

## **Introdução**

A COVID-19 apresenta-se como uma doença multi-sistêmica em que manifestações neurológicas como o acidente vascular encefálico, casos de encefalite, condições neuropsiquiátricas e a síndrome de Guillain-Barré foram recentemente reportadas. O presente estudo tem como objetivo investigar alterações neuroquímicas e neurocomportamentais decorrentes da infecção pelo coronavírus murino (MHV-3).

## **Métodos**

Foram utilizados camundongos (WT) C57BL/6, machos e fêmeas, de 14 a 16 semanas de idade, fornecidos pelo Biotério central da UFMG, acondicionados em racks ventiladas, ambiente com temperatura e luz controlada (23°C e ciclo 12h/12h), acesso livre à água e ração, sob protocolo CEUA 253/2020. Para a infecção os animais foram anestesiados por via intraperitoneal (i.p) com uma solução contendo 80 mg/kg de cetamina e 15 mg/kg de xilazina. Após a anestesia, foi realizada inoculação intranasal (i.n) de 30 µL do inóculo viral contendo 10<sup>1</sup>, 10<sup>2</sup> ou 10<sup>3</sup> PFU/animal do MHV-3 ou apenas salina (grupo mock). Os animais foram acompanhados diariamente quanto a sinais de morbidade. Ao longo da infecção, as seguintes análises comportamentais foram realizadas: avaliação da atividade locomotora (teste de campo aberto) e comportamento tipo ansioso e compulsivo (labirinto em cruz elevada, Marble buried e labirinto em Y). No pico da infecção, os animais foram submetidos à eutanásia por sobredose de anestésico, para coleta de sangue pela punção da veia cava inferior, seguido de deslocamento cervical para a retirada dos tecidos de interesse. Os cérebros dos animais foram submetidos às seguintes análises imunohistopatológicas: H&E (lesão tecidual), marcação de micróglia (Iba-1), astrócitos (S100β) e apoptose (caspase-3 clivada). A dosagem de cálcio e glutamato foi realizada por meio da técnica de isolamento e purificação de sinaptossoma do córtex.

**Resultados** As análises de H&E indicaram que a infecção pelo MHV-3 induziu uma leve gliose no cérebro dos animais infectados em comparação ao grupo mock no quinto dia após infecção (5° dpi). As análises de imuno-histoquímica não demonstraram alterações significativas no número de micróglia e astrócitos, no entanto, uma aumentada marcação para caspase-3 foi observada. Os ensaios de sinaptossoma revelaram um aumento significativo da concentração de glutamato e cálcio nos terminais sinápticos do córtex dos animais infectados. Por fim, os testes comportamentais revelaram comprometimento motor pelo teste de campo aberto, visto que os animais infectados percorreram uma menor distância no 3° dpi em relação ao grupo mock. Ainda, o teste de Marble buried revelou

um comportamento tipo compulsivo nos animais infectados com o maior inóculo utilizado.

### **Conclusão**

Esses resultados demonstram que a infecção pelo coronavírus murino MHV-3 mimetiza algumas alterações neurocomportamentais condizentes com a infecção pelo SARSCoV-2 e que este modelo pode vir a ser utilizado como plataforma pré-clínica de teste de terapias e estudos de patogênese.