

## FENOTIPAGEM COMPORTAMENTAL DO CAMUNDONGO MUTANTE ESPONTÂNEO TREMOR

GARCIA GOMES, MARIANA DE SOUZA ARANHA<sup>1</sup>; MANES, MARIANNA<sup>1</sup>; BERNARDI, MARIA MARTHA<sup>2</sup>; MASSIRONI, SILVIA MARIA GOMES<sup>3</sup>; MORI, CLAUDIA MADALENA CABRERA<sup>1</sup>

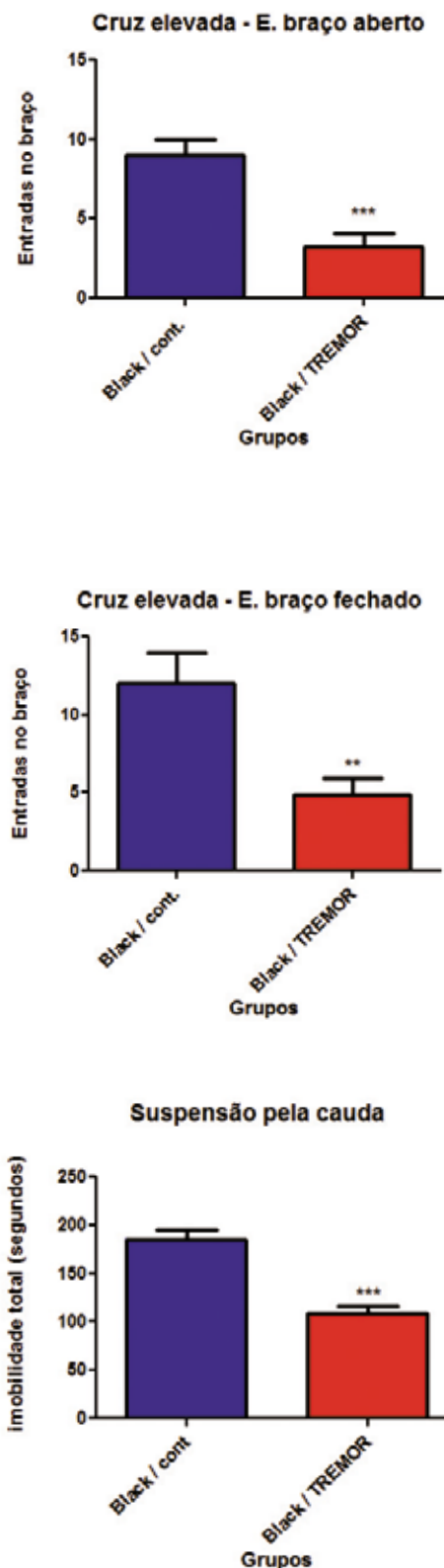
<sup>1</sup> Departamento de Patologia, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, SP, Brasil.

<sup>2</sup> Universidade Paulista - UNIP, São Paulo, SP, Brasil.

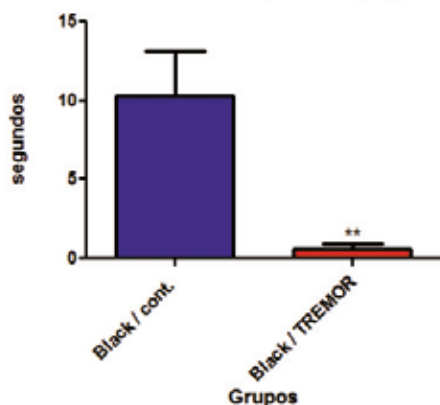
<sup>3</sup> Departamento de Imunologia, Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, SP, Brasil.

**Introdução e Objetivos:** A mutação espontânea tremor (tr), autossômica recessiva, foi inicialmente observada e identificada em camundongos Swiss no Biotério do Departamento de Patologia da FMVZ da Universidade de São Paulo, e por meio de retrocruzamentos foi transferida para a linhagem congênica C57BL/6 (N10). Os camundongos mutantes apresentam como principais características fenotípicas tremores, ataxia e convulsões tônicas audiogênicas. Essas alterações foram observadas logo que os animais foram desmamados – três semanas de vida – mas não foi realizada uma análise detalhada dos filhotes para saber com precisão quando essas alterações surgem. Um estudo anterior fez a análise histopatológica com coloração de Luxol Fast Blue, e a partir dela foi evidenciada a deficiência de mielina principalmente nas meninges e na camada molecular do cerebelo dos animais com essa mutação [1]. O mapeamento genético com marcadores microsatélites indicou que a mutação tremor encontra-se no cromossomo 14 na posição de 36,2 cM, provavelmente localizada no gene *Egr3*. Resultados dos testes realizados no campo aberto indicaram prejuízo de origem no sistema nervoso central, que mostravam déficit no desempenho motor dos mutantes. Nesses testes foram também detectadas alterações no seu sistema sensorial evidenciadas principalmente pela redução de respostas ao toque, reflexo corneal e aperto de cauda em relação às respostas do grupo controle [2, 3]. Visando à validação do modelo animal, a partir desses resultados iniciais, foram selecionados testes comportamentais mais específicos que auxiliaram na caracterização do fenótipo da mutação. **Material e Métodos:** Foram utilizados camundongos machos com oito semanas de idade, dos quais oito mutantes *tremor* e oito camundongos C57BL/6 para o grupo controle. A caracterização fenotípica dos camundongos mutantes abrangeu a avaliação geral do fenótipo baseando-se nos testes comportamentais: reconhecimento de objetos e labirinto em T, para verificar a memória e o aprendizado; labirinto em cruz elevada, para verificar a presença de ansiedade; trave elevada para avaliar a coordenação motora, e os testes de suspensão pela cauda e nado forçado para verificar a ocorrência de depressão. Todos os testes foram realizados no período da manhã, e em condições controladas para que não ocorressem alterações que pudessem gerar respostas falsas ou tendenciosas. A ordem de realização dos testes foi estabelecida a partir do grau de stress que o animal seria submetido, sendo que o primeiro foi o menos estressante, para que cada teste influenciasse o mínimo possível no resultado do subsequente. Foi respeitado o período de descanso de quatro dias entre o fim de um teste e o início do seguinte. Os procedimentos foram aprovados pela CEUA-FVMZ/USP sob protocolo 6463051114. **Resultados e Discussão:** Em relação aos camundongos C57BL/6 do grupo controle, nos mutantes foi observado um incremento significativo nos tremores. Também foi constatada a redução da coordenação motora, observada pelo resultado do teste da trave elevada; respostas negativas a ansiedade, que foram caracterizadas pelos resultados do teste no labirinto em cruz elevada; redução da memória e menor intensidade dos sinais de depressão, observados no teste de labirinto em T, e suspensão pela cauda e natação forçada, respectivamente (Figura 1). Os resultados indicam que o mutante tremor apresenta prejuízos de origem no sistema nervoso central, gerados possivelmente pela falta de mielina, o que afeta o desempenho

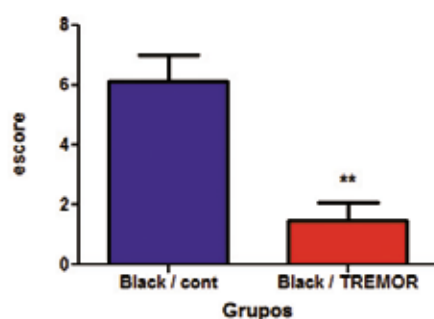
motor dos animais e pode levar à ocorrência das convulsões. Observou-se também que os camundongos mutantes apresentam déficit de memória e/ou aprendizado.



## Reconhecimento de objetos - 2 (segundos)



## Trave elevada



**Figura 1** - Testes comportamentais utilizados para verificar a presença de ansiedade, coordenação motora a presença de sinais de depressão e a memória TREMOR em camundongos C57BL/6.

**Conclusões:** Concluiu-se que a caracterização das alterações comportamentais observadas foi importante para descrição do fenótipo do camundongo mutante fornecendo informações que auxiliaram no mapeamento genético. Além disso, essas informações são valiosas para o entendimento do que essa mutação pode vir a representar como modelo de estudo de doenças neurodegenerativas.

## Referências

- [1] OLIVATO, M. C. M. et al. Caracterização morfológica e genética da mutação espontânea tr em camundongos causando tremores, ataxia e convulsões. In: CONGRESSO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE CIÊNCIA EM ANIMAIS DE LABORATÓRIO, 13., Porto Alegre, 2014. Anais... Porto Alegre: SBCAL, 2014.
- [2] GARCIA GOMES, M. S. A. et al. Caracterização fenotípica do camundongo mutante espontâneo tremor utilizando uma bateria de testes comportamentais. *Rev. Educ. Contin. Med. Vet. Zootec.* CRMV-SP, São Paulo, v. 13, n. 1, p. 69, 2015. Trabalho apresentado na XXIII Semana Científica Benjamin Eurico Malucelli, São Paulo, 2015.
- [3] GARCIA GOMES, M. S. A. Caracterização fenotípica do camundongo mutante espontâneo tremor utilizando uma bateria de testes comportamentais. 2014. 41 f. Monografia (Bacharelado em Ciências Biológicas) - Universidade Presbiteriana Mackenzie, São Paulo, 2014.

## APRESENTAÇÃO ORAL - CATEGORIA MESTRADO

## ESTRESSE DE CONVIVÊNCIA COM COMPANHEIROS DOENTES: DA ATIVAÇÃO DO SISTEMA NERVOSO SIMPÁTICO AO SISTEMA IMUNE

MARGATHO, R. O.1; CRUZ, D. G.1; SANDINI, T. M.1; CALEFI, A. S.1; BORSOI, A.1; ZAGER, A.1; MASSOCO, C.1; PALERMO-NETO, J.1  
1Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, SP, Brasil.

**Introdução:** O Sistema Nervoso Simpático (SNS) contribui para os efeitos relacionados ao estresse com a síntese de catecolaminas. Já foi demonstrado que a coabitação com parceiros da mesma espécie portadores da forma ascítica do tumor de Ehrlich (T.A.E), um estresse psicológico, provoca mudanças em parâmetros comportamentais e imunes nos animais companheiros: leucopenia, redução da atividade imune inata, aumento da atividade locomotora em campo aberto, diminuição nos níveis e aumento do turnover de noradrenalina no hipotálamo, diminuição do burst oxidativo e da atividade de neutrófilos colhidos no sangue periférico, aumento da resposta alérgica pulmonar e ausência de alterações nos níveis de corticosterona. É conhecido que os tumores produzem componentes orgânicos voláteis, que são liberados para a atmosfera pela urina, suor e respiração. Analisando-se esta vertente, foi sugerido que os odores liberados pelos camundongos injetados com o tumor seriam responsáveis pelas mudanças neuroimunes relatadas nos conspecíficos saudáveis e que os roedores teriam a sua fisiologia e homeostase modificadas por esta estimulação olfativa aversiva. Desta forma, dentro de uma perspectiva neuroimunológica, o presente trabalho avaliou o envolvimento do sistema nervoso autonômico simpático com os efeitos desencadeados pela convivência usando-se como instrumento farmacológico o propranolol. **Objetivos:** Estudar os efeitos do bloqueio de receptores beta-adrenérgicos sobre parâmetros da imunidade inata em um modelo de indução do estresse pela coabitação (11 dias) com parceiros inoculados com T.A.E.

**Métodos:** Código de aprovação no Comitê de ética da FMVZ-USP: 8317270114. Animais: foram utilizados camundongos da linhagem Swiss fêmeas com oito semanas e pesando por volta de 35 gramas. Formação dos grupos: No grupo controle, um par de camundongos por trio foi tratado intraperitonealmente (i.p) com salina; o outro animal foi mantido sem manipulação e denominado **CHP** *companion of health partners*. No grupo experimental, um par de camundongos por trio foi inoculado com  $5 \times 10^6$  células de tumor ascítico de Ehrlich (T.A.E) por via i.p.; o outro animal foi mantido sem manipulação e foi denominado de **CSP** *companion of sick partners*. O dia da injeção do tumor foi denominado EDo (dia experimental 0) e a convivência foi efetuada por 11 dias, entre ED6 a ED11 houve o tratamento ou não dos camundongos CHP e CSP. Desta forma em cada grupo os camundongos CHP ou CSP foram sub-divididos em outros grupos: CHP e CHP+P; CSP e CSP+P. Os camundongos dos grupos CSP e CHP foram injetados (i.p) diariamente com solução salina NaCl 0,9% (1mg/kg/dia); os camundongos CSP+P e CHP+P foram injetados (i.p) diariamente com propranolol (20 mg/kg/dia) ou ICI-118,551 (10 mg/kg/dia). No ED12, foram efetuadas as análises comportamentais ou as coletas de sangue para estudos. Fármacos: Propranolol - antagonista  $\beta$ -adrenérgico não seletivo diluído em solução de NaCl 0,9%; usado na dose 20 mg/kg/dia por via i.p.; ICI-118,551  $\beta$ 2-adrenérgico não seletivo diluído em solução de NaCl 0,9%; usado na dose 10 mg/kg/dia por via i.p.

**Coleta de Sangue:** a coleta de sangue foi realizada no ED12 de convivência e imediatamente após a decaptação em tubos de polipropileno contendo EDTA 10%.