dement (Amst).* 2017; 10: 94-98.

Mergenthaler P, Lindauer U, Dienel GA, Meisel A. Sugar for the brain: the role of glucose in physiological and pathological brain function. *Trends Neurosci.* 2013; 36: 587-597.

Moretti DV, Pievani M, Pini L, Guerra UP, Paghera B, Frisoni GB. Cerebral PET glucose hypometabolism in subjects with mild cognitive impairment and higher EEG high-alpha/low-alpha frequency power ratio. *Neurobiol aging*, 2017; 58, 213-224.

Nakisa B, Rastgoo MN, Tjondronegoro D, Chandran V. Evolutionary computation algorithms for feature selection of EEG-based emotion recognition using mobile sensors. *Expert Syst Appl.* 2018; 93: 143-155.

Nayak Y, Hillemane V, Daroji VK, Jayashree BS, & Unnikrishnan MK. Antidiabetic activity of benzopyrone analogues in nicotinamide-Streptozotocin induced Type 2 diabetes in rats. *The Scientific World Journal*, 2014; 2014: 854267.

Nouwen A, Chambers A, Chechlacz M, Higgs S, Blissett J, Barrett TG, & Allen HA. Microstructural abnormalities in white and gray matter in obese adolescents with and without type 2 diabetes. *Neuroimage Clin* 2017; 16: 43-51.

Pessoa D, Cruz R, Machado B, Tenorio B, Nogueira R. Analysis of electrocorticographic patterns in rats fed standard or hyperlipidic diets in a normal state or during status epilepticus. *Nutr Neurosci*. 2016; 19: 206–212

Pessoa DT, da Silva ELA, Costa EVL, Nogueira RA. Effect of diet with omega-3 in basal brain electrical activity and during status epilepticus in rats. *Epilepsy Res*. 2017; 137: 33-38.

Rachmiel M, Cohen M, Heymen E, Lezinger M, Inbar D, Gilat S, Ekstein D. Hyperglycemia is associated with simultaneous alterations in electrical brain activity in youths with type 1 diabetes mellitus. *Clin Neurophysiol*, 2016; 127: 1188-1195.

Rofey DL, Arslanian SA, El Nokali NE, Verstynen T, Watt JC, Black JJ, Erickson KI. Brain volume and white matter in youth with type 2 diabetes compared to obese and normal weight, non-diabetic peers: A pilot study. *Int J Dev Neurosci* 2015; 46: 88-91.

Scarpa F, Rubega M, Zanon M, Finotello F, Sejling AS, Sparacino G. Hypoglycemia-induced EEG complexity changes in Type 1 diabetes assessed by fractal analysis algorithm. *Biomed Signal Process Control*. 2017; 38: 168-173.

Schacter DL. EEG theta waves and psychological phenomena: A review and analysis. *Biological psychology*. 1977; 5: 47-82.

Snogdal LS, Folkestad L, Elsborg R, Remvig LS, Beck-Nielsen H, Thorsteinsson B, Juhl CB. Detection of hypoglycemia associated EEG changes during sleep in type 1 diabetes mellitus. *Diabetes Res Clin Pract*. 2012; 98: 91-97.

Taplin CE, Barker JM. Autoantibodies in type 1 diabetes. *Autoimmunity*. 2008; 41: 11-18.

Tyce GM, Kar-Lit W. Conversion of glucose to neurotransmitter amino acids in the brains of young and aging rats. *Exp Gerontol* 1980; 15: 527-532.

Vieira MN, Lima-Filho, RA, De Felice FG. Connecting Alzheimer's disease to diabetes: underlying mechanisms and potential therapeutic targets. *Neuropharmacology*. 2017.

Welch PD. The use of fast Fourier transform for the estimation of power spectra: a method based on time averaging over short, modified period grams. *IEE trans Audio Electroacoust*. 1967; 15:70-73.

Whiting DR, Guariguata L, Weil C, Shaw J. IDF diabetes atlas: global estimates of the prevalence of diabetes for 2011 and 2030. *Diabetes Res Clin Pract*. 2011; 94: 311-321.

Wu G, Lin L, Zhang Q, Wu J. Brain gray matter changes in type 2 diabetes mellitus: A meta-analysis of whole-brain voxel-based morphometry study. *J Diabetes Complications*. 2017; 31: 1698-1703.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A partir deste estudo, foi possível perceber que todas as análises aplicadas diretamente ao ECoG não foram sensíveis às prováveis alterações decorrentes do Diabetes Melitus tipo 2, talvez pela grande variação dos dados. Contudo, as análises não-lineares (Análise de Flutuação Destendenciada e Dimensão Fractal do Espaço de Fase) foram sensíveis a discretas alterações.

O DM2 vem sendo uma das maiores preocupações do século, métodos matemáticos e computacionais podem ser úteis e talvez um dia possam contribuir para um diagnóstico prévio, evitando que as complicações decorrentes da doença sejam o primeiro indício de prejuízo. Por isso, mais pesquisas devem ser realizadas no intuito de revelar os reais efeitos do DM2 na atividade elétrica cerebral.

