

INFLUÊNCIA DA INDUÇÃO DE AUTISMO POR SEPARAÇÃO MATERNA NA EXPLORAÇÃO E ATIVIDADE MOTORA DE CAMUNDONGOS SWISS FÊMEAS

Jose Aurelio De Almeida Martins¹
Samille De Souza Gonçalves²
Camila Lima Da Costa³
Raynara Lima De Sousa⁴
Aline Santos Monte⁵

RESUMO

INTRODUÇÃO: O Transtorno do Espectro Autista (TEA) é uma condição de neurodesenvolvimento caracterizada por dificuldades na comunicação social, interesses restritos e comportamentos repetitivos. Os sinais do TEA costumam aparecer na infância, afetando meninos e meninas, embora sejam mais prevalentes nos meninos. Essa diferença de incidência pode afetar o diagnóstico, especialmente quando os sintomas são semelhantes entre os gêneros. No entanto, a escassez de estudos sobre essa diferença de gênero, especialmente no feminino, destaca a necessidade de mais pesquisas. Estudos recentes focam nos endofenótipos, utilizando modelos animais como da Separação Materna (SM) para compreender como o estresse inicial afeta o desenvolvimento emocional e comportamental, além de permitir a avaliação da sociabilidade e dos principais sintomas do TEA. **OBJETIVO:** Este trabalho buscou investigar a influência da separação materna em camundongos fêmeas, avaliando alterações da exploração, atividade motora e comportamento. **METODOLOGIA:** Camundongos da espécie Swiss, de ambos os sexos, foram colocadas para acasalamento. As fêmeas prenhas foram acompanhadas até o dia do parto, denominado Dia Pós-Natal 0 (DPN0). Após o nascimento dos animais, os filhotes foram divididos em dois grupos: controle e SM. A SM aconteceu do 1º ao 14º Dia Pós Natal (DPN), quando os animais eram separados das mães e colocados sozinhos em gaiolas individuais sem maravalha durante 3 h/dia (de 9h às 12h). No DPN 21 todos os animais foram desmamados e separados por sexo formando 2 grupos: Controle fêmeas e SM fêmeas. Para verificar a influência nos comportamentos dos animais, os testes comportamentais relacionados ao autismo foram realizados durante a adolescência (DPN 28): labirinto em Y, campo aberto e rearing. **RESULTADOS:** A separação materna resultou em uma redução significativa na exploração e atividade motora das fêmeas em todos os testes realizados. No campo aberto, o grupo experimental apresentou uma média de 88,10 versus 143,3 no grupo controle. No labirinto em Y, a média foi de 46,76 para o grupo separação materna contra 62,03 no controle, e no rearing, houve uma queda para 2,300 comparado a 8,000 no grupo controle. **CONCLUSÃO:** O método mostrou ter uma influência significativa no comportamento exploratório e motor de camundongos fêmeas. Os resultados fornecem uma base sólida para o uso deste modelo em estudos de desenvolvimento neurológico e comportamento. Além disso, motiva novos estudos com o intuito de avaliar a influência da SM nos diferentes sexos.

Palavras-chave: autismo; separação materna; modelo animal.

Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-brasileira (UNILAB), Instituto de Ciências da Saúde (ICS), Discente, aurelio.martins2017@gmail.com¹

Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-brasileira (UNILAB), Instituto de Ciências da Saúde (ICS), Discente, samillegoncalves@aluno.unilab.edu.br²

Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-brasileira (UNILAB), Instituto de Ciências da Saúde (ICS), Discente, camilalima8133@gmail.com³

Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-brasileira (UNILAB), Instituto de Ciências da Saúde (ICS), Discente, naralohany@gmail.com⁴

Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-brasileira (UNILAB), Instituto de Ciências da Saúde (ICS), Docente, alinesmonte@unilab.edu.br⁵



INTRODUÇÃO

O Transtorno do Espectro Autista (TEA) é uma condição de neurodesenvolvimento caracterizada por dificuldades na comunicação social, interesses restritos e comportamentos repetitivos. Classificado como distúrbio neurobiológico, o TEA resulta da interação entre fatores genéticos e ambientais que influenciam o desenvolvimento cerebral, com o diagnóstico baseado principalmente nos sintomas (Hodges; Fealko; Soares, 2020).

Os sinais do (TEA) costumam aparecer na infância, afetando meninos e meninas, embora sejam mais prevalentes nos meninos. Essa diferença de incidência pode afetar o diagnóstico, especialmente quando os sintomas são semelhantes entre os gêneros (Bambini et al., 2011). Portanto, é essencial investigar o TEA em ambos os sexos para identificar variações nos sinais e melhorar diagnósticos e intervenções, garantindo equidade no tratamento. No entanto, a escassez de estudos sobre essa diferença de gênero, especialmente no feminino, destaca a necessidade de mais pesquisas (Lyrio; Souza; Cardoso, 2024).

Logo, estudos recentes focam nos endofenótipos, características que conectam genética e manifestação clínica do Transtorno do Espectro Autista (TEA), utilizando modelos animais. Em particular, os efeitos da separação materna (SM) em camundongos fêmeas pois ajudam a compreender como o estresse inicial afeta o desenvolvimento emocional e comportamental, além de permitir a avaliação da sociabilidade e dos principais sintomas do TEA (Gomes, 2020).

Após a SM, testes comportamentais são aplicados para identificar aspectos do TEA e avaliar intervenções (Freitas et al., 2024). O Labirinto em Y avalia a memória de trabalho de curto prazo em roedores, onde a escolha de um braço não explorado indica boa memória, enquanto falhas refletem dificuldades de comportamento exploratório (Kraeuter; Guest; Sarnyai, 2019). O teste de campo aberto avalia o comportamento e a atividade motora, considerando a distância percorrida, o tempo em áreas sociais e parâmetros como número de levantamentos (rearing), autolimpeza (grooming), tempo em movimento, permanência no centro e frequência de defecações. Esses parâmetros são essenciais para entender a sociabilidade e os desafios de interação no autismo (Gould; Dao; Kovacsics, 2009).

Dessa forma, este estudo não apenas investiga a influência da separação materna em camundongos fêmeas, mas também destaca a relevância dessas descobertas para a prática clínica, visando aprimorar intervenções futuras e ampliar o entendimento sobre as particularidades do TEA.

METODOLOGIA

2.1 Procedimento experimental

Este trabalho é o resultado de uma pesquisa experimental desenvolvida entre os meses de outubro de 2023 a agosto de 2024. A pesquisa aconteceu no biotério da Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-brasileira (UNILAB), cediado no campos dos Palmares, em Acarape-CE. Para o experimento, camundongos machos e fêmeas foram utilizados para fins de reprodução, sendo organizados em hárens em proporção 1 macho para 2 fêmeas. Após a detecção da prenhez das fêmeas, estas eram movidas para gaiolas individuais até que seus filhotes nascessem.

Depois do nascimento, os animais eram divididos em grupos controle e Separação Materna (SM). O grupo SM foi separado de suas mães 3 horas por dia, entre 9h e 12h da manhã, deste o primeiro dia de nascimento (DPN1) até o 14º dia de nascimento (DPN14). O grupo controle permaneceu com suas mães, privados de

qualquer manipulação. Finalizados os 14 dias de SM, os animais ficaram com suas mães até o dia 21, no qual é destinado ao desmame dos filhotes. Os filhotes oriundos da ninhada foram divididos por sexo em gaiolas, reservando apenas as fêmeas para a realização da presente pesquisa. O procedimento foi repetido até que fosse atingido o número de 10 fêmeas para o grupo SM e 10 fêmeas para o grupo controle.

Com o objetivo de avaliar os impactos advindos da metodologia desenvolvida do experimento na exploração, atividade motora e comportamento dos animais, foram desenvolvidos diferentes testes com ambos os grupos. Os testes comportamentais foram realizados ao atingirem o 28° dia de nascimento. Sendo realizados os testes de labirinto em Y, campo aberto e rearing.

A análise dos dados foi realizada através do software GraphPad Prism, versão 9.5.0. Os resultados comportamentais foram analisados utilizando o teste de T não pareado. Os resultados foram considerados estatisticamente significativos para P

2.2 Testes comportamentais

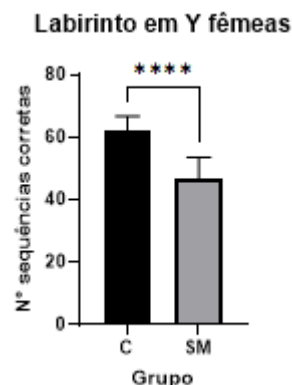
No teste de labirinto em Y, os animais foram colocados no centro de um labirinto com 3 braços distintos, enumerados de 1 a 3. Durante 8 minutos as entradas em cada braço foram registradas. As visitas consecutivas a braços diferentes (1, 2, 3) foram contadas como trios para avaliar a alternância espontânea. Para o teste, as entradas repetidas no mesmo braço foram consideradas erradas. A taxa de alternância foi calculada usando a fórmula: $(\text{Número de alternâncias} / \text{Total de visitas} - 2) \times 100\%$, expressando o resultado em percentual.

Para a realização do teste de campo aberto, foi utilizado um aparato em forma de caixa, medindo 47 x 48 x 50 cm, com o piso dividido em 9 quadrantes, pelos quais o animal circulou. Na implementação do procedimento, os animais foram colocados no primeiro quadrante, localizado ao meio. Em seguida, foram analisados os seguintes parâmetros durante 10 minutos: número de cruzamentos entre os quadrados e números de rearings executados pelos animais durante o teste.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados da análise do Labirinto em Y entre fêmeas que passaram por separação materna e fêmeas do grupo controle mostraram uma diferença significativa no comportamento exploratório entre os dois grupos. O grupo de fêmeas controle apresentou uma média de 62,03, enquanto o grupo de fêmeas submetidas à separação materna obteve uma média de 46,76. Essa diferença foi analisada por meio de um teste t não pareado, que revelou um resultado significativo (P

Figura 1 - Resultados do teste de labirinto em Y.

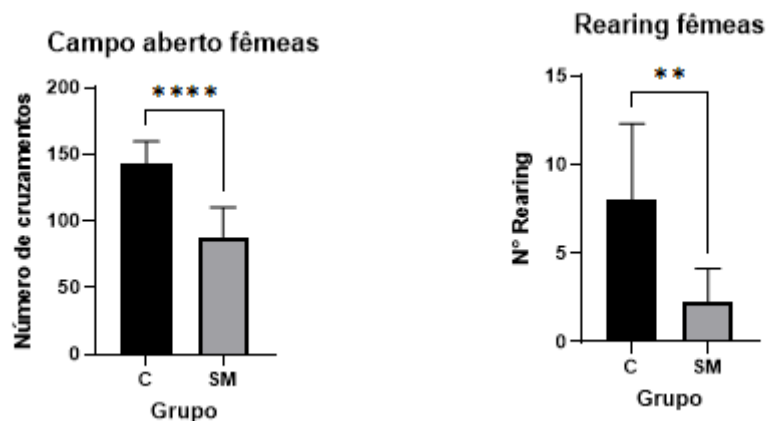


C= Controle; SM= Separação Materna.

Fonte: Autoria própria, 2024.

No experimento de campo aberto com camundongos fêmeas, a análise revelou uma diferença altamente significativa entre os grupos (PNo experimento de rearing com camundongos fêmeas, que avalia o comportamento exploratório vertical (erguer-se sobre as patas traseiras), foi observada uma diferença significativa entre os grupos, com valor de P igual a 0,0012, indicando que a diferença entre os dois grupos foi estatisticamente significativa. As fêmeas controle apresentaram uma média de 8 episódios de rearing, enquanto as fêmeas separadas da mãe mostraram uma média de 2,3, evidenciando uma redução substancial no comportamento exploratório vertical.

Figura 2 - Resultados do teste de campo aberto e rearing.



C= Controle; SM= Separação Materna.

Fonte: Autoria própria, 2024.

Os dados inferem mudanças nos comportamentos de locomoção e redução da exploração dos animais testados, o que corrobora com vários modelos animais utilizados para avaliar o autismo. Resultados similares em outras espécies e contextos, vão de encontro com a teoria de que o estresse provocado pela separação materna pode prejudicar o crescimento comportamental. Ademais, a diminuição na atividade exploratória pode estar relacionada a mudanças na neuroquímica cerebral, como a diminuição dos níveis de dopamina ou serotonina, neurotransmissores associados à motivação e ao comportamento exploratório (Souza, 2023).

Esses resultados corroboram a teoria de que o estresse precoce, como a separação da mãe, pode modificar o comportamento e o desenvolvimento neuropsicológico, estimulando características comuns de TEA. Pesquisas passadas indicaram que animais expostos a esse tipo de estresse precoce apresentaram mudanças em comportamentos sociais e exploratórios, geralmente ligados a problemas de interação e reação ao ambiente, características notadas em modelos de autismo (Gomes, 2020).

Pesquisas anteriores em modelos de separação materna também apontaram uma diminuição considerável no comportamento de rearing, o que está em concordância com os achados deste experimento. O comprometimento do comportamento exploratório vertical pode sugerir déficits em circuitos neurológicos envolvidos na motivação e na resposta a estímulos ambientais, reforçando a relevância da separação materna como um modelo válido para estudar esses transtornos (Árabe, 2021).

Dessa forma, os achados contribuem para a construção de uma noção sólida de que a separação da mãe não impacta somente a locomoção, mas também comportamentos exploratórios mais complexos. Isso pode trazer consequências significativas para a pesquisa de distúrbios psiquiátricos, particularmente aqueles que envolvem mudanças na motivação e na reação a estímulos do ambiente. A redução significativa indica que medidas destinadas a atenuar os efeitos do estresse precoce em crianças, podem ser fundamentais para evitar mudanças comportamentais mais extensas ao decorrer dos anos.

CONCLUSÕES

Baseado nos achados testes desenvolvidos, a SM mostrou ter uma influência significativa no comportamento exploratório e motor de camundongos fêmeas. Ao serem submetidas ao teste de campo aberto, as fêmeas SM apresentaram uma redução significativa na atividade locomotora em comparação com o grupo controle indicando uma diminuição na exploração do ambiente. No teste de labirinto em Y, foi observada uma queda no desempenho exploratório, com o grupo de separação materna exibindo uma média de 46,76, comparado à média de 62,03 no grupo controle, reforçando a hipótese de que a separação materna afeta negativamente o comportamento exploratório. Por fim, no parâmetro de rearing, o grupo experimental apresentou uma redução acentuada na exploração vertical, com uma média de apenas 2,300, em comparação com 8,000 no grupo controle, evidenciando um menor interesse em explorar o ambiente. Conclui-se, que os resultados fornecem uma base sólida para o uso deste modelo em estudos de desenvolvimento neurológico e comportamento. Além disso, motiva novos estudos com o intuito de avaliar a influência da SM nos diferentes sexos.

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica (PIBIC) da Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira (UNILAB) pelo apoio financeiro e à Professora Doutora Aline Santos Monte, pela orientação valiosa e incentivo durante todo o desenvolvimento deste trabalho. Também agradeço à equipe do biotério, cujas colaborações foram essenciais para o progresso da pesquisa.

REFERÊNCIAS

ÁRABE, Laila Blanc. **Efeitos Do Estresse Por Separação Maternal Em Micróglias De Camundongos Machos E Fêmeas**. 2021. 73 f. Tese (Doutorado) - Curso de Pós-Graduação em Ciências Biológicas: Fisiologia e Farmacologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2021.

BAMBINI-JUNIOR, V. et al. Animal model of autism induced by prenatal exposure to valproate: Behavioral changes and liver parameters. **Brain Research**, v. 1408, p. 8-16, 23 ago. 2011.

FREITAS, Madna Costa et al. Protocolo Experimental do modelo de indução de Transtorno do Espectro autista por ácido valpróico em roedores para mimetização de sintomas comportamentais. In: **Ciência, Cuidado e Saúde: Contextualizando saberes-volume 2**. Editora Científica Digital, 2024. p. 74-84.

GOMES, J. M. P. **Isolamento neonatal em ratos induz endofenótipos do transtorno do espectro autista com diferenças entre sexos**. 2020. 117 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Médicas) - Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2020.

GOULD, Todd D.; DAO, David T.; KOVACSICS, Colleen E. The open field test. **Mood and anxiety related phenotypes in mice: Characterization using behavioral tests**, p. 1-20, 2009

HODGES, Holly; FEALKO, Casey; SOARES, Neelkamal. Autism spectrum disorder: definition, epidemiology, causes, and clinical evaluation. **Translational Pediatrics**, v. 9, S1, p. S55—S65, fev. 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.21037/tp.2019.09.09>. Acesso em: 3 out. 2024.



KRAEUTER, Ann-Katrin; GUEST, Paul C.; SARNYAI, Zoltán. **The Y-maze for assessment of spatial working and reference memory in mice.** In: Pre-Clinical Models. Humana Press, New York, NY, 2019. p. 105-111.

LYRIO, Bruna da Silva; MOURÃO, Gabriela Lima Reis; CARDOSO, Rachel da Silva Serejo. Autismo e diversidade de gênero em jovens adultos: Como estereótipos de gênero influenciam no subdiagnóstico. **Research, Society and Development**, v. 13, n. 9, p. e1313946709, 8 set. 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.33448/rsd-v13i9.46709>. Acesso em: 3 out. 2024.

SOUZA, Regina Andressa Caetano de. **Estresse por separação materna em ratos wistar e programação do comportamento tipo ansioso na fase adulta em ambos os sexos: efeitos de dietas acrescidas com diferentes tipos de óleos.** 2023. 80 f. Tese (Doutorado) - Curso de Pós-Graduação em Neurociências, Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre/Rs, 2023.