

ANÁLISE DE COMPORTAMENTO REPETITIVO E SOCIAL, PROTEÍNAS SINÁPTICAS E CITOCINAS EM CAMUNDONGOS BALB/C NUDE

Giovanna Carello-Collar^{1,2,3}, Guilherme Bauer-Negrini^{1,2,3}, Iohanna Deckmann^{1,2,3}, Gustavo Brum Schwingel^{1,2,3}, Mauro Mozael Hirsch^{1,2,3}, Mellanie Fontes-Dutra^{1,2,3}, Rudimar Riesgo^{1,4}, Victorio Bambini-Junior^{1,5}, Carmem Gottfried^{1,2,3}

¹Grupo de Estudos Translacionais do Transtorno do Espectro Autista (GETTEA), UFRGS. ²Departamento de Bioquímica, UFRGS. ³Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Neuroimunomodulação (INCT-NIM), Rio de Janeiro, Brasil. ⁴Unidade de Neuropediatria, Hospital de Clínicas de Porto Alegre. ⁵School of Pharmacology and Biomedical Sciences, University of Central Lancashire, Preston, United Kingdom.

INTRODUÇÃO

Camundongos BALB/c *nude* heterozigotos (+/-) para a mutação *nude* (*Foxn1^{nu}*) apresentam timo e pelos íntegros, enquanto que os homozigotos (-/-) têm ausência de pelos e disgenesia congênita do epitélio tímico, resultando em uma imunodeficiência primária de células T [1]. Componentes do sistema imune, em especial as células T, são fundamentais para o funcionamento cognitivo e comportamento social em animais [2].

OBJETIVOS

Investigar o impacto da imunodeficiência de células T em camundongos atímicos *nude* sobre comportamentos relevantes para o estudo de transtornos do neurodesenvolvimento, assim como parâmetros sinápticos de excitação/inibição e de citocinas moduladoras de tais comportamentos no córtex pré-frontal.

MATERIAIS E MÉTODOS

Camundongos machos, da mesma ninhada, foram separados em grupo controle (+/-) e grupo *nude* (-/-) e entre os dias pós natais 30 e 39 (P30-39), as análises comportamentais de estereotipias (comportamentos de autolimpeza e enterramento de bolinhas) e de sociabilidade (teste de três câmaras) foram realizadas. Após sobredose anestésica seguida de eutanásia (P40), foram analisadas a expressão das proteínas sinápticas PSD-95, gefirina, e sinaptofisina, por imunodeteção (*Western Blotting*) e as citocinas TNF- α e IFN- γ por RT-qPCR, no córtex pré-frontal. Projeto aprovado pelo CEUA-HCPA (n^o 16-0174).

RESULTADOS

Testes comportamentais

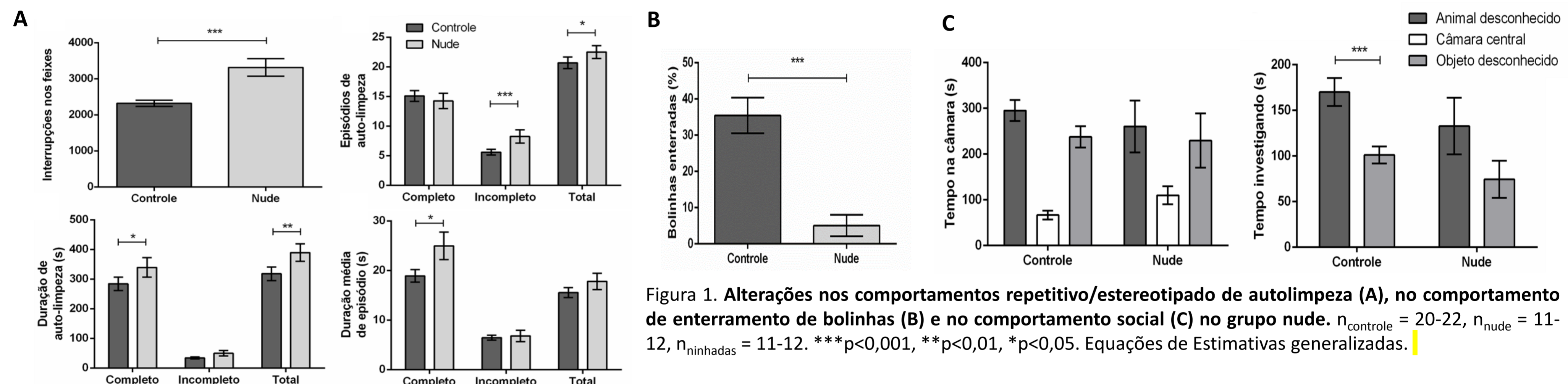


Figura 1. Alterações nos comportamentos repetitivo/estereotipado de autolimpeza (A), no comportamento de enterramento de bolinhas (B) e no comportamento social (C) no grupo *nude*. $n_{\text{controle}} = 20-22$, $n_{\text{nude}} = 11-12$, $n_{\text{ninhadas}} = 11-12$. *** $p < 0,001$, ** $p < 0,01$, * $p < 0,05$. Equações de Estimativas generalizadas.

Análises moleculares

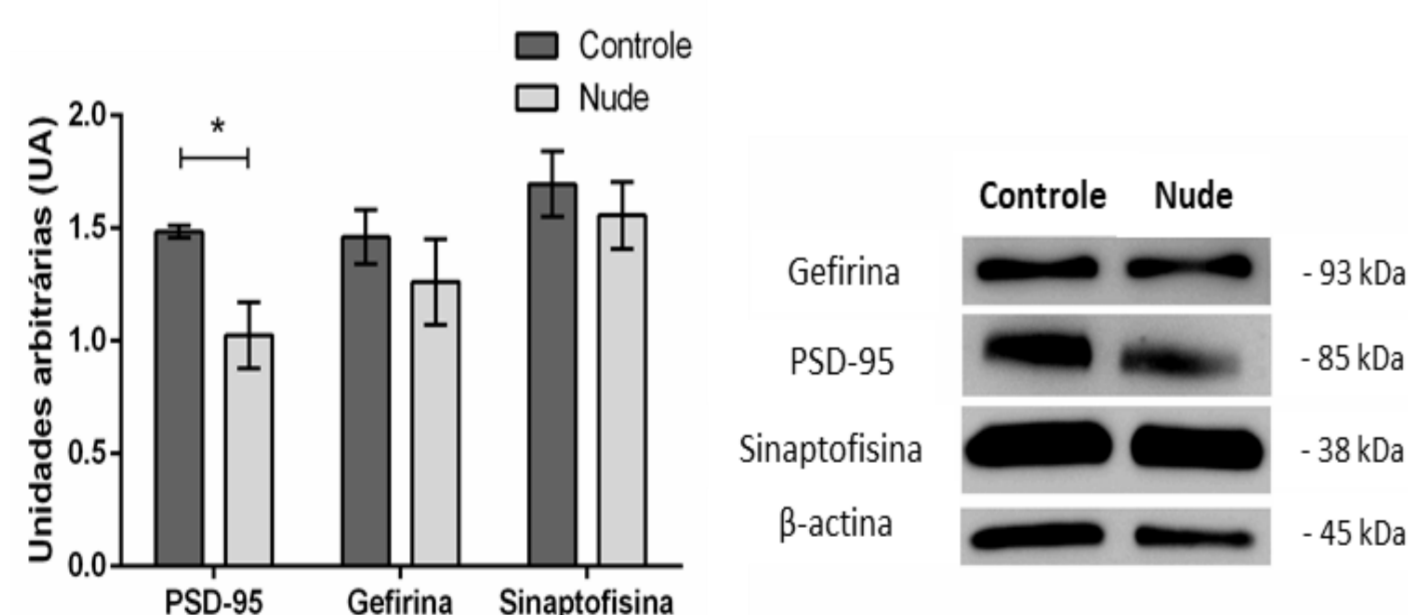


Figura 2. Imunoconteúdo de proteínas sinápticas. $n_{\text{controle}} = 6$, $n_{\text{nude}} = 6$, $n_{\text{ninhadas}} = 6$. * $p < 0,05$. Teste t de Student.

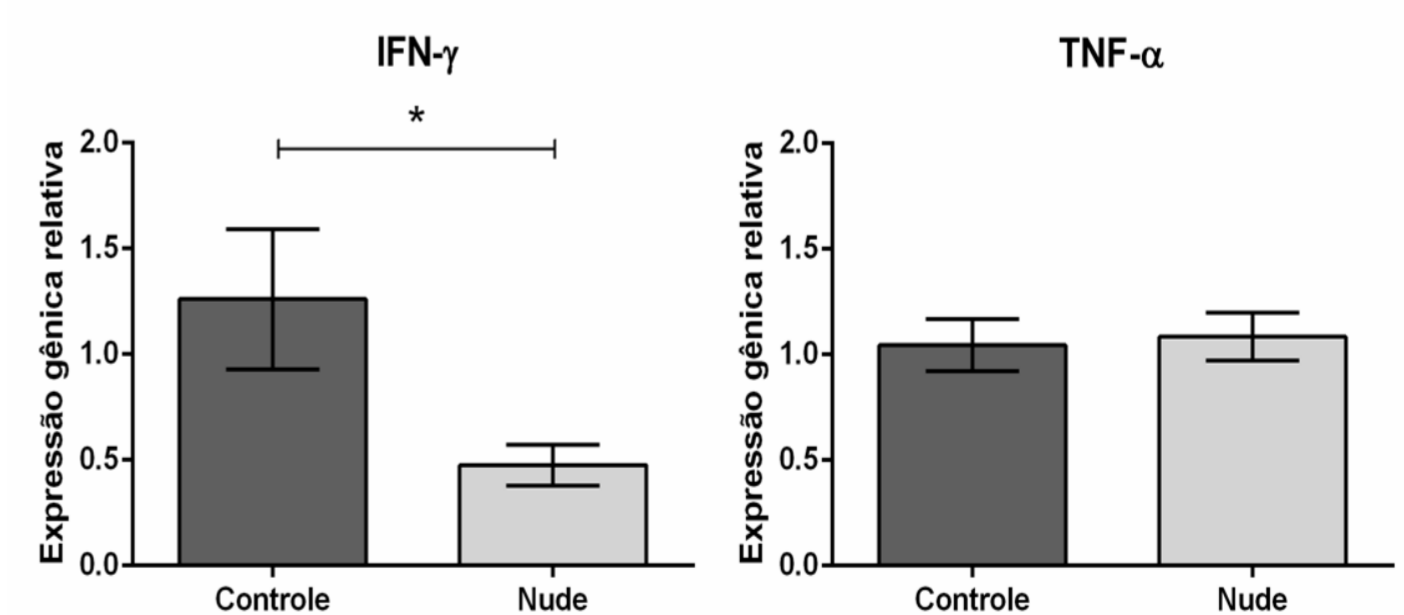


Figura 3. Expressão gênica relativa de IFN- γ e TNF- α . $n_{\text{controle}} = 7$, $n_{\text{nude}} = 8$, $n_{\text{ninhadas}} = 8$. * $p < 0,05$. Teste t de Student.

DISCUSSÃO

Apesar da presença de estereotipias observada no comportamento de autolimpeza [3], não podemos descartar que, devido à ausência de pelos, os animais *nude* possam apresentar um padrão de autolimpeza diferenciado. Os resultados do teste de três câmaras indicam prejuízos sociais nesses animais. O predomínio de excitação no córtex pré-frontal já foi demonstrado como fator causal de déficits na sociabilidade em animais [4]. Entretanto, a diminuição do imunoconteúdo de PSD-95 nos animais *nude* indica uma redução do componente excitatório, o que desafia a hipótese inicial de prejuízos sociais correlacionados com predomínio da excitação. Recentemente, foi demonstrado que a manutenção do comportamento social em animais ocorre pela secreção da citocina IFN- γ por células T presentes no compartimento meníngeo [5]. Em nosso estudo, evidenciamos que animais *nude*, os quais possuem imunodeficiência de células T, também apresentaram uma redução da expressão gênica de IFN- γ .

CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

Conclui-se com o presente estudo que alterações comportamentais e de um parâmetro sináptico e imunológico em camundongos BALB/c *nude* evidenciam o papel de alterações imunes modulando o comportamento, além do potencial desta linhagem para o estudo de interações neuroimunológicas. Análises adicionais a respeito da presença de células T nas meninges estão sendo realizadas.

REFERÊNCIAS

- [1] Romano et al., 2012. doi: 10.1155/2012/467101 [2] Louveau et al.; doi 10.1172/JCI90603.[3] Kalueff et al., 2007; doi: 10.1038/nprot.2007.367. Wöhr & Scattoni, 2013. doi: 10.1016/j.bbr.2013.05.047 [4] Yizhar et al., 2011. doi.org/10.1038/nature10360. [5] Filiano et al., 2016. doi: 10.1038/nature18626

AGRADECIMENTOS

