



UNIVERSIDADE FEDERAL
DE SANTA CATARINA

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS MORFOLÓGICAS
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Tracy Pereira

**AVALIAÇÃO COMPORTAMENTAL EM MODELO ANIMAL DO TRANSTORNO
DO ESPECTRO AUTISTA E EFICÁCIA FARMACOLÓGICA**

Florianópolis

2025

Tracy Pereira

AVALIAÇÃO COMPORTAMENTAL EM MODELO ANIMAL DO TRANSTORNO DO
ESPECTRO AUTISTA E EFICÁCIA FARMACOLÓGICA

Trabalho de Conclusão de Curso submetido ao curso de Ciências Biológicas do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito parcial para a obtenção do título de Licenciada em Ciências Biológicas.

Orientadora: Profa. Dra. Eloisa Pavesi

Florianópolis

2025

Pereira, Tracy

AVALIAÇÃO COMPORTAMENTAL EM MODELO ANIMAL DO TRANSTORNO
DO ESPECTRO AUTISTA E EFICÁCIA FARMACOLÓGICA / Tracy

Pereira ; orientadora, Eloisa Pavesi, 2026.

40 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) -
Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências
Biológicas, Graduação em Ciências Biológicas,
Florianópolis, 2026.

Inclui referências.

1. Ciências Biológicas. 2. Transtorno do Espectro
Autista. 3. Ácido valproico. 4. Aripiprazol. 5.
Comportamento animal. I. Pavesi, Eloisa. II. Universidade
Federal de Santa Catarina. Graduação em Ciências
Biológicas. III. Título.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer à professora Dra. Eloisa Pavesi por ter permitido que eu fizesse parte do Laboratório de Neuromorfologia, por ter me orientado e por ser uma referência de proximidade para mim. Agradeço por ter confiado em mim e no meu trabalho.

Agradeço imensamente à Ana Gouvêa, que me ensinou com toda paciência e empatia, as habilidades necessárias para a vivência na iniciação científica. Sou grata por sua orientação, por permitir que eu errasse e aprendesse com tranquilidade e por ter possibilitado que eu acompanhasse seu projeto de Mestrado, o que foi fundamental para o desenvolvimento deste trabalho. Além disso, Ana é um exemplo de dedicação e comprometimento.

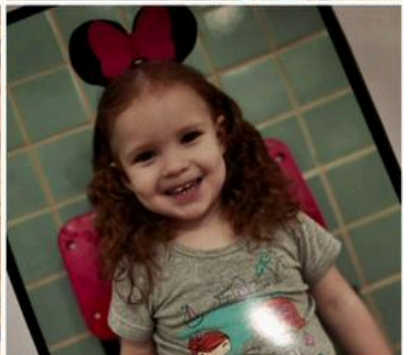
Agradeço também à Bruna Soares Odorizzi, minha parceira de laboratório, cujo crescimento pude acompanhar e admirar. Ela me ensina muito a cada protocolo seguido e torna as rotinas mais leves.

À minha mãe, Simoni Rodrigues de Carvalho, agradeço por ter me apoiado em todos os meus sonhos, por me amparar, por fazer o impossível pela nossa família e por despertar em mim o desejo pela docência.

Agradeço às amigas que fiz ao longo da trajetória acadêmica pelas trocas que tive, em especial às minhas amigas Karolina Azevedo e Natalia Ferreira, que acompanharam minha trajetória acadêmica e estiveram comigo em diversos momentos, apoiando-me, incentivando-me e tornando a experiência “ufsquiana” única e cheia de momentos incríveis.

Agradeço ao meu companheiro Caio Henrique Goede, pelo suporte, compreensão e apoio diário.

Agradeço à Universidade Federal de Santa Catarina pela formação acadêmica e pelo seu excelente corpo docente, que contribuiu de maneira fundamental para o meu desenvolvimento pessoal e profissional.



RESUMO

A exposição pré-natal ao ácido valproico (VPA) é amplamente utilizada como modelo animal para investigação de alterações comportamentais associadas ao transtorno do espectro autista (TEA). Neste estudo, avaliamos o desenvolvimento físico, motor e comportamental de filhotes expostos ao VPA, bem como o efeito do tratamento com aripiprazol. O desenvolvimento físico foi monitorado por meio da medida de massa corporal, da abertura dos olhos e do teste de geotaxia. Não foram observadas diferenças significativas entre os grupos no peso corporal ou no índice de abertura dos olhos; entretanto, animais VPA apresentaram atraso motor transitório no DPN8 e DPN9, evidenciado por maior latência no teste de geotaxia. Nos testes comportamentais em adultos, o grupo VPA demonstrou maior exposição a áreas aversivas no campo aberto e no labirinto em cruz elevado, além de redução acentuada do freezing no condicionamento ao medo, indicando prejuízo na modulação emocional e aumento do comportamento de risco. O aripiprazol é um medicamento antipsicótico atípico e, neste protocolo, reduziu parcialmente esses efeitos, aumentando o freezing e diminuindo a exposição a situações aversivas, mas não apresentou impacto positivo na sociabilidade ou na memória de reconhecimento de objetos. Os resultados sugerem que o modelo VPA reproduz principalmente alterações emocionais e motoras iniciais, enquanto o tratamento com aripiprazol atua de forma restrita sobre esses domínios.

Palavras-chave: TEA, aripiprazol, ácido valproico, modelo animal.

ABSTRACT

Prenatal exposure to valproic acid (VPA) is widely used as an animal model to investigate behavioral alterations associated with autism spectrum disorder (ASD). In this study, we evaluated the physical, motor, and behavioral development of offspring exposed to VPA, as well as the effects of aripiprazole treatment. Physical development was monitored through body mass measurements, eye-opening assessment, and the geotaxis test. No significant differences were observed between groups regarding body weight or eye-opening index; however, VPA animals showed a transient motor delay on postnatal days 8 and 9 (PND8 and PND9), evidenced by increased latency in the geotaxis test. In behavioral tests conducted in adulthood, the VPA group showed greater exposure to aversive areas in the open field and elevated plus maze, along with a marked reduction in freezing during fear conditioning, indicating impaired emotional modulation and increased risk-taking behavior. Aripiprazole, an atypical antipsychotic drug, partially reduced these effects by increasing freezing and decreasing exposure to aversive situations, but did not show a positive impact on sociability or object recognition memory. These results suggest that the VPA model mainly reproduces early emotional and motor alterations, while aripiprazole treatment exerts a limited effect on these domains.

Keywords: ASD, aripiprazole, valproic acid, animal model.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Delineamento experimental.....	24
Figura 2: Massa corporal pós-natal dos grupos VPA e controle.....	29
Figura 3: Índice de abertura dos olhos.....	29
Figura 4: Teste de geotaxia negativa.....	30
Figura 5: Teste de campo aberto.....	31
Figura 6: Teste em cruz elevado.....	32
Figura 7: Teste de reconhecimento de objetos.....	33
Figura 8: Teste de sociabilidade.....	34
Figura 9: Teste de condicionamento ao medo contextual.....	35

LISTA DE QUADROS

Quadro 1: Critérios de diagnósticos do TEA.....	14
Quadro 2: Cronograma.....	22

LISTA DE ABREVIACOES

Transtorno do Espectro Autista (TEA)

Ácido Valproico (VPA)

Aripiprazol (ARI)

Veículo (VEH)

Dia Pós-Natal (DPN)

Food and Drug Administration (FDA)

Aberrant Behavior Checklist (ABC)

Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA)

Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC)

Erro padrão da média (EPM)

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	13
1.1 TRANSTORNO DO ESPECTRO AUTISTA	13
1.1.2 DIAGNÓSTICO	14
1.1.3 HETEROGENEIDADE SINTOMÁTICA	16
1.2 TRATAMENTOS FARMACOLÓGICOS DO TEA	18
1.3 MODELOS ANIMAIS DO TEA	18
1.4 VANTAGENS DO USO DO ÁCIDO VALPROICO	20
2. JUSTIFICATIVA	21
3. OBJETIVOS	22
3.1 OBJETIVOS GERAIS	22
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	22
4. METODOLOGIA	22
4.1 ANIMAIS	22
4.2 CRONOGRAMA EXPERIMENTAL	23
4.3 PROTOCOLO EXPERIMENTAL	23
4.4 TESTES COMPORTAMENTAIS	24
4.4.1 MASSA CORPORAL	24
4.4.2 GEOTAXIA NEGATIVA	25
4.4.3 ABERTURA DOS OLHOS	25
4.4.4 TESTE DE CAMPO ABERTO	25
4.4.5 TESTE DO LABIRINTO EM CRUZ ELEVADO	26
4.4.6 TESTE DO RECONHECIMENTO DE OBJETOS	26
4.4.7 TESTE DE SOCIABILIDADE E PREFERÊNCIA POR NOVIDADE SOCIAL	27
4.4.8 TESTE DE CONDICIONAMENTO AO MEDO CONTEXTUAL	27
4.5 EUTANÁSIA	28
4.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA	28
5. RESULTADOS	28
5.1 MASSA CORPORAL	28
5.2 GEOTAXIA NEGATIVA	29
5.3 ÍNDICE DE ABERTURA DOS OLHOS	30
5.4 TESTE DO CAMPO ABERTO	30
5.5 TESTE DO LABIRINTO EM CRUZ ELEVADO	31
5.6 TESTE DO RECONHECIMENTO DE OBJETOS	33
5.7 TESTE DE SOCIABILIDADE	33
5.8 TESTE DE CONDICIONAMENTO AO MEDO	34
6. DISCUSSÃO	35
7. CONCLUSÃO	36
REFERÊNCIAS	38

1. INTRODUÇÃO

1.1 TRANSTORNO DO ESPECTRO AUTISTA

O Transtorno do Espectro Autista (TEA) é uma condição do neurodesenvolvimento primariamente caracterizado por alterações acentuadas e duradouras no âmbito da comunicação e do relacionamento social, acompanhadas pela exibição de repertórios comportamentais, interesses ou atividades de natureza restrita e repetitiva (HODIS; MUGHAL; SAADABADI, 2025). Neuropatologias, certas modificações neuroquímicas e as alterações na condição imunológica centrais e periféricas, são elementos que se reproduzem frequentemente em modelos estudados (PATTERSON, 2011).

Análises neurobiológicas apontam que o TEA está relacionado a alterações em múltiplas áreas encefálicas, incluindo hipocampo, amígdala, cerebelo e córtex temporal, estruturas diretamente associadas à linguagem, processamento emocional e integração sensorial (LAMANNA; MELDOLESI, 2024). Essas alterações envolvem principalmente desequilíbrios na conectividade neural e na dinâmica sináptica, o que contribui para a heterogeneidade dos sintomas observados entre os indivíduos diagnosticados com TEA (LAMANNA; MELDOLESI, 2024). Pesquisas recentes reforçam que o transtorno possui origem multifatorial, envolvendo a interação entre fatores genéticos e ambientais, que afetam mecanismos celulares e epigenéticos responsáveis pela formação e maturação das redes neurais. Dessa forma, o TEA não pode ser compreendido como uma alteração localizada, mas como um distúrbio sistêmico de desenvolvimento cerebral, que emerge ainda nos estágios iniciais da infância. Esse conjunto de evidências tem avançado o entendimento clínico e biomédico sobre o transtorno, permitindo aprimorar estratégias diagnósticas e terapêuticas (LAMANNA; MELDOLESI, 2024).

Estima-se, a partir dos dados do estudo *Global Burden of Disease 2010*, que aproximadamente 52 milhões de pessoas no mundo apresentem TEA, valor que corresponde a uma prevalência de cerca de 1 para cada 132 indivíduos (BAXTER apud LORD; BRUGHA; CHARMAN et al., 2020). De maneira geral, as análises globais mostram pouca variação significativa nas taxas de prevalência entre diferentes regiões, grupos étnicos ou contextos socioeconômicos, e revisões sistemáticas indicam que fatores culturais, étnicos ou de renda não exercem impacto consistente sobre a ocorrência do transtorno (LORD; BRUGHA; CHARMAN et al., 2020). De acordo com o DSM-5, o TEA é diagnosticado quatro vezes mais frequentemente em homens do que em mulheres, e isso também é confirmado pelo estudo *Global Burden of Disease* de 2010, que relatou uma estimativa de 4:1 (BAXTER apud NAPOLITANO et al., 2020).

1.1.2 DIAGNÓSTICO

Devido à complexidade e heterogeneidade do TEA, o diagnóstico costuma ser realizado por uma equipe multiprofissional, envolvendo profissionais como neuropediatra, psiquiatra infantil, neurologista, psicólogo ou outro especialista em neurodesenvolvimento, que avaliam o histórico de desenvolvimento, comportamento e comparações com os marcos de desenvolvimento esperados. Existem diversas ferramentas que podem ser utilizadas por esses profissionais para auxiliar a prática clínica, em destaque para a Lista de Verificação Modificada para Autismo em Bebês (MCHAT), que pode ser usada em crianças de 18 a 30 meses (ROBINS apud SINGHI; MALHI, 2022).

O diagnóstico precoce permite que os responsáveis legais procurem suporte clínico e educacional adequados, com menor risco de atraso terapêutico. De acordo com Miller et al.; (2021) há um maior comprometimento no desenvolvimento associado a um diagnóstico tardio de TEA, com as crianças do grupo de 25 a 41 meses sendo as mais afetadas na maioria das áreas de desenvolvimento, quando comparadas às crianças que receberam diagnóstico entre 12 e 18 meses de vida. Apesar do esforço para a identificação e intervenção precoces do TEA, muitos responsáveis e pediatras relutam em investigar preocupações com o desenvolvimento na primeira infância, particularmente antes dos 18 meses de idade, adotando uma justificativa de "esperar para ver" ou presumindo erroneamente que a criança superará atrasos leves (DAI apud MILLER et al., 2021).

A caracterização diagnóstica do Transtorno do Espectro Autista (TEA) é fundamentada em critérios clínicos amplamente estabelecidos pelo *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders* - quinta edição (DSM-5). Esse manual organiza os sintomas em dois grandes domínios que englobam tanto dificuldades sociocomunicativas quanto padrões comportamentais característicos. A compreensão desses critérios é essencial para a identificação adequada do quadro, uma vez que o TEA se manifesta de forma heterogênea e pode variar significativamente em intensidade, frequência e impacto funcional entre os indivíduos. A seguir, apresenta-se uma síntese estruturada dos principais sintomas descritos no DSM-5, destacando suas subdivisões e especificidades para facilitar a visualização e análise de cada componente clínico envolvido no diagnóstico.

Quadro 1: Critérios diagnósticos do TEA

Domínio	Subcategoria	Descrição sintomática
Déficits persistentes na comunicação e interação social	Reciprocidade socioemocional	Dificuldade em iniciar ou manter conversas; trocas sociais reduzidas; pouca iniciativa em compartilhar interesses, emoções ou experiências; respostas sociais atípicas.
	Comportamentos comunicativos não verbais	Contato visual reduzido ou pouco modulável; expressão facial limitada; gestos pouco utilizados; dificuldade em coordenar comunicação verbal e não verbal.
	Desenvolvimento, manutenção e compreensão de relacionamentos	Dificuldade em ajustar o comportamento a diferentes contextos sociais; menor interesse por interações com pares; desafio em compreender normas sociais implícitas; dificuldades em brincadeiras imaginativas e no compartilhamento de atividades.
Padrões restritos e repetitivos de comportamento	Estereotípias motoras ou verbais	Movimentos repetitivos (balançar mãos, correr em círculos); ecolalia imediata ou tardia; uso repetitivo ou idiossincrático da fala.
	Insistência em rotinas e padrões rígidos	Forte desconforto diante de pequenas mudanças; necessidade de seguir rotinas específicas;

		comportamento ritualizado; rigidez cognitiva em atividades diárias.
	Interesses restritos e intensos	Focos de interesse altamente específicos ou incomuns; apego a objetos; dedicação intensa a temas restritos; dificuldade em se engajar em uma variedade de atividades.
	Hiper ou hiporreatividade a estímulos sensoriais	Respostas intensas a sons, texturas, luzes ou odores; incômodo exagerado com estímulos sensoriais; pouca resposta à dor ou temperatura; fascínio por movimentos, luzes ou padrões visuais.
Exigências diagnósticas adicionais	Início precoce	Os sintomas devem estar presentes desde o início do desenvolvimento (embora possam se tornar mais evidentes com o aumento das demandas sociais).
	Prejuízo funcional	Os sintomas devem causar comprometimento nas áreas social, comunicativa, acadêmica ou adaptativa.

Quadro 1: Critérios de diagnósticos do TEA. Adaptado de DSM-V (2013).

1.1.3 HETEROGENEIDADE SINTOMÁTICA

O TEA é caracterizado por ampla heterogeneidade sintomática e fenotípica, manifestando-se de maneiras distintas em diferentes indivíduos, mesmo quando compartilham o mesmo diagnóstico. Indivíduos podem apresentar hiper-reatividade, hipo-reatividade ou

padrões mistos de respostas sensoriais, o que influencia diretamente a interação com o ambiente e a execução de atividades diárias (SCHAAF *et al.*; 2023). Outras diferenças englobam habilidades sociais, padrões de comportamento repetitivo e sensorial, bem como perfis cognitivos variados, dificultando a definição de subtipos clínicos homogêneos e exige abordagens individualizadas na avaliação e intervenção (CHEONG *et al.*, 2025).

Comorbidades psiquiátricas são comuns em indivíduos com TEA e contribuem para a heterogeneidade clínica observada, tais como: ansiedade, transtorno do déficit de atenção e hiperatividade (TDAH) e transtornos do humor, que ocorrem com frequência variável, alterando significativamente o perfil sintomático e as necessidades de intervenção (KILICASLAN *et al.*, 2022). Esse aspecto reforça a complexidade do espectro e a importância de considerar fatores comórbidos na prática clínica (KILICASLAN *et al.*, 2022).

Um dos avanços mais importantes na compreensão das causas do transtorno do espectro autista foi a constatação de que fatores genéticos exercem um papel relevante. Diversas linhas de pesquisa reforçam essa influência hereditária, incluindo investigações com gêmeos, comparando a ocorrência do transtorno entre gêmeos monozigóticos (idênticos) e dizigóticos (não idênticos); estudos familiares que analisam a frequência de autismo entre parentes de primeiro grau em relação à população geral; e pesquisas que identificam o TEA em indivíduos portadores de síndromes genéticas raras (MASINI *et al.*, 2020; GESHWIND, 2011).

Considerando que gêmeos monozigóticos compartilham integralmente seu genoma, enquanto gêmeos dizigóticos dividem, em média, apenas metade do material genético (proporção equivalente à observada entre irmãos não gêmeos) a comparação entre ambos configura um parâmetro relevante para inferências sobre a etiologia do TEA. Nesse sentido, a ocorrência significativamente superior do transtorno entre pares monozigóticos, quando comparados aos dizigóticos, e estudos que confirmam esse padrão e sustentam estimativas de herdabilidade entre 70% e 80%, apontam de maneira significativa para a participação de mecanismos hereditários no desenvolvimento do espectro (BAILEY apud GESHWIND, 2011).

Familiares de primeiro grau de indivíduos com TEA podem manifestar traços cognitivos e comportamentais semelhantes aos observados no transtorno, embora em intensidades leves e insuficientes para caracterizar um diagnóstico clínico (GESHWIND, 2011). Essa expressão sutil, denominada “fenótipo ampliado do autismo”, inclui desde comportamentos restritivos e repetitivos até dificuldades subclínicas de cognição social e alterações de linguagem, como, por exemplo, o atraso de aquisição linguística frequentemente

observado em irmãos não autistas (GAMLIEL apud GESHWIND, 2011). Além disso, características sociais relacionadas ao espectro também podem ser identificadas em pais e familiares, reforçando que aspectos fundamentais do TEA se distribuem de forma contínua na população, em vez de se apresentarem como categorias binárias. Assim, diferentes componentes centrais do autismo, tais como: linguagem, interação social e padrões comportamentais estereotipados, parecem ser herdados de forma relativamente independente, sugerindo que mecanismos genéticos distintos podem atuar sobre circuitos neurais específicos (GESHWIND, 2011).

1.2 TRATAMENTOS FARMACOLÓGICOS DO TEA

Atualmente, os antipsicóticos atípicos risperidona e aripiprazol são os únicos dois medicamentos aprovados pela *Food and Drug Administration* (FDA) para melhorar os sintomas comportamentais associados ao TEA (MATSON, apud EISSA et al., 2018). O aripiprazol é um antipsicótico atípico de terceira geração que atua como agonista parcial dos receptores de dopamina D2 e D3 e de serotonina 5-HT1A, além de antagonizar os receptores de serotonina 5-HT2A10. Já a risperidona, atua como antagonista de receptores D2 (DOUTOR, Gabriel Cabriny et al, 2024). Apesar disso, ambos os medicamentos atuam em: irritabilidade, agitação, explosões emocionais e comportamentos disruptivos, que são frequentemente os principais motivos para intervenção farmacológica (GHANIZAEH; SAHRAEIZADEH; BERK, 2014). Além da melhora significativa nessas manifestações, ambos os fármacos demonstraram impacto positivo em outras dimensões avaliadas pelo *Aberrant Behavior Checklist* (ABC), incluindo letargia e isolamento social, comportamentos estereotipados, hiperatividade, não conformidade e fala inadequada (GHANIZAEH; SAHRAEIZADEH; BERK, 2014). Isso indica que o uso desses antipsicóticos atípicos não se restringe apenas ao controle da irritabilidade, mas também pode auxiliar nas dificuldades de interação social, na redução de movimentos repetitivos e na modulação da impulsividade, aspectos que frequentemente interferem na adaptação social e no funcionamento cotidiano de indivíduos com TEA (GHANIZAEH; SAHRAEIZADEH; BERK, 2014). A escolha entre esses dois medicamentos deve ser baseada no equilíbrio clínico, considerando a preferência do paciente e seu perfil clínico (GHANIZAEH; SAHRAEIZADEH; BERK, 2014).

1.3 MODELOS ANIMAIS DO TEA

Existem diversos modelos animais para estudos do TEA, extremamente importantes para a compreensão da origem e desenvolvimento do transtorno. Dentre eles, camundongos e

ratos são mais comumente usados. Os ratos compartilham semelhanças neuroanatômicas, bioquímicas, eletrofisiológicas e genéticas com os humanos e apresentam maior sociabilidade, que pode ser avaliada por meio de testes comportamentais (ROANE et al.; apud JIAO et al.; 2024). Outros modelos animais, como peixe-zebra e mosca-da-fruta, também são utilizados em pesquisas por meio de manipulação genética, permitindo que pesquisadores reproduzam mutações encontradas em humanos com TEA. A adequação desses modelos para pesquisa genética e molecular decorre de fatores como seu baixo custo, dimensões reduzidas, transparência embrionária e rápido ciclo de vida. Entretanto, a validade dos dados obtidos é restringida pela insuficiente correspondência entre os fenótipos comportamentais observados nesses organismos e a complexidade do comportamento humano (JIAO et al.; 2024). Nesse sentido, destacam-se os modelos animais genéticos, químicos e imunes com roedores.

O modelo baseado em ativação imune materna (*maternal immune activation* - MIA), é realizado através da exposição gestacional às injeções de *polyinosinic:polycytidylic acid*, ou poly(I:C), que mimetiza infecções virais no organismo materno, aumentando os níveis de citocinas pró-inflamatórias na circulação (PATTERSON, 2011). Como consequência, ocorre modificação de vias endócrinas e regulatórias importantes para o desenvolvimento fetal, provocando alterações em proteínas reguladoras, hormônios e vias relacionadas ao crescimento, o que contribui para disfunções do neurodesenvolvimento (PATTERSON, 2011). A exposição pré-natal ao poly(I:C) resulta em déficits sociais, redução de vocalizações ultrassônicas, aumento de comportamentos repetitivos e estereotipados, neofobia, ansiedade elevada e prejuízo em tarefas cognitivas (PATTERSON, 2011). Além disso, deve-se citar o modelo ambiental que expõe a fêmea gestante ao lipopolissacarídeo (LPS), que mimetiza infecções bacterianas. A prole de mães expostas ao LPS apresenta alterações comportamentais semelhantes às produzidas pelo poly(I:C). No entanto, o LPS ainda pode ocasionar hiperexcitabilidade sináptica e alterações dendríticas (PATTERSON, 2011).

Existem diversos modelos genéticos, e os principais envolvem o direcionamento de genes associados ao TEA (EISSA N. et al.; 2018). Entre os modelos mais utilizados, destacam-se às mutações causadas nas proteínas da família SHANK, ocasionando alterações comportamentais que revelaram comprometimentos sutis na interação social e na comunicação, como também o aumento de comportamentos repetitivos (SILVERMAN et al.; apud JIANG; EHLERS, 2013). A proteína Shank3, por exemplo, é uma proteína cuja deleção contribui para a síndrome de Phelan-McDermid, deficiência intelectual e comportamentos semelhantes ao TEA em humanos (DURANT et al. apud ANGELAKOS, 2019). Já o modelo com mutações no gene FMR1, associado à síndrome do X frágil, evidenciou comportamento

hiperativo, dificuldades cognitivas e na socialização em camundongos (EISSA N. et al.; 2018). Além dos modelos citados, destaca-se o modelo de deleção da proteína 2 semelhante à proteína associada à contactina (CNTNAP2), com atividade relacionada a mielinização e interação neurônio-glia (POLIAK et al. apud ANGELAKOS, 2019), ocasionando displasia cortical-epilepsia focal, convulsões e TEA em humanos (STRAUSS et al. apud ANGELAKOS, 2019), e déficits sociais, estereotípias motoras, anormalidades de comunicação, redução de interneurônios, dificuldades na construção de ninhos e discriminação olfativa em camundongos (PEÑAGARIKANO et al. apud ANGELAKOS, 2019; EISSA N. et al.; 2018).

O ácido valproico (VPA), também conhecido como ácido 2-propil pentanoico, constitui um dos principais modelos químicos do TEA em ratos e camundongos, devido à sua capacidade de provocar alterações significantes no neurodesenvolvimento fetal, quando administrado durante a gestação, tais como: redução de sociabilidade, intensificação de comportamentos repetitivos, problemas de comunicação (anormalidades na vocalização), e inflexibilidade cognitiva (BOSSU; ROUX, 2019). Esses comportamentos frequentemente coexistem com alterações neuroanatômicas, como perda de células de Purkinje, desorganização de camadas corticais e anormalidades dendríticas, indicando que o VPA interfere em etapas essenciais da formação do sistema nervoso central (ZARATE et al.; 2024). Os mecanismos propostos para esses efeitos envolvem perturbações em processos como proliferação e migração neuronal, diferenciação celular, maturação sináptica e expressão gênica, influenciados por ações do VPA como a inibição de histona desacetilases e o aumento do estresse oxidativo, que desregulam a programação do desenvolvimento neural (ZARATE et al.; 2024).

1.4 VANTAGENS DO USO DO ÁCIDO VALPROICO

Em humanos, o VPA apresenta elevado potencial teratogênico quando administrado durante a gestação. A exposição pré-natal ao fármaco está associada a malformações congênitas, como defeitos do tubo neural, anomalias cardíacas e malformações urogenitais, além de alterações no neurodesenvolvimento (ORNOY; ECHEFU; BECKER, 2024). Essas evidências em humanos fundamentam o uso do VPA em modelos animais experimentais e, entre as vantagens mais relevantes do modelo com ácido valproico (VPA), destaca-se a possibilidade de reproduzir com precisão alterações neurocomportamentais por meio de uma janela temporal claramente definida de vulnerabilidade embrionária. Estudos demonstram que a administração pré-natal do VPA entre o décimo e o décimo terceiro dia de desenvolvimento

embrionário é particularmente eficaz porque coincide com o período de fechamento do tubo neural e de intensa neurogênese inicial, fases altamente sensíveis a perturbações epigenéticas e teratogênicas (ZARATE et al.; 2024). O caráter crítico dessa janela é reforçado por revisões sistemáticas que demonstram que exposições gestacionais dentro do intervalo E11.5–E12.5 com doses de 400–600 mg/kg, produzem de forma confiável os fenótipos centrais do modelo, independentemente da linhagem ou do protocolo experimental utilizado (ZARATE et al.; 2024). Exposições fora dessa janela geram perfis neurobiológicos distintos, indicando que os efeitos do VPA são profundamente dependentes do estágio de maturação embrionária (ZARATE et al.; 2024). Assim, a definição precisa desse período constitui um diferencial metodológico importante, pois maximiza a padronização entre estudos e aumenta a comparabilidade de resultados.

Outra vantagem relevante do modelo com VPA reside no fato de que ele permite investigar de forma integrada diversos mecanismos fisiopatológicos que contribuem para o surgimento do TEA, refletindo com maior fidelidade a complexidade multifatorial do transtorno (TALEB et al; 2021). Estudos demonstram que a exposição pré-natal ao VPA interfere diretamente no desenvolvimento neural ao modificar a transcrição de genes essenciais para a embriogênese cerebral, produzindo alterações em vias de sinalização, disfunção sináptica e prejuízos na neurogênese, mecanismos apontados como centrais na etiologia do TEA (TALEB et al; 2021). Outro aspecto de destaque é que o VPA também induz alterações significativas no eixo intestino–cérebro, incluindo modificações na integridade da barreira intestinal, na microbiota e na sinalização neuroendócrina. Esses parâmetros estão amplamente relacionados aos fenótipos biocomportamentais do TEA e atualmente reconhecidos como importantes alvos terapêuticos (TALEB et al; 2021). Portanto, as múltiplas vias afetadas pelo VPA reforçam sua relevância para estudos farmacológicos.

2. JUSTIFICATIVA

O TEA apresenta sintomas centrais, como prejuízos na sociabilidade, comunicação e presença de comportamentos repetitivos, para os quais ainda não existem tratamentos farmacológicos eficazes. Atualmente, risperidona e aripiprazol são os únicos fármacos aprovados para uso no TEA, porém sua atuação restringe-se ao controle da irritabilidade, agressividade e comportamentos disruptivos, não havendo evidências conclusivas de que promovam melhora nos domínios comportamentais nucleares. Assim, torna-se necessário investigar se esses medicamentos, já utilizados na prática clínica, podem exercer efeitos

adicionais sobre comportamentos relevantes para o TEA, como ansiedade, sociabilidade e memória.

Nesse contexto, modelos animais representam ferramentas essenciais para compreender mecanismos do neurodesenvolvimento e avaliar intervenções terapêuticas. Entre eles, o modelo gestacional induzido por VPA destaca-se por reproduzir de forma consistente fenótipos comportamentais e neurobiológicos semelhantes aos observados em indivíduos com TEA. Avaliar o comportamento de animais expostos ao VPA e tratados com aripiprazol permite explorar se esse fármaco apresenta benefícios que vão além de suas indicações clínicas atuais. Assim, este trabalho justifica-se pela necessidade de aprofundar o conhecimento sobre a eficácia farmacológica no TEA e identificar possíveis efeitos comportamentais adicionais do aripiprazol, contribuindo para o avanço das estratégias terapêuticas disponíveis.

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVOS GERAIS

Avaliar comportamentos emocionais e cognitivos em um modelo animal de TEA induzido por VPA, comparando animais controle, animais com TEA e animais com TEA submetidos ao tratamento com aripiprazol.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar comportamentos do tipo ansioso nos grupos experimentais;
- Analisar sociabilidade;
- Analisar parâmetros de memória e cognição;
- Comparar os efeitos do aripiprazol sobre os comportamentos avaliados, identificando possíveis melhorias além da irritabilidade e agressividade.

4. METODOLOGIA

4.1 ANIMAIS

Foram utilizados ratos da linhagem Wistar provenientes do Biotério Central da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), após aprovação do projeto pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA/UFSC) com número de registro 9837230624. Após a semana de aclimação dos animais no Biotério Setorial do departamento de Farmacologia da UFSC, seis fêmeas e dois machos em idade adulta (70 dias) e peso entre 200g e 300g foram

distribuídos para o protocolo de acasalamento. Todos os animais permaneceram em sala com condições controladas de temperatura ($23 \pm 2^\circ\text{C}$) e ciclo claro-escuro de 12 horas cada, recebendo água e ração *ad libitum*. Os experimentos foram realizados de acordo com os princípios éticos de experimentação animal recomendados pelo Conselho Nacional de Experimentação Animal (CONCEA).

4.2 CRONOGRAMA EXPERIMENTAL

Quadro 2: cronograma do protocolo

Período	Atividades
Dezembro/2024	Cópula dos animais
Janeiro/2025	Nascimento
Janeiro/2025	Testes de neurodesenvolvimento
Fevereiro/2025	Teste de geotaxia, medidas de massa e abertura dos olhos da prole
Abril/2025	Testes comportamentais na vida adulta

Quadro 2: Cronograma do protocolo.

4.3 PROTOCOLO EXPERIMENTAL

A distribuição para o acasalamento ocorreu de forma que três fêmeas foram acondicionadas com um macho durante o período da noite para obtenção de descendentes com comportamento semelhante ao TEA. A cópula foi confirmada pela presença de espermatozoides através da técnica de esfregaço vaginal. Após a confirmação, considerou-se dia gestacional 0,5 (G0,5) e as fêmeas foram alojadas individualmente para o protocolo de indução do modelo e nascimento das ninhadas até atingirem a idade do desmame.

Ratas prenhas receberam uma única dose de 600mg/kg por via intraperitoneal (i.p) de VPA no G12,5. Já as fêmeas do grupo controle receberam solução salina (i.p) no mesmo dia gestacional. O VPA (Depakene®, Laboratório Abbott) foi dissolvido em solução salina a uma concentração de 600 mg/mL.

No vigésimo primeiro dia pós-natal (PND21) a prole passou pelo desmame e foi aleatoriamente distribuída após sexagem em grupos experimentais, conforme segue:

- Grupo VEH/VEH: animais controle sem indução pré-natal com VPA e sem tratamento, sendo machos (n=6) e fêmeas (n=6);
- Grupo VPA/VEH: animais com indução pré-natal com VPA e tratados com solução veículo, sendo machos (n=6) e fêmeas (n=6);
- Grupo VPA/ARI: animais com indução pré-natal com VPA e tratados com aripiprazol 1,5mg/kg i.p uma vez durante 15 dias consecutivos, sendo machos (n=6) e fêmeas (n=6).

Figura 1: Delineamento experimental

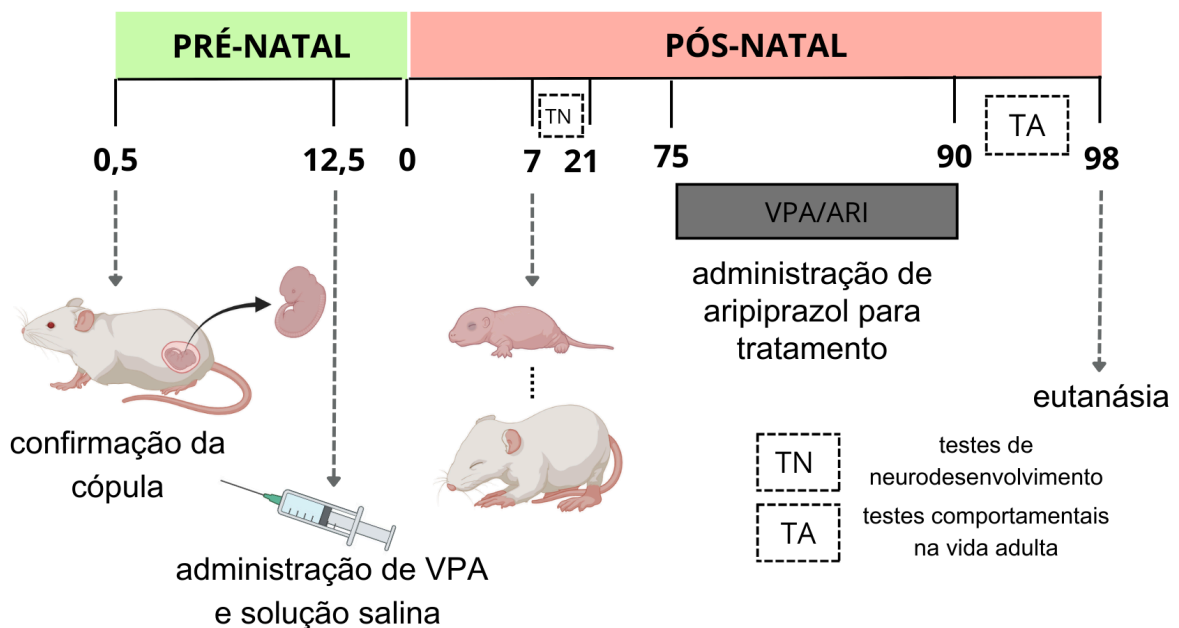


Figura 1: Delineamento experimental. TN = testes de neurodesenvolvimento (infância). TA = testes comportamentais na vida adulta.

4.4 TESTES COMPORTAMENTAIS

Os experimentos foram realizados em dois períodos de desenvolvimento da prole: 1. Infância (do dia 7 ao dia 21 pós-natal) e 2. Adultos (do dia 90 ao dia 97 pós-natal). Os testes de neurodesenvolvimento tiveram o objetivo de confirmar a indução do VPA. Os experimentos foram conduzidos em grupos de machos e fêmeas separadamente. Todos os testes comportamentais foram realizados durante o período da manhã, e no intervalo entre cada animal, todos os aparatos foram higienizados com álcool 10%.

4.4.1 MASSA CORPORAL

Os animais foram colocados em cima de uma balança para a medição de massa corporal nos dias 7, 14 e 21 pós-natal. A exposição pré-natal ao VPA pode resultar em menor

peso corporal da prole, indicando impacto no desenvolvimento físico além das alterações comportamentais observadas nesse modelo (SAILER *et al.*; 2019). Essa redução do peso tem sido descrita tanto no período pós-natal quanto em fases mais tardias do desenvolvimento, sugerindo que o VPA interfere no crescimento desde as etapas iniciais (SAILER *et al.*; 2019). Assim, o menor peso corporal identificado em animais expostos ao VPA é consistente com o que tem sido documentado em outros trabalhos e deve ser considerado na interpretação dos resultados, já que alterações no crescimento podem influenciar outros parâmetros comportamentais avaliados.

4.4.2 GEOTAXIA NEGATIVA

A geotaxia negativa é uma resposta automática e movimento direcional não aprendido contra pistas gravitacionais. No contexto do TEA é utilizada como um marcador comportamental do modelo no neurodesenvolvimento (SCHNEIDER; PRZEWLOCKI, 2005). Nesse experimento foi utilizada uma plataforma retangular coberta por tecido áspero. A prole foi testada em três dias consecutivos, sendo: DPN7, DPN8 e DPN9. Os filhotes eram mantidos individualmente em um plano inclinado de 45° e o tempo para girar completamente em direção ao plano superior, ou seja, 180°, foi registrado no tempo limite de 60 segundos.

4.4.3 ABERTURA DOS OLHOS

A abertura dos olhos é um marco importante do desenvolvimento pós-natal, por representar um sinal externo da maturação adequada do sistema nervoso central em vertebrados (STROMLAND, PINAZO-DURAN apud PODGORAC *et al.*; 2016). Esse parâmetro foi avaliado por meio de um índice de maturação ocular, no qual 0 corresponde à ausência de abertura, 1 indica abertura de um olho e 2 representa a abertura de ambos os olhos. No modelo induzido por VPA, estudos descrevem atraso nesse processo, indicando impacto direto da exposição pré-natal sobre a maturação neurofisiológica (PZEWLOCKI, SCHNEIDER apud PODGORAC *et al.*; 2016). Dessa forma, o monitoramento da abertura dos olhos constitui uma medida relevante para a avaliação precoce de alterações no desenvolvimento sensorial e neurobiológico associadas ao modelo VPA.

4.4.4 TESTE DE CAMPO ABERTO

A atividade locomotora e exploratória espontânea dos animais foi avaliada através do teste do campo aberto (CA). Espera-se uma tendência espontânea do animal de evitar a zona central desprotegida e concentrar sua permanência na zona periférica, permitindo assim a

avaliação de comportamentos semelhantes à ansiedade (KRAEUTER *et al.*; 2019). Os animais foram individualmente colocados no centro de um campo quadrado de acrílico (42 cm × 42 cm × 42 cm), sendo o piso dividido em 12 quadrados de tamanhos iguais. Nesse protocolo foram observados o tempo total em segundos na zona central, e distância total percorrida durante 6 minutos. Os animais eram filmados por meio de uma câmera de vídeo posicionada acima do CA, e eram monitorados em uma sala adjacente por meio de uma câmera de TV.

4.4.5 TESTE DO LABIRINTO EM CRUZ ELEVADO

A avaliação de comportamento tipo ansioso foi realizada em um aparato de madeira (50 cm de comprimento × 10 cm de largura), com dois braços abertos e dois braços fechados e paredes de 50 cm, elevado 50 cm do chão. Cada animal foi individualmente colocado no centro do aparato voltado para um dos braços abertos. O número de entradas nos braços abertos e fechados e o tempo gasto em cada braço foi registrado durante 6 minutos. O tempo de permanência do animal na interseção entre os braços abertos e fechados não foi considerado. O comportamento na atividade nos braços abertos reflete um conflito entre a preferência do roedor por áreas protegidas (por exemplo, braços fechados) e sua motivação inata para explorar novos ambientes. O aumento da exploração nos braços abertos pelos roedores é interpretado como uma tendência de comportamento menos ansioso, mas muito tempo nos braços abertos pode ser comportamento de risco.

4.4.6 TESTE DO RECONHECIMENTO DE OBJETOS

Na avaliação da capacidade de reconhecimento de um estímulo previamente apresentado foi utilizado o mesmo aparato do teste de campo aberto. Na fase de habituação (campo aberto), o animal explorou livremente a arena sem a presença de objetos. Já na fase de familiarização, que ocorreu 24 horas depois, o animal foi colocado na mesma arena contendo dois objetos idênticos (A + A) durante 10 minutos. No dia seguinte é realizada a fase de teste no qual o animal é colocado na arena com dois objetos, um é idêntico ao da fase anterior e o outro é novo (A + B), e o animal explorou livremente durante 10 minutos. O tempo no qual o animal passou explorando cada objeto foi cronometrado em segundos. O índice de reconhecimento foi calculado a partir da fórmula: $IR = B \div (B + A)$. Em que B é igual ao tempo gasto explorando o novo objeto e A é igual ao tempo gasto explorando o objeto familiar.

4.4.7 TESTE DE SOCIABILIDADE E PREFERÊNCIA POR NOVIDADE SOCIAL

O teste de três câmaras de sociabilidade e preferência por novidade social avalia a preferência do roedor por interagir com um estímulo social versus um estímulo não social.

O protocolo inicia na fase de habituação em que o animal foi individualmente colocado no aparato vazio de três câmaras. Foi utilizada uma caixa de madeira retangular contendo três câmaras (100 cm × 100 cm × 35 cm), com tamanhos iguais e divisórias que permitiram o livre acesso dos animais entre as câmaras. Gaiolas de diâmetro de 15 cm; altura de 30 cm) foram colocados em cada uma das câmaras laterais para abrigar animais desconhecidos. O teste foi realizado em três fases, sendo:

- Fase de habituação: cada animal foi individualmente colocado na área central do aparato e autorizado a explorar por 10 minutos. As extremidades do aparato permaneceram com as gaiolas vazias;
- Fase de sociabilidade: iniciada após a fase anterior, em que um rato desconhecido de mesma idade e sexo do animal experimental foi colocado em uma das gaiolas da extremidade do aparato. O animal experimental foi autorizado a explorar livremente durante 10 minutos. O tempo de permanência em segundos em cada área e o tempo de exploração, considerado como cheirar ou tocar, foi cronometrado;
- Fase de preferência por novidade social: após a fase anterior, um novo rato desconhecido de mesma idade e sexo foi colocado na gaiola da câmara oposta, de forma em que as duas extremidades apresentavam um animal engaiolado. O animal experimental foi novamente colocado no aparato e autorizado a explorar por mais 10 minutos. Nessa fase foi cronometrado o tempo de permanência em segundos em cada uma das câmaras e o tempo de interação com o rato familiar e o rato desconhecido.

4.4.8 TESTE DE CONDICIONAMENTO AO MEDO CONTEXTUAL

No primeiro dia de teste denominado como fase de aquisição, os animais foram individualmente colocados em um aparato com formato quadrado que possuía uma parede acrílica e três paredes de metal. O aparato possui pequenas barras de ferro na parte inferior, que é responsável por liberar o estímulo aversivo. Nesse contexto, eles receberam um choque elétrico nas patas após 3 minutos. Na segunda sessão, iniciada após 30 segundos da anterior, os animais receberam o segundo choque. Na terceira sessão, também iniciada 30 segundos após a anterior, os animais receberam o último choque no aparato e foram retirados após 1 minuto. No segundo dia de teste ocorreu a fase de extinção na qual cada animal foi individualmente colocado na caixa de condicionamento. Nessa sessão foi avaliado e

cronometrado (segundos) durante 5 minutos o comportamento de congelamento, caracterizado pela ausência total de movimento, exceto o necessário para respirar, e relaxamento dos animais. A extinção nesse caso não é a erradicação da memória, mas sim um novo aprendizado de que o contexto não prevê mais o choque.

4.5 EUTANÁSIA

Os animais foram anestesiados i.p com cetamina 300mg/kg e xilazina 3mg/kg e perfundidos com solução salina 0,9%, seguida de paraformaldeído 4%. Os encéfalos foram removidos da calota craniana para análises futuras.

4.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

As análises estatísticas foram realizadas pelo software GraphPad Prism versão 9.0 (GraphPad Software, San Diego, EUA). Os resultados foram analisados por análise de variância (ANOVA) de uma ou duas vias, para os fatores de grupos e sexo, seguida do teste *post hoc* de comparação múltipla de Sidak's multiple comparisons test ou Tukey's multiple comparisons test para casos de efeito significativo. Os resultados foram expressos como média \pm erro padrão da média (E.P.M.) e foram considerados significativos os valores de $p < 0,05$.

5. RESULTADOS

5.1 MASSA CORPORAL

A avaliação da massa corporal ao longo do desenvolvimento pós-natal mostrou que os grupos VPA e controle apresentaram valores semelhantes nos dias pós-natal 7, 14 e 21 (DPN7, DPN14 e DPN21). Em ambos os grupos, observou-se um aumento progressivo do peso ao longo das três semanas analisadas, acompanhando o padrão esperado de desenvolvimento. Dessa forma, nas condições experimentais deste estudo, a exposição pré-natal ao VPA não promoveu alterações detectáveis no ganho de peso corporal dos filhotes durante o período avaliado.

Figura 2: Peso corporal dos animais nos dias pós-natal 7, 14 e 21.

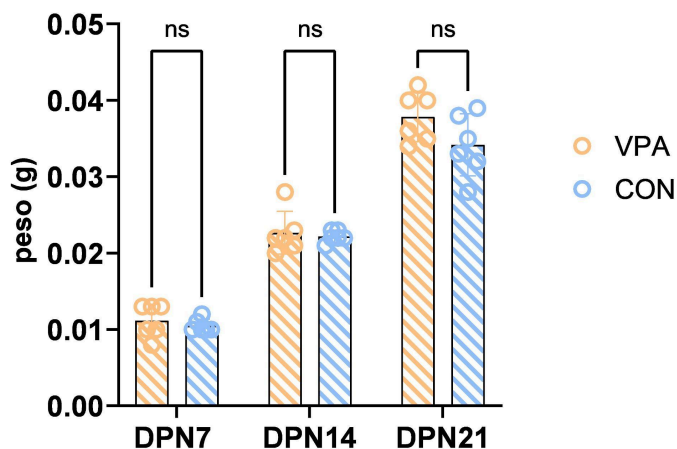


Figura 2: Peso corporal dos animais nos dias pós-natal 7, 14 e 21. Não foram observadas diferenças significativas entre os grupos em nenhum dos períodos avaliados (ns). Valores expressos como média \pm EPM. ns = não significativo ($p > 0,05$). DPN = dia pós natal.

5.2 GEOTAXIA NEGATIVA

No teste de geotaxia, observou-se que no DPN7 não houve diferença significativa entre os grupos, indicando desempenho semelhante nesse período inicial. Entretanto, no DPN8 os animais expostos ao VPA apresentaram aumento significativo no tempo para completar a tarefa em comparação ao grupo controle ($p < 0,01$), sugerindo atraso no desenvolvimento motor reflexo. Esse padrão se manteve no DPN9, em que o grupo VPA também apresentou maior latência para realizar a manobra de geotaxia em relação ao controle ($p < 0,05$). Esses resultados indicam que a exposição pré-natal ao VPA prejudica o desempenho na geotaxia especialmente entre os dias pós-natal 8 e 9, revelando atraso na maturação motora dos filhotes.

Figura 3: Desempenho no teste de geotaxia nos dias pós-natal 7, 8 e 9.

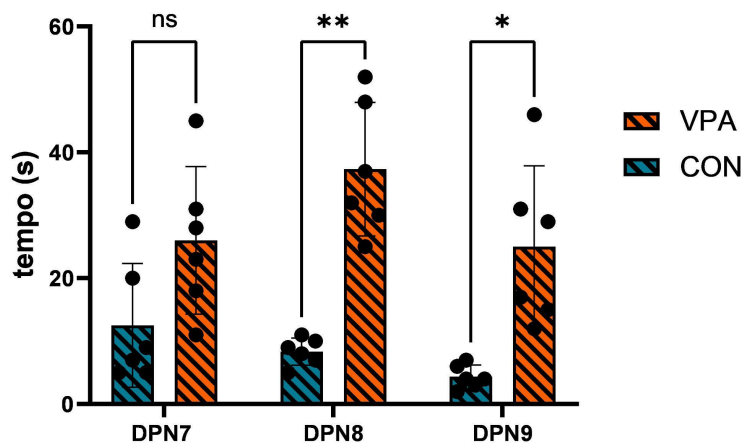


Figura 3: Desempenho no teste de geotaxia nos dias pós-natal 7, 8 e 9. Valores expressos como média \pm EPM. ns = não significativo ($p > 0,05$); * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$. CON = controle; VPA = ácido valproico.

5.3 ÍNDICE DE ABERTURA DOS OLHOS

Entre os dias pós-natal 12 e 15, observou-se um aumento progressivo desse índice em ambos os grupos, refletindo o avanço esperado do desenvolvimento físico. No DPN12, nenhum dos filhotes apresentou abertura ocular. No DPN13, iniciou-se o processo em ambos os grupos, com os animais VPA exibindo valores discretamente menores que os controles. No DPN14, a maioria dos filhotes já apresentava abertura parcial ou total dos olhos, embora o grupo VPA ainda se mantivesse um pouco abaixo do controle. No DPN15, todos os animais alcançaram a abertura completa, não havendo diferenças entre os grupos. Assim, apesar de pequenas variações intermediárias, não foi observado atraso significativo na abertura dos olhos em animais expostos ao VPA nas condições deste estudo.

Figura 4: índice de abertura dos olhos

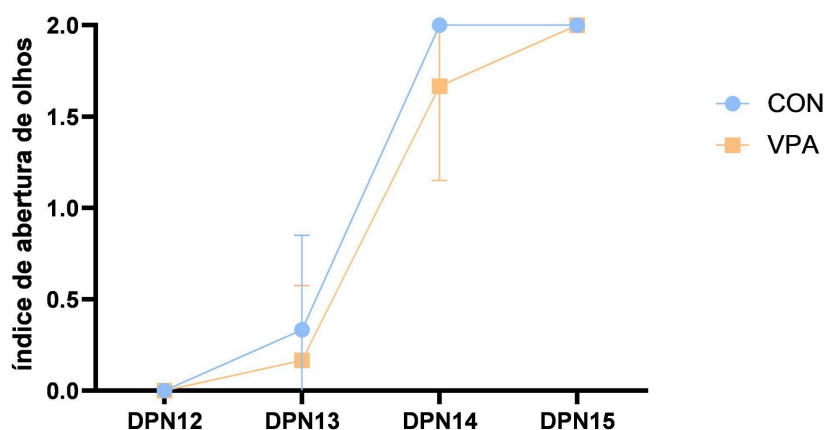


Figura 4: Índice de abertura dos olhos. Valores expressos como média \pm EPM. ns = não significativo. CON = controle; VPA = ácido valproico; DPN = dia pós natal.

5.4 TESTE DO CAMPO ABERTO

O teste de campo aberto avalia ansiedade e busca por novidades. Os animais tendem a evitar o centro, permanecendo na periferia, considerada zona mais segura. Desse modo:

- O animal que permanece mais tempo no centro indica comportamento menos ansioso / mais busca por novidade / possível comportamento de risco;
- O animal que permanece mais tempo na periferia indica comportamento mais ansioso;

A figura 4 ilustra os dados objetivos no teste de campo aberto. Não foram observadas diferenças significativas entre o grupo controle e o grupo VPA em relação ao tempo total gasto na zona central da arena. Apesar disso, verificou-se que os animais expostos ao VPA permaneceram mais tempo no centro do que os animais tratados com aripiprazol, sugerindo possível aumento de comportamento de risco, ainda que esse dado isolado não seja

conclusivo. Considerando que o tratamento com aripiprazol apresentou diferença estatisticamente significativa, foi realizada uma análise adicional separada por sexo para avaliar se o efeito do tratamento difere entre machos e fêmeas. Observou-se diferença significativa no efeito do tratamento ($p = 0,0481$), porém sem efeito dependente do sexo.

Figura 5: Teste de campo aberto

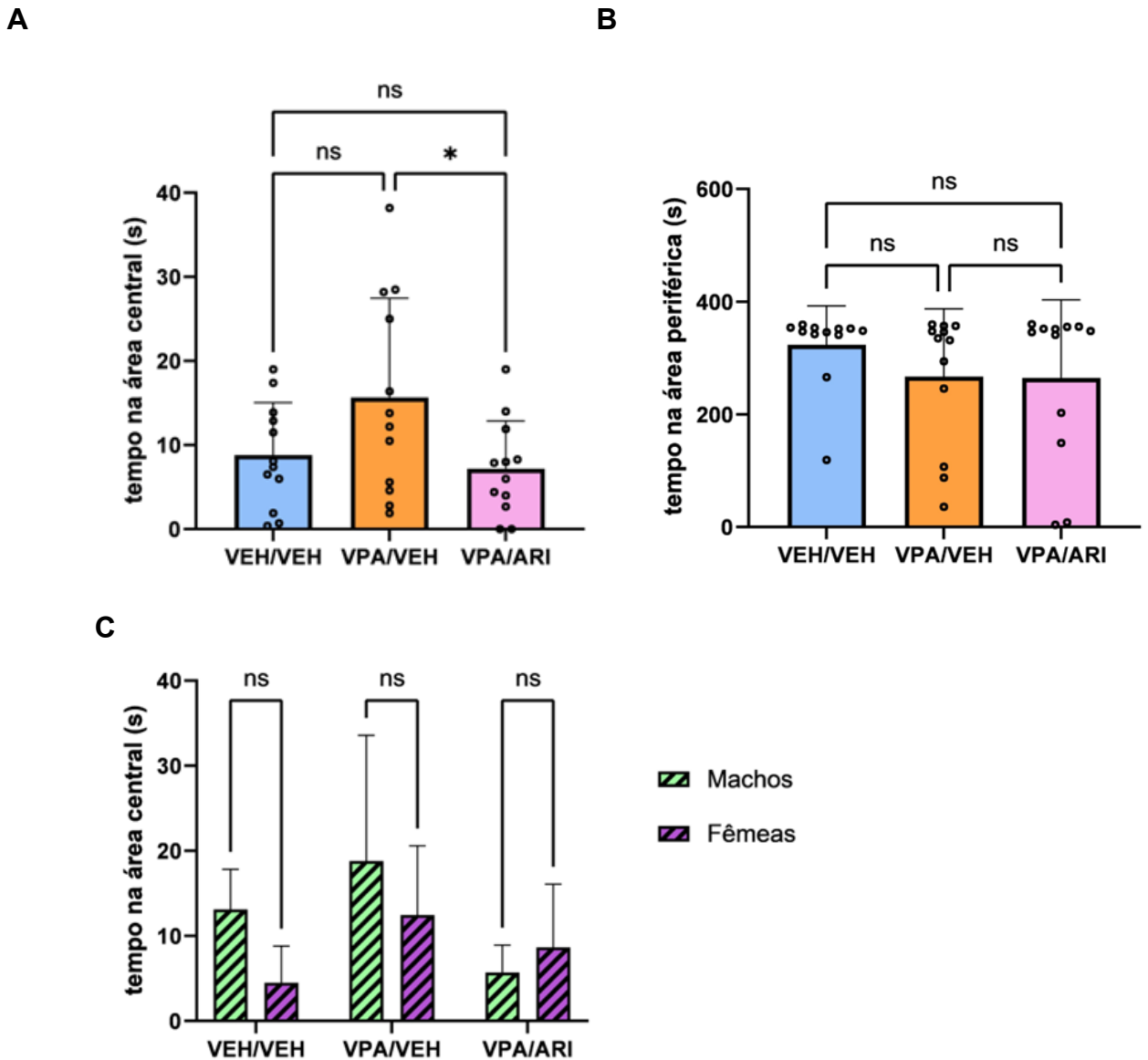


Figura 5: Teste de campo aberto. (A) Tempo total na zona central da arena. (B) Tempo total na zona de periferia. (C) Análise por sexo mostrando ausência de diferenças significativas entre machos e fêmeas. Valores expressos como média \pm EPM. ns = não significativo; * $p = 0,0481$. VEH = veículo; VPA = ácido valproico; ARI = aripiprazol.

5.5 TESTE DO LABIRINTO EM CRUZ ELEVADO

No labirinto elevado, que avalia ansiedade e exposição ao risco, os animais VPA apresentaram aumento significativo no tempo gasto nos braços abertos em comparação com o

grupo controle e o grupo tratado ($p < 0,0001$) (figura 5). Esse achado poderia, isoladamente, apontar para redução de ansiedade; todavia, quando interpretado em conjunto com o teste de campo aberto, o padrão sugere comportamento de risco aumentado, indicando potenciais alterações na modulação emocional dos animais expostos ao VPA (A). Essa interpretação ainda está sendo aprofundada, com análises adicionais e revisão da literatura em andamento para esclarecer se o aumento de tempo nos braços abertos representa redução de ansiedade ou comportamento de risco. A análise por sexo não mostrou diferenças estatisticamente significativas, revelando que o efeito do aripiprazol não depende do sexo dos animais.

Figura 6: Teste do labirinto em cruz elevado

A

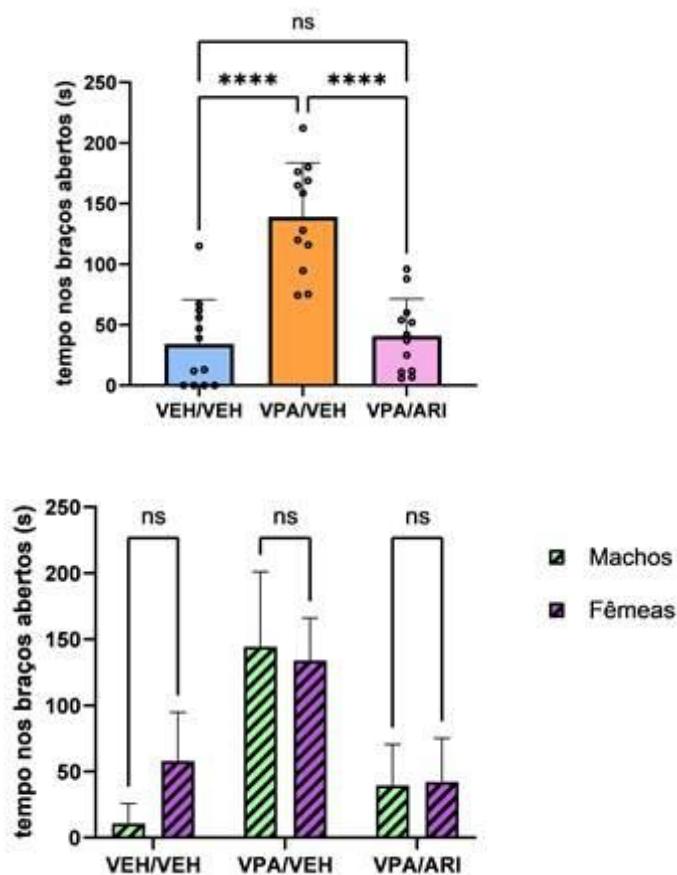


Figura 6: Teste do labirinto em cruz elevado. (A) Tempo nos braços abertos. (B) Tempo nos braços abertos na análise por sexo. Valores expressos como média \pm EPM. ns = não significativo; * $p < 0,05$; **** $p < 0,0001$. VEH = veículo; VPA = ácido valproico; ARI = aripiprazol.

5.6 TESTE DO RECONHECIMENTO DE OBJETOS

A avaliação da memória por meio do teste de reconhecimento de objeto demonstrou que o grupo VPA apresentou índice de discriminação significativamente menor em comparação ao controle ($p = 0,0310$), indicando prejuízo na memória de reconhecimento, característica frequentemente encontrada em modelos animais de TEA. O tratamento com aripiprazol não produziu melhora nesse parâmetro, não alterando o desempenho dos animais.

Figura 7: Teste do reconhecimento de objetos

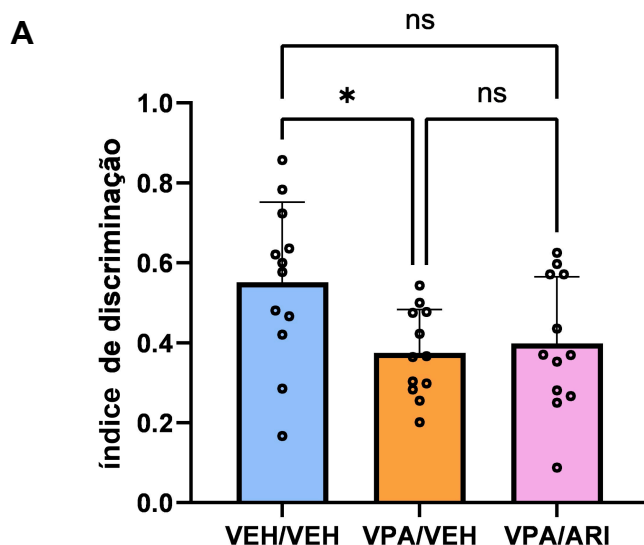


Figura 7: Teste do reconhecimento de objetos. (A) Índice de discriminação. * $p = 0,0310$. Média \pm EPM. VEH = veículo; VPA = ácido valproico; ARI = aripiprazol.

5.7 TESTE DE SOCIABILIDADE

Na fase de preferência por novidade social, não foram verificadas diferenças significativas entre os grupos controle e VPA, sugerindo que, neste protocolo específico, o modelo VPA não apresentou um comprometimento evidente da sociabilidade. Entretanto, o grupo tratado com aripiprazol apresentou redução significativa no tempo de interação com o animal desconhecido ($p = 0,0228$), efeito cuja causa ainda necessita investigação. A análise por sexo não revelou influência dessa variável sobre os resultados.

Figura 8: Teste de sociabilidade

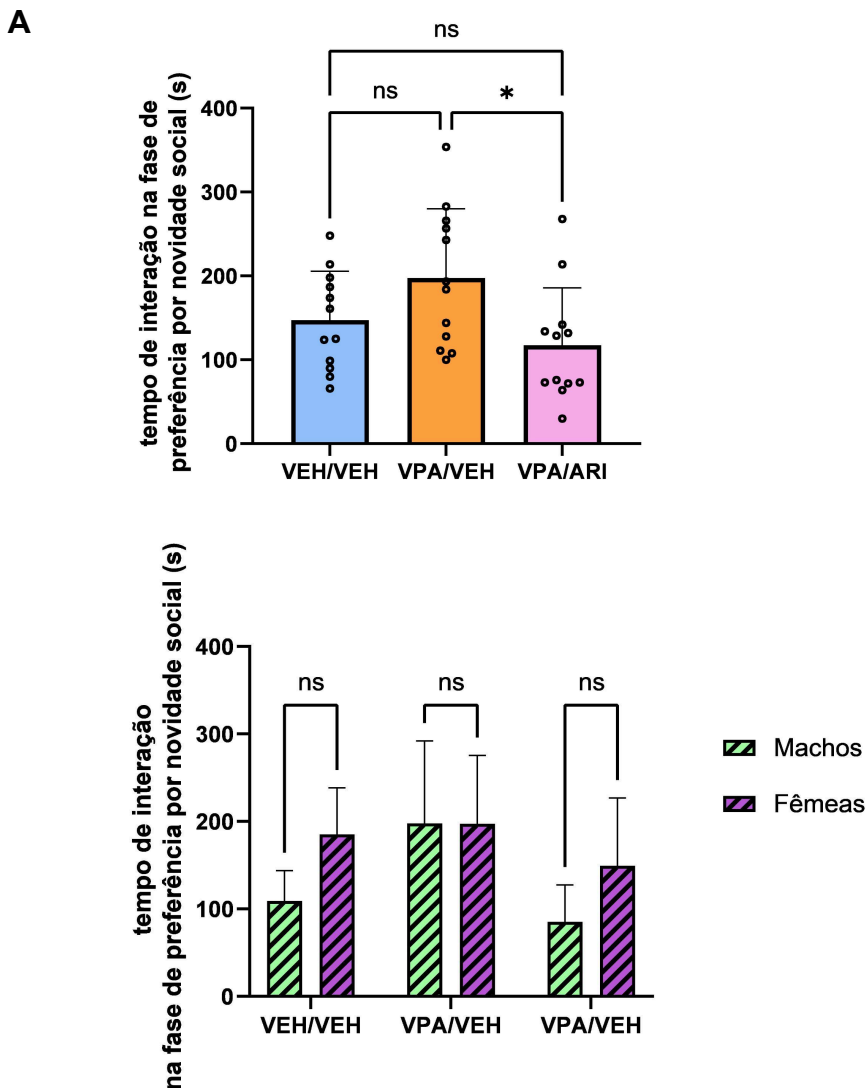


Figura 8: Teste de sociabilidade – preferência por novidade social. (A) Tempo de interação com o animal desconhecido. (B) Tempo de interação social na análise por sexo. Valores expressos como média \pm EPM. ns = não significativo; * $p < 0,05$; * $p = 0,0228$. VEH = veículo; VPA = ácido valproico; ARI = aripirazol.

5.8 TESTE DE CONDICIONAMENTO AO MEDO

No condicionamento ao medo, o grupo VPA apresentou redução expressiva no comportamento de freezing quando comparado ao grupo controle ($p < 0,0001$), indicando prejuízo na aprendizagem associativa e/ou na resposta emocional frente ao estímulo aversivo. O tratamento com aripirazol aumentou significativamente o tempo de freezing em relação ao grupo VPA não tratado ($p = 0,0050$), sugerindo um possível efeito restaurador na resposta

emocional ou no processo de aprendizagem associativa. A análise por sexo demonstrou que o efeito do aripirazol não é dependente do sexo dos animais.

Figura 9: Teste de condicionamento ao medo

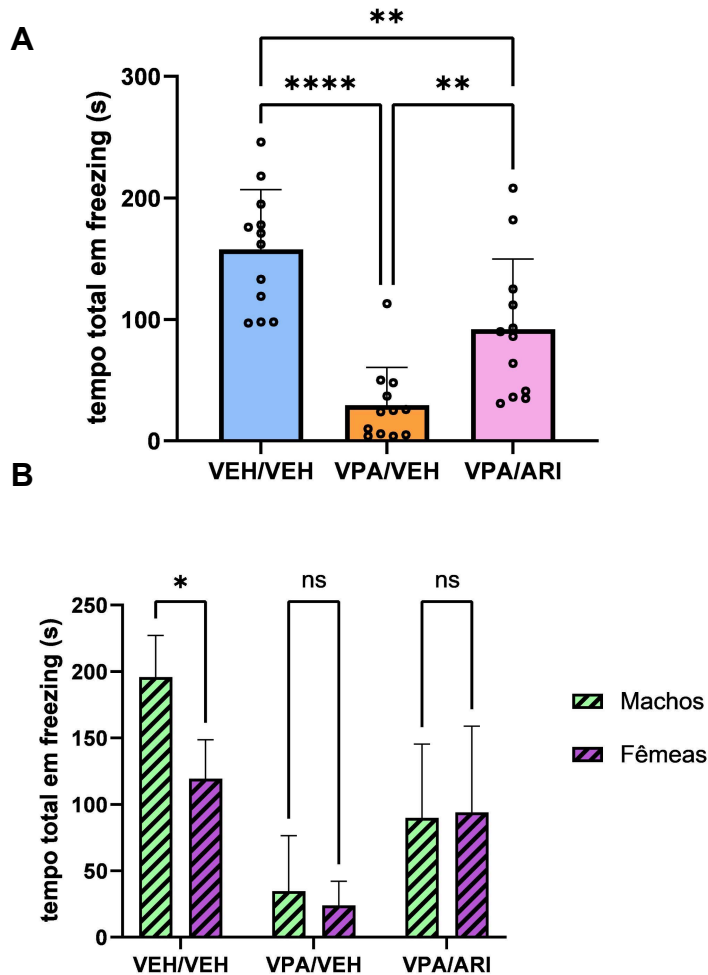


Figura 9: Teste de condicionamento ao medo. (A) Tempo de freezing durante o teste. (B) Tempo de freezing durante o teste na análise por sexo. Valores expressos como média \pm EPM. ns = não significativo; ** $p = 0,005$; **** $p < 0,0001$. VEH = veículo; VPA = ácido valproico; ARI = aripirazol.

6. DISCUSSÃO

Os resultados deste estudo indicam que a exposição pré-natal ao VPA gerou alterações específicas no desenvolvimento e no comportamento dos animais, sobretudo nos domínios motor e emocional. No período neonatal, não foram observadas diferenças entre os grupos no peso corporal ou latência para a abertura dos olhos, sugerindo que esses marcos físicos não foram afetados pelo VPA nas condições experimentais empregadas. No entanto, o teste de geotaxia revelou atraso motor transitório entre DPN8 e DPN9, indicando que o VPA foi capaz

de interferir em aspectos pontuais da maturação sensório-motora precoce, mesmo na ausência de prejuízos generalizados nos demais marcos avaliados.

Na fase juvenil-adulta, os testes comportamentais mostraram um padrão consistente de prejuízo na emocionalidade dos animais expostos ao VPA. No campo aberto e no labirinto em cruz elevado, o grupo VPA apresentou maior exploração de regiões aversivas, comportamento que poderia ser interpretado, isoladamente, como redução de ansiedade. Contudo, ao ser analisado em conjunto com a expressiva diminuição de freezing no condicionamento ao medo, esse padrão é mais compatível com maior exposição ao risco e prejuízo na avaliação de situações potencialmente ameaçadoras. Assim, os dados convergem para a interpretação de que o VPA afeta mecanismos relacionados à modulação emocional.

O tratamento com aripiprazol reduziu parte desses efeitos, aumentando o freezing no condicionamento ao medo e diminuindo a tendência de exposição exagerada a áreas aversivas. Esse resultado sugere que o fármaco exerce algum benefício em comportamentos relacionados à emocionalidade. No entanto, não foram observadas melhorias na sociabilidade ou na memória de reconhecimento, indicando que o aripiprazol não modificou esses domínios nas condições avaliadas.

Dessa forma, o conjunto dos dados demonstra que o modelo VPA utilizado reproduziu alterações emocionais e motoras iniciais, mas não apresentou déficits robustos de sociabilidade ou memória. Avaliações adicionais em andamento poderão contribuir para aprofundar a interpretação dos efeitos observados e para verificar com maior precisão a extensão das alterações comportamentais associadas ao tratamento.

7. CONCLUSÃO

Os resultados demonstram que a exposição pré-natal ao VPA produziu um atraso motor transitório no teste de geotaxia, mas não alterou o peso corporal ou o processo de abertura dos olhos dos filhotes. Na fase juvenil-adulta, os animais VPA apresentaram maior exploração de áreas aversivas no campo aberto e no labirinto em cruz elevado, além de redução marcante do freezing no condicionamento ao medo, indicando um possível prejuízo na modulação emocional e aumento do comportamento de risco. O tratamento com aripiprazol atenuou parcialmente esses efeitos, sobretudo ao aumentar o freezing e reduzir a exposição excessiva a estímulos aversivos, mas não melhorou a sociabilidade ou a memória de reconhecimento. Portanto, conclui-se que o modelo VPA empregado reproduz principalmente alterações emocionais e motoras iniciais, enquanto o aripiprazol apresenta efeito restrito e voltado apenas aos comportamentos relacionados à emocionalidade. Análises

complementares ainda em andamento poderão aprofundar a compreensão dos fenômenos observados e esclarecer a extensão dos efeitos do fármaco nesse modelo experimental.

REFERÊNCIAS

ANGELAKOS, C. C. et al. Home-cage hypoactivity in mouse genetic models of autism spectrum disorder. *Neurobiology of Learning and Memory*, v. 165, p. 107000, 2019. DOI: 10.1016/j.nlm.2019.02.010.

BOSSU, J. L.; ROUX, S. Les modèles animaux d'étude de l'autisme – Le modèle « valproate ». *Med Sci (Paris)*, v. 35, n. 3, p. 236-243, 2019. DOI: 10.1051/medsci/2019036.

CHEONG, Y. et al. Dissecting the heterogeneity of autism spectrum disorder with sensory behavior, brain, and epigenetic factors. *Translational Psychiatry*, v. 15, n. 337, 2025. DOI: 10.1038/s41398-025-03566-2.

DOUTOR, G. C. et al. Effectiveness and safety of risperidone and aripiprazole in treating autism spectrum disorder: a narrative review. *Revista de Medicina, São Paulo*, v. 104, n. 1, e-227101, 2025. DOI: <https://doi.org/10.11606/issn.1679-9836.v104i1e-227101>

DSM-V: Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais. 5. ed. Arlington: American Psychiatric Association, 2013.

EISSA N, AL-HOUQANI M, SADEQ A, OJHA SK, SASSE A, SADEK B. Current Enlightenment About Etiology and Pharmacological Treatment of Autism Spectrum Disorder. *Front Neurosci*. 2018 May 16;12:304. doi: 10.3389/fnins.2018.00304. PMID: 29867317; PMCID: PMC5964170.

GESCHWIND, D. H. Genetics of autism spectrum disorders. *Trends in Cognitive Sciences*, v. 15, n. 9, p. 409-416, 2011. DOI: 10.1016/j.tics.2011.07.003.

GHANIZAEH, A., SAHRAEIZADEH, A. BERK, M. Comparação direta de aripiprazol e risperidona quanto à segurança e ao tratamento de transtornos do espectro autista: um ensaio clínico randomizado duplo-cego. *Child Psychiatry Hum Dev* 45 , 185–192 (2014). <https://doi.org/10.1007/s10578-013-0390-x>

HODIS, B.; MUGHAL, S.; SAADABADI, A. Autism Spectrum Disorder. In: StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2025. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30247851/>. Acesso em: 29 nov. 2025.

JIAO, D. et al. Estabelecimento de modelos animais e estudos comportamentais para transtornos do espectro autista. *Journal of International Medical Research*, v. 52, n. 4, 2024. DOI: 10.1177/03000605241245293.

JIANG, Y. H.; EHLERS, M. D. Modeling autism by SHANK gene mutations in mice. *Neuron*, v. 78, n. 1, p. 8-27, 2013. DOI: 10.1016/j.neuron.2013.03.016.

KRAEUTER, A. K.; GUEST, P. C.; SARNYAI, Z. The Open Field Test for Measuring Locomotor Activity and Anxiety-Like Behavior. *Methods in Molecular Biology*, v. 1916, p. 99-103, 2019. DOI: 10.1007/978-1-4939-8994-2_9.

KILICASLAN, F.; TUFAN, A. E. Autism spectrum disorder: comorbidity and demographics in a clinical sample. *International Journal of Developmental Disabilities*, v. 70, n. 2, p. 241-250, 2022. DOI: 10.1080/20473869.2022.2074242.

LAMANNA, J.; MELDOLESI, J. Autism Spectrum Disorder: Brain Areas Involved, Neurobiological Mechanisms, Diagnoses and Therapies. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 25, n. 4, p. 2423, 2024. DOI: 10.3390/ijms25042423.

LORD, C. et al. Autism spectrum disorder. *Nature Reviews Disease Primers*, v. 6, p. 5, 2020. DOI: 10.1038/s41572-019-0138-4.

MASINI, E. et al. An overview of the main genetic, epigenetic, and environmental factors involved in autism spectrum disorder focusing on synaptic activity. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 21, n. 21, p. 8290, 2020. DOI: 10.3390/ijms21218290.

MILLER, L. E. et al. Characteristics of toddlers with early versus later diagnosis of autism spectrum disorder. *Autism*, v. 25, n. 2, p. 416-428, 2021. DOI: 10.1177/1362361320959507.

NAPOLITANO, A. et al. Sex differences in autism spectrum disorder: diagnostic, neurobiological, and behavioral features. *Frontiers in Psychiatry*, v. 13, p. 889636, 2022. DOI: 10.3389/fpsyt.2022.889636.

ORNOY, A.; ECHEFU, B.; BECKER, M. Valproic acid in pregnancy revisited: neurobehavioral, biochemical and molecular changes affecting the embryo and fetus in humans and animals: a narrative review. *International Journal of Molecular Sciences*, Basel, v. 25, n. 1, p. 390, 2024. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms25010390>

PATTERSON, P. H. Modeling autistic features in animals. *Pediatric Research*, v. 69, n. 5 Pt 2, p. 34R-40R, 2011. DOI: 10.1203/PDR.0b013e318212b80f.

PODGORAC, J.; PEŠIĆ, V.; PAVKOVIĆ, Ž.; MARTAĆ, L.; KANAZIR, S.; FILIPOVIĆ, L.; SEKULIĆ, S. Early physical and motor development of mouse offspring exposed to valproic acid throughout intrauterine development. *Behavioural Brain Research*, v. 311, p. 99-109, 2016. DOI: 10.1016/j.bbr.2016.05.023.

SAILER, L.; DUCLOT, F.; WANG, Z. et al. Consequences of prenatal exposure to valproic acid in the socially monogamous prairie voles. *Scientific Reports*, v. 9, p. 2453, 2019. DOI: 10.1038/s41598-019-39014-7.

SCHAAF, R. C. et al. Forwarding the science of sensory features in autism and related conditions. *Journal of Autism and Developmental Disorders*, v. 54, n. 7, p. 2663-2667, 2024. DOI: 10.1007/s10803-023-05959-y.

SCHNEIDER, T., PRZEWLOCKI, R. Behavioral Alterations in Rats Prenatally Exposed to Valproic Acid: Animal Model of Autism. *Neuropsychopharmacol* 30, 80–89 (2005). <https://doi.org/10.1038/sj.npp.1300518>

SINGHI, P.; MALHI, P. Early diagnosis of autism spectrum disorder: what the pediatricians should know. *Indian Journal of Pediatrics*, v. 90, n. 4, p. 364-368, 2023. DOI: 10.1007/s12098-022-04363-1.

TALEB, A. et al. Emerging mechanisms of valproic acid-induced neurotoxic events in autism and its implications for pharmacological treatment. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, v. 137, p. 111322, 2021. DOI: 10.1016/j.biopha.2021.111322.

ZHANG, L.; ZHU, Y. X.; GU, L. J.; CHENG, Y. Understanding autism spectrum disorders with animal models: applications, insights, and perspectives. *Zoological Research*, v. 42, n. 6, p. 800-824, 2021. DOI: 10.24272/j.issn.2095-8137.2021.251.

ZARATE-LOPEZ, D. et al. Three decades of valproate: a current model for studying autism spectrum disorder. *Current Neuropharmacology*, v. 22, n. 2, p. 260-289, 2024. DOI: 10.2174/1570159X22666231003121513.

ZIVANIT ERGAZ, L.; WEINSTEIN-FUDIM, L.; ORNOY, A. Genetic and non-genetic animal models for autism spectrum disorders (ASD). *Reproductive Toxicology*, v. 64, p. 116-140, 2016. DOI: 10.1016/j.reprotox.2016.04.024.