

Giovanna Carello Collar^{1,2}, Gustavo Della Flora Nunes^{1,2}, Mellanie F. Dutra^{1,2}, Walquíria S. Nunes^{1,2}, Mauro M. Hirsch^{1,2}, Gabriela Z. Staeve^{1,2}, Guilherme Negrini^{1,2}, Júlio S. Terra Machado^{1,2}, Gustavo B. Schwingel^{1,2}, Tharcila Quadros^{1,2}, Taylor Gonchoroski^{1,2}, Victorio Bambini-Junior^{1,2,3}, Rudimar Riesgo¹, Carmem Gottfried^{1,2}

¹Grupo de Estudos Translacionais em Transtorno do Espectro do Autismo (GETTEA); ²Laboratório de Plasticidade Neuroglial, Departamento de Bioquímica, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil; ³Laboratório de Pesquisas sobre o Timo, Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

INTRODUÇÃO

O transtorno do espectro do autismo (TEA) é uma desordem do neurodesenvolvimento caracterizada por prejuízos na comunicação/interação social e comportamentos repetitivos e interesses restritos[1]. O uso materno de ácido valproico (VPA) durante a gestação é um conhecido fator de risco para o TEA[2] e um indutor de características do tipo autista em roedores quando administrado durante a prenhez (modelo de TEA), conduzindo a alterações comportamentais, bioquímicas e morfológicas, similares àquelas encontradas em indivíduos com TEA [3]. O resveratrol (RSV), um polifenol com efeitos anti-inflamatórios e antioxidantes, preveniu as alterações sociais induzidas pelo VPA no modelo proposto[1]. No entanto, os efeitos preventivos do RSV em outros comportamentos característicos do TEA são desconhecidos.

OBJETIVOS

Avaliar a influência do tratamento pré-natal com RSV sobre alterações comportamentais induzidas pelo VPA (modelo de autismo), incluindo prejuízo na interação social e presença de estereotípias.

METODOLOGIA E RESULTADOS

Após o pareamento e a verificação da presença de espermatozoides no fluido vaginal (E0.5), ratas Wistar prenhes foram aleatorizadas em 4 grupos experimentais, conforme indicado no desenho experimental (Figura 1). Os testes comportamentais realizados foram: Transmissão Social de preferência alimentar, Autolimpeza, Três Câmaras e Empatia.

Controle¹ VPA² RSV³ RSV+VPA⁴



Figura 1: Desenho experimental. Dose única de VPA: 600 mg/kg (i.p.), dose RSV: 3,6 mg/kg/dia (s.c.). Foram utilizados somente ratos machos para os experimentos comportamentais.

Transmissão Social de Preferência Alimentar:

Ambientação com a comida *sem sabor* (P47-49). No dia de teste (P50), uma das duas opções de comida *com sabor* foi apresentada para um animal da ninhada (*demonstrador*) durante 1 hora. Então, permitiu-se a interação com os outros da ninhada (*observadores*) durante 30 minutos. A preferência destes pela comida introduzida ou não introduzida foi testada por 1 hora e 30 minutos.

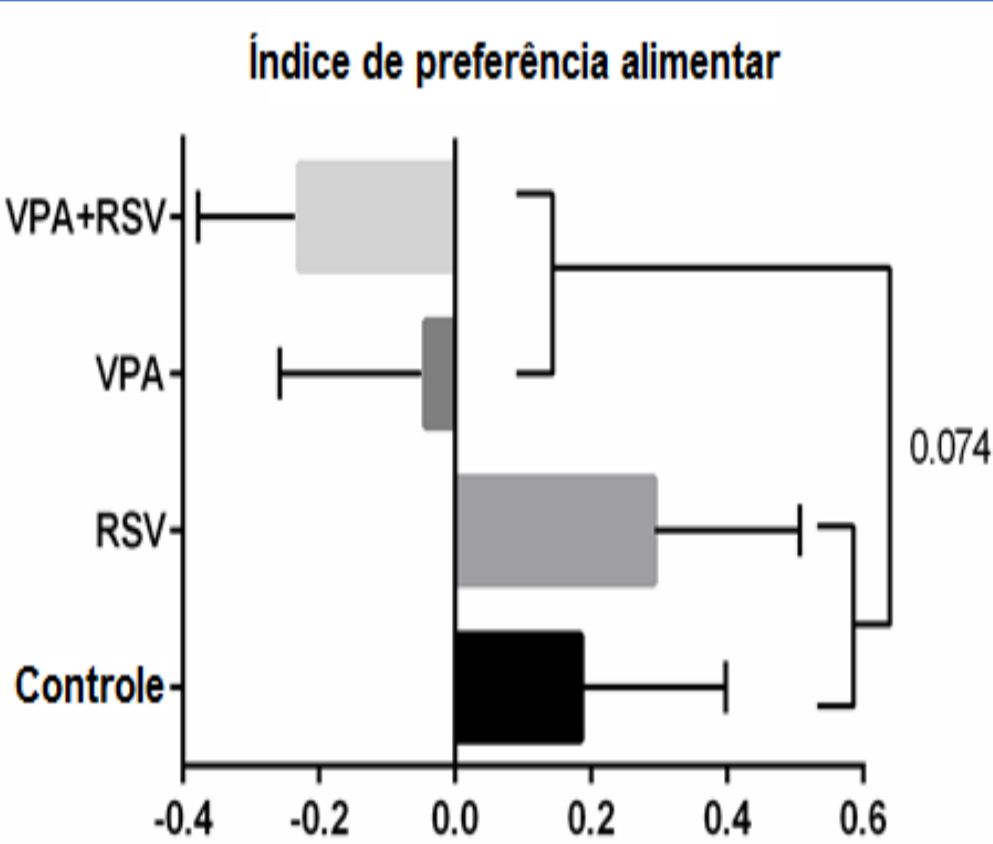


Figura 2: Prejuízo de comunicação social dos ratos VPA. (ANOVA de duas vias). $n_{\text{Controle}} = 9$, $n_{\text{RSV}} = 6$, $n_{\text{VPA}} = 6$, $n_{\text{VPA+RSV}} = 9$. (em ninhadas).

Há uma preferência pela comida do demonstrador nos grupos Controle e RSV. Os grupos que receberam VPA apresentam uma tendência em preferir a comida que não foi apresentada pelo demonstrador ($p=0,074$).

Autolimpeza: Os ratos foram individualmente colocados em uma caixa de madeira 50cm x 50cm x 50cm. Dia de teste: P65. Os eventos de autolimpeza e sua duração foram quantificados por 10 minutos.

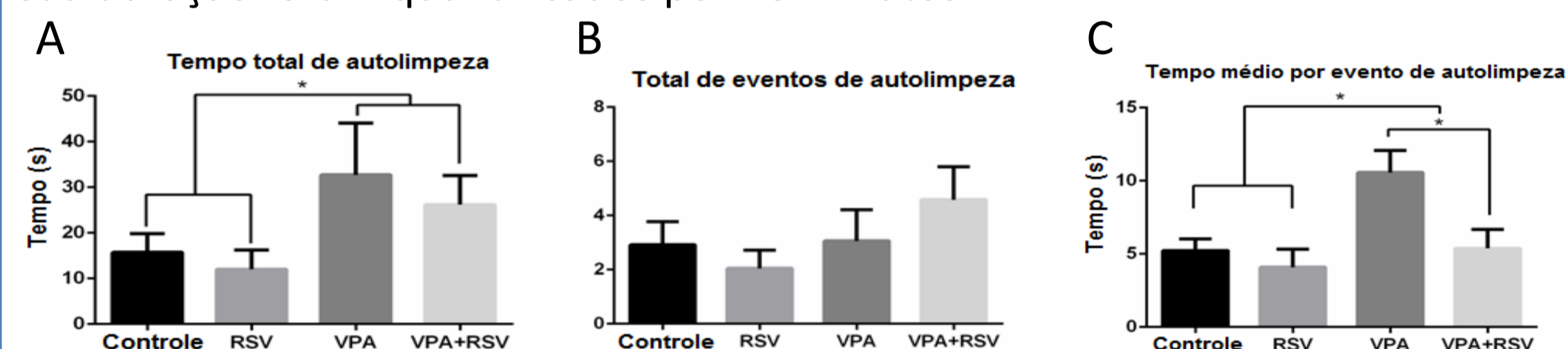


Figura 3: RSV previne a autolimpeza prolongada induzida por VPA. (A) Tempo de autolimpeza durante 10 minutos. (B) Eventos de autolimpeza. (C) Duração média de autolimpeza. * $p < 0,05$. (ANOVA de duas vias). $n_{\text{Controle}} = 8$, $n_{\text{RSV}} = 8$, $n_{\text{VPA}} = 8$ e $n_{\text{VPA+RSV}} = 8$ (em ninhadas).

Os grupo VPA apresentou um aumento no tempo total de autolimpeza ($p=0,05$), como também um aumento no tempo médio por evento de autolimpeza ($p=0,05$). No entanto, o tratamento pré-natal com RSV foi capaz de prevenir o tempo médio por evento de autolimpeza ($p=0,05$).

Três Câmaras: O teste foi realizado como descrito por Bambini-Junior *et al* [3]. Os animais foram ambientados com o aparato no dia P66 e testados no dia P67. O teste consiste em duas fases: fase 1 (sociabilidade) e fase 2 (preferência por novidade social).

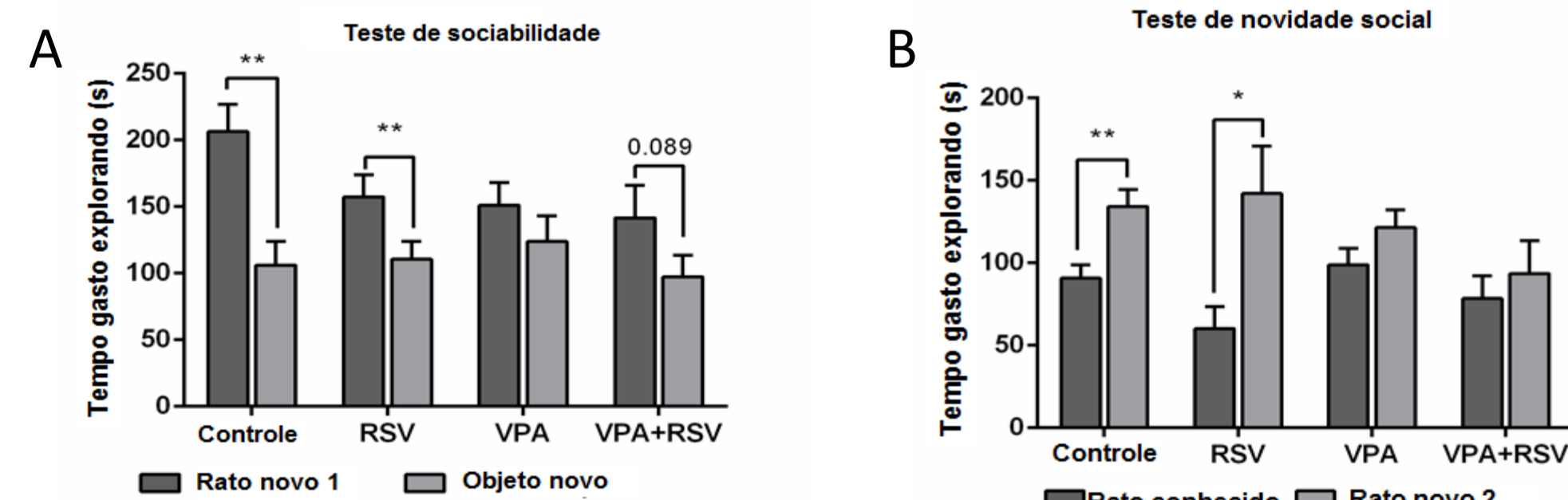


Figura 4: RSV pré-natal previne efeitos prejudiciais do VPA no comportamento social. (A) Tempo gasto explorando o rato novo 1 ou o objeto novo. (B) Tempo gasto explorando cada um dos ratos. * $p < 0,05$. ** $p < 0,01$. (GEE – equações de estimativas generalizadas). $n_{\text{Controle}} = 7$; $n_{\text{RSV}} = 8$, $n_{\text{VPA}} = 5$ e $n_{\text{VPA+RSV}} = 7$ (em ninhadas).

O tratamento pré-natal com RSV apresentou uma tendência em prevenir as alterações de sociabilidade observadas no grupo induzido pré-natalmente ao VPA ($p=0,089$).

Empatia: O protocolo foi baseado em Barta, I. B. et al [4]. Os animais foram testados do dia pós-natal P72-P83. Avaliou-se a voluntariedade dos ratos em abrir o aparato onde um com específico estava preso.

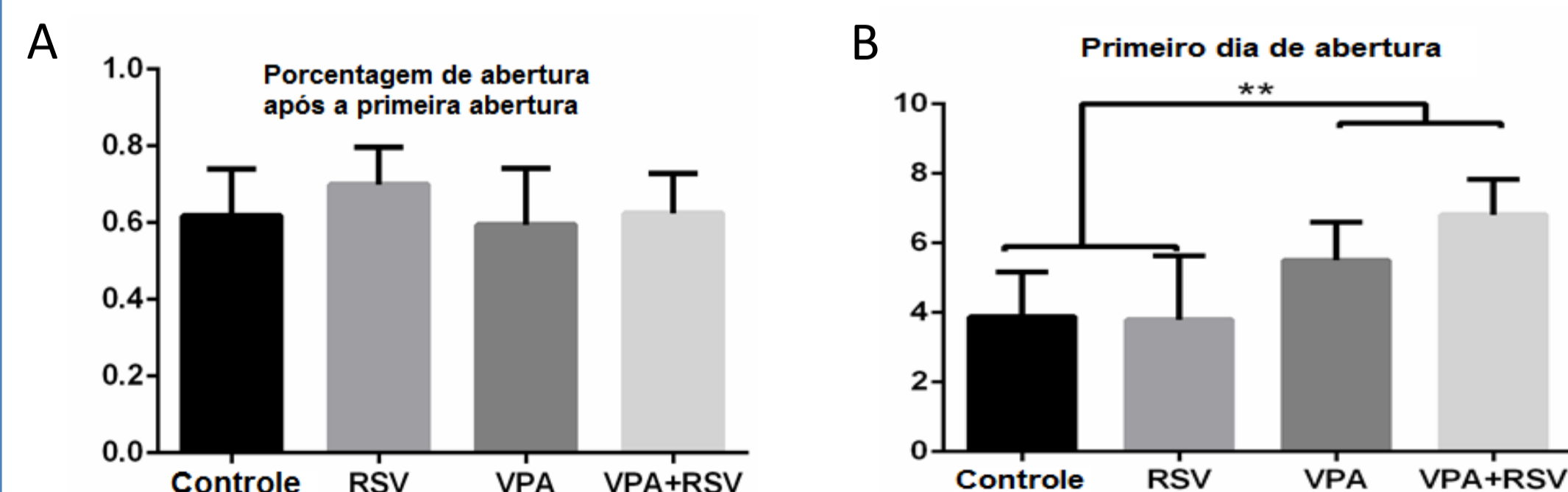


Figura 5: VPA tem menor efeito em comportamentos pró-sociais. (A) Animais tratados com VPA levam mais tempo para começar a abrir a porta do aparato. Entretanto, a maioria dos animais aprende como abri-la (dados não mostrados) e continua o fazendo após a primeira abertura (B). (ANOVA de duas vias). $n_{\text{Controle}} = 8$; $n_{\text{RSV}} = 6$; $n_{\text{VPA}} = 7$ e $n_{\text{VPA+RSV}} = 8$ (em ninhadas).

Os grupos que receberam o VPA apresentaram um atraso no primeiro dia de abertura do aparato da empatia em relação ao grupo Controle e RSV ($p=0,01$). No entanto, não foram observadas diferenças estatisticamente significativas na porcentagem de abertura após a primeira abertura.

CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

Conclui-se com este trabalho que o RSV preveniu importantes parâmetros comportamentais, incluindo prejuízos na sociabilidade, no interesse por novidade social e no tempo médio de autolimpeza. A partir desses dados inovadores, estudos posteriores serão realizados na busca de mecanismos moleculares e vias biológicas envolvidos nestes parâmetros, auxiliando na compreensão da fisiopatologia envolvida no TEA.

APOIO

REFERÊNCIAS