



Análises Morfológicas e Moleculares de Embriões de Galinha Expostos ao Vírus Zika

Sophia Martins Simon de Matos^{1*}; Lucas Rosa Fraga^{1,2,3}

¹Laboratório de Biologia Reprodutiva e do Desenvolvimento- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brasil; ²Departamento de Ciências Morfológicas- Instituto de Ciências da Saúde- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brasil, ³Serviço de Pesquisa Experimental- Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Brasil.

*sophism@gmail.com

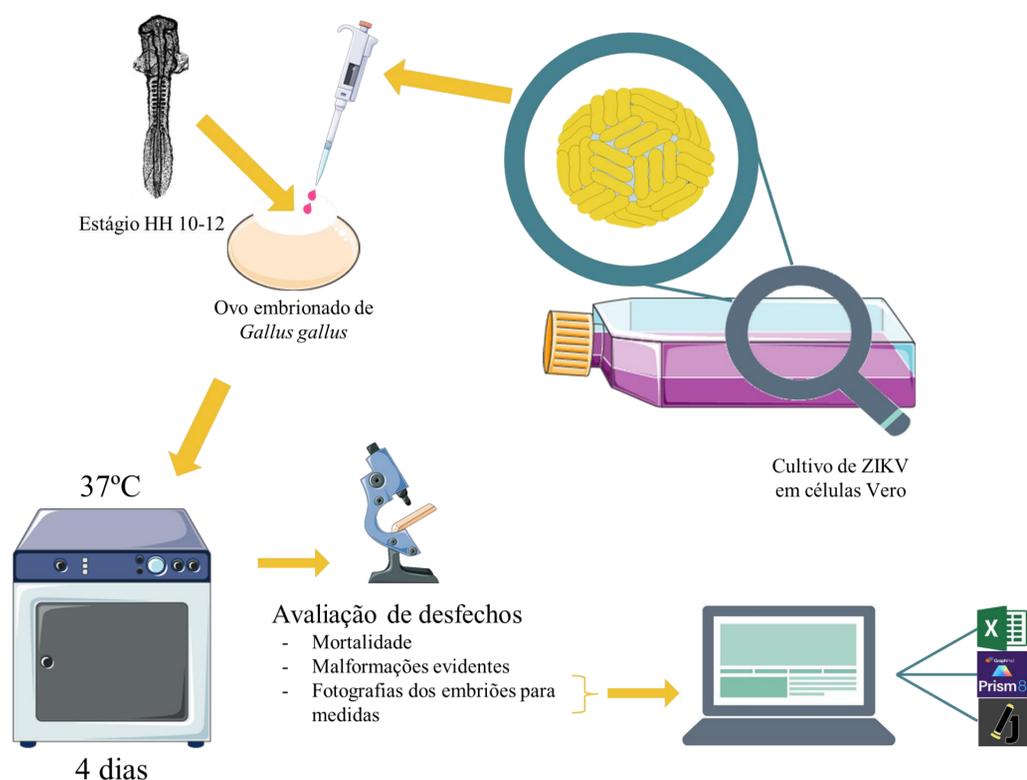
Introdução

O vírus Zika (ZIKV) tem sido foco de inúmeras pesquisas, que visam entender e elucidar seus mecanismos como patógeno humano e teratogênico, sendo o agente causador da Síndrome Congênita do ZIKV (SCZ). SCZ é caracterizada por um padrão de malformações que incluem microcefalia e problemas no desenvolvimento ocular que podem ou não ocorrer e crianças expostas ao vírus durante o período gestacional. Um modelo relevante para o estudo dos mecanismos causais da SCZ é o embrião de galinha (*Gallus gallus*). Apesar de pouco difundido, o uso desse modelo experimental é muito comum em estudos de teratogênese experimental e biologia do desenvolvimento, sendo muito vantajoso em diversos aspectos logísticos e financeiros, além de possuir grande similaridade molecular, celular e morfológica com embriões humanos.

Objetivos

Estabelecer um modelo animal de SCZ utilizando embriões de galinha como modelo experimental para investigação dos mecanismos de teratogênese do ZIKV.

Métodos



Resultados

Embriões expostos à titulação de 3×10^4 PFU de ZIKV apresentam fenótipo que mais se assemelha ao que é observado em pacientes, com características mais evidentes (redução no tamanho do encéfalo, anomalias de desenvolvimento do mesencéfalo, atraso no desenvolvimento, malformações faciais e cardíacas) e redução nas taxas de mortalidade (Figura 1).

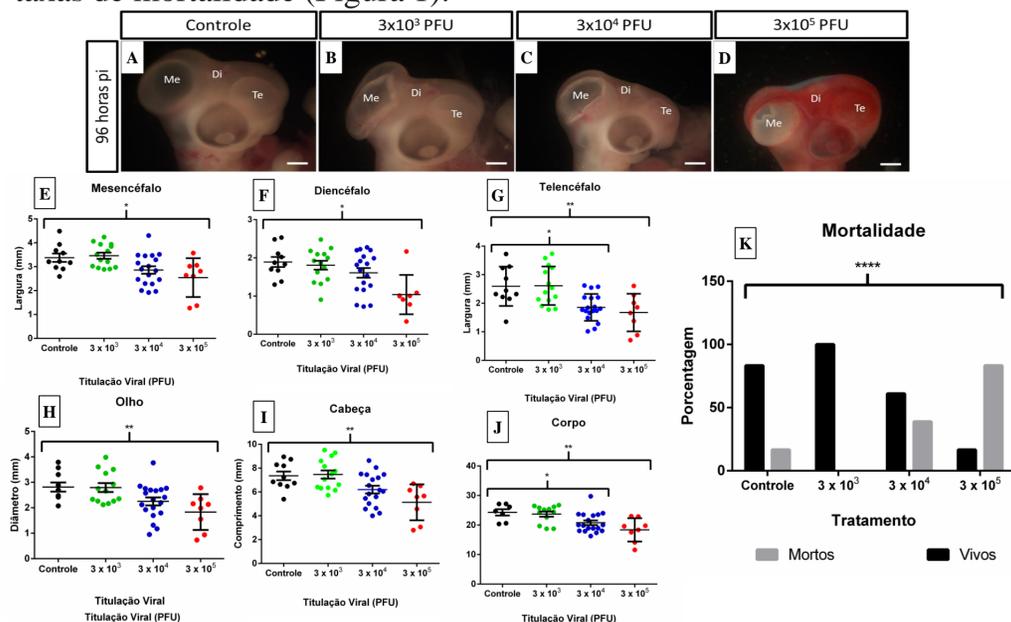


Figura 1: Diferentes fenótipos encontrados após a infecção de embriões de galinha com ZIKV. Embrião controle (A) e infectados por ZIKV a 3×10^3 PFU (B), 3×10^4 PFU (C), 3×10^5 PFU (D) a 96 horas pós inoculação, no estágio HH10-12. Embriões apresentaram uma diversidade de anomalias no desenvolvimento do sistema nervoso, incluindo redução de mesencéfalo ($p < 0,01$; E), diencéfalo ($p < 0,05$; F), telencéfalo ($p < 0,001$; G), olho ($p < 0,05$; H), cabeça ($p < 0,001$; I) e corpo ($p < 0,01$; J). Além de anomalias, altas cargas de vírus causaram aumento da mortalidade ($p < 0,0001$; K). * em E - J correspondem a valores de p a partir de testes post-hoc quando comparadas as diferentes titulações virais com os grupos controles.

Em relação ao acompanhamento dos embriões durante cinco dias, foi possível confirmar os fenótipos já observados e as análises (Figura 2) de qPCR indicam que o quarto dia após a infecção possivelmente é o pico de replicação viral, porém essa observação será confirmada em experimentos futuros.

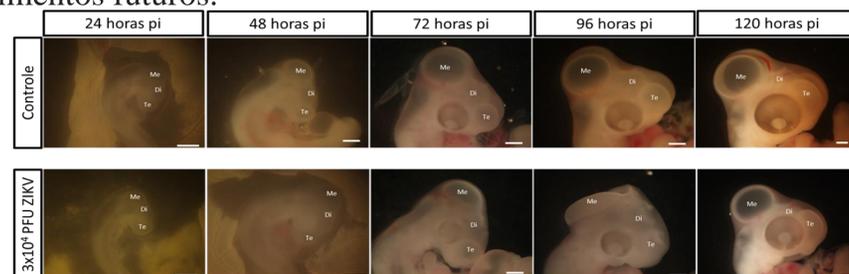


Figura 2. Embriões controle e infectados por ZIKV (3×10^4 PFU) em diferentes estágios de desenvolvimento. pi: pós inoculação, Me: mesencéfalo, Di: diencéfalo e Te: telencéfalo. Escala: 1mm

Conclusões e Perspectivas

Foi possível estabelecer um modelo experimental para SCZ usando embriões de galinha. Definimos a melhor carga viral (3×10^4 PFU) para avaliar as consequências fenotípicas do vírus e o melhor dia para fazer tal avaliação (quarto dia após inoculação).

Apoio Financeiro