

09 LPS PRÉ-NATAL COMO MODELO EXPERIMENTAL DE AUTISMO: ESTUDOS COMPORTAMENTAIS NA PROLE MASCULINA DE RATAS TRATADAS COM *ZINCUM METALLICUM*

PASTORELLO, D.; TEODOROV E.¹

¹ Programa de Pós-Graduação em Biotecnociência da Universidade Federal do ABC (UFABC).

E-mail: denise.pastorello@ufabc.edu.br

O sistema nervoso central (SNC) é susceptível a várias interferências genéticas e ambientais que podem resultar em danos a curto, médio e longo prazos, os últimos, muitas vezes, podem ser observados apenas na idade adulta (RIMKUS et al., 2014). As infecções pré-natais, como as causadas pela exposição pré-natal ao lipopolissacarídeo (LPS), induzem a mudanças de curta e longa duração no comportamento e na atividade do SNC, que podem ser observadas tanto em humanos quanto em animais (PENTEADO et al., 2014). Nesse cenário, medicamentos homeopáticos podem ser indicados para tratamento do autismo considerando-se etiologias como a possibilidade de, durante a gestação e a pré-concepção, ocorrerem sofrimentos psíquico e existencial materno que determinem alterações químicas e hormonais. Também podem ser indicados por conta de fatores como presença de doenças autoimunes, hipertensão, obesidade materna, infecção perinatal e uso de antibióticos (BOLOGNANI; FONSECA, 2016). Kirsten et al. (2015) demonstraram que, particularmente em relação à interação social, a administração de zinco alopático conseguiu reverter parcialmente a ocorrência de desordens comportamentais em proles masculinas cujas mães receberam LPS aos 9,5 dias da gestação. O zinco é um elemento importante para os mamíferos e é necessário para vários processos fisiológicos, como proliferação e diferenciação celular, crescimento, desenvolvimento e regulação da atividade enzimática. Nesse sentido, ainda não é conhecido se o quadro autístico pode ser revertido com a administração de zinco homeopático, que é indicado para o tratamento de sintomas neurológicos e comportamentais relacionados ao estresse, como lentidão de compreensão, problemas de memória, hipersensibilidade a ruídos, e fofobia (DEMARQUE et al., 2009; SERVADIO; VANDERSCHUREN; TREZZA, 2015). Foram utilizadas ratas Wistar com 90 e 110 dias de idade. Quando as ratas se encontravam nas fases de proestro e estro, foram colocadas com um rato (2/1) para acasalamento, sendo que a prenhez foi considerada quando da presença de espermatozoides no lavado vaginal. Foi administrado LPS (100µg/kg, Sigma-Aldrich®) S.C. na região dorsal das mães, aos 9,5 dias de gestação. Para o grupo controle, foi administrada solução salina em até 1ml/kg. Para metade dos grupos de mães tratadas com LPS, foram administradas, por via oral, cinco gotas de *Zincum metallicum* (potências 5cH e 30cH) ou solução hidroalcoólica a 10%, por cinco dias consecutivos. Aos 21 dias de idade, as avaliações comportamentais foram realizadas na prole masculina. A interação social foi avaliada em aparato adaptado e em duas etapas: na sessão treino, o animal foi introduzido no interior da câmara livre e permitiu-se a exploração de ambas as câmaras por cinco minutos. Decorridas 24 horas, foi realizada a sessão teste, sendo que na câmara contendo a gaiola, foi colocado um animal sem tratamento, e de mesmo sexo (intruso). Em seguida, foi introduzido o animal a ser avaliado, e os parâmetros mensurados por cinco minutos foram: tempo de permanência na câmara livre (%), tempo de permanência da câmara com animal intruso (%), número de cruzamentos entre as duas câmaras, tempo de interação com o animal

intruso (s) e tempo de imobilidade (s). Para avaliação da atividade locomotora em campo aberto, os animais passaram por habituação durante cinco minutos (treino), e após 24 horas, foram colocados no centro do aparato, e os parâmetros avaliados por cinco minutos foram: locomoção nas áreas periférica e central (unidades), levantar (unidade), tempo de imobilidade (s) e número de levantar. Para o teste de reconhecimento de objetos também foi utilizado o campo aberto, sendo que os animais foram submetidos a uma sessão treino, em que foram expostos a dois objetos idênticos A1 e A2 (Duplo Lego), sendo avaliado o tempo de exploração de cada objeto. Atingindo-se o tempo de exploração de cinco minutos (em ambos os objetos), o animal foi retirado do campo aberto. Após 24 horas da sessão treino, o objeto A2 foi trocado por outro objeto (B). Foi avaliado o tempo de exploração, por cinco minutos, de ambos os objetos, e foi calculado o índice de reconhecimento para cada animal. Para o teste de esquiwa discriminativa, foi utilizado o labirinto em cruz elevado (LCE). Neste modelo, o braço fechado foi considerado como aversivo, sendo acoplado a uma lâmpada de 100W. Para a sessão de treino, o animal foi colocado no centro do aparato com a cabeça voltada para o braço aberto, permanecendo por cinco minutos. Quando o animal acessava o braço fechado, a luz era acesa para que saísse do local. Após 24 horas da sessão de treino, o animal foi avaliado na sessão teste, colocado no centro do LCE durante cinco minutos, sem nenhum estímulo aversivo, e foi computada a porcentagem de entradas nos braços abertos e fechados, e o tempo de permanência nos dois braços. Os resultados foram analisados pela ANOVA seguida de Tukey, considerando-se $p < 0,05$. Os resultados do teste de interação social revelaram que animais cujas mães foram tratadas com LPS e solução hidroalcoólica a 10% ou *Zincum metallicum* 5cH permaneceram mais tempo na câmara livre, menos tempo na câmara com intruso, apresentaram maior número de cruzamentos entre as câmaras, diminuição no tempo de interação com o intruso e maior tempo de imobilidade. Em relação à atividade locomotora, houve redução deste parâmetro nas áreas central e periférica, aumento no tempo de imobilidade e diminuição no número de levantar. Em relação ao reconhecimento de objetos, houve redução tanto no tempo de investigação quanto no índice de reconhecimento de objetos. Em relação à esquiwa discriminativa, os animais apresentaram redução na porcentagem e no tempo de permanência no braço aberto, e aumento na porcentagem e no tempo de permanência no braço fechado. Nos animais que receberam *Zincum metallicum* 30cH, todos esses prejuízos foram revertidos, possivelmente devido ao metal interferir nos padrões inflamatórios provocados pelo LPS pré-natal, evitando assim, as alterações no SNC dos fetos em desenvolvimento. Conclui-se, portanto, que o tratamento com *Zincum metallicum* 30cH reverteu os prejuízos comportamentais do tipo autístico provocados pelo LPS pré-natal.

Referências

- BOLOGNANI, F.; FONSECA, G. Possibilidade de tratamento homeopático em autistas. **Ensaios e Diálogo**, Rio de Janeiro, v. 2, p. 67-69, 2016.
- DEMARQUE, D. et al. **Farmacologia e matéria médica homeopática**. São Paulo: Organon, 2009. 966 p.
- KIRSTEN, T. B. et al. Lipopolysaccharide exposure induces maternal hypozincemia, and prenatal zinc treatment prevents autistic-like behaviors and disturbances in the striatal dopaminergic and mTOR systems of offspring. **PLoS One**, San Francisco, v. 10, n. 7, p. 1-18, 2015.
- PENTEADO, S. H. W. et al. Prenatal lipopolysaccharide disrupts maternal behavior, reduces nest odor preference in pups, and induces anxiety:

studies of F1 and F2 generations. *European Journal of Pharmacology*, Amsterdam, v. 738, p. 342-351, 2014.

RIMKUS, C. M. et al. Toxic leukoencephalopathies, including drug, medication, environmental, and radiation-induced encephalopathic syndromes. *Seminars in ultrasound, CT, and MR*, Philadelphia, v. 35, n. 2, p. 97-117, 2014.

SERVADIO, M.; VANDERSCHUREN, L. J.; TREZZA, V. Modeling autism-relevant behavioral phenotypes in rats and mice: Do 'autistic' rodents exist? *Behavioural Pharmacology*, London, v. 26, n. 6, p. 522-540, 2015.

10 REDUÇÃO DA INCIDÊNCIA DA MIOPATIA DE ESFORÇO (SÍNDROME DA RABDOMIÓLISE POR ESFORÇO – SRE) EM EQUÍDEOS NA ROMARIA DE FRANCO DA ROCHA A APARECIDA COM O USO DE *RHUS TOXICODENDRON* 12CH: RELATO DE CASO

APARICIO, A. C. C.¹; CARVALHO, A. C.¹

¹ Hospital Veterinário da Universidade Paulista (UNIP).

E-mail: anaparcio@gmail.com

Equídeos de romaria têm tendência a desenvolver a síndrome da rabdomiólise por esforço (SRE), também conhecida por miopatia de esforço, uma vez que boa parte destes animais é levada a esforços excessivos sem receberem preparo físico adequado antes de longas caminhadas. A SRE é uma afecção muito importante no meio equestre, já que causa grandes prejuízos para o proprietário e, principalmente, para o animal, podendo levá-lo a óbito (REED; BAYLY, 2000). A SRE caracteriza-se por: esforço excessivo, desequilíbrio eletrolítico, desidratação e injúria muscular. Alguns animais podem apresentar os sintomas mesmo após pouca atividade, por isso, é importante correlacionar atividade física ao condicionamento e quando o quadro se manifestar, considerar o animal predisposto a outras ocorrências. Outros motivos, como musculaturas mais exigidas e mais afetadas, dieta rica em carboidratos, idade, sexo, exercícios irregulares, deficiência de vitamina E e selênio, e deficiência de cálcio, também são apontados (MELO et al., 2009; REED; BAYLY, 2000). Os principais sinais clínicos são: andar rígido; relutância a locomoção; sudorese intensa; taquicardia; taquipneia; dor muscular intensa, principalmente em músculos glúteos, bíceps femoral, semitendinoso, semimembranoso e epaxial; dor abdominal (em casos graves); mioglobinúria podendo causar a necrose tubular e comprometimento permanente dos rins (MELO et al., 2009; REED; BAYLY, 2000). A homeopatia utiliza medicamentos de origem vegetal, animal e mineral e, dentre

eles, o *Rhus toxicodendron*, uma planta venenosa que, quando em preparação homeopática (diluição e dinamização), atua diminuindo os sintomas das afecções musculares. As características patogênicas do *Rhus toxicodendron* incluem: melhorar com a locomoção; agravar com o descanso após exercícios intensos; e transpiração por todo o corpo (exceto na cabeça). Artrites, reumatismos com endurecimento doloroso, entorses, bursites e tendinites são algumas afecções tratadas por este medicamento (SANTOS et al., 2007; TYLER, 1999). Este trabalho relata o uso do *Rhus toxicodendron* em cinco equídeos com histórico de SRE anterior. Não foi realizado acompanhamento laboratorial, apenas exame físico dos animais e relato dos proprietários quanto ao desempenho e performance. Foram avaliados cinco equídeos com escore corporal bom, dos quais quatro eram equinos (dois da raça Manga-larga e dois mestiços), e um muar; idades entre nove a doze anos; três machos e duas fêmeas; em um trajeto de aproximadamente 300km, com uma média de caminhada de 40km por dia, totalizando sete dias de percurso, realizado no mês de novembro de 2010. O requisito básico para incluir os animais neste relato foi que tivessem apresentado, anteriormente, quadro compatível com SRE. O protocolo estabelecido foi executado com o medicamento *Rhus tox* 12CH, líquido, da seguinte forma: três dias antes da romaria foram administradas 10 gotas, na água de beber à disposição; durante o percurso, foram dadas 5 gotas, na região da mucosa labial, pela manhã (antes de sair para a cavalgada) e ao final da tarde (quando chegavam no próximo pouso) e, durante os três dias seguintes ao término do passeio, repetiu-se a administração inicial (10 gotas no cocho de água). Os animais passaram por exame físico em que foram avaliadas as frequências cardíaca (FC) e respiratória (FR), tempo de preenchimento capilar, mucosas, hidratação, motilidade, aspecto macroscópico da urina (quantidade, frequência de micções e coloração), pulso em artérias digitais, e temperatura de cascos (aumentam em casos de laminites). Todos apresentavam os parâmetros dentro da normalidade. Os exames físicos foram realizados: antes de serem iniciadas as medicações, três dias antes do início da romaria, denominado DIA 0; no primeiro dia de romaria, antes da saída dos animais e no final da tarde, quando chegaram no pouso, denominado DIA 3; no terceiro dia de romaria, antes de sair do pouso e no final do dia, denominado DIA 6; no último dia de romaria, antes de deixar o pouso e ao chegar em Aparecida, denominado DIA 10; e no último dia de medicação, três dias após o término do passeio, denominado DIA 13. Os animais não desenvolveram quadro físico compatível com miopatia de esforço, comparativamente a eventos anteriores (todos já haviam apresentado pelo menos um episódio de SRE, mesmo em trajetos mais curtos).

Tabela 1 – Comparativo entre as manifestações físicas de equídeos em eventos anteriores e na romaria de Franco da Rocha a Aparecida do Norte, estado de São Paulo, Brasil, com duração de sete dias, em novembro de 2010, quando foram acompanhados com medicamento *Rhus tox* 12CH.

ANIMAIS	Quantidade de episódios anteriores	Manifestações físicas anteriores	Manifestações físicas atuais
Manga-larga 1	2	Ataxia, urina escura, sudorese intensa.	Sem alterações dignas de nota
Manga-larga 2	1	Ataxia, taquipneia e relutância a locomoção.	Sem alterações dignas de nota
Mestiço 1	2	Ataxia, hiporexia, sudorese intensa, urina escura.*	Sem alterações dignas de nota
Mestiço 2	1	Ataxia, decúbito, sudorese intensa e taquipneia.	Sem alterações dignas de nota
Muar	1	Ataxia, agitação, sudorese intensa, taquipneia e dor a palpação muscular.	Sem alterações dignas de nota
Muar	1	Ataxia, agitação, sudorese intensa, taquipneia e dor a palpação muscular.	Sem alterações dignas de nota

*Em uma das cavalgadas anteriores, não completou o percurso devido a dor muscular intensa e ataxia.

Fonte: Elaborado pelos autores.