

Efeito preventivo do resveratrol em déficits sensoriais de animais do modelo animal de autismo induzido por exposição pré-natal ao ácido valproico

Júlio Santos Terra Machado^{1,2}, Mellanie Fontes Dutra^{1,2}, Gustavo Della Flora^{1,2}, Mauro Mozael Hirsch^{1,2}, Walquiria Nunes^{1,2}, Gabriela Zanotto Staevie^{1,2}, Guilherme Bauer-Negrini^{1,2}, Gustavo Brum Schwingel^{1,2}, Rudimar dos Santos Riesgo^{1,3}, Victorio Bambini-Junior^{1,4}, Carmem Gottfried^{1,2}.

¹Grupo de Estudos Translacionais em Transtorno do Espectro do Autismo (GETTEA); ²Laboratório de Plasticidade Neuroglial, Departamento de Bioquímica, UFRGS, RS, Brasil; ³Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA); ⁴Laboratório 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 que, segundo o DSM-V, é caracterizada por prejuízos na comunicação e interação social, além de comportamentos repetitivos ou estereotipados. A etiologia do TEA ainda é desconhecida, porém alguns fatores ambientais, como a exposição pré-natal ao ácido valproico (VPA), contribuem para aumentar o risco do desenvolvimento do transtorno.

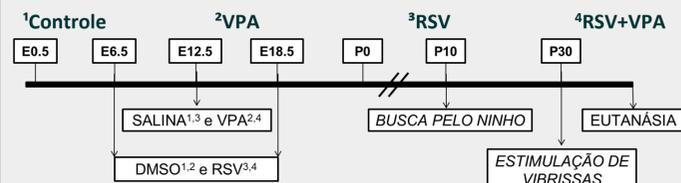
As alterações no processamento sensorial (hiper-responsividade a estímulos visuais e táteis e hiporresponsividade a estímulos nocivos), bem como prejuízos na integração sensorial, são também aspectos importantes do TEA, estando presentes em 90% dos indivíduos com este transtorno e em alguns modelos animais. Nesse contexto, a utilização do modelo animal de TEA induzido por exposição pré-natal ao VPA associada à administração de resveratrol (RSV) se destaca como ferramenta de avaliação das possíveis vias sensoriais alteradas e seus potenciais reflexos a nível comportamental.

Objetivos

Avaliar aspectos sensoriais no modelo animal de TEA induzido por exposição pré-natal ao VPA através de testes comportamentais e de análises moleculares de componentes sinápticos excitatórios e inibitórios na região da amígdala, buscando possíveis efeitos do RSV.

Metodologia

Ratas Wistar prenhes (verificação da prenhez considerado como dia embrionário E0) foram divididas aleatoriamente em quatro grupos experimentais, conforme os tratamentos recebidos:



Doses: VPA – 600mg/kg I.P. RSV 3,6mg/kg s.c.

→ Testes Comportamentais:



Busca pelo ninho (P10): os animais são colocados no centro da caixa e devem se locomover para a maravalha da caixa moradia ou para uma limpa. Tempo de teste: 60 segundos.



Estimulação de vibrissas (P30): com um palito, estimula-se as vibrissas dos animais machos e avalia-se a resposta a partir de escores padronizados. Tempo de teste: 3 trials de 5 minutos.

→ Análise Molecular:



Após a eutanásia, a região da amígdala foi isolada, RNA total foi extraído e a expressão gênica de componentes sinápticos foi analisada através da técnica de RT-qPCR utilizando primers específicos para sinaptofisina, PSD-95 e gefirina.

CEUA-HCPA 140432 e 140430.

Resultados

Em ambos testes comportamentais, busca pelo ninho e estimulação do vibrissas, os animais do grupo RSV + VPA (cujas mães receberam VPA durante a prenhez e que foram tratados com resveratrol) apresentaram prevenção do prejuízo sensorial em relação ao grupo VPA.

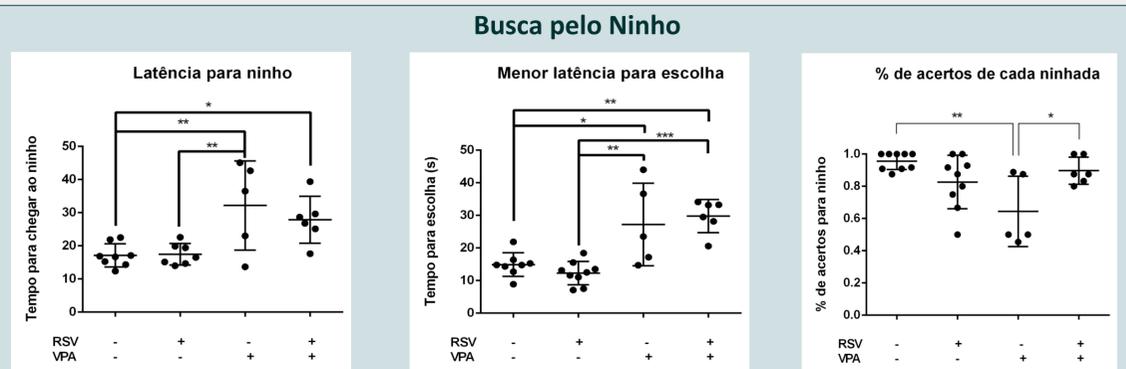


Figura 1: Latência para chegar à maravalha do ninho.

Figura 2: Latência para escolher qualquer maravalha.

Figura 3: Porcentagem de acertos (alcançar a maravalha do ninho).

n_{Controle}=9, n_{RSV}=9, n_{VPA}=5, n_{VPA+RSV}=6 (em ninhadas) *p<0.05, **p<0.01. (ANOVA de duas vias).

Estimulação de Vibrissas

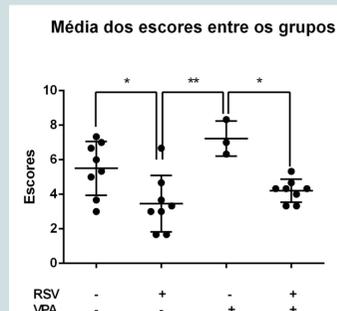


Figura 4: Média dos escores dos grupos no teste de estimulação de vibrissas.

n_{DMSO}=8, n_{RSV}=8, n_{VPA}=3, n_{VPA+RSV}=8 (em ninhadas). *p<0.05, **p<0.01. (ANOVA de duas vias)

Expressão Gênica

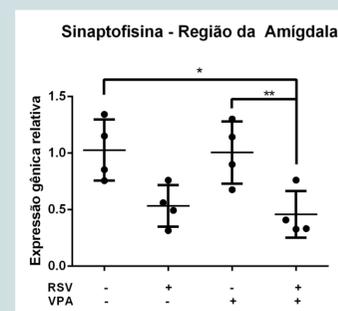


Figura 5: Expressão gênica relativa da proteína sináptica sinaptofisina.

n_{DMSO}=4, n_{RSV}=4, n_{VPA}=4, n_{VPA+RSV}=4 (em ninhadas) *p<0.05, **p<0.01. (ANOVA de duas vias).

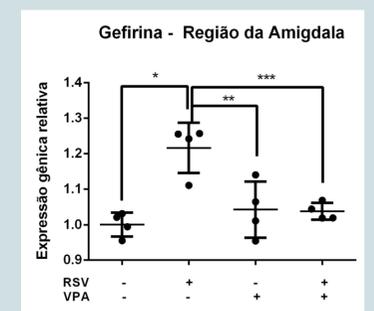


Figura 6: Expressão gênica relativa da proteína gefirina.

n_{DMSO}=4, n_{RSV}=4, n_{VPA}=4, n_{VPA+RSV}=4 (em ninhadas) *p<0.05, **p<0.01. (ANOVA de duas vias).

A expressão gênica relativa do componente sináptico excitatório (PSD-95) não apresentou diferenças significativas entre os grupos (dados não mostrados). Tanto a sinaptofisina quanto a gefirina apresentaram um padrão complexo de expressão entre os grupos analisados.

Discussão e Conclusões

→ Observou-se, nos testes comportamentais de busca pelo ninho e de estimulação de vibrissas, que o grupo VPA apresentou déficits em parâmetros relacionados ao processamento sensorial, e que o tratamento com RSV foi capaz de prevenir as alterações induzidas pelo VPA em alguns parâmetros sensoriais avaliados.

→ Não houve diferenças significativas entre os grupos para a expressão gênica de PSD-95) mas foi observado um aumento da expressão de gefirina no grupo RSV em relação aos demais grupos, bem como uma diminuição na expressão de sinaptofisina nos grupos RSV e RSV+VPA em relação ao grupo controle. No entanto, em nenhum dos casos houve diferenças significativas no grupo VPA em relação ao controle.

→ As alterações identificadas na amígdala destacam o papel importante dessa região no TEA, principalmente em relação ao processamento sensorial com conteúdo afetivo.

→ Mais estudos são necessários para elucidar melhor os dados de expressão gênica tais como análise de elementos reguladores e avaliação a nível proteico, bem como expandir as análises para outras regiões importantes sob o aspecto de processamento sensorial.

Apoios



Referências

- American Psychiatric Association. *Diagnostic and statistical manual of mental disorders (DSM-5)*. American Psychiatric Pub, 2013.
- Chang, Yi-Shin, et al. "Autism and sensory processing disorders: shared white matter disruption in sensory pathways but divergent connectivity in social-emotional pathways." *PLoS one* 9.7 (2014)
- Geschwind, Daniel H. "Advances in autism." *Annual review of medicine* 60 (2009): 367.
- Lin, Hui-Ching, et al. "The amygdala excitatory/inhibitory balance in a valproate-induced rat autism model." *PLoS One* 8.1 (2013): e55248.
- Bambini-Junior, Victorio, et al. "Resveratrol prevents social deficits in animal model of autism induced by valproic acid." *Neuroscience letters* 583 (2014): 176-181.
- Livak KJ, Schmittgen TD 2001. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2-delta-delta method. *Methods* 25, 402-408.