

Referências

- CARVALHO, A. C. **Atividade anti-neoplásica de *Viscum Album* (L) em tumores experimentais**: revisão crítica e estudo experimental em tumor de Ehrlich. 2015. 69 f. Tese (Doutorado em Patologia Ambiental e Experimental) – Universidade Paulista, São Paulo, 2015.
- CARVALHO, A. C.; BONAMIM, L.; PORTO, E. Canine neurofibrosarcoma treatment with *Viscum album* in serial dilutions. In: GIRI SYMPOSIUM, 27, Bern, 2013. **Proceedings...** Bern: GIRI, 2013. p. 106.
- CULLEN, J. M.; POPP, J. A. Tumors of the liver and gall bladder. In: MEUTEN, D. J. (Ed.). **Tumors in domestic animals**. 4. ed. Hoboken: Wiley, 2002. p. 483-508.
- FLORES, M. M. et al. Prevalência e achados epidemiológicos, anatomopatológicos e imuno-histoquímicos dos tumores hepáticos malignos, primários de cães da região central do Rio Grande do Sul (1965-2012). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 33, n. 4, p. 497-511, abr. 2013.
- KUTTAN, G.; KUTTAN, R. Immunological mechanism of action of the tumour reducing peptide from mistletoe extract (Nsc 635089) cellular proliferation. **Cancer Letters**, Amsterdam, v. 66, n. 2, p. 123-130, 1992.
- TRIGO, F. J. et al. The pathology of liver tumours in the dog. **Journal of Comparative Pathology**, Amsterdam, v. 92, n. 1, p. 21-39, 1982.

18 AVALIAÇÃO NEUROCOMPORTAMENTAL DE DANIO RERIO INTOXICADOS POR ARSENIATO DE SÓDIO E TRATADOS COM *ARSENICUM ALBUM* ULTRADILUÍDO

CHAULET, V. R. L.¹; CAPPELLI, K. L. T.¹; FEITOSA, C. B.¹; SANTOS, C. M.¹; SANTOS, R. A.¹; VIEIRA, H. C.¹; COELHO, C. P.¹

¹ Universidade Santo Amaro (Unisa).

E-mail: cpcoelho@prof.unisa.br

Vários estudos indicam que o *zebrafish* representa um modelo experimental útil e de fácil execução. A poluição ambiental causada por resíduos de metais pesados é muito relevante devido ao amplo uso desses metais em processos industriais e agrícolas, fazendo muitos efluentes chegarem ao meio ambiente sem qualquer tipo de tratamento. O arsênio altera parâmetros comportamentais e funções das ectonucleotidases cerebrais no *zebrafish* (BALDISSARELLI et al., 2012). A exposição crônica a arsênio tem sido associada a sérios riscos à saúde humana. Este trabalho estudou as alterações comportamentais induzidas pelo arsênio no *zebrafish* (*Danio rerio*), por meio da análise da atividade locomotora e de parâmetros relacionados à ansiedade, para verificar se substâncias ultradiluídas seriam capazes de atenuar os efeitos neurocomportamentais e diminuir os efeitos tóxicos causados nos peixes. Peixes *zebrafish* foram mantidos em aquários de manutenção, com temperatura e pH controlados, até o momento do experimento toxicológico. Os animais foram expostos por 96h ao composto arseniato de sódio (Na₂HAsO₄) na concentração de 5 mg/L de água dos aquários (BALDISSARELLI et al., 2012). Cada grupo foi constituído por oito animais, que receberam: a) *Arsenicum album* 6cH; b) *Arsenicum album* 30cH; e c) solução aquosa inerte (controle positivo). Os medicamentos foram preparados em água destilada, segundo a Farmacopeia Homeopática Brasileira, e o experimento foi realizado em cego. O controle branco (controle negativo) não recebeu arsênico nem medicamentos. Todos os tratamentos homeopáticos foram instituídos cinco dias antes do término do experimento (portanto, os animais já

estavam expostos à medicação inserida na água do aquário no dia que antecedeu a exposição). Posteriormente, os animais passaram por testes comportamentais (locomoção e ansiedade) para avaliação de neurotoxicidade. Todos os animais passaram pelas etapas: 1) avaliação dos sinais de neurotoxicidade, em que foram observados: tempo e frequência de subidas à superfície, e presença de movimentos erráticos; 2) teste de atividade geral em campo aberto, sendo observados: tempo (em segundos) de locomoção e imobilidade; e 3) teste de ansiedade claro/escuro, sendo observados: número de vezes que o animal cruzou o compartimento claro para o escuro, o tempo que o peixe permaneceu em cada lado, o número de tentativas de entrar em cada compartimento e o tempo de imobilidade no claro. Os dados obtidos foram analisados estatisticamente por ANOVA, seguido pelo teste de Bartlett e teste de Tukey, sendo $p \leq 0,05$ (ZAR, 2010). No grupo controle positivo, não medicado, e exposto ao metal arseniato de sódio, os animais apresentaram um efeito ansiogênico, caracterizado por: no teste claro/escuro, aumento do tempo (segundos) dos animais do lado escuro (245,3±61,82) em relação ao controle (101,1±62,3), e consequente diminuição no lado claro (54,3±36,3) em relação ao controle (198,9±62,3), houve também diminuição na locomoção (quadrantes) no claro (96,2±63,7) em relação ao controle (201,8±89,2). No campo aberto, houve diminuição do número total de quadrantes percorridos (346,2±41,33) em relação ao controle (520,5±131,6), e também aumento no escore de movimentos erráticos (3,5±0,7) em relação ao controle (1,7±0,9), comprovando o efeito tóxico do metal pesado sobre os animais. O grupo que foi medicado com o *Arsenicum album* 30cH, apresentou diminuição dos movimentos erráticos (0,66±1,0) em relação aos animais intoxicados, aproximando-se dos valores do grupo controle. O grupo que tomou *Arsenicum album* 6cH reverteu todos os parâmetros do controle positivo (solução aquosa) de forma estatisticamente significativa, mantendo os valores de tempo do lado escuro, tempo de lado claro, locomoção do lado claro (respectivamente: 161,6±63,7; 138,4±96,3; 121,0±49,8) próximos dos animais controle. O *Arsenicum* 6cH também aumentou o número de quadrantes totais no campo aberto (525,0±142,3) e diminuiu o número de movimentos erráticos (2,5±1,1), demonstrando possuir capacidade ansiolítica. O tempo no lado claro para os animais tratados com *Arsenicum album* 6cH, em relação ao grupo controle foi semelhante, e o mesmo ocorreu em relação ao tempo no lado escuro. Peixes tratados com ansiolíticos tendem a permanecer mais tempo do lado claro, o que revela uma diminuição da ansiedade. Em relação à locomoção no claro, houve maior semelhança entre o grupo controle e os peixes tratados com *Arsenicum album* 6cH, e no deslocamento do CA, no que diz respeito aos quadrantes totais de deslocamento do peixe, o que condiz com dados de literatura que relatam aumento na atividade locomotora conforme ocorre diminuição da ansiedade. A locomoção, ou atividade natatória, também é utilizada como índice de ansiedade e a supressão dessa atividade é indicativa de ansiedade (BLASER; CHADWICK; MCGINNIS, 2009). Reações de alarme (resposta endócrina) ocorrem a partir do primeiro contato com o estímulo aversivo ou com um ambiente novo, e evocam características comportamentais que podem ser observadas e quantificadas em laboratório, como: fuga do predador, locomoção aumentada; movimentos erráticos; permanência no fundo do aquário (GEBAUER, 2010). Em relação aos movimentos erráticos, o comportamento diminuiu tanto para os animais tratados com *Arsenicum* na potência 6cH quanto para os tratados com a potência 30cH, quando comparados ao controle positivo. Este resultado é importante quando se considera a poluição ambiental atual por metais pesados e as intoxicações em humanos e

animais, sugerindo que a isopatia pode ser um possível recurso para a promoção do equilíbrio faunístico em locais contaminados com metais pesados. Os animais intoxicados com arseniato de sódio apresentaram aumento da ansiedade e o quadro foi revertido pelo tratamento com *Arsenicum album* inserido na água. A potência 6cH foi mais efetiva na reversão do quadro criado.

Referências

BALDISSARELLI, L. A. et al. Arsenic alters behavioral parameters and brain ectonucleotidases activities in zebrafish (*Danio rerio*). **Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology**, Amsterdam, v. 155, n. 4, p. 566-572, 2012.

BLASER, R. E.; CHADWICK, L.; MCGINNIS, G. C. Behavioral measures of anxiety in zebrafish (*Danio rerio*). **Behavioural Brain Research**, Amsterdam, v. 208, n. 1, p. 56-62, mar. 2010.

GEBAUER, D. L. P. **Avaliação de padrões comportamentais induzidos por ansiolíticos em Zebrafish (*Danio rerio*)**. 2010. 52 p. Dissertação (Mestrado em Biologia Celular e Molecular) – Faculdade de Biociências, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2010.

ZAR, J. H. **Biostatistical analysis**. 5. ed. Upper Saddle River: Prentice Hall, 2010. 944 p.

19 A HOMEOPATIA APLICADA NA SENESCÊNCIA/SENILIDADE: MODELO EXPERIMENTAL

ARRIFANO, V.¹; MOTTA, L. C. A. S.¹; BERNARDI, M. M.¹; DUTRA-CORREA, M.¹; PERES, G. B.¹; COELHO, C. P.¹

¹ Universidade Santo Amaro (Unisa).

E-mail: cpcoelho@prof.unisa.br

Vários estudos, comparativos e experimentais, têm mostrado que sujeitos idosos apresentam desempenho significativamente prejudicado em diferentes tipos de tarefas cognitivas (SILVA, 2007). Sendo assim, é de extrema importância o estudo de medicamentos que possam melhorar o envelhecer de seres humanos e animais. Foram utilizados 32 ratos Wistar, machos, com 22 a 23 meses de idade, provenientes do Biotério da Universidade Santo Amaro. Todos os machos foram alojados em gaiolas com acesso *ad libitum* a alimento e água, com ciclo de luz controlado 12:12 horas (7h/19h). Os medicamentos foram preparados segundo a Farmacopeia Homeopática Brasileira. Os animais foram distribuídos aleatoriamente em quatro grupos experimentais (quatro/gaiola), sendo oito animais por grupo, e os seguintes medicamentos foram ministrados na água de bebida *ad libitum* (5 gotas/bebedor): *Calcarea carbonica* 30cH; *Baryta muriática* 30cH; e solução hidroalcoólica 10%. O grupo controle branco não recebeu medicação. O experimento foi realizado em cego, e os medicamentos utilizados, em código, somente revelados após a realização da análise estatística. Os animais foram pesados semanalmente e passaram por teste em campo aberto (CA) no dia um do experimento. Após 40 dias de tratamento, os animais passaram por testes comportamentais como CA e labirinto em “T”. Os dados foram analisados estatisticamente por ANOVA, seguido pelo teste de Bartlett e teste de comparação múltipla de Bonferroni, sendo $p \leq 0,05$ (ZAR, 2010). Posteriormente, os animais foram submetidos a eutanásia por anestesia geral com Xilazina+Ketamina (IP) – uma das formas recomendadas pelo Conceia. Na necropsia, foi retirado o fêmur de cada animal. Após a retirada do fêmur, as amostras coletadas foram expostas a uma máquina de raio-X portátil (Nomad® Aribex, EUA) e a densidade óptica foi determinada por números em uma

escala de cinza 8 bits (0-255), sendo medida pelo programa Digora para Windows® (Soredex, Finlândia), em 13 pontos normalizados em três áreas do fêmur, por dois observadores independentes. Quanto aos pré-requisitos do teste, a existência de *outliers* foi avaliada pela análise gráfica de *box-plots*, a normalidade foi avaliada pelo teste de Shapiro-Wilk, e a homogeneidade das variâncias foi avaliada pelo teste de Levene. A distribuição dos dados por grupo foi normal ($p > 0,05$) e a homogeneidade das variâncias foi respeitada ($p > 0,05$). No início do experimento não houve diferença estatística entre os grupos no CA, demonstrando uniformidade entre os animais. Após o tratamento, ao passar novamente pelo CA, os animais apresentaram aumento dos quadrantes andados ($p \leq 0,05$) na locomoção total e diminuição do *freezing* nos grupos que tomaram *Calcarea carbonica* e *Baryta muriática* ($p \leq 0,05$), em comparação com os grupos controle branco e solução hidroalcoólica, demonstrando melhor locomoção dos idosos medicados. Sabe-se que o envelhecimento acelera os processos neurodegenerativos levando a disfunções cognitivas, assim, no teste do labirinto em “T”, foi observado maior número de acertos do braço correto no grupo que tomou *Baryta muriática* 30cH, indicando, portanto, melhora da memória. A osteoporose é uma doença do sistema esquelético que foi caracterizada em humanos pela Organização Mundial da Saúde como diminuição da densidade mineral óssea (DMO) e deterioração da microarquitetura do tecido ósseo, resultando em risco aumentado de fraturas. Os locais com maior incidência de fraturas patológicas devido à osteoporose, em humanos, são o antebraço distal, os corpos vertebrais de tórax e lombar, bem como a região do quadril. Tais alterações resultam em maiores restrições na qualidade de vida e estão associadas com uma taxa aumentada de mortalidade. Na suspeita de perda óssea, os cinco principais pilares do diagnóstico são: exploração, que consiste em uma anamnese detalhada; investigação clínica; radiografia convencional; medição da DMO; e investigações laboratoriais (BIEGLMAYER et al., 2012). Neste modelo animal, não foram observados efeitos significativos do tratamento sobre a densidade mineral óssea na região proximal ($F_{(3,141)} = 1,143$, $p = 0,334$, $\eta^2_{\text{parcial}} = 0,024$), nem na região distal ($F_{(3,124)} = 0,391$, $p = 0,760$, $\eta^2_{\text{parcial}} = 0,009$) ou na região média ($F_{(3,85)} = 1,945$, $p = 0,128$, $\eta^2_{\text{parcial}} = 0,064$). A DMO considera o diâmetro do osso, que tem uma influência determinante na fragilidade óssea, logo, as medidas de DMO são importantes para a estimativa do risco de fratura individual e para diferenciar as formas menores e graves de perda óssea (BIEGLMAYER et al., 2012). Ambos os medicamentos estudados foram capazes de aumentar a locomoção dos animais, mesmo sem alteração na densidade óssea, e a *Baryta muriática* melhorou as respostas cognitivas dos animais.

Referências

BIEGLMAYER, C. et al. Biomarkers of bone turnover in diagnosis and therapy of osteoporosis: a consensus advice from an Austrian working group. **Wiener Medizinische Wochenschrift**, Viena, v. 162, p. 464-477, 2012.

SILVA, I. F. O. **Aspectos do envelhecimento cerebral e função cognitiva em modelo experimental animal e estudo de mecanismos de neurodegeneração em cultura celular**. 2007. 184 f. Tese (Doutorado em Patologia Geral) – Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2007.

TROULINAKI, K.; TAVERNARAKIS, N. Neurodegenerative conditions associated with ageing: a molecular interplay? **Mechanisms of Ageing and Development**, Lausanne, v. 126, n. 1, p. 23-33, 2005.

ZAR, J. H. **Biostatistical analysis**. 5. ed. Upper Saddle River: Prentice Hall, 2010. 944 p.