

Marília Körbes Rockenbach^{1,2}, Taylor Gonchoroski^{1,2}, Mellanie Fontes-Dutra^{1,2}, Cristina Eusébio Mendes⁴, Victorio Bambini-Junior^{1,3}, Patricia Castelucci⁴, Carmem Gottfried^{1,2}

¹ Estudo Translacional em Transtorno do Espectro Autista (GETTEA), ² Laboratório de Plasticidade Neuroglial, Departamento de Bioquímica, ICBS, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), ³ School of Pharmacy and Biomedical Sciences, Faculty of Clinical and Biomedical Sciences, University of Central Lancashire, ⁴ Universidade de São Paulo (USP), Departamento de Anatomia, Instituto de Ciências Biomédicas (ICB)

Introdução

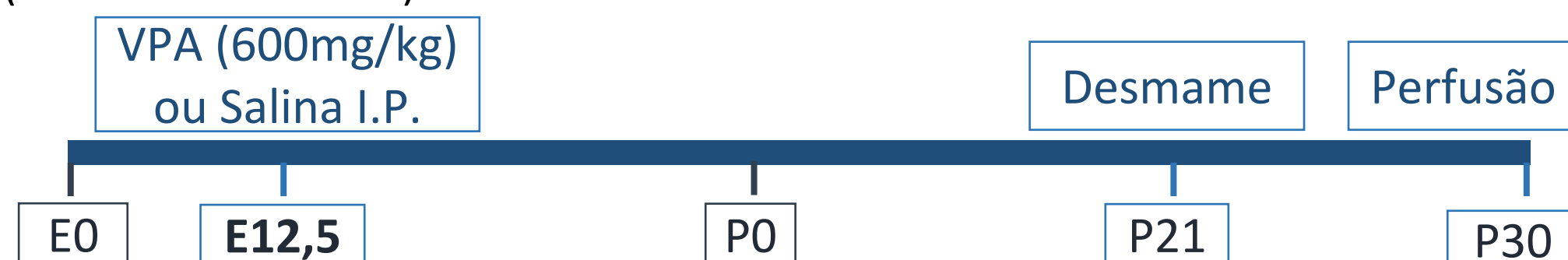
O Transtorno do Espectro Autista (TEA) é uma desordem no neurodesenvolvimento caracterizada por déficits na interação e comunicação social, bem como por comportamentos repetitivos e interesses restritos¹. Estudos têm mostrado a relação entre o sistema gastrointestinal e o TEA, devido à manifestação de patologias e/ou desordens intestinais no Autismo, como constipação crônica, refluxo gastroesofágico, doença celíaca e cólicas intestinais atribuídas ao desbalanço do Sistema Nervoso Entérico (SNE)^{2,3}. Embora a etiologia do TEA seja desconhecida, sabe-se que há componentes ambientais, como a exposição pré-natal ao ácido valproico (VPA) durante a gestação, e/ou alterações genéticas envolvidas⁴.

Objetivos

O presente estudo tem por objetivo avaliar alterações no sistema nervoso entérico (SNE) no modelo animal de autismo induzido por exposição pré-natal ao VPA. O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética (CEUA-HCPA 150256).

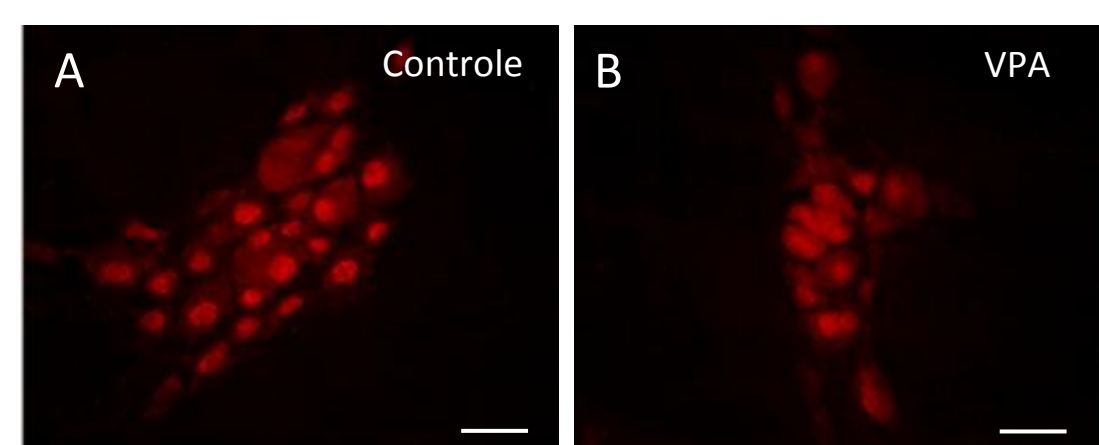
Métodos

Ratas Wistar prenhes receberam uma única dose por injeção intraperitoneal de 600mg/kg de VPA ou solução salina fisiológica (Controle) no dia embrionário 12,5 (E12,5). A prole de ratos machos de 30 dias foram eutanasiados por perfusão, e o íleo foi removido e delaminado. O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética (CEUA-HCPA 150256).



No plexo mioentérico ileal foram avaliados por imunofluorescência, neurônios totais (HuC/D⁺), neurônios excitatórios (ChAT⁺), neurônios inibitórios (NOS⁺) e células gliais (GFAP⁺). Todos os dados foram analisados aplicando ANOVA de uma via e p<0,05 foi considerado estatisticamente significativo.

Resultados e Discussão



O grupo VPA apresentou uma significativa redução na densidade neuronal no gânglio mioentérico ileal. (Controle: 22.75±1.315; VPA: 15.75±1.315).

Não houve diferença entre os grupos na área ganglionar (Controle: 10152±768.1; VPA: 8218±642.6).

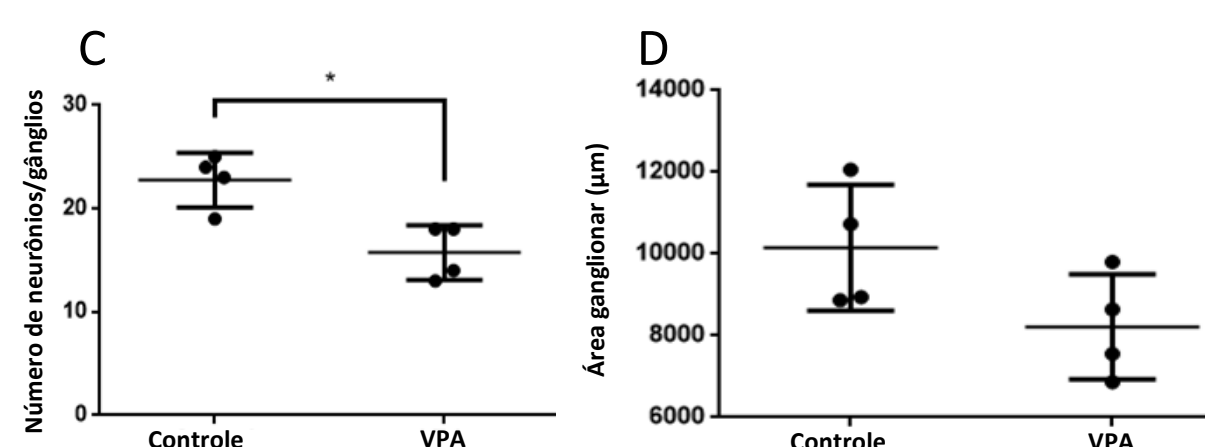
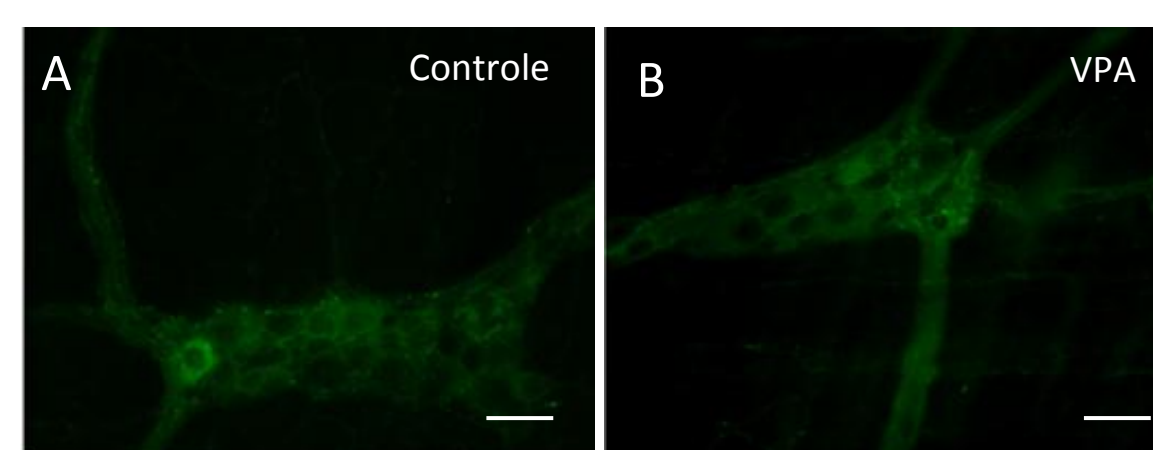


Figura 1: Análise dos neurônios mioentéricos totais por gânglio. Micrografias ilustrativas (A,B) para Neurônio/Gânglio (C) e área total ganglionar (D). * Indica diferença em relação ao grupo Controle, p<0,05.



Considerando os neurônios excitatórios, o grupo VPA apresentou menor densidade neuronal (Controle: 17243 ± 2070; VPA: 9592 ± 427.9), e aumento da área corporal neuronal (Controle: 343.3 ± 11.91; VPA: 404.2 ± 13.21).

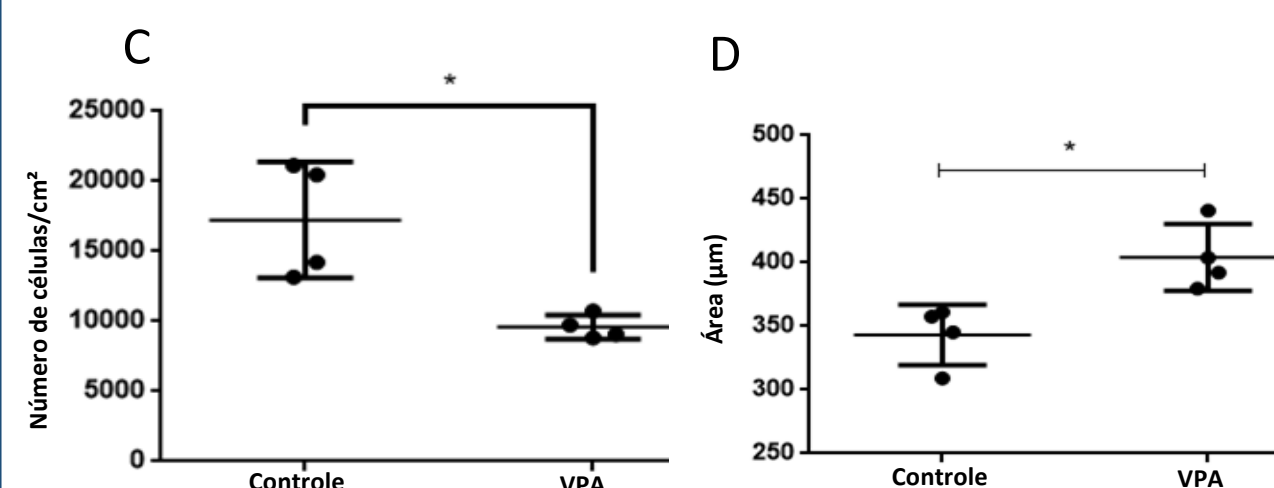
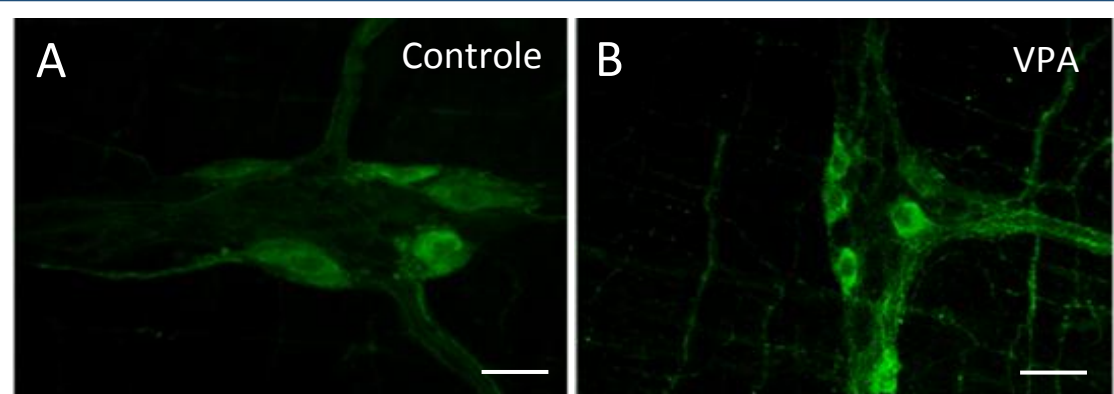


Figura 3: Análises dos neurônios mioentéricos colinérgicos por área ganglionar e por área neuronal (mm²). Imagens representativas de neurônios ChAT-positivos nos grupos Controle e VPA (A, B). Densidade neuronal (C) e Área corporal neuronal (D). * Indica diferença em relação ao grupo Controle, p<0,05.



Nós investigamos se as diferenças na densidade neuronal poderiam ser explicadas pela redução em um tipo específico de neurônios no grupo VPA. Avaliando os neurônios inibitórios, não houve diferença na densidade neuronal (Controle: 4961±753.3; VPA: 3099±125.5; p=0,08) e na área corporal neuronal (Controle: 324.9 ±17.94; VPA: 3699±24.98; p=0,19).

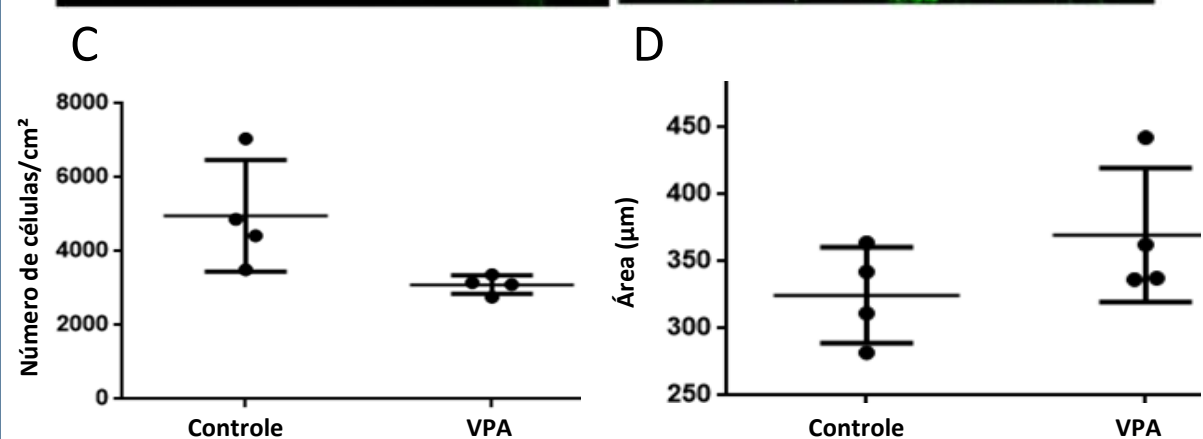


Figura 2: Análises dos neurônios mioentéricos nitrérgicos por área ganglionar e por área neuronal (mm²). Imagens representativas dos neurônios NOS-positivos nos grupos Controle e VPA (A, B). Densidade neuronal (C) e Área corporal neuronal (D).

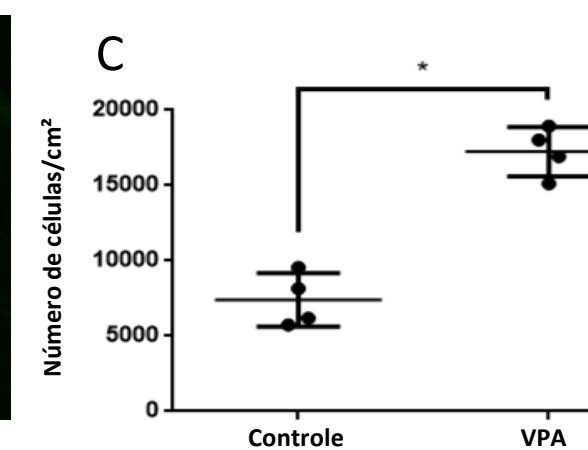
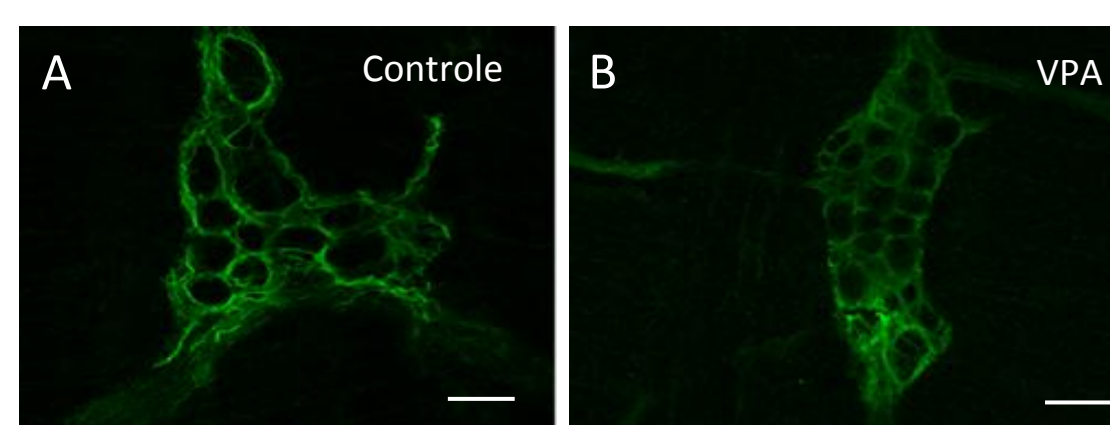


Figura 4: Análises das células gliais entéricas por área ganglionar (mm²). Imagens representativas de células GFAP-positivas nos grupos Controle e VPA (A, B). Densidade das células gliais (C). * Indica diferença em relação ao grupo Controle, p<0,001.

O número de células gliais aumentou 2,3 vezes no grupo VPA (Controle: 7408 ± 887.5 ; VPA: 17257± 820.5). Esse dado é muito interessante, pois as células gliais entéricas tornam-se um importante alvo de estudo nesse modelo, contribuindo para a compreensão da patofisiologia do TEA.

Conclusão

Este estudo é o primeiro a investigar alterações no sistema nervoso entérico no TEA. Nossos resultados mostraram importantes alterações neurônio-glia nos gânglios mioentéricos ileais, o que pode explicar os déficits na mobilidade gastrointestinal e abrir a possibilidade de compreender e tratar desordens gastrointestinais associadas ao Autismo por meio do SNE.

Agradecimentos:



Referências

- American Psychiatric Association, 2013
- Kim, J.-W. et al., 2013. Toxicol Res, 29(3), 173-9
- Horvath, K. et al., 2002. Curr Gastroent Rep, 4(3), 251-8
- Bambini-Junior, V, et al., 2014. Brain Res, 1408, 8-16