

Walquíria Souza Nunes^{*1,2,3}, Diego Baronio^{1,2}, Victorio Bambini-Junior^{1,2,3}, Kamila Castro Grokoski^{1,2}, Taylor Gonchoroski^{1,2,3}, Gabriela Mueller de Melo^{1,2,3}, Carmem Gottfried^{1,2,3}, Rudimar Riesgo^{1,2,4}

¹Grupo de Pesquisa em Plasticidade Neuroglial (PNG); ²Grupo de Estudos Translacionais do Transtorno do Espectro do Autismo (GETTEA); ³Departamento de Bioquímica, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS); ⁴Unidade de Neuropediatria, Hospital de Clínicas de Porto Alegre *walquiria.s.nunes@gmail.com

Principais Pontos

- O Transtorno do Espectro do Autismo (TEA): prejuízos na comunicação e interação social e um repertório restrito de interesses;
- Uso de antagonistas histaminérgicos na doença de Alzheimer e esquizofrenia apresentam um melhoramento em algumas características comportamentais que são comuns as características presentes no autismo. Dentre os antagonistas utilizados, o Ciproxifan (CPX) é bastante utilizado;
- Ligantes do Receptor 3 de Histamina (H3R): potenciais agentes terapêuticos para o tratamento de doenças encefálicas e uma importante ferramenta para estudos dentro do TEA;
- Sociabilidade, nocicepção e comportamento repetitivo:** o tratamento com CPX foi eficaz no retorno do fenótipo do grupo controle em animais VPA; **Novidade Social:** nesse teste, o tratamento de CPX foi ineficaz para o retorno das características do grupo controle em animais VPA.

Introdução

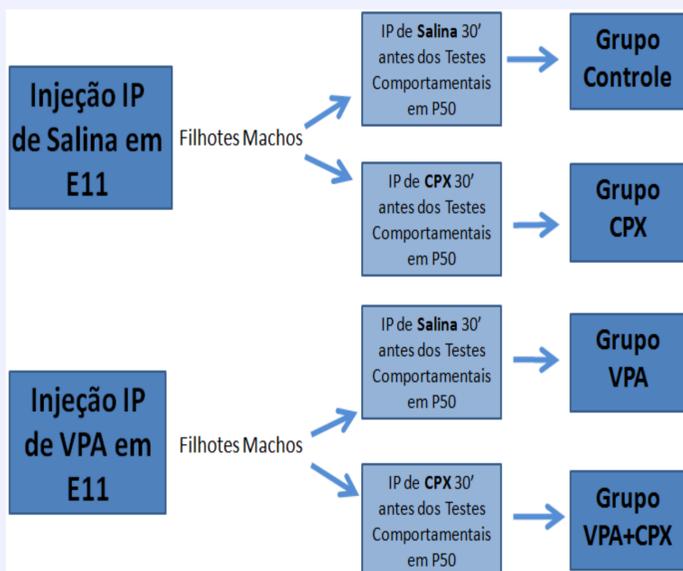
O Transtorno do Espectro do Autismo (TEA) é um distúrbio heterogêneo caracterizado por prejuízos na comunicação e interação social e um repertório restrito de interesses[1]. A etiologia do TEA ainda é desconhecida, entretanto evidências apontam que fatores genéticos e ambientais estão envolvidos no seu desencadeamento [2]. O uso de Ácido Valproico (VPA) durante a gestação é um fator de risco associado ao aumento da incidência de autismo [3]. Um modelo animal de exposição pré-natal ao VPA foi proposto no intuito de estudar as bases biológicas desse transtorno. O sistema histaminérgico atua em vários processos fisiológicos no sistema nervoso central sendo muito estudado em desordens que apresentam comportamentos semelhantes aos encontrados no autismo. Assim, esse sistema se torna alvo de estudo para entender os mecanismos etiológicos do TEA. A atuação de antagonistas de determinados receptores em desordens encefálicas, tais como doença de Alzheimer e esquizofrenia, apresentam uma melhora em algumas características comportamentais. Desse modo, ligantes do Receptor 3 de Histamina (H3R) são considerados potenciais agentes terapêuticos para o tratamento de doenças encefálicas e uma importante ferramenta para estudos dentro do TEA [4].

Objetivo

Avaliar a ação de Ciproxifan (CPX), um antagonista de H3R, na sociabilidade, interesse por novidade social, comportamentos repetitivos e nocicepção em um modelo animal de autismo induzido pela exposição pré-natal ao Ácido Valproico.

Materiais e Métodos

Camundongos Swiss foram acasalados com idades entre 40 e 60 dias. A prenhez foi identificada a partir do plug vaginal e pela variação de massa das fêmeas ao longo da gestação. O dia do acasalamento foi considerado como dia embrionário zero (E0). No dia E11, um grupo de fêmeas prenhes recebeu uma única injeção intraperitoneal (IP) de VPA (500mg/kg) dissolvido em salina 0,9%, enquanto outro grupo recebeu IP de solução de salina. Os filhotes machos foram divididos em quatro grupos experimentais: Controle, CPX, VPA e VPA+CPX. Quando esses filhotes atingiram 50 dias (P50), foram realizados três testes comportamentais. Antes dos testes, foi aplicado uma IP de CPX ou salina nos camundongos. Os teste seguiram a seguinte ordem: Teste de Três Câmaras (TC), Tail-Flick (TF) e Marble Burying (MB). Sociabilidade e interesse social foram mensurados a partir do TC, nocicepção foi mensurada a partir de TF e comportamento repetitivo foi mensurado utilizando o MB.



As análises estatísticas do teste TC foram analisadas pelo *Generalized Estimating Equation* (GEE). O teste MB e o TF foram analisados pelo teste estatístico Kruskal-Wallis. Projeto aprovado pelo CEUA e pelo Comitê de Ética Animal do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA). Projeto 130040.

Resultados e Discussão

Sociabilidade

O grupo Controle gastou mais tempo explorando o animal desconhecido do que o objeto. O grupo VPA não mostra preferência entre os dois estímulos, sugerindo uma diminuição da sociabilidade. Assim como o grupo controle, o grupo VPA+CPX gastou mais tempo explorando o animal desconhecido. O tratamento com CPX foi eficaz no retorno do fenótipo do grupo Controle em animais VPA. (Figura1).

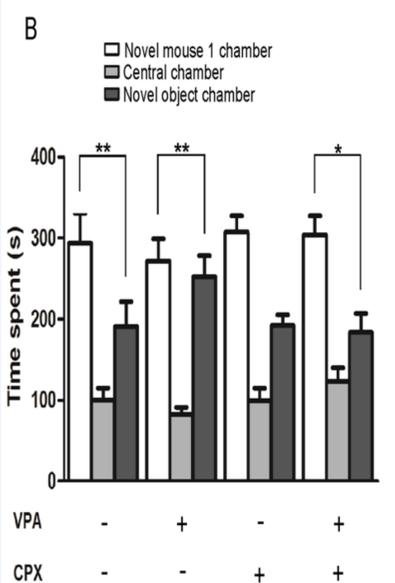
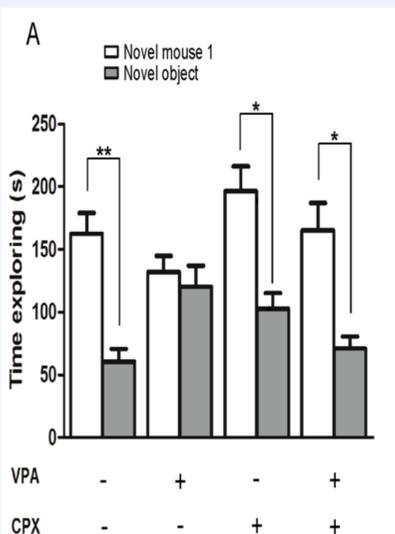


Figura 1 - Avaliação de sociabilidade pelo teste de Três Câmaras. (A) Tempo gasto explorando o camundongo desconhecido ou o objeto. (B) Tempo gasto nas câmaras. (*p<0.05, **p<0.01).

Novidade Social

O grupo Controle apresentou um maior tempo explorando o camundongo desconhecido do que o animal já conhecido. O grupo VPA e o grupo CPX não mostram preferência entre os dois estímulos. Para esse teste, o tratamento de CPX não foi efetivo no retorno do fenótipo do grupo Controle em animais VPA. O tempo gasto em ambas as câmaras do grupo VPA e CPX não teve diferenças estatísticas (Figura 2).

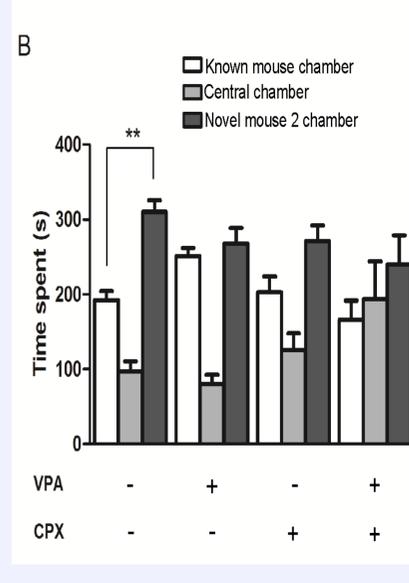
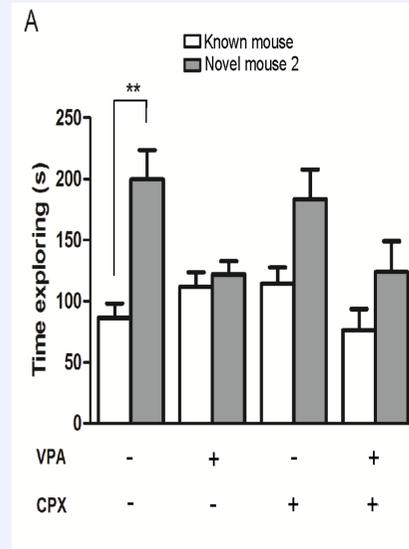


Figura 2 - Avaliação de Novidade Social pelo teste de Três Câmaras. (A) Tempo gasto explorando o camundongo conhecido ou o novo rato. (B) Tempo gasto nas câmaras. (*p<0.05, **p<0.01).

Nocicepção

Os animais do grupo VPA apresentaram um alto limiar nociceptivo quando comparados com o grupo Controle. A nocicepção do grupo CPX e do grupo Controle não apresentaram diferenças significativas. O grupo VPA e VPA+CPX apresentaram um limiar de nocicepção semelhante. (Figura 3).

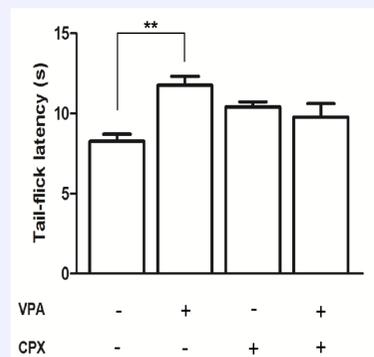


Figura 3 - O efeito do antagonista H3R na nocicepção. Animais foram contidos e o limiar nociceptivo foi medida três vezes, com intervalos de 30 s, a fim de calcular os valores médios (p<0,01).

Comportamento Repetitivo

O grupo VPA enterrou significativamente mais bolas de gude que o grupo Controle, consistindo em um aumento de comportamento repetitivo. O grupo VPA+CPX enterrou significativamente menos bolas de gude que o grupo VPA. (Figura 3).

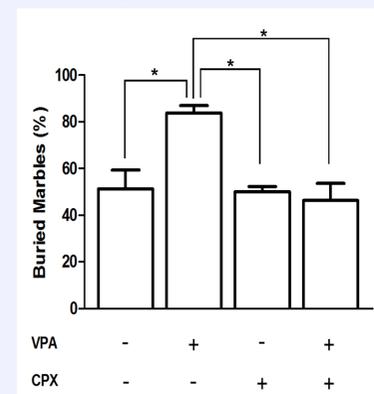


Figura 4 - O antagonista H3R atenua o elevado comportamento repetitivo em camundongos VPA (p<0,01).

Conclusão

O presente trabalho traz as primeiras evidências de que o CPX (um H3R- antagonista específico) é capaz de atenuar algumas deficiências de sociabilidade e movimentos repetitivos presentes em um modelo animal de autismo induzido por exposição pré-natal ao Ácido Valproico (VPA). Os resultados fornecem evidências para o envolvimento do H3R em comportamentos do tipo autista no modelo. Além disso, esses dados apontam para alterações ainda não exploradas dentro do modelo por indução pré-natal ao VPA, as quais são potencialmente relacionadas com a etiologia do TEA. Assim, combinados com pesquisas que relatam a eficácia clínica do antagonista histaminérgico, futuras investigações serão realizadas para compreender o envolvimento de vias histaminérgicas na fisiopatologia do Transtorno do Espectro do Autismo.

Referências

- [1] **Am Psych Assoc** (2013), Diagnostic and Statistical Manual Disorders (5th ed.)
- [2] **Tyzio R.** (2014), Science, Vol. 343 no. 6171 pp. 675-679
- [3] **Schneider T, Przewtocki R.** (2005), Neuropsychopharmacology. 30,80-9 4.
- [4] **Tiligada E, et al.** (2011) CNS Neurosci Ther.17, 620-628

Agradecimentos

