

**UNIVERSIDADE DO EXTREMO SUL CATARINENSE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE
MESTRADO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**

EDUARDO DI OLIVEIRA PIRES

**PARÂMETROS MOTORES E COMPORTAMENTAIS EM RATOS WISTAR
MACHOS E FÊMEAS SUBMETIDOS AO MODELO DE AUTISMO INDUZIDO
POR ÁCIDO VALPRÓICO**

CRICIÚMA, DEZEMBRO DE 2025

EDUARDO DI OLIVEIRA PIRES

**PARÂMETROS MOTORES E COMPORTAMENTAIS EM RATOS WISTAR
MACHOS E FÊMEAS SUBMETIDOS AO MODELO DE AUTISMO INDUZIDO
POR ÁCIDO VALPRÓICO**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa
de Pós-Graduação em Ciências da Saúde para
obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Cinara Ludvig Gonçalves

CRICIÚMA, DEZEMBRO DE 2025

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação

P667p Pires, Eduardo Di Oliveira.
Parâmetros motores e comportamentais em ratos
Wistar machos e fêmeas submetidos ao modelo de
autismo induzido por ácido valpróico / Eduardo Di
Oliveira Pires. - 2025.
49 p. : il.

Dissertação (Mestrado) - Universidade do
Extremo Sul Catarinense, Programa de Pós-
Graduação em Ciências da Saúde, Criciúma, 2025.
Orientação: Cinara Ludvig Gonçalves.

1. Transtornos do espectro autista. 2.
Neurodesenvolvimento. 3. Ácido valproico - Efeito
fisiológico. 4. Transtornos das habilidades
motoras. 5. Comportamento social. I. Título.

CDD. 22. ed. 616.85882


Bibliotecária Eliziane de Lucca Alosilla - CRB 14/1101
Biblioteca Central Prof. Eurico Back - UNESC



UNIVERSIDADE DO EXTREMO SUL CATARINENSE – UNESC
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA, PÓS-GRADUAÇÃO, INOVAÇÃO E EXTENSÃO
DIRETORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO STRICTO SENSU
Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde (Mestrado e Doutorado)
Recomendado pela CAPES – Homologado pelo CNE – Portaria Nº 609 de 14.03.2019

ATA DE MESTRADO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE – Nº 494

Com início às 10 (dez) horas do dia 16 (dezesesseis) de dezembro de 2025 (dois mil e vinte e cinco), realizou-se, na Sala 227/Bloco S, o seminário formal de apresentação dos resultados da Dissertação de Mestrado de **EDUARDO DI OLIVEIRA PIRES**, sob a orientação da **Profa. Dra. Cinara Ludvig Gonçalves**, intitulada **“PARÂMETROS MOTORES E COMPORTAMENTAIS EM RATOS WISTAR MACHOS E FÊMEAS SUBMETIDOS AO MODELO DE AUTISMO INDUZIDO POR ÁCIDO VALPRÓICO”**. A dissertação foi examinada por uma banca constituída pelos seguintes membros: Profa. Dra. Jaqueline da Silva Generoso (Universidade do Extremo Sul Catarinense – UNESC) – Conceito final: Aprovado, Profa. Dra. Fabricia Cardoso Petronilho (Universidade do Extremo Sul Catarinense – UNESC) – Conceito final: Aprovado, e Prof. Dr. Josiel Mileno Mack (Universidade do Sul Catarinense – UNISUL) – Conceito final: Aprovado. Com o resultado final: APROVADO, o aluno finalizou seus estudos em nível de Mestrado, fazendo jus ao grau de MESTRE EM CIÊNCIAS DA SAÚDE. Os trabalhos foram concluídos às 12h (doze) horas, dos quais eu, Henrique Manenti Felisberto, Secretário do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade do Extremo Sul Catarinense – UNESC, lavrei a presente ata, que assino juntamente com a Profa. Dra. Josiane Budni, Coordenadora do Programa. Criciúma, 16 (dezesesseis) de dezembro de 2025 (dois mil e vinte e cinco).


Profa. Dra. Josiane Budni
Coordenadora do PPGCS


Henrique Manenti Felisberto
Secretário do PPGCS

AGRADECIMENTOS

Ao concluir esta dissertação, reconheço que esta conquista não é fruto de um esforço isolado, mas sim o resultado de uma rede de apoio, incentivo e confiança que me sustentou durante toda a trajetória do mestrado.

À minha família, expresso minha gratidão eterna. A vocês, que sempre acreditaram nos meus sonhos e me ofereceram força nos momentos mais desafiadores. Em especial à minha esposa, Andrea Cavalcante de Aguiar Pires, meu porto seguro, cuja compreensão, paciência e amor tornaram possível cada passo desta jornada. Sua presença constante iluminou os dias difíceis e fortaleceu minhas convicções.

À minha orientadora, Prof^a. Dr^a. Cinara Ludvig Gonçalves, dedico um agradecimento especial. Seu acolhimento, sua sabedoria e sua dedicação foram fundamentais para meu crescimento acadêmico e pessoal. Obrigado por cada ensinamento, pela orientação precisa e pelo incentivo contínuo.

Agradeço também à Maiara de Aguiar da Costa, cuja contribuição foi essencial para o desenvolvimento deste projeto. Sua parceria e comprometimento fizeram toda a diferença.

A todos os professores do programa, meu sincero reconhecimento. Cada disciplina, cada diálogo e cada reflexão construíram, de maneira singular, a formação que hoje levo comigo.

Aos amigos que caminharam ao meu lado, agradeço por compartilharem não apenas estudos, mas vivências, angústias e conquistas. À Camila Guimarães e à Karine Borges, minha gratidão pela companhia nas viagens, pelos desesperos compartilhados e, sobretudo, pelas risadas que tornaram o caminho mais leve.

À Universidade de Rio Verde, representada pelo Magnífico Reitor Prof. Dr. Alberto Barela, agradeço pelo acolhimento institucional e pelas condições que permitiram a realização deste trabalho.

Por fim, e acima de tudo, agradeço a Deus, cuja graça e permissão tornaram possível cada capítulo desta história.

A todos, o meu mais profundo e sincero muito obrigado.

Resumo

O Transtorno do Espectro Autista (TEA) é um transtorno complexo, marcado por dificuldades de interação social, comunicação e comportamentos repetitivos, mas também por importantes déficits motores, que muitas vezes precedem ou acompanham os sintomas centrais. Nesse contexto, entender como o ácido valpróico (VPA) interfere no desenvolvimento físico, sensorio-motor e social de animais é essencial para compreender as alterações biológicas que podem ocorrer no TEA humano. Sendo assim, a presente pesquisa investigou parâmetros comportamentais com foco em aspectos motores de ratos machos e fêmeas submetidos ao modelo de exposição pré-natal ao VPA. O modelo animal de autismo por indução química, ocorre através da administração de VPA (600 mg/kg) no 12,5º dia gestacional. Após o nascimento, os filhotes foram divididos em dois grupos Salina-expostos e VPA-expostos. O estudo avaliou crescimento, reflexos iniciais de neurodesenvolvimento, coordenação motora e comportamento social em machos e fêmeas. Os dados revelaram que a exposição pré-natal ao VPA prejudicou de forma consistente o desenvolvimento dos filhotes, independentemente do sexo. Os animais VPA-expostos apresentaram menor ganho de peso ao longo do período pós-natal. Além disso, houve atraso no reflexo de abertura dos olhos, indicando comprometimento no desenvolvimento físico precoce. No conjunto de testes sensorio-motores, busca pelo ninho, *grid test* e remoção de adesivo, observou-se que os animais VPA exibiram maior latência para iniciar a busca, maior tempo de permanência na grade e maior tempo para remover o adesivo, sugerindo déficits em integração sensorio-motora e coordenação. Nos testes sociais, tanto machos quanto fêmeas expostos ao VPA apresentaram prejuízo na interação social, caracterizado por maior latência para iniciar contato, menor tempo de interação e redução do número de interações, além de menor flexibilidade comportamental diante da introdução de novos estímulos sociais. No teste de preferência social, embora o reconhecimento de objetos tenha sido preservado, os animais VPA-expostos mostraram alterações no padrão de exploração, especialmente maior permanência em zonas neutras ou não sociais, indicando menor motivação social. Em conclusão, a exposição pré-natal ao VPA produziu déficits semelhantes em machos e fêmeas, incluindo menor ganho de peso, atraso no desenvolvimento físico e prejuízos sensorio-motores e sociais. Embora ambos os sexos tenham sido amplamente afetados, observaram-se pequenas diferenças: os machos apresentaram maior latência para iniciar o contato social, enquanto as fêmeas mostraram reduções mais consistentes na manutenção da interação e na flexibilidade diante de estímulos sociais. Assim, apesar de o VPA impactar de forma global o desenvolvimento, os resultados indicam variações discretas entre machos e fêmeas na expressão dos déficits sociais.

Palavras-chave: transtorno do espectro autista, neurodesenvolvimento, ácido valpróico, modelo animal, desenvolvimento motor, comportamento social.

ABSTRACT

Autism Spectrum Disorder (ASD) is a complex condition characterized by difficulties in social interaction, communication, and repetitive behaviors, but also by important motor deficits that often precede or accompany the core symptoms. In this context, understanding how valproic acid (VPA) interferes with the physical, sensorimotor, and social development of animals is essential for clarifying the biological alterations that may occur in human ASD. Accordingly, the present study investigated how prenatal exposure to VPA affects motor and behavioral parameters in male and female rats. The study assessed growth, early reflexes, motor coordination, and social behavior in both sexes. Prenatal VPA exposure consistently impaired pup development, regardless of sex. VPA-exposed animals showed reduced weight gain throughout the postnatal period. In addition, there was a delay in eye-opening reflex, indicating compromised early physical development. In the battery of sensorimotor tests—nest-seeking, grid test, and adhesive removal—VPA-exposed animals showed increased latency to initiate nest-seeking, longer time spent on the grid, and increased time to remove the adhesive, suggesting deficits in sensorimotor integration and coordination. In social behavior tests, both males and females exposed to VPA displayed impairments in social interaction, characterized by longer latency to initiate contact, reduced interaction time, and fewer interaction bouts, as well as decreased behavioral flexibility when introduced to novel social stimuli. In the social preference test, although object recognition remained preserved, VPA-exposed animals showed altered exploration patterns, particularly increased time spent in neutral or non-social zones, indicating reduced social motivation. In conclusion, prenatal exposure to VPA produced similar deficits in males and females, including reduced weight gain, delayed physical development, and sensorimotor and social impairments. Although both sexes were broadly affected, subtle differences were observed: males showed longer latency to initiate social contact, whereas females exhibited more consistent reductions in sustained interaction and flexibility in response to social stimuli. Thus, although VPA globally impacts development, the results indicate discrete sex-related variations in the expression of social deficits.

Keywords: autistic spectrum disorder, neurodevelopment, valproic acid, animal model, motor development, social behavior.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	5
1.1. TRANSTORNO DO ESPECTRO AUTISTA – TEA	5
1.2. ETIOLOGIA	5
1.3. EPIDEMIOLOGIA	7
1.4. SINAIS CLÍNICOS	8
1.5. DIAGNÓSTICO	8
1.5.1. CRITÉRIOS DIAGNÓSTICOS	8
1.5.2. AVALIAÇÃO MULTIDISCIPLINAR	8
1.5.3. INSTRUMENTOS DE AVALIAÇÃO	8
1.6. CARACTERIZAÇÃO DOS DÉFICITS MOTORES NO TEA	10
1.6.1. CONTROLE POSTURAL E EQUILÍBRIO	11
1.6.2. COORDENAÇÃO E MORICIDADE GLOBAL	11
1.6.3. MARCHA NO TEA	12
1.7. O PAPEL DO CEREBELO	13
1.8. MODELO ANIMAL	14
2. OBJETIVOS	15
2.1. OBJETIVO GERAL	15
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	15
3. MATERIAIS E MÉTODOS	16
3.1. CONSIDERAÇÕES ÉTICAS	16
3.2. MODELO ANIMAL	16
3.3. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	16
3.4. PARÂMETROS DE NEURODESENVOLVIMENTO E TESTES COMPORTAMENTAIS	17
3.4.1. ANÁLISE DO PESO CORPORAL	17
3.4.2. TESTE DE BUSCA PELO NINHO	17
3.4.3. TESTE DE ESCALADA DE GRADE	17
3.4.4. TESTE DE REMOÇÃO DO ADESIVO	18
3.4.5. TESTE DAS TRÊS CÂMARAS	18
3.5. ANÁLISE ESTATÍSTICA	19
4. RESULTADOS	20

4.1. PESO CORPORAL	20
4.2. ABERTURA DOS OLHOS	20
4.3. BUSCA PELO NINHO	21
4.4. TESTE DE ESCALADA DE GRADES	22
4.5. TESTE DE REMOÇÃO DO ADESIVO	23
4.6. TESTE DE INTERAÇÃO SOCIAL	24
4.7. TESTE DE PREFERÊNCIA SOCIAL	26
5. DISCUSSÃO	29
6. CONCLUSÃO	35
7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	36
ANEXOS – PARECER DE APROVAÇÃO DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA)	44

1. INTRODUÇÃO

1.1. TRANSTORNO DO ESPECTRO DO AUTISMO – TEA

O transtorno do espectro do autismo (TEA) é um transtorno do neurodesenvolvimento complexo caracterizado por interações sociais e comunicação prejudicadas, juntamente com a presença de distúrbios de comportamentos estereotipados repetitivos (Mintal, 2022). De acordo com a *American Psychiatric Association* (APA) (2013), o TEA é caracterizado por déficits persistentes na comunicação social e na interação social, juntamente com padrões restritos e repetitivos de comportamento, interesses ou atividades. O autismo pode ser definido por três domínios comportamentais: interação social, comunicação de linguagem e brincadeira imaginativa, e gama de interesses e atividades (APA, 2013).

Em 1908, o termo “autismo” foi descrito por Eugen Bleuler para caracterizar o isolamento destes pacientes. Inicialmente, achava-se que o autismo era um transtorno associado à esquizofrenia. Apenas em 1960 houve uma separação dos transtornos e, desde então, seus critérios diagnósticos foram refinados. No entanto, foi na Suécia, nos anos 70, que se deu início aos processos educacionais a respeito do autismo (Zaky, 2017).

O TEA representa uma ampla variedade de manifestações clínicas com diferentes níveis de suporte. Um crescente aumento nas pesquisas revela evidências da associação frequente entre TEA e irritabilidade, agressão, comportamentos autolesivos, transtorno de déficit de atenção e hiperatividade (TDAH), ansiedade, transtornos por uso de substâncias, catatonia e psicose (Genovese e Ellerbebeck, 2022). Os sintomas associados a muitos transtornos comportamentais e psiquiátricos que ocorrem comumente em indivíduos com TEA podem se sobrepor às características centrais do TEA, resultando em maiores dificuldades nos diagnósticos (Yang *et al.*, 2022).

1.2. ETIOLOGIA

Apesar de não ter sua origem e fisiopatologia bem definida, acredita-se que o TEA apresenta etiologia complexa e multifatorial, visto que sofre influência de fatores externos e genéticos. A influência genética, já comprovada, apresenta-se como uma anormalidade cromossômica e com distúrbios de vários genes (Genovese e Ellerbebeck, 2022). Estudos foram conduzidos para encontrar genes envolvidos em cada sintoma do TEA e

para identificar como os genes estão relacionados a sua patogênese (Genovese e Butler, 2020). Um estudo de associação genômica ampla (GWAS) inicial em 4300 crianças afetadas com TEA e 6500 controles de ascendência europeia encontrou uma forte associação com seis polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs) localizados entre os genes da caderina 10 (CDH10) e da caderina 9 (CDH9) localizados no cromossomo 5 que codifica moléculas de adesão celular neuronal (Wang *et al.*, 2009). Desde então, mais de 100 *loci* genéticos foram relatados como associados ao TEA, compreendendo genes que convergem na remodelação da cromatina, função sináptica na sinalização neuronal e neurodesenvolvimento. Além disso, Butler *et al.* (2015) reuniram cerca de 800 genes da literatura que foram implicados como clinicamente relevantes, suscetíveis ou conhecidos no TEA. Esses genes múltiplos incluem vários membros das famílias de genes neuroligina, neurexina, receptor GABA, caderina e SHANK. Outros genes foram encontrados para codificar neurotransmissores e seus receptores, transportadores, oncogenes, hormônios derivados do cérebro, epigenética e proteínas da via de sinalização e ubiquitina, juntamente com moléculas de adesão celular neuronal (Genovese e Butler, 2020)

Os genes relacionados ao TEA também estão associados a outros transtornos síndrômicos do neurodesenvolvimento, como a síndrome do X frágil e a síndrome de Rett (Yoom *et al.*, 2020). Nos últimos 40 anos, os avanços na tecnologia genômica com bioinformática e um interesse crescente em pesquisa genética levaram a descobertas de defeitos cromossômicos e genéticos específicos e dezenas de síndromes genéticas reconhecidas associadas ao autismo (Genovese e Butler, 2023).

Apesar da forte influência genética, muitos estudos demonstram que fatores ambientais podem contribuir significativamente no TEA (Karimi *et al.*, 2017; Mahic *et al.*, 2017; Yoom *et al.*, 2020). A maioria desses fatores se deve ao período pré-natal, que pode ser afetado por mudanças ambientais no corpo parental. Durante a gravidez, o corpo materno fica imunossuprimido, o que torna a mãe e o embrião em desenvolvimento suscetíveis a muitos agentes infecciosos. Da mesma forma, tem sido consistentemente sugerido que infecções virais parentais seriam fatores de risco para o TEA, principalmente se a infecção ocorre durante o primeiro semestre da gestação. Doenças como: rubéola, sarampo, caxumba, varicela, gripe, vírus herpes simplex, pneumonia, sífilis, varicela zoster e citomegalovírus representam um risco potencial para o bebê (Karimi *et al.*, 2017; Mahic *et al.*, 2017; Yoom *et al.*, 2020).

Sandin *et al.* (2012), em sua revisão sistemática com metanálise, correlacionou a idade materna com autismo. Percebeu-se que mães com idade abaixo de 20 anos tinham o

risco diminuído comparado com mães com idade entre 25 e 29 anos. Em outro estudo de 2006 sobre a idade parental, Reichenberg *et al.*, (2006) relatou um aumento do autismo para mães com mais de 30 anos e que após os 50 anos há aumento mais acentuado. Tal fato foi creditado às mutações gênicas durante o envelhecimento dos pais.

1.3. EPIDEMIOLOGIA

A epidemiologia do TEA tem sido um tema de crescente interesse em todo o mundo, com variações significativas nas taxas de prevalência entre diferentes regiões e populações (Paula *et al.*, 2011).

No Brasil, no Censo Demográfico 2022 o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) incluiu, pela primeira vez, um quesito sobre diagnóstico prévio de autismo informado por profissional de saúde. O resultado apontou $\approx 2,4$ milhões de pessoas com diagnóstico de TEA, o que corresponde a 1,2% da população residente com 2 anos ou mais; a prevalência foi maior entre homens (1,5%) do que entre mulheres (0,9%) e mais elevada nas faixas etárias infantis, especialmente entre 5 e 9 anos (2,6%) (IBGE, 2025).

Nos Estados Unidos, o *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC) estima que 1 em cada 36 crianças seja diagnosticada com TEA, conforme dados de 2023. Esse número representa um aumento significativo em relação a estudos anteriores, que indicavam uma prevalência de 1 em 150 crianças na década de 2000. O aumento pode ser atribuído a uma combinação de fatores, incluindo melhores métodos de identificação, mudanças nos critérios de diagnóstico e uma maior conscientização sobre o transtorno. Maenner *et al.* (2023) destacam que a detecção precoce e intervenções adequadas são fundamentais para o desenvolvimento dessas crianças.

Globalmente, as estimativas de prevalência do TEA variam amplamente. Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), a prevalência do TEA é estimada entre 0,1% e 1% da população. Essa variação pode ser influenciada por diferenças culturais, acesso a serviços de saúde e métodos de diagnóstico. Em países como o Reino Unido e a Austrália, estudos revelam prevalências em torno de 1% a 2%. Por outro lado, em países em desenvolvimento, a falta de recursos e de formação profissional pode levar a subdiagnósticos (Chiarotti e Veronesi, 2020).

A epidemiologia do TEA revela um panorama complexo que varia entre diferentes regiões e contextos sociais. Enquanto os dados de prevalência aumentam,

especialmente em países desenvolvidos, a necessidade de conscientização e formação adequada continua sendo uma prioridade global (Chiarotti e Veronesi, 2020).

1.4. SINAIS CLÍNICOS

O TEA é um transtorno com uma grande heterogeneidade clínica onde cada indivíduo pode apresentar uma combinação única de sintomas. Segundo a APA (2013), os principais sintomas do TEA são: dificuldades de comunicação e na interação social, comportamentos restritos e repetitivos, déficits sensoriais, podendo apresentar uma hipersensibilidade ou uma hiposensibilidade, e emocionais.

Os problemas de comunicação podem se manifestar de diversas maneiras como: atrasos na fala, ecolalia, dificuldade em entender linguagem figurativa e uso limitado da linguagem. Quanto a interação social, apresentam dificuldades em fazer amigos e entender sinais sociais, podendo apresentar reações inadequadas de acordo com situações específicas (APA, 2013).

1.5. DIAGNÓSTICO

O diagnóstico do TEA é um processo complexo que envolve a observação clínica e a avaliação de comportamentos. Os critérios diagnósticos para o TEA estão descritos no *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders* (DSM-5). Os sintomas devem estar presentes desde a primeira infância, embora possam não se manifestar plenamente até que as demandas sociais superem as capacidades do indivíduo. Além disso, esses sintomas devem causar prejuízo significativo em áreas sociais, acadêmicas ou outras áreas funcionais (APA, 2013).

O diagnóstico geralmente é realizado por uma equipe multidisciplinar que pode incluir pediatras, psicólogos, psiquiatras, terapeutas ocupacionais e fonoaudiólogos. Essa abordagem é fundamental, pois permite uma avaliação abrangente das várias dimensões do comportamento e do desenvolvimento da criança (Silva e Mulick, 2009). Diversos instrumentos e escalas são utilizados para auxiliar no diagnóstico do TEA, incluindo: *Autism Diagnostic Observation Schedule* (ADOS); *Autism Diagnostic Interview-Revised* (ADI-R); Questionário/inventário CARS; Questionário/inventário PROTEA; Questionário/inventário M-CHAT-R; Questionário/inventário VINELAND III; Questionário/inventário SRS-2; Questionário/inventário PORTAGE.

Esses instrumentos ajudam a garantir que o diagnóstico seja preciso e que as intervenções necessárias possam ser implementadas o mais cedo possível. Segundo Paula et al, 2011, o Brasil, não tem um estudo de prevalência do TEA que tenha avaliado uma amostra representativa da população – apenas um estudo-piloto realizado na cidade paulista de Atibaia, tendo sido encontrada uma prevalência de 0,3%.

A diversidade cultural e socioeconômica da população brasileira traz à tona a necessidade de compreender as especificidades destes pacientes, uma vez que essas características influenciam diretamente a apresentação clínica do TEA e as estratégias de intervenção possíveis. Pode-se ainda, com a caracterização do TEA, definir políticas públicas e de inclusão. Além de definir as principais comorbidades presentes no TEA. Neste sentido, acredita-se que a caracterização do perfil do indivíduo com TEA é fundamental para o desenvolvimento de intervenções adequadas e eficazes (Paula *et al.*, 2011)

1.6. CARACTERIZAÇÃO DOS DÉFICITS MOTORES NO TEA

Sinais motores específicos no TEA foram descritos já em 1943 por Kanner, que observou "desajeitamento" motor em crianças com TEA. Desde a descrição neuroanatômica da hipoplasia dos lóbulos cerebelares de pessoas com TEA em 1988, houve vários esforços para quantificar as funções motoras (Cho *et al.*, 2022). Os déficits motores estão presentes em indivíduos com TEA e podem manifestar-se desde a primeira infância. Pode-se verificar atrasos ou diferenças no desenvolvimento motor, dificuldades na coordenação fina e grossa, alterações do equilíbrio e padrões de marcha atípicos. A presença de dificuldades motoras tem sido associada a desfechos adaptativos e sociais, tornando sua caracterização e mensuração importantes para intervenções mais eficientes (Bhat, 2022).

No geral, as dificuldades motoras desempenham um papel substancial no comportamento adaptativo das crianças e, por sua vez, na sua qualidade de vida. Dificuldades motoras não tratadas entre crianças e adolescentes autistas podem impactar negativamente sua saúde mental, aumentando a probabilidade de isolamento social e menor autoestima (Fears, Palmer e Miller, 2022).

Um dos desafios de identificar déficits motores específicos no TEA é que eles se manifestam de forma diferente conforme as crianças crescem. No desenvolvimento inicial, a aquisição de habilidades motoras grossas requer força e *feedback* sensorial para aprender a se mover contra a gravidade e prática ativa. Conforme os bebês começam a engatinhar, andar, correr e pular, as demandas físicas das habilidades motoras mudam. Para os clínicos que

trabalham com crianças com TEA, reconhecer essas mudanças precoces no comportamento motor no TEA é fundamental para o diagnóstico e a intervenção precoces (Odeh, Gladfelter e Stoesser, 2020).

1.6.1. Controle postural e equilíbrio

O controle do equilíbrio, também conhecido como controle postural, é a capacidade de manter ou controlar o centro de gravidade dentro de uma base de suporte para evitar quedas e completar os movimentos desejados. Em crianças com TEA, a capacidade prejudicada de controle postural durante a infância leva ao atraso no desenvolvimento motor, como engatinhar e andar. Posteriormente, quando crianças com TEA andam eretas, o efeito gravitacional e a estabilidade postural diminuída se manifestam como deficiências no controle do equilíbrio (Xu, Li e Qi, 2025).

1.6.2. Coordenação e motricidade global

O transtorno do desenvolvimento da coordenação (TDC) tem uma alta taxa de comorbidade com outros transtornos do desenvolvimento, e aproximadamente 80% das crianças com traços autistas têm dificuldades com habilidades motoras. No Japão, um estudo populacional urbano descobriu que 63,2% das crianças com TEA têm TCD comórbido (Fujisawa, Saito e Sugawara, 2025).

Crianças com TEA apresentam uma série de dificuldades motoras, incluindo dificuldades na coordenação visomotora e de membros superiores, equilíbrio e coordenação bilateral durante tarefas motoras padronizadas. Elas também podem apresentar dificuldades funcionais durante a caminhada (por exemplo, andar na ponta dos pés ou base de apoio ampla) e outros padrões locomotores, como dificuldade em executar habilidades complexas que exigem certas formas de movimento (por exemplo, salto em distância, pulo com uma perna, etc.), bem como dificuldades com habilidades da vida diária de se vestir, carregar objetos e planejar sequências motoras complexas (por exemplo, ao praticar um esporte) (Bhat, 2023). Observa-se também, significativa dificuldades motoras finas durante tarefas manuais, como desenhar, escrever, cortar, amarrar cadarço, dentre outras (Fears, Palmer e Miller, 2022).

1.6.3. Marcha no TEA

A conquista da caminhada independente requer desenvolvimento neurológico, maturação musculoesquelética e o acúmulo de experiências motoras. Embora o início tardio da marcha atrase o acesso da criança aos benefícios do desenvolvimento obtidos por meio da caminhada, é a qualidade da marcha (por exemplo, velocidade, variabilidade e controle postural) que impacta cumulativamente o acesso da criança a esses benefícios ao longo do tempo (Wilson, 2024). Relata-se que a obtenção da marcha é mais tardia entre crianças com TEA. As estimativas variam de 1,1 a 2,5 meses de atraso na idade para o início da caminhada independente média em comparação com amostras de crianças com desenvolvimento típico, crianças com baixo risco para TEA e uma coorte nacional de nascimentos (Reindal, 2020).

Segundo Wu et al, 2023 crianças mais velhas e adolescentes com TEA apresentam padrões de marcha únicos, caracterizados por passadas curtas, cadência rápida e alta variação na largura da passada. Esses indivíduos com TEA também experimentaram altas forças de frenagem durante a caminhada.

1.7. O PAPEL DO CEREBELO NO TEA

Durante muito tempo, o cerebelo foi visto apenas como uma estrutura responsável por coordenar movimentos e manter o equilíbrio. No entanto, nas últimas décadas, essa visão mudou radicalmente. Hoje, sabe-se que o cerebelo participa também de funções cognitivas, emocionais e sociais, áreas diretamente afetadas no TEA. Estudos estruturais e funcionais recentes mostram que alterações no cerebelo são recorrentes em indivíduos com TEA e podem contribuir de maneira direta para manifestações centrais do transtorno, não apenas para déficits motores (Sydnor e Aldinger, 2022).

Dificuldades motoras foram observadas em 50% a 85% dos indivíduos com TEA, sendo os principais sintomas déficits na coordenação visuomotora e no equilíbrio, tônus muscular e anormalidades na marcha (Wang *et al.*, 2025). Uma das descobertas mais consistentes envolve as células de Purkinje, principais neurônios inibitórios do córtex cerebelar. Pesquisas neuropatológicas e experimentos com modelos animais indicam que a redução no número ou no tamanho dessas células pode interromper a comunicação entre o cerebelo e o córtex cerebral, afetando o desenvolvimento de circuitos relacionados à linguagem e às habilidades sociais (Van der Heijden e Sillitoe, 2021).

Além dos achados estruturais, há uma crescente preocupação em compreender como as alterações motoras se relacionam com outros aspectos comportamentais. Butera et al. (2025) mostraram que parte das dificuldades motoras no TEA se sobrepõe às observadas em transtornos do desenvolvimento da coordenação, mas também existem características motoras específicas do autismo, como padrões estereotipados de movimento e execução atípica de tarefas que envolvem estímulos sociais. Para esses autores, o perfil motor pode funcionar como um marcador precoce de alterações no neurodesenvolvimento mais amplas, incluindo as sociais e comunicativas.

Do ponto de vista genético e molecular, pesquisas recentes revelam que muitos genes associados ao TEA possuem expressão elevada no cerebelo e regulam processos como sinaptogênese e maturação neuronal (Wang *et al.*, 2025). Genes como o *TRIO* e o *FMR1* exercem um papel essencial no funcionamento do cerebelo. O gene *TRIO* atua auxiliando os neurônios nas conexões adequadas e a migração locais corretos durante o desenvolvimento. Mutações nesse gene faz com que haja alterações nas conexões cerebelares, especialmente nas células de Purkinje, que são essenciais para a coordenação motora. Da mesma forma, o gene *FMR1*, que regula a produção de proteínas nas sinapses, quando alterado, leva a falhas na comunicação entre neurônios e prejudica o aprendizado motor (Eid *et al.*, 2025). Isso sugere que o comprometimento motor pode ser uma das primeiras manifestações clínicas do autismo, refletindo disfunções cerebelares precoces (Wang *et al.*, 2025).

1.8. MODELO ANIMAL

O modelo pré-natal de exposição ao ácido valproico (VPA) tornou-se, nas últimas décadas, uma das ferramentas experimentais mais usadas para investigar mecanismos e potenciais tratamentos do TEA. Diversos modelos experimentais foram conduzidos em diferentes espécies, incluindo roedores, peixes-zebra e primatas não humanos. Além disso, avanços recentes foram obtidos com o uso de organoides derivados de células-tronco pluripotentes induzidas humanas, que apresentam padrões de expressão gênica afetados pela exposição ao VPA e permitem a correlação com os mecanismos biológicos propostos por estudos em animais (Zarate-Lopez, 2024).

A exposição gestacional ao VPA em roedores tem efeitos significativos em medidas equivalentes em roedores dos três principais traços comportamentais característicos do TEA em humanos, induzindo prejuízos sociais, comportamentos repetitivos e rigidez/inflexibilidade cognitiva após o nascimento. No entanto, pouco se sabe sobre o

possível comprometimento motor deste modelo animal investigando as diferenças em machos e fêmeas.

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

Investigar e caracterizar as alterações comportamentais relacionadas ao comprometimento motor no autismo através do uso do modelo animal de autismo induzido por ácido valpróico.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Verificar o peso da prole, bem como registrar o abrir dos olhos, teste de busca pelo ninho como indicadores de desenvolvimento e crescimento em ratos Wistar machos e fêmeas submetidos ao modelo animal de TEA induzido por VPA.

Avaliar o comportamento motor através do *Grip test* e do teste da remoção do adesivo em ratos Wistar machos e fêmeas submetidos ao modelo animal de TEA induzido por VPA.

Avaliar o comportamento social através do teste de 3 câmaras para avaliar a interação social e a preferência social em ratos Wistar machos e fêmeas submetidos ao modelo animal de TEA induzido por VPA.

.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. CONSIDERAÇÕES ÉTICAS

Este estudo foi realizado de acordo com as diretrizes estabelecidas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) para pesquisas utilizando animais. O projeto foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade do Extremo Sul Catarinense (UNESC) sob o protocolo 58/2024 (Anexo A). Os animais foram procedentes do Biotério Central da UNESC e todos os cuidados foram adotados para evitar ou minimizar o sofrimento dos animais durante o experimento.

3.2. MODELO ANIMAL

Foram utilizados ratos *Wistar* expostos no período pré-natal ao VPA para investigar alterações comportamentais. Os animais ficaram acondicionados com as mães até o desmame no 21º dia. Após isso, os animais foram transferidos para gaiolas (comprimento 41 cm x largura 34 cm x altura 17 cm) com 5 animais cada, sob ciclo de claro e escuro de 12 horas (6:00 às 18:00h), com livre acesso ao alimento padrão para roedores da Nuvilab (NUVITAL) e água do sistema público de fornecimento (torneira) colocado em bebedouros para os animais em gaiolas de tamanho padrão do biotério. O ambiente foi mantido à temperatura constante e diária de $23\pm 1^{\circ}\text{C}$. A maravalha que forra as caixas dos animais eram trocadas a cada 2 dias e a sala apresentava o sistema de exaustor, de modo a mantê-los com o máximo de conforto possível.

3.3. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Dezoito ratos *Wistar* fêmeas foram acasaladas com 8 machos. Primeiramente, parte da maravalha da caixa contendo machos foi adicionada à caixa das fêmeas no fim do ciclo claro e nos 7 dias seguintes, foi coletado a secreção vaginal das ratas para verificar em qual período do ciclo fértil ela se encontra. A secreção foi coletada com pipeta automática, sendo que foi feito um lavado com 80 μL de salina no orifício da vaginal da rata e avaliado em microscópio (40 x) para averiguar o padrão de células encontradas. Quando foi encontrado o padrão de células que correspondiam a fase Estro, a rata foi acasalada com um rato e na manhã seguinte ao acasalamento foi realizado um outro lavado vaginal com salina para

verificar a presença de espermatozoide. Assim que encontrado espermatozoide, foi considerado o dia 0,5 embrionário, a rata foi isolada e denominada Matriz. Essas fêmeas, agora denominadas matrizes, no décimo segundo dia de gestação, foram divididas em dois grupos, de nove matrizes cada, onde receberam 600 mg/kg de VPA (grupo VPA-expostos) ou salina (grupo SAL-expostos), via intraperitoneal.

Após o nascimento, no dia pós-natal (DPN) 9, 22 e 36 foi registrado o peso, o abrir dos olhos no DPN 10 ao 17 e o teste de busca pelo ninho no DPN 10 como indicadores de desenvolvimento e crescimento das proles das matrizes VPA-expostos e SAL-expostos. Os filhotes foram desmamados e separados das matrizes no DPN 21. A partir do DPN 25, foram realizados os testes comportamentais: *Grip test*, teste da remoção do adesivo e teste de três câmaras.

3.4 Parâmetros de neurodesenvolvimento e testes comportamentais

3.4.1. Análise do peso corporal

O peso da prole foi avaliado no dia 9, 22 e 36 DPN. Cada filhote foi pesado individualmente utilizando uma balança de precisão, com os registros utilizados para análise posterior. A avaliação do peso é uma medida importante do desenvolvimento físico e pode indicar a saúde geral da prole (Hill; Lim; Stone, 2008; Scheneider; Przewlocki, 2005).

3.4.2 Análise da abertura dos olhos

Durante o intervalo entre o DPN 12 e DPN 16, foi observado o abrir dos olhos dos animais, uma vez ao dia, pela manhã. Esse parâmetro permite verificar o neurodesenvolvimento dos animais. Animais típicos, tendem a ter seus olhos abertos no DPN 14 e os animais com algum atraso na maturação do SNC tendem a levar mais dias para a abertura ocular total (Bâ, 2012). As caixas que tinham todos os animais com os olhos fechados eram consideradas como score 0. Já as caixas que continham alguns ou todos animais com os olhos abertos eram consideradas score 0,5 e 1, respectivamente.

3.4.3. Teste de busca pelo ninho

No 10 DPN os animais foram submetidos ao teste que avalia perfil olfatório. Em uma gaiola de rato, adiciona-se de um lado maravalha com odor da caixa original e de outro lado maravalha estéril. Entre as duas maravalhas, no centro, deixa-se livre 15 cm da caixa. O animal é inserido nesse local livre de maravalha com a cabeça voltada para o experimentador e então é contabilizado o tempo que o animal precisa para voltar sua cabeça e corpo para a maravalha com cheiro conhecido (Gregory e Pfaff , 1971).

3.4.4. Teste de força de preensão (*Grip test*)

O *Grid Test* foi realizado no 28º DPN e utilizado para avaliar o desempenho motor e a capacidade de preensão dos animais. Para tal, empregou-se uma malha de arame galvanizado com orifícios regulares de aproximadamente 1,5 mm de diâmetro. Cada animal foi colocado no centro da malha, que em seguida foi invertida a uma altura mínima de 20 cm acima de um recipiente transparente, iniciando-se imediatamente o cronômetro. O tempo de latência até a queda foi registrado em segundos; caso o animal não caísse dentro de 60 segundos, era atribuída a pontuação máxima de 60 segundos, sem realização de novas tentativas. Durante os dois primeiros pontos de coleta, se o animal caísse antes de 10 segundos, era recolocado imediatamente na malha para uma segunda tentativa. Entre avaliações consecutivas, os animais permaneciam em repouso por pelo menos 5 minutos antes de nova exposição ao teste.

3.4.5. Teste de remoção do adesivo

A função sensório-motora fina dos animais foi avaliada por meio do teste de remoção do adesivo, conforme descrito previamente por Schallert et al. (1982) com adaptações para o presente estudo. Esse teste consiste em quantificar a capacidade do animal de detectar e remover um pequeno adesivo aplicado na superfície plantar da pata anterior, sendo amplamente utilizado para investigar processamento tátil, coordenação motora e integridade somatossensorial. Para o teste, no DPN 33, um pequeno adesivo circular foi aplicado suavemente na superfície plantar de cada pata anterior, evitando compressão excessiva. Após a aplicação, o animal foi imediatamente colocado em uma caixa transparente de observação, sendo registrados o tempo de detecção (intervalo entre a colocação do adesivo

e o primeiro movimento do animal indicando percepção do estímulo (ex.: sacudir, lambe ou olhar para a pata) e o tempo de remoção (intervalo entre a colocação do adesivo e sua completa retirada pelo animal utilizando a boca ou as patas).

3.4.6. Teste das três câmaras

O teste se baseia na tendência natural que os roedores têm de investigar animais considerados desconhecidos, intrusos. Neste experimento os animais foram levados individualmente a interagir com outro animal desconhecido do mesmo sexo em uma caixa de acrílico (60 x 60 x 30 cm). Inicialmente, cada animal era colocado no compartimento central para um período de habituação de 5 minutos, com o acesso aos compartimentos laterais bloqueado. Em seguida, um rato não familiar (rato 1), previamente habituado à permanência em uma pequena gaiola de arame, era colocado em um dos compartimentos laterais. A posição do estranho era alternada sistematicamente entre os testes. O sujeito então tinha acesso irrestrito aos três compartimentos durante uma sessão de 10 minutos, enquanto um observador treinado registrava o tempo gasto em cada compartimento e o número de entradas (considerando-se uma entrada quando as quatro patas ultrapassavam o limite da câmara). Após essa primeira sessão, uma segunda fase de 10 minutos era realizada para avaliação da preferência social por novidade. Um segundo rato não familiar (rato 2) era colocado no compartimento anteriormente vazio, também dentro de gaiola idêntica. O animal-teste podia explorar ambos os estímulos sociais, sendo novamente registrados o tempo de permanência em cada câmara e as transições entre elas.

3.5. Análise estatística

As análises estatísticas foram realizadas no programa *GraphPad Prism*, versão 9.0.0 (*GraphPad Software*, San Diego, CA, EUA). Inicialmente, os dados foram submetidos ao teste de Shapiro–Wilk para verificar a normalidade da distribuição. Quando os dados apresentaram distribuição normal e homogeneidade de variâncias, foram aplicados testes paramétricos, especificamente o teste *t* de *Student* para comparações entre dois grupos independentes (SAL e VPA). Nos casos em que os dados não atenderam aos pressupostos de normalidade, foram empregados testes não paramétricos, utilizando o teste de Mann–Whitney. Os resultados foram expressos como média \pm erro padrão da média (EPM). O nível

de significância adotado foi de $p \leq 0,05$, sendo as diferenças estatisticamente significativas indicadas por asterisco.

4. RESULTADOS

4.1. PESO CORPORAL

A figura 1 mostra evolução do ganho de peso dos ratos e ratas dos grupos SAL e VPA, que foi aferido entre o DPN 9 e 36. Foi observado um menor ganho de peso do grupo VPA em relação ao grupo SAL nos DPN 19 ($p < 0,01^{**}$) e DPN 9 e 36 ($p < 0,001^{***}$), tanto em machos (Fig 1 A) quanto em fêmeas (Fig 1 B).

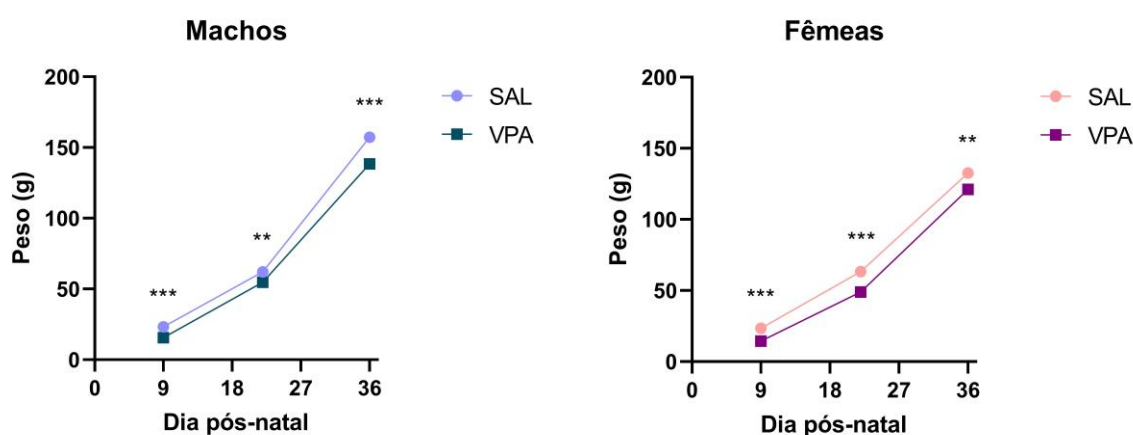


Figura 1. Peso corporal de filhotes Machos e Fêmeas expostos ao valproato (VPA) ou a solução salina (SAL). Os dados estão expressos como média \pm erro padrão da média (EPM) de gramas (g) do peso corporal. As comparações entre grupos foram realizadas pelo teste de Mann-Whitney. Diferenças estatisticamente significativas: $p < 0,01$ (**), $p < 0,001$ (***)

4.2. ABERTURA DOS OLHOS

A figura 2, apresenta os resultados do reflexo de abertura dos olhos dos ratos e ratas dos grupos SAL e VPA, avaliados diariamente do 9º ao 17º dia pós-natal. Na figura 2A, observa-se que os machos expostos ao VPA apresentaram um atraso na abertura dos olhos em relação ao grupo SAL, já que o grupo SAL inicia a abertura no 10º DPN e o grupo VPA apenas no 13º DPN. O mesmo ocorre com as fêmeas, figura 2B, onde as fêmeas VPA demoraram mais para iniciar a abertura dos olhos, 12º DPN, em relação às fêmeas do grupo SAL, 10º DPN.

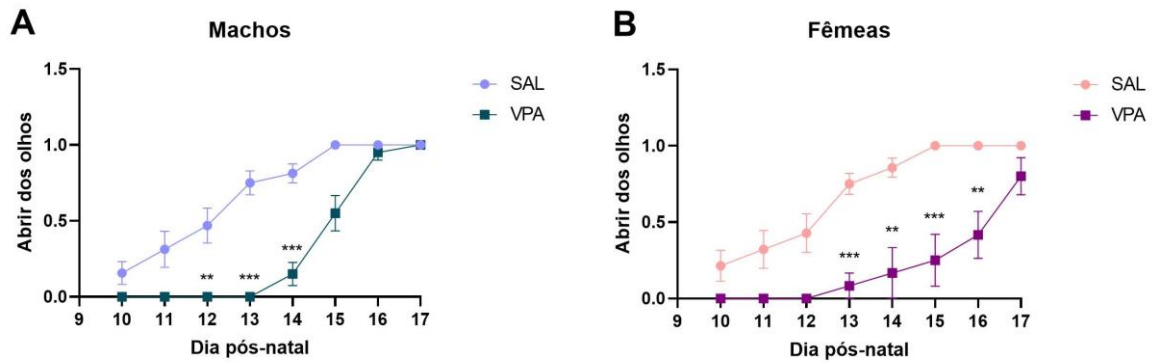


Figura 2. Desenvolvimento da abertura dos olhos em filhotes Machos (A) e Fêmeas (B) dos grupos salina (SAL) ou valproato (VPA). Os dados estão expressos como média \pm erro padrão da média (EPM) do *score* do abrir dos olhos. Foi Aplicado o teste de Mann Witney e diferenças estatística significativas: $p < 0.01$ **;
0.001***.

4.3. BUSCA PELO NINHO

A figura 3 apresenta os resultados do teste de localização do ninho, realizados entre os grupos salina (machos e fêmeas) e o grupo VPA (machos e fêmeas). Foi observado que tanto os machos, figura 3A, quanto as fêmeas, figura 3C, VPA-expostos, apresentaram aumento no tempo (s) ($p < 0,05$) para iniciar o movimento de busca em relação ao grupo SAL. Em contrapartida, não houve diferença significativa no tempo total para alcançar o ninho, tanto para machos quanto para fêmeas (figura 3B e 3D).

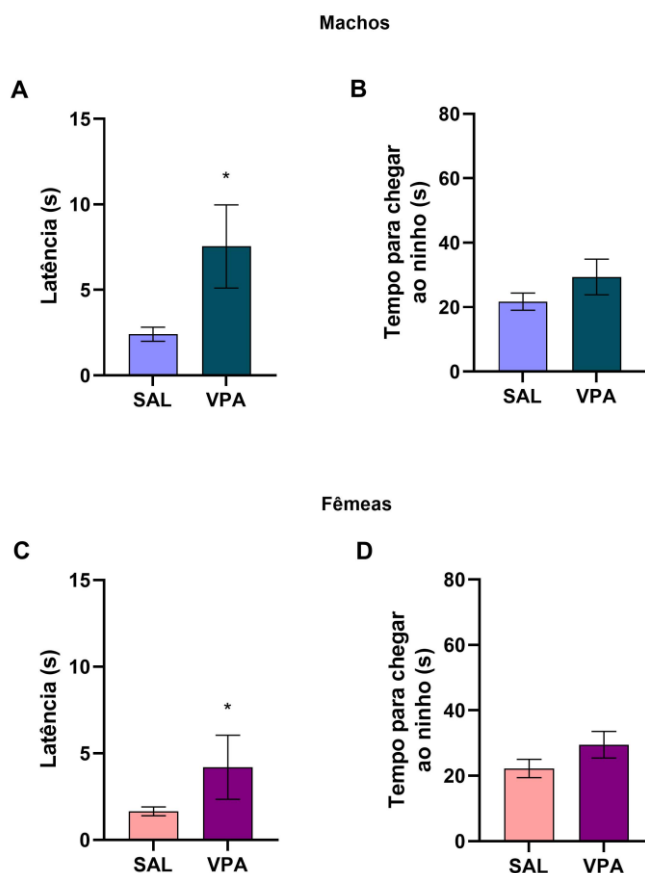


Figura 3 – Avaliação do desenvolvimento sensório-motor de ratos e ratas expostos ao ácido valpróico (VPA) ou solução salina (SAL). A e C – Latência, em segundos, para encontrar o ninho. B e D – Tempo, em segundos, para chegar ao ninho. Os valores estão expressos como média \pm erro padrão da média (EPM). Foi Aplicado o teste de Mann Witney e diferenças estatística significativas: $p < 0.05^*$.

4.4. TESTE DE FORÇA DE PREENSÃO (*GRIP TEST*)

Nos resultados do teste de escalada de grades, figura 4, que avalia a força de preensão e a coordenação motora dos animais, observou-se que houve um aumento no tempo de permanência na grade ($p < 0,05$), tanto machos, figura 4A, quanto fêmeas, figura 4B, expostos ao VPA em comparação aos respectivos grupos SAL.

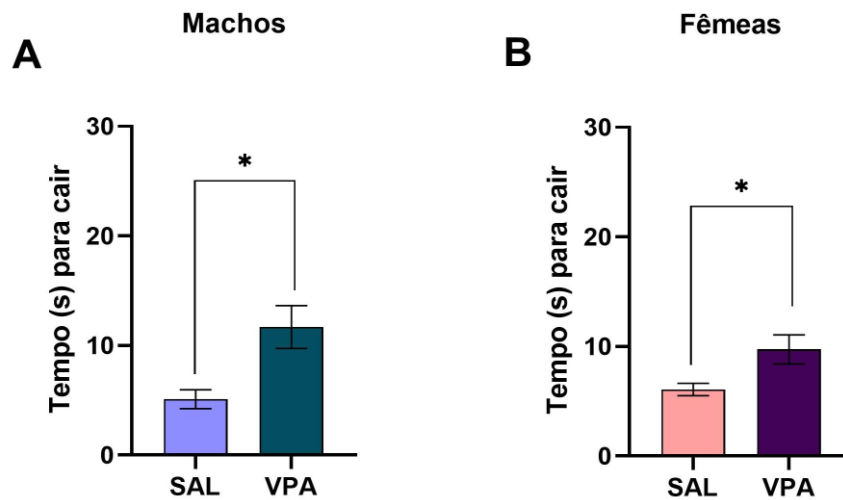


Figura 4. – Desempenho de ratos e ratas expostos ao ácido valpróico (VPA) ou solução salina (SAL) no *grip test* (teste de força de preensão). A – Tempo, em segundo, para os machos caírem. B – Tempo, em segundos, para as fêmeas caírem. Os valores estão expressos como média \pm erro padrão da média (EPM). Foi aplicado teste Mann-Whitney, Teste t de Student pareado ou não, conforme apropriado. Diferenças estatisticamente significativas: $p < 0,05$ (*).

4.5. TESTE DE REMOÇÃO DO ADESIVO

A figura 5, mostra os resultados do teste de remoção do adesivo, que avalia a integração sensório-motora, a coordenação e a destreza das patas anteriores. Foi observado que houve um aumento no tempo para remover o adesivo tanto em machos, figura 5B, quanto para as fêmeas, figura 5D, expostas ao VPA em relação ao grupo SAL ($p < 0,05$).

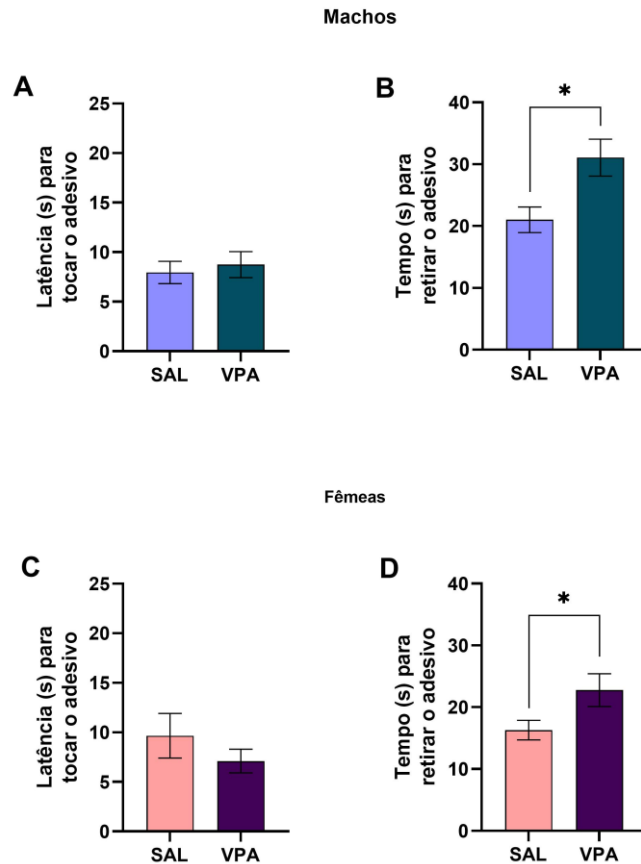


Figura 5. Teste de remoção do adesivo em ratos e ratas expostos ao ácido valpróico (VPA) ou solução salina (SAL). A (machos) e C (fêmeas) – Latência para tocar o adesivo; B (machos) e D (fêmeas) – tempo total para remover o adesivo. Os valores estão expressos como média \pm erro padrão da média (EPM). Foi aplicado teste Mann-Whitney, Teste t de Student pareado ou não, conforme apropriado. Diferenças estatisticamente significativas: $p < 0,05$ (*).

4.6. TESTE DE INTERAÇÃO SOCIAL

A figura 6 apresenta os resultados do comportamento social dos ratos submetidos ao teste de interação social. Observa-se na figura 6A que os ratos do grupo VPA apresentaram um tempo maior para encontrar o rato pela primeira vez quando comparado ao grupo controle ($p < 0,05$). Já na figura 6B, foi observado que houve uma diminuição do tempo na câmara esquerda na fase 2 (câmara onde estava o rato estranho), quando comparado com a fase 1, no grupo VPA ($p < 0,05$). Também houve uma diminuição no número de interação, figura 6C, na fase 2 em relação a fase 1 entre o grupo controle ($p < 0,05$), bem como entre o grupo VPA (p

< 0,01). Por fim, a figura 6D mostra que o tempo gasto na câmara esquerda pelo grupo salina diminui na fase 2 em relação a fase 1 ($p < 0,05$).

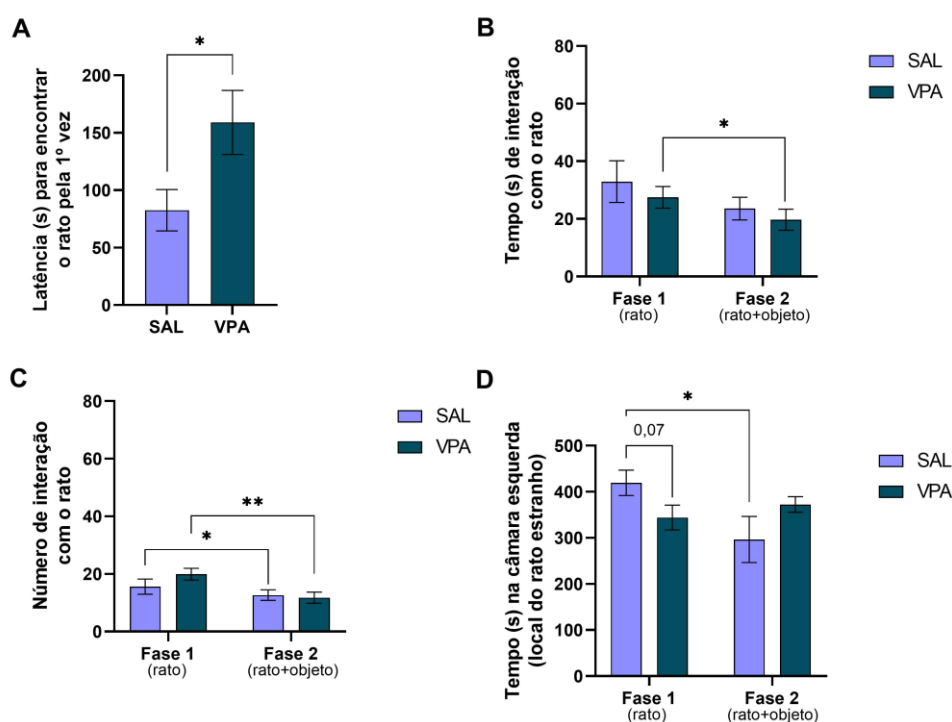


Figura 6. Interação social em ratos controle (SAL) e expostos ao valproato (VPA) pelo teste de três câmeras. A - Latência para encontrar o rato pela primeira vez, dados expressos em segundos. B - Tempo total de interação com o rato, dados expressos em segundos. C - Número de interações com o rato. D - Tempo gasto na câmara esquerda, onde se encontrava o rato estranho, dados expressos em segundos. Os dados estão expressos como média ± erro padrão da média (EPM). Foi aplicado teste Mann-Whitney, Teste t de Student pareado ou não, conforme apropriado. Diferenças estatisticamente significativas: $p < 0,05$ (*); $p < 0,01$ (**).

A figura 7, apresenta os resultados do comportamento social de ratas submetidos ao teste de interação social. A exposição pré-natal ao VPA não alterou a latência para que os animais encontrassem o rato pela primeira vez, como observamos na figura 7A. A figura 7B, mostra que ambos os grupos apresentaram uma diminuição significativa do tempo na câmara esquerda na fase 2, quando comparado com a fase 1 ($p < 0,05$ *; $p < 0,01$ **).

Em relação ao tempo de interação direta com o rato, figura 7C, o grupo VPA apresentou uma diminuição na fase 2 quando comparado com a fase 1 ($p < 0,01$ **). Além disso, o grupo VPA também teve uma diminuição significativa na fase 2 quando comparado

ao grupo SAL na mesma fase. Da mesma forma, o número de interações, visto na figura 7D, foi reduzido nos animais do grupo VPA na fase 2 quando comparado com a Fase 1 ($p < 0,01$). Em conjunto, esses achados demonstram que os animais expostos ao VPA apresentam comprometimento consistente na iniciativa e manutenção da interação social, além de menor flexibilidade comportamental diante da introdução de estímulos novos, características compatíveis com o fenótipo social descrito em modelos de TEA.

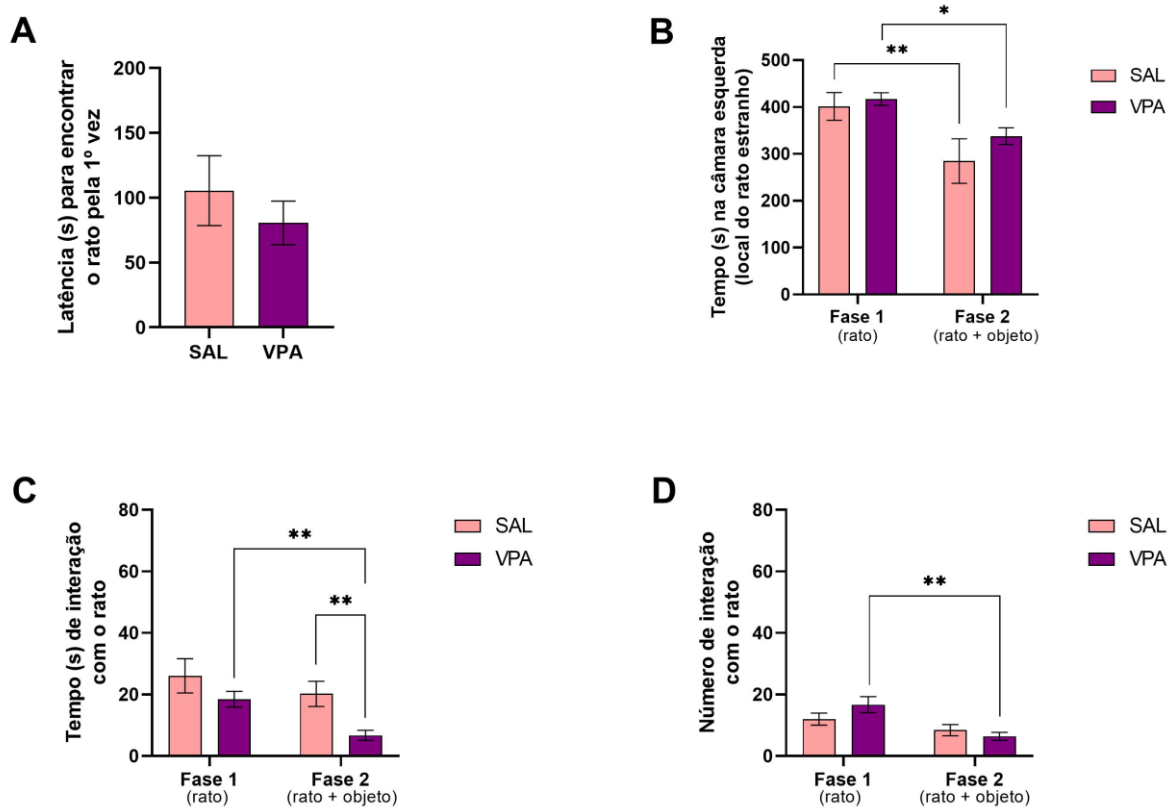


Figura 7. Interação social em ratos controle (SAL) e expostas ao valproato (VPA) pelo teste de três câmeras. A - Latência para encontrar o rato pela primeira vez, dados expressos em segundos. B - Tempo gasto na câmara esquerda, onde se encontrava o rato estranho, dados expressos em segundos. C - Tempo total de interação com o rato, dados expressos em segundos. D - Número de interações com o rato. Os dados estão expressos como média \pm erro padrão da média (EPM). Foi aplicado teste Mann-Whitney, Teste t de Student pareado ou não, conforme apropriado. Diferenças estatisticamente significativas: $p < 0,05$ (*); $p < 0,01$ (**).

4.7. TESTE DE PREFERÊNCIA SOCIAL

Na figura 8, verifica-se os resultados do teste de preferência social para os ratos do grupo SAL e do grupo VPA. Foi observado que a latência para encontrar o objeto pela primeira vez (figura 8^a), o tempo de interação com o objeto (figura 8^B), e o número de

interação com o objeto (figura 8C), não apresentaram diferenças significantes. Na figura 8D, foi observado uma diminuição significativa dos tempos de permanência na câmara central (câmara vazia) nos grupos SAL e VPA na fase 2 quando comparada com a fase 1 ($p < 0,01$). E houve um aumento do tempo de permanência na câmara central de ratos VPA-expostos na fase 2 quando comparados com o grupo controle ($p < 0,05$). Também foi observado que houve um aumento do tempo de permanência na câmara direita (objeto) na fase 2 (figura 8E), tanto para o grupo SAL ($p < 0,05$) quanto para o grupo VPA ($p < 0,001$), quando comparado com a fase 1.

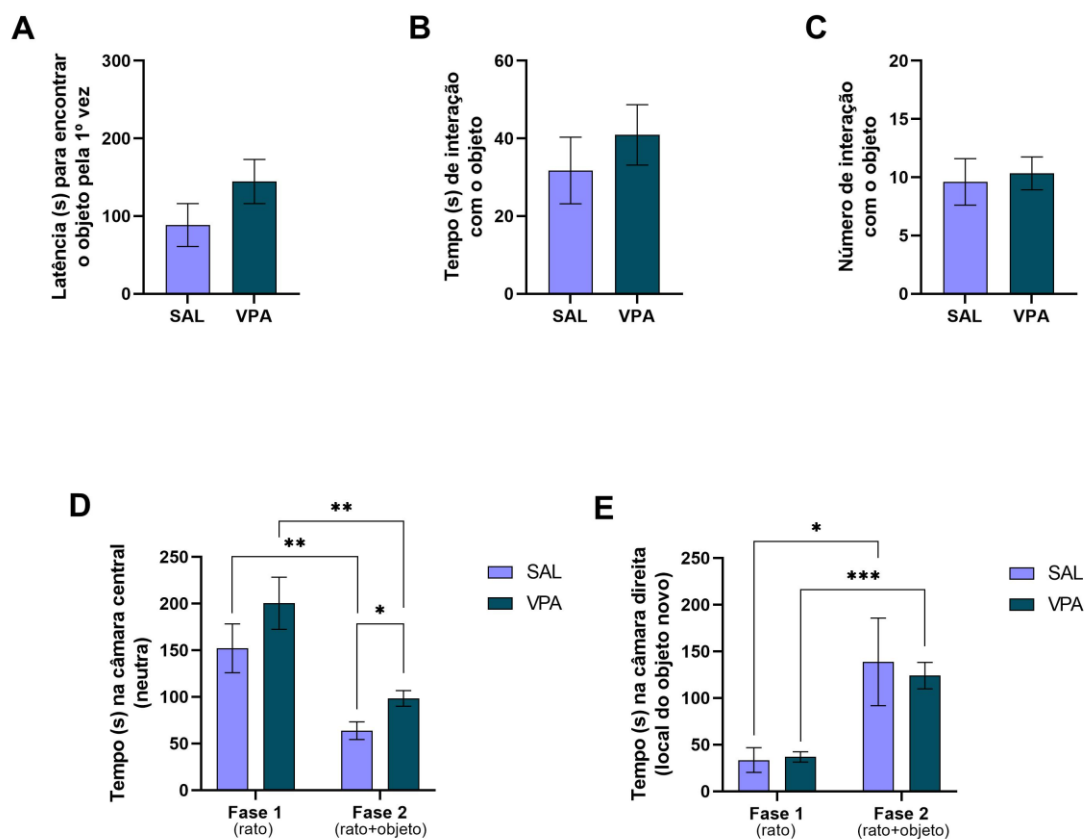


Figura 8. Preferência social em ratos controle (SAL) e expostos ao valproato (VPA) pelo teste de três câmaras. A - Latência para encontrar o objeto pela primeira vez, dados expressos em segundos. B - Tempo de interação com o objeto, dados expressos em segundos. C - Número de interações com o objeto. D - Tempo na câmara central (neutra), dados expressos em segundos. E - Tempo na câmara direita, dados expressos em segundos. Os dados estão expressos como média ± erro padrão da média (EPM). Foi aplicado teste Mann-Whitney, Teste t de Student pareado ou não, conforme apropriado. Diferenças estatisticamente significativas: $p < 0,05$ (*); $p < 0,01$ (**); $p < 0,001$ (***)

A figura 9 mostra os resultados do teste de preferência social para as ratas dos grupos SAL e VPA. Como observado nos machos, a latência para encontrar o objeto pela

primeira vez nas fêmeas (figura 9A), o tempo de interação com o objeto (figura 9B), e o número de interação com o objeto, figura 9C, não apresentaram diferenças significantes.

Na figura 9D, tem-se uma diminuição do tempo de permanência das ratas do grupo SAL na câmara central na fase 2 quando comparada com a fase 1 ($p < 0,05$). Já o grupo VPA não apresentou diferenças significativas. No entanto, o tempo de permanência na câmara direita (figura 9E), do grupo VPA aumentou na fase 2 quando comparada com a fase 1 ($p < 0,001$).

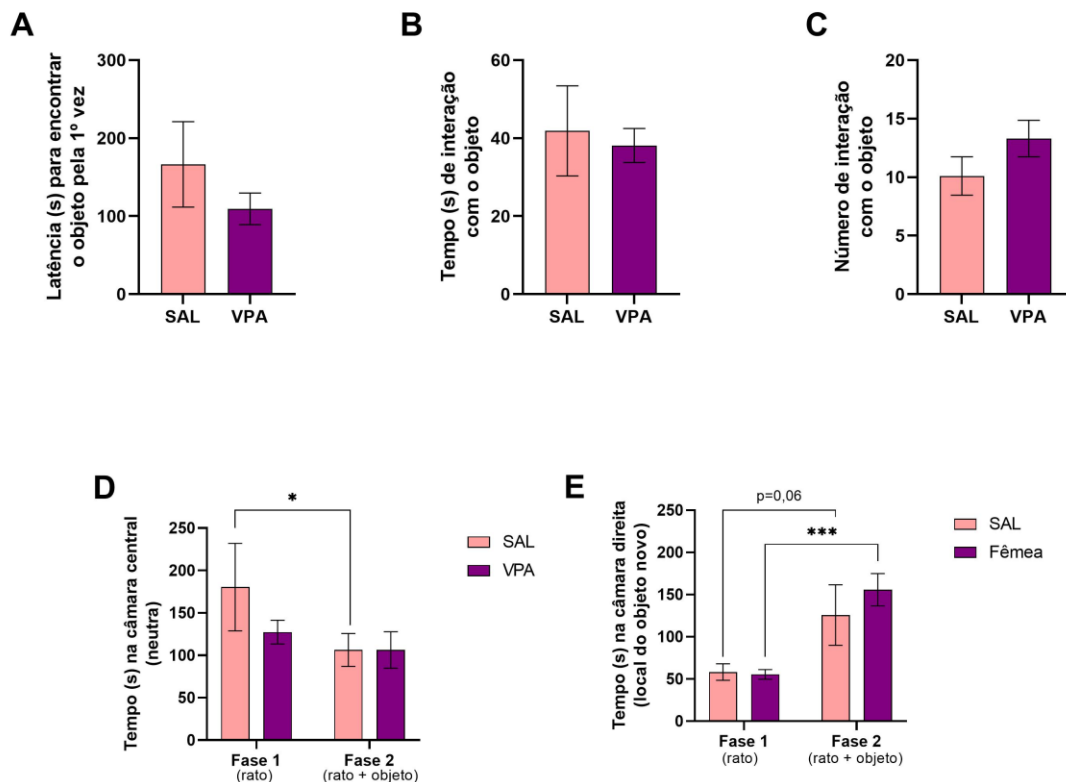


Figura 9. Preferência social em ratas controle (SAL) e expostas ao valproato (VPA) pelo teste de três câmaras. A - Latência para encontrar o objeto pela primeira vez, dados expressos em segundos. B - Tempo de interação com o objeto, dados expressos em segundos. C - Número de interações com o objeto. D - Tempo na câmara central (neutra), dados expressos em segundos. E - Tempo na câmara direita, dados expressos em segundos. Os dados estão expressos como média \pm erro padrão da média (EPM). Foi aplicado teste Mann-Whitney, Teste t de Student pareado ou não, conforme apropriado. Diferenças estatisticamente significativas: $p < 0,05$ (*); $p < 0,01$ (**); $p < 0,001$ (***)

5. DISCUSSÃO

O TEA é um distúrbio do neurodesenvolvimento bastante complexo e diverso. Ele é caracterizado principalmente por dificuldades na interação social, pela presença de comportamentos repetitivos e estereotipados. Para compreender melhor como esse transtorno se desenvolve e afeta o cérebro, modelos experimentais são amplamente usados. Entre eles, o modelo de exposição pré-natal ao VPA é um dos mais utilizados, visto que reproduz com bastante fidelidade vários sinais e sintomas centrais do TEA em ratos (Májer *et al.*, 2024).

O baixo peso ao nascer, um marcador indireto da saúde geral do bebê, foi ocasionalmente relatado entre recém-nascidos expostos ao VPA e pode ser mimetizado nos modelos animais expostos ao VPA (Podgorac *et al.*, 2016). Essa diminuição de peso pode ser um reflexo de efeitos tóxicos do fármaco, indicando que a exposição ao VPA não afeta apenas o comportamento, mas também processos biológicos básicos (Podgorac *et al.*, 2022). No presente estudo, observou-se que filhotes expostos ao VPA apresentaram uma diminuição de peso em comparação ao grupo controle, tanto para machos quanto para fêmeas. Esses achados se alinham com o que foi relatado por outros pesquisadores. Podgorac e colaboradores (2022) também encontraram uma redução significativa do peso corporal em animais tratados com VPA, reforçando que esse efeito ocorre de maneira consistente em ambos os sexos. De forma semelhante, Yang *et al.* (2016) relataram uma queda no peso corporal dos animais expostos ao VPA quando comparado ao grupo controle em seus experimentos. Ruhela *et al.* (2019) confirmam essa tendência ao mostrar que, em seu estudo, os animais do grupo VPA apresentaram peso corporal significativamente menor em relação ao grupo controle. Somando-se a esses achados, Schneider e Przewlocki (2005) também descreveram que ratos expostos ao VPA apresentaram maturação tardia e menor peso corporal quando comparados ao grupo controle, reforçando ainda mais o impacto negativo da exposição ao VPA no desenvolvimento físico dos filhotes.

Além da redução do peso corporal, outro marco utilizado para avaliar o desenvolvimento inicial dos filhotes é o momento de abertura dos olhos, o qual integra aspectos neurológicos, sensoriais e motores e é muito utilizado em experimentos que analisam o desenvolvimento neonatal (Podgorac *et al.*, 2022). No estudo de Podgorac e colaboradores (2016), foi observada uma relação entre a dose de VPA administrada durante a gestação e o atraso na abertura dos olhos dos filhotes. Um indicativo de que o VPA interfere diretamente no processo de desenvolvimento no início da vida. De maneira semelhante ao que foi descrito

por esses autores, os resultados do presente estudo também mostraram atraso na abertura dos olhos tanto em machos quanto em fêmeas, principalmente a partir do 12º DPN. Esse padrão também é reforçado por achados de Fueta et al. (2018), que observaram um atraso significativo nesse marco de desenvolvimento, filhotes expostos ao VPA apresentaram atraso na abertura dos olhos, 17º DPN contra 16º DPN no grupo controle. Resultados semelhantes também foram descritos por Schwingel e colaboradores (2023), que relataram atrasos significativos no início da abertura dos olhos no grupo VPA, independente do sexo, em comparação com o grupo controle. Anshu et al. (2022) também observaram esse mesmo padrão. Em seu trabalho, os filhotes do grupo controle apresentaram abertura dos olhos dentro da janela típica de desenvolvimento, enquanto aqueles expostos ao VPA mostraram atraso claro nesse marco inicial. Segundo os autores, esse atraso não reflete apenas um desenvolvimento físico mais lento, mas também pode indicar alterações neurológicas precoces. Eles destacam que essa diferença atua como um marcador inicial de falha no neurodesenvolvimento, coerente com o que tem sido descrito em outros modelos relacionados ao TEA. Por fim, Alnakhli et al. (2024) mostraram que filhotes expostos ao VPA no período pré-natal apresentaram sinais claros de maturação retardada. Entre esses sinais estavam tanto a redução de peso corporal quanto o atraso na abertura dos olhos em relação ao grupo controle. Esses achados mostram como a exposição pré-natal ao VPA pode comprometer diferentes aspectos do desenvolvimento inicial, fornecendo um panorama consistente que reforça nossos próprios achados.

A resposta de busca pelo ninho nas primeiras semanas de vida é um comportamento fundamental para a sobrevivência dos filhotes, esse comportamento depende de uma integração sensorial eficiente, especialmente do olfato, além da capacidade motora e da orientação espacial necessárias para localizar o ninho e retornar a ele (Meyer e Alberts, 2016). Por isso, ele é frequentemente utilizado como um marcador inicial de desenvolvimento neurocomportamental em modelos animais (Meyer e Alberts, 2016). Alterações nessa tarefa têm sido relatadas em estudos de exposição pré-natal a fármacos e toxinas, incluindo o VPA, sugerindo disfunções precoces nos sistemas que regulam a percepção e a ação (Schneider e Przewłocki, 2005).

No presente estudo, observou-se que os filhotes expostos ao VPA apresentaram uma latência significativamente maior para iniciar o retorno ao ninho, tanto machos quanto fêmeas, quando comparados ao grupo controle (SAL). Esse aumento na latência indica um atraso na prontidão comportamental, sugerindo que o VPA interfere nos mecanismos iniciais que impulsionam a resposta ao ambiente — seja pela dificuldade em processar estímulos

sensoriais, seja por alterações motivacionais ou motoras finas. No entanto, apesar dessa dificuldade inicial, o tempo total que os filhotes levaram para chegar ao ninho não diferiu entre os grupos, o que demonstra que, uma vez iniciado o comportamento, a capacidade de completar a tarefa permaneceu preservada. Isso sugere que funções como locomoção, orientação espacial e motivação para concluir o percurso não foram comprometidas.

Os achados deste estudo convergem com os resultados de Barrett et al. (2017), que também relataram um aumento significativo na latência de retorno ao ninho em filhotes expostos ao VPA. De modo semelhante, Favre e colaboradores (2013) observaram que tanto machos quanto fêmeas do grupo VPA apresentaram maior tempo para iniciar o movimento em direção ao ninho, embora, assim como no presente trabalho, o tempo total para alcançar o destino não tenha diferido em relação aos controles.

Scheggi et al. (2020) reforçam ainda mais esse padrão ao relatar uma latência significativamente maior em filhotes expostos ao VPA, confirmando um atraso claro em aspectos iniciais do desenvolvimento neurocomportamental em comparação aos filhotes do grupo controle, independentemente do sexo. Esses estudos, somados aos achados do presente estudo, sugerem que a exposição pré-natal ao VPA afeta etapas precoces da resposta ao ambiente, mesmo quando habilidades motoras básicas e a execução final da tarefa se mantêm aparentemente intactas.

Sampaio, Andrade e Alcantara (2025) destacam que deficiências motoras estão presentes em 50% a 88% dos indivíduos com TEA, manifestando-se principalmente como dificuldades de coordenação motora fina, alterações de equilíbrio, redução do tônus muscular e padrões atípicos de marcha. Esses achados reforçam que o domínio motor é uma dimensão central e frequentemente comprometida no neurodesenvolvimento associado ao TEA, tanto em humanos quanto em modelos animais.

No presente estudo, entretanto, observou-se um resultado que se afasta parcialmente da literatura predominante. No *Grip test*, que avalia força, coordenação motora e equilíbrio dinâmico, os animais do grupo VPA apresentaram um aumento significativo no tempo até a queda em comparação ao grupo salina, tanto em machos quanto em fêmeas. À primeira vista, esse desempenho sugere melhor equilíbrio, maior estabilidade corporal e maior força de prensão, contrastando com o padrão de déficits amplamente relatado em modelos baseados em VPA.

Esse achado chama atenção, especialmente porque estudos anteriores costumam apontar na direção oposta aplicando outros testes de motricidade. Main e Kulesza (2017), por exemplo, documentaram desempenho motor inferior em animais expostos ao VPA, incluindo

pior equilíbrio e maior instabilidade em tarefas comparáveis. De modo interessante, Bath e Pimentel (2017) relataram que camundongos tratados com solução salina permaneceram suspensos na grade por uma média de 14,8 segundos, enquanto os tratados com VPA exibiram uma latência significativamente menor, com média de 3,27 segundos até a queda. No mesmo estudo, ao avaliar a duração máxima de suspensão ao longo de seis tentativas, os autores observaram resultados consistentes: os animais tratados com VPA apresentaram desempenho máximo significativamente inferior ao do grupo controle. Além disso, Kotajima-Murakami et al. (2019) descreveram que camundongos expostos ao VPA apresentaram menor latência para a queda no teste de suspensão na grade entre os dias P21 e P25.

Observa-se que esses estudos demonstram que animais tratados com VPA tendem a apresentar redução da força e da resistência nas tarefas de suspensão em grade, indicando efeitos relevantes sobre o desenvolvimento motor e/ou muscular, resultado diferente do encontrado no presente estudo. Em conjunto, embora a literatura aponte consistentemente pior desempenho motor em modelos VPA, o aumento da latência até a queda observado no presente estudo pode indicar uma adaptação comportamental específica ao contexto do teste, possivelmente relacionada a fatores como diferenças metodológicas (peso corporal, tamanho da malha, estímulos ambientais), maior ativação compensatória da preensão como estratégia de estabilização, ou ainda a uma modulação dependente do sexo e da fase maturacional, sugerindo que o desempenho no *Grip test* não reflete exclusivamente força muscular, mas um conjunto de respostas motoras e comportamentais que podem variar conforme protocolo e condições experimentais.

Com relação ao teste de remoção de adesivo, este é uma ferramenta que permite avaliar dentro de uma mesma tarefa, dois componentes distintos, porém interdependentes: a detecção sensorial do estímulo tátil e a resposta motora fina necessária para removê-lo (Schallert *et al.*, 1982). No presente estudo, foi observado que a latência para tocar o adesivo, isto é, o tempo que o rato levava para perceber o estímulo em sua pata, não diferiu entre os grupos, tanto em machos quanto em fêmeas. Esse achado sugere que a capacidade de detecção tátil inicial, que depende de vias sensoriais periféricas e do processamento sensorial básico, permanece intacta nos animais expostos ao VPA. No entanto, quando se analisa a etapa seguinte da tarefa, um contraste importante aparece. O tempo necessário para remover o adesivo foi significativamente maior no grupo VPA em relação ao grupo controle, novamente em ambos os sexos. Esse aumento consistente indica um comprometimento no controle motor fino, especialmente na coordenação das patas anteriores e na execução de movimentos precisos. Esses achados estão alinhados com os resultados de Urushadze et al. (2023), em que

avaliando camundongos expostos ao VPA, no teste de tarefa de sequência cronometrada, observaram exatamente o mesmo padrão: embora os animais detectassem o estímulo, eles apresentavam maior dificuldade e demora para executar, indicando déficits motores semelhantes aos descritos aqui. Da mesma forma, Hou et al. (2018) relataram que a exposição pré-natal ao VPA resulta em prejuízos motores e atrasos sensoriais, reforçando que o modelo reproduz alterações precoces e consistentes no desenvolvimento neuromotor.

Além da literatura em estudo pré-clínicos, dados em humanos também convergem nessa direção. Em um estudo clínico, Fears, Palmer e Miller (2022) utilizaram a bateria MABC-2 (*Movement Assessment Battery for Children*) para avaliar habilidades motoras e coordenação de crianças com diagnóstico de TEA. Os autores identificaram dificuldades marcantes em motricidade fina, planejamento motor e coordenação visomotora, aspectos funcionais que dialogam diretamente com o tipo de prejuízo observado nos animais expostos ao VPA.

A integração dos resultados dos dois testes de comportamento motor revela um quadro interessante e multifacetado. No *Grip test*, os animais expostos ao VPA apresentaram desempenho superior ao grupo controle, com maior latência até a queda, sugerindo estabilidade postural e força de preensão preservadas ou até mesmo aumentadas. Em contraste, no teste de remoção do adesivo, embora a detecção tátil inicial tenha se mantido intacta, o grupo VPA exibiu pior desempenho na fase motora fina, levando mais tempo para remover o adesivo. Esses achados, quando analisados em conjunto, apontam que o modelo VPA não apresenta um comprometimento motor uniforme, mas sim um perfil dissociado: tarefas que dependem de sustentação, preensão e ajustes posturais globais parecem não ser afetadas – podendo até ser compensadas –, enquanto tarefas que exigem controle motor fino, precisão digital e sequenciamento de movimentos mostram prejuízo consistente. Tal dissociação é coerente com evidências de que diferentes circuitos motores podem ser diferencialmente alterados pelo VPA, com possíveis compensações biomecânicas ou comportamentais em tarefas de sustentação, contrastando com vulnerabilidades nas vias corticoestriatais e cerebelares responsáveis pela motricidade fina.

Por fim, foi realizado o teste das três câmaras, que devido à sua forte validade aparente e confiabilidade, tornou-se um dos testes comportamentais mais utilizados para o estudo de fenótipos relevantes para o autismo em linhagens consanguíneas e transgênicas de camundongos/ ratos (Yang *et al.*, 2011). Neste estudo, ao analisar em conjunto os testes de interação social e de preferência social, fica evidente que machos e fêmeas expostos ao VPA

apresentam prejuízos sociais, mas esses prejuízos se manifestam, aparentemente, de maneiras diferentes entre os sexos.

Nos machos, o impacto aparece logo no início da interação: eles demoram mais para encontrar o rato pela primeira vez, indicando menor iniciativa social. Além disso, na fase mais desafiadora do teste, tanto o tempo de interação quanto o número de contatos diminuíram, sugerindo dificuldade em manter o engajamento e menor flexibilidade diante de mudanças no ambiente. No teste de preferência social os machos VPA passam menos tempo na câmara social e mais tempo em áreas neutras ou junto ao objeto, reforçando um padrão de evitação social. Entre as fêmeas, o início do contato social não é afetado, elas encontram o rato no mesmo tempo que o grupo controle. No entanto, na fase 2 há uma queda importante no tempo de contato e no número de interações com o rato. No teste de preferência social, as fêmeas VPA também passam a dedicar mais tempo ao objeto do que ao estímulo social na fase 2, evidenciando uma mudança de foco semelhante à observada nos machos, mas que aparece de forma mais tardia.

Os resultados obtidos aqui convergem com a tendência observada em grande parte da literatura. Ahmadi et al. (2023) mostraram que, no teste de interação social de três câmaras, o tratamento pré-natal com VPA reduziu significativamente a porcentagem do índice de preferência pelo rato durante as fases de sociabilidade e de interação social em ambos os sexos dos grupos tratados com VPA, em comparação com os grupos controle. Sabzalizadeh et al. (2022) também reportaram prejuízos sociais robustos, acompanhados de déficits em tarefas sensoriais e de processamento, como discriminação tátil e reflexo de sobressalto acústico.

Scheggi et al. (2020), por exemplo, relataram que machos VPA passam menos tempo explorando o estímulo social, apresentam latência aumentada para iniciar interações e realizam menos contatos sociais, um perfil semelhante ao observado no presente estudo. As fêmeas, por sua vez, exibiram prejuízos mais discretos, restritos à redução na frequência de interações. Resultados semelhantes também foram relatados por Yuan et al. (2024). Os autores descreveram que a exposição ao VPA reduz significativamente a exploração social olfatória, diminuindo o tempo gasto cheirando um camundongo desconhecido e reduzindo o índice de preferência social. Além disso, tanto o tempo quanto a permanência na câmara social foram significativamente menores no grupo VPA, reforçando a conclusão de que a exposição pré-natal ao valproato compromete de forma consistente a sociabilidade.

Em síntese, os resultados do presente estudo demonstram que a exposição pré-natal ao VPA afeta diferentes aspectos do desenvolvimento inicial, incluindo marcos físicos, sensoriais e motores tanto em machos quanto em fêmeas. De forma particularmente relevante,

os testes motores revelaram um perfil dissociado: enquanto o desempenho no *Grip test* sugeriu estabilidade postural preservada ou adaptada, a maior latência para remover o adesivo evidenciou prejuízos consistentes na coordenação motora fina. Esses achados indicam que o modelo não apresenta um comprometimento motor homogêneo, mas alterações seletivas que podem refletir diferentes circuitos neurais subjacentes. Além disso, o fato de que ambos os sexos exibiram alterações semelhantes reforça que o impacto do VPA não é restrito ao fenótipo masculino, sugerindo que o componente motor também pode constituir uma dimensão relevante do neurodesenvolvimento alterado em fêmeas. Estudos futuros devem aprofundar a caracterização dessas interfaces sexo-dependentes e expandir a avaliação motora neste modelo animal, incluindo marcadores neurobiológicos e comportamentais capazes de elucidar as bases das diferenças observadas.

6. CONCLUSÃO

Os resultados deste estudo mostram que a exposição pré-natal ao VPA afeta de maneira ampla o desenvolvimento dos animais, refletindo-se em atrasos físicos iniciais, prejuízos sensório-motores e, principalmente, em alterações significativas no comportamento social. Os animais expostos ao VPA apresentaram menor iniciativa e menor manutenção da interação social, menor flexibilidade comportamental e desempenho motor prejudicado, características compatíveis com o fenótipo observado em modelos animais de TEA. Esses achados reforçam a validade do modelo e contribuem para a compreensão dos efeitos do VPA no neurodesenvolvimento.

7. REFERENCIAS

American Psychiatric Association. **Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders**. 4th ed. American Psychiatric Association; Washington, DC, USA: 2000.

American Psychiatric Association. **Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders**. 5th ed. Arlington, VA: American Psychiatric Publishing, 2013.

Ahmadi BBM, Afarinesh MR, Jafaripour L, Sheibani V. **Alteration in social interaction and tactile discrimination of juvenile autistic-like rats following tactile stimulation and whisker deprivation**. Brain Behav. 2023 May;13(5):e2993.

Alnakhli AM, Saleh A, Kabel AM, Estfanous RS, Borg HM, Alsufyani KM, Sabry NM, Gomaa FAM, Abd Elmaaboud MA. **Perindopril Ameliorates Sodium Valproate-Induced Rat Model of Autism: Involvement of Sirtuin-1, JAK2/STAT3 Axis, PI3K/Akt/GSK-3 β Pathway, and PPAR-Gamma Signaling**. Medicina (Kaunas). 2024 Nov 3;60(11):1802.

Anshu, Kumari & Nair, Ajay Kumar & Srinath, Shoba & Laxmi, T. R.. (2022). **Altered Developmental Trajectory in Male and Female Rats in a Prenatal Valproic Acid Exposure Model of Autism Spectrum Disorder**. Journal of Autism and Developmental Disorders. 53. 10.1007/s10803-022-05684-y.

Barrett CE, Hennessey TM, Gordon KM, Ryan SJ, McNair ML, Ressler KJ, Rainnie DG. **Developmental disruption of amygdala transcriptome and socioemotional behavior in rats exposed to valproic acid prenatally**. Mol Autism. 2017 Aug 1;8:42.

Bastiaansen, J.A.; Meffert, H.; Hein, S. et al. **Diagnosing Autism Spectrum Disorders in Adults: the Use of Autism Diagnostic Observation Schedule (ADOS) Module 4**. J Autism Dev Disord 41, 1256–1266, 2011.

Bath KG, Pimentel T. Effect of early postnatal exposure to valproate on neurobehavioral development and regional BDNF expression in two strains of mice. Epilepsy Behav. 2017 May;70(Pt A):110-117.

Bhat AN. **Motor Impairment Increases in Children With Autism Spectrum Disorder as a Function of Social Communication, Cognitive and Functional Impairment, Repetitive Behavior Severity, and Comorbid Diagnoses: A SPARK Study Report.** *Autism Res.* 2021 Jan;14(1):202-219. doi: 10.1002/aur.2453.

Bhat A. **Multidimensional motor performance in children with autism mostly remains stable with age and predicts social communication delay, language delay, functional delay, and repetitive behavior severity after accounting for intellectual disability or cognitive delay: A SPARK dataset analysis.** *Autism Res.* 2022 Jan;16(1):208-229. doi: 10.1002/aur.2870.

Brooks, S. P.; Dunnett, S. B. **Tests to assess motor phenotype in mice: a user's guide.** *Nature Reviews Neuroscience*, v. 10, n. 7, p. 519-529, 2009.

Butera C, Delafield-Butt J, Lu SC, Sobota K, McGowan T, Harrison L, Kilroy E, Jayashankar A, Aziz-Zadeh L. **Motor Signature Differences Between Autism Spectrum Disorder and Developmental Coordination Disorder, and Their Neural Mechanisms.** *J Autism Dev Disord.* 2025 Jan;55(1):353-368.

Butler, M.G.; Rafi, S.K.; Manzardo, A.M. **High-resolution chromosome ideogram representation of currently recognized genes for autism spectrum disorders.** *Int. J. Mol. Sci.* 2015, 16, 6464–6495.

Chaliha D, Albrecht M, Vaccarezza M, Takechi R, Lam V, Al-Salami H, Mamo J. **A Systematic Review of the Valproic-Acid-Induced Rodent Model of Autism.** *Dev Neurosci.* 2020;42(1):12-48.

Chiarotti, F.; Venerosi, A. **Epidemiology of Autism Spectrum Disorders: A Review of Worldwide Prevalence Estimates Since 2014.** *Brain Sci.* 2020, 10, 274.

Cho, AB, Otte, K., Baskow, I. et al. **Motor signature of autism spectrum disorder in adults without intellectual impairment.** *Sci Rep* 12 , 7670 (2022). doi.org/10.1038/s41598-022-10760-5

De Paola, V.; Marshall, C. J.; Jacobson, M. A. **The inclined plane test: a novel assay for estimating locomotor function in humans and animals.** *Neuroreport*, v. 13, n. 6, p. 783-787, 2002.

Dhillon, S.; Hellings, J.A.; Butler, M.G. **Genetics and mitochondrial abnormalities in autism spectrum disorders: A review.** *Curr. Genom.* 2011, 12, 322–332.

Di Giminiani R, La Greca S, Marinelli S, Attanasio M, Masedu F, Mazza M, Valenti M. **Locomotion and Postural Control in Young Adults with Autism Spectrum Disorders: A Novel Kinesiological Assessment.** *J Funct Morphol Kinesiol.* 2024 Oct 3;9(4):185.

Eid, L., Lokmane, L., Raju, P.K. et al. **Both GEF domains of the autism and developmental epileptic encephalopathy-associated Trio protein are required for proper tangential migration of GABAergic interneurons.** *Mol Psychiatry* **30**, 1338–1358 (2025).

Favre MR, Barkat TR, Lamendola D, Khazen G, Markram H, Markram K. General developmental health in the VPA-rat model of autism. *Front Behav Neurosci.* 2013 Jul 24;7:88.

Fears NE, Palmer SA, Miller HL. **Motor skills predict adaptive behavior in autistic children and adolescents.** *Autism Res.* 2022 Jun;15(6):1083-1089. doi: 10.1002/aur.2708.

Frigaux, A.; Evrard, R.; Lighezzolo-Alnot, J. **ADI-R and ADOS and the differential diagnosis of autism spectrum disorders: Interests, limits and openings.** *Encephale*, 45(5), 441–448, 2019.

Fueta Y, Sekino Y, Yoshida S, Kanda Y, Ueno S. Prenatal exposure to valproic acid alters the development of excitability in the postnatal rat hippocampus. *Neurotoxicology.* 2018 Mar;65:1-8.

Fujisawa S, Saito A, Sugawara M, Nakai A. **Association Between Developmental Coordination Disorder Traits, Autistic Traits, and Emotional/Behavioral Problems in Japanese Preschool Children.** *Children (Basel).* 2025 Mar 27;12(4):420. doi: 10.3390

Genovese, A.; Butler, MG. **Clinical Assessment, Genetics, and Treatment Approaches in Autism Spectrum Disorder (ASD)**. International Journal of Molecular Sciences. 2020; 21(13):4726.

Genovese, A.; Ellerbeck, K. **Autism Spectrum Disorder: a Review of Behavioral and Psychiatric Challenges Across the Lifespan**. SN Compr. Clin. Med. 2022, 4, 217.

Gregory, E. H.; Pfaff, D. W. **Development of olfactory-guided behavior in infant rats**. Physiology & Behavior, v. 6, n. 5, p. 573–576, 1 maio 1971.

Hamers, F. P.; Lamanna, J.; Kakulyak, J.; Winkler, T.; Kaas, J. H. **Automated quantitative gait analysis in rhesus monkeys (Macaca mulatta) with a rhesus monkey model of spinal cord injury**. Journal of Neurotrauma, v. 23, n. 6, p. 846-864, 2006.

Hou Q, Wang Y, Li Y, Chen D, Yang F, Wang S. **A Developmental Study of Abnormal Behaviors and Altered GABAergic Signaling in the VPA-Treated Rat Model of Autism**. Front Behav Neurosci. 2018 Aug 21;12:182.

IBGE - Censo Demográfico 2022 Pessoas com deficiência e pessoas diagnosticadas com transtorno do espectro autista: Resultados preliminares da amostra. – 2025.

Kainer, D.; Templeton, A.; Prates, E.; Jacobson, D.; Allan, E.; Climer, S.; Garvin. **Structural Variants Identified Using Non- Mendelian Inheritance Patterns Advance The Mechanistic Understanding Of Autism Spectrum Disorder**. HGG Adv. 2023, 4, 1000150.

Karimi, P.; Kamali, E.; Mousavi, SM; Karahmadi, M. Environmental factors influencing the risk of autismo. J. Res. Med. Sci. 2017 , 22 , 27.

Kelly E, Escamilla CO, Tsai PT. **Cerebellar Dysfunction in Autism Spectrum Disorders: Deriving Mechanistic Insights from an Internal Model Framework**. Neuroscience. 2021 May 10;462:274-287.

Kikuchi, A. et al. **Prevalência do Transtorno do Espectro Autista no Brasil: Revisão Sistemática.** Revista Brasileira de Terapias Comportamentais , 2018.

Kotajima-Murakami H, Kobayashi T, Kashii H, Sato A, Hagino Y, Tanaka M, Nishito Y, Takamatsu Y, Uchino S, Ikeda K. Effects of rapamycin on social interaction deficits and gene expression in mice exposed to valproic acid in utero. *Mol Brain*. 2019 Jan 8;12(1):3.

Liu H, Tan M, Cheng B, Wang S, Xiao L, Zhu J, Wu Q, Lai X, Zhang Q, Chen J, Li T. Valproic Acid Induces Autism-Like Synaptic and Behavioral Deficits by Disrupting Histone Acetylation of Prefrontal Cortex ALDH1A1 in Rats. *Front Neurosci*. 2021 Apr 28;15:641284.

Lord, C.; Risi, S.; Lambrecht, L.; Cook, E; H., Jr.; Leventhal, B. L.; DiLavore, P. C. et al. **The autism diagnostic observation schedule-generic: A standard measure of social and communication deficits associated with the spectrum of autism.** *Journal of Autism and Developmental Disorders*, 2000, 30(3), 205–223.

Maenner, M. J. et al. **Prevalence of Autism Spectrum Disorder Among Children Aged 4 Years — Autism and Developmental Disabilities Monitoring Network**, 2020. MMWR.

Mahic, M.; Mjaaland, S.; Bovelstad, HM; Gunnes, N.; Susser, E.; Bresnahan, M.; Oyen, AS; Levin, B.; Che, X.; Hirtz, D. et al. **Imunorreatividade materna ao vírus do herpes simples 2 e risco de transtorno do espectro autista em descendentes masculinos.** *mSphere* 2017 , 2.

Main SL, Kulesza RJ. **Repeated prenatal exposure to valproic acid results in cerebellar hypoplasia and ataxia.** *Neuroscience*. 2017 Jan 6;340:34-47.

Májér T, Bódi V, Kelemen V, Szűcs A, Varró P, Világi I. **Valproate treatment induces age- and sex-dependent neuronal activity changes according to a patch clamp study.** *Dev Neurobiol*. 2024 Jan;84(1):32-43.

Martinez-Cruz, F.; Gómez-Garza, G.; Espinosa-Medina, M.; Miranda, R.; Rivera, N.; Cerda-Flores, R. M. **Motor learning impairment in aged rats: effects of L-Dopa treatment.** *Neurobiology of Learning and Memory*, v. 77, n. 3, p. 318-324, 2002.

Meyer PM, Alberts JR. **Non-nutritive, thermotactile cues induce odor preference in infant mice (*Mus musculus*)**. J Comp Psychol. 2016 Nov;130(4):369-379.

Mintal, K.; Toth, A.; Hormay E.; Kovacs, A.; Laszlo, K.; Bufa, A.; Marosvolgyi, T.; Kocsis, B.; Varga, A.; Vizvari, Z. et al. Novel probiotic treatment of autism spectrum disorder associated social behavioral symptoms in two rodent models. Sci. Rep. 2022; 12:5399.

Mirzakhani Araghi, N.; Alizadeh Zarei, M.; Saei, S.; Dibajnia, P. "**Psychometric properties of the Persian version of social responsiveness scale-second edition (SRS-2)**", Advances in Autism, Vol. 8 No. 3, pp. 264-271, 2022.

Odeh CE, Gladfelter AL, Stoesser C, Roth S. **Comprehensive motor skills assessment in children with autism spectrum disorder yields global deficits**. Int J Dev Disabil. 2020 May 18;68(3):290-300. doi: 10.1080/20473869.2020.1764241.

Organização Mundial da Saúde (OMS). **Estimativas de Prevalência do Transtorno do Espectro Autista**. 2020.

Paula, CS, Ribeiro, SH, Fombonne, E. et al. **Relatório Breve: Prevalência de Transtorno Global do Desenvolvimento no Brasil: Um Estudo Piloto**. J Autism Dev Disord 41 , 1738–1742 (2011).

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**. Behav Brain Res. 2016 Sep 15;311:99-109.

Podgorac J, Sekulić S, Petković B, Stojadinović G, Martać L, Pešić V. **The influence of continuous prenatal exposure to valproic acid on physical, nociceptive, emotional and psychomotor responses during adolescence in mice: Dose-related effects within sexes**. Front Behav Neurosci. 2022 Sep 29;16:982811.

Reichenberg, A.; Gross, R.; Weiser, M.; Bresnahan, M.; Silverman, J.; Harlap, S.; Rabinowitz, J.; Shulman, C.; [SEP]Malaspina, D.; Lubin, G. et al. **Advancing paternal age and autism.** Arch. Gen. Psychiatry 2006, 63, 1026–1032.

Reindal L, Nærland T, Weidle B, Lydersen S, Andreassen OA, Sund AM. **Age of First Walking and Associations with Symptom Severity in Children with Suspected or Diagnosed Autism Spectrum Disorder.** J Autism Dev Disord. 2020 Sep;50(9):3216-3232. doi: 10.1007/s10803-019-04112-y.

Ruhela, Rakesh K et al. **Negative geotaxis: An early age behavioral hallmark to VPA rat model of autism.** Annals of Neurosciences, [s. l.], v. 26, n. 1, p. 25–31, 2019.

Sabzalizadeh M, Mollashahi M, Afarinesh MR, Mafi F, Joushy S, Sheibani V. **Sex difference in cognitive behavioral alterations and barrel cortex neuronal responses in rats exposed prenatally to valproic acid under continuous environmental enrichment.** Int J Dev Neurosci. 2022 Oct;82(6):513-527.

Sampaio, K. E. de O., Andrade, S. R. G. de, & Alcantara, A. da S. (2025). **Avaliações Motoras Aplicáveis em Crianças Com Transtorno do Espectro Autista (Tea): Uma Revisão Integrativa.** *Revista Ibero-Americana De Humanidades, Ciências E Educação*, 11(11), 3985–3995.

Sandin, S.; Hultman, CM; Kolevzon, A.; Gross, R.; MacCabe, JH; Reichenberg, A. **Advancing Maternal Age Is Associated With Increasing Risk for Autism: A Review and Meta-Analysis.** J. Am. Acad. Child Adolesc. Psychiatry 2012 , 51 , 477–486.

Schaefer, G.B.; Mendelsohn, N.J. **Genetics evaluation for the etiologic diagnosis of autism spectrum disorders.** Genet. Med. 2008, 10, 4–12.

Schallert, T.; Fleming, S. M.; Leasure, J. L.; Tiller, C. J.; Bland, S. T. **CNS plasticity and assessment of forelimb sensorimotor outcome in unilateral rat models of stroke, cortical ablation, parkinsonism and spinal cord injury.** Neuropharmacology, v. 39, n. 5, p. 777-787, 2000.

Scheggi, S., Guzzi, F., Braccagni, G. *et al.* Targeting PPAR α in the rat valproic acid model of autism: focus on social motivational impairment and sex-related differences. *Molecular Autism* **11**, 62 (2020).

Schneider, T.; Przewłocki, R. **Behavioral Alterations in Rats Prenatally Exposed to Valproic Acid: Animal Model of Autism.** *Neuropsychopharmacology*, [s. l.], v. 30, n. 1, p. 80–89, 2005.

Schwingel GB, Fontes-Dutra M, Ramos B, Riesgo R, Bambini-Junior V, Gottfried C. **Preventive effects of resveratrol against early-life impairments in the animal model of autism induced by valproic acid.** *IBRO Neurosci Rep.* 2023 Sep 23;15:242-251.

Sydnor LM, Aldinger KA. **Structure, Function, and Genetics of the Cerebellum in Autism.** *J Psychiatr Brain Sci.* 2022;7:e220008.

Silva, M.; Mulick, JA. **Diagnosing autistic disorder: fundamental aspects and practical considerations.** *Psicol. cienc. prof.* 29 (1) • 2009.

Sociedade Brasileira de Pediatria (SBP), "**Manual do Transtorno do Espectro do Autismo**", 2019.

Sparrow, SS; Cicchetti, DV; Saulnier, CA. **Vineland-3 – Escalas de Comportamentos Adaptativos Vineland** – 3^a ed. 2016.

Stoccoro, A et al. **DNA Methylation Biomarkers for Young Children with Idiopathic Autism Spectrum Disorder: A Systematic Review.** *International Journal of Molecular Sciences*, 2023; 11.

Tager-Flusberg, H.; Paul, R; Lord, C. **Language and communication in autism.** *Handbook of autism and pervasive developmental disorders*, v.1, p.335-364, 2005.

Tick, B.; Bolton, P.; Happé, F.; Rutter, M.; Rijdsdijk, F. **Heritability of autism spectrum disorders: A meta-analysis of twin studies.** *J. Child Psychol. Psychiatry* 2016, 57, 585–595.



Urushadze A, Janicek M, Abbondanza A, Janickova H. **Timed Sequence Task: A New Paradigm to Study Motor Learning and Flexibility in Mice.** *eNeuro.* 2023 Oct 4;10(10):ENEURO.0145-23.2023.

van der Heijden ME, Sillitoe RV. **Interactions Between Purkinje Cells and Granule Cells Coordinate the Development of Functional Cerebellar Circuits.** *Neuroscience.* 2021 May 10;462:4-21.

Wang K., Zhang H., Ma D., Bucan M., Glessner JT, Abrahams BS, Salyakina D., Imielinski M., Bradfield JP, Sleiman PMA, et al. **Variantes genéticas comuns em 5p14.1 associadas a transtornos do espectro autista.** *Natureza.* 2009;459:528–533.

Wang LAL, Petrulla V, Zampella CJ, Waller R, Schultz RT. **Gross motor impairment and its relation to social skills in autism spectrum disorder: A systematic review and two meta-analyses.** *Psychol Bull.* 2022 Mar-Apr;148(3-4):273-300. doi: 10.1037/bul0000358. Epub 2022 May 5. PMID: 35511567; PMCID: PMC9894569.

Williams, LC; Aiello, AL. **Manual do Inventário Portege Operacionalizado,** 2018.

Wilson RB, Burdekin ED, Jackson NJ, Hughart L, Anderson J, Dusing SC, Gulsrud A, Kasari C. **Slower pace in early walking onset is related to communication, motor skills, and adaptive function in autistic toddlers.** *Autism Res.* 2024 Jan;17(1):27-36

Wu X, Dickin DC, Bassette L, Ashton C, Wang H. **Clinical gait analysis in older children with autism spectrum disorder.** *Sports Med Health Sci.* 2023 Nov 22;6(2):154-158.

CDC. *CDC media release: New Study Finds One in 54 Children in the U.S. Has Been Identified with Autism Spectrum Disorder.* 2021. Disponível em: <https://www.cdc.gov/media/releases/2021/p1202-autism.html>. Acesso em: 10/03/2025.

Xu W, Li N, Qi J. **Balance Control in Children and Youth with Autism Spectrum Disorder: A Systematic Review and Meta-Analysis.** *Alpha Psychiatry.* 2025 Jun 4;26(3):42869. doi: 10.31083/AP42869.

Yang EJ, Ahn S, Lee K, Mahmood U, Kim HS. **Early Behavioral Abnormalities and Perinatal Alterations of PTEN/AKT Pathway in Valproic Acid Autism Model Mice.** *PLoS One.* 2016 Apr 12;11(4):e0153298.

Yang M, Silverman JL, Crawley JN. **Automated three-chambered social approach task for mice.** *Curr Protoc Neurosci.* 2011 Jul;Chapter 8:Unit 8.26.

Yang, T.; Chen, L.; Dai, Y.; Jia, F.; Hao, Y.; Li, L.; Zhang, J.; Wu, L.; Ke, X.; Yi, M. et al. **Vitamin A Status Is More Commonly Associated With Symptoms and Neurodevelopment in Boys With Autism Spectrum Disorders—A Multicenter Study in China.** *Front. Nutr.* 2022; 9:851980.

Yuan YX, Liu Y, Zhang J, Bing YH, Chen CY, Li GG, Chu CP, Yin MJ, Qiu DL. **Gestational valproic acid exposure enhances facial stimulation-evoked cerebellar mossy fiber-granule cell transmission via GluN2A subunit-containing NMDA receptor in offspring mice.** *Transl Psychiatry.* 2024 Jul 3;14(1):272.

Yoon, SH; Choi, J.; Lee, WJ; Do, JT. **Genetic and Epigenetic Etiology Underlying Autism Spectrum Disorder.** *J. Clin. Med.* 2020; 9 :966.

Zaky EA. **Autism Spectrum Disorder (ASD); the past, the present, and the future.** *J Child Adolesc Behav.* 2017; 5:e116-e120.

Zarate-Lopez D, Torres-Chávez AL, Gálvez-Contreras AY, Gonzalez-Perez O. **Three Decades of Valproate: A Current Model for Studying Autism Spectrum Disorder.** *Curr Neuropharmacol.* 2024;22(2):260-289.

ANEXO A – PARECER DE APROVAÇÃO DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA)



**Universidade do Extremo Sul Catarinense
Comissão de Ética no Uso de Animais**



CERTIFICADO

Certificamos que o projeto abaixo especificado, que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovado** pela Comissão de Ética no Uso de Animais - CEUA da Universidade do Extremo Sul Catarinense - UNESC, em reunião de **02/10/2025**.

Título do projeto	Investigação do comprometimento motor de ratos machos e fêmeas de um modelo animal de autismo induzido por ácido valpróico.
Project title	<i>Investigation of the motor impairments and its outcomes in of male and female rats from an animal model of autism induced by valproic acid.</i>
Número do protocolo Protocol number	58/2024
Pesquisador principal Principal Investigator	CINARA LUDVIG GONÇALVES
Pesquisadores Researchers	Alex Evaldt, Alexandre Martins Nunes, Artur Bianchini Pereira, Cinara Ludvig Gonçalves, Estefania Miranda Borges, Germano Lapa Viana, Giseli da Silva, Gizela Judith da Silva do Nascimento Neto, Helena Gleize, Julia Cunha de Borba, Julio Cesar Claudino Dos Santos, Larissa Chagas Moreira, Laura Peters Matias, Leonardo Pelegrini, Maiara de Aguiar da Costa, Maria Eduarda Ceron Cassão, Maria Fernanda Pedro Ebs de Souza, Maria Julia Ferro, Sofia Januário Bolan, Victória Linden de Rezende
Finalidade	() Ensino (X) Pesquisa Científica
Vigência da autorização	05/09/2024 a 04/09/2025
Espécie/linhagem/raça	Rato heterogênico / Wistar
Idade/Peso	60 dias / 250-300g
Número de animais	Masculino 8 / Feminino 18
Espécie/linhagem/raça	Rato heterogênico / Wistar
Idade/Peso	1 dia / 5g
Número de animais	Masculino 20 / Feminino 20
Procedência	Biotério Unesc

The Ethics Committee on Animal Use on Research, sanctioned by the resolution number 03/2017/Câmara Propex, in accordance with federal law number 11.794/08, has analyzed the Project that was Approved in its ethical and methodological aspects. Any alteration of the original version of this project must be previously submitted to the Committee for further analyzes. May you have further questions, please contact us by e-mail ceua@unesc.net.



**Universidade do Extremo Sul Catarinense
Comissão de Ética no Uso de Animais**



Criciúma-SC, 02 de outubro de 2025.

Alexandra Zugno

**Alexandra Ioppi Zugno
Coordenadora da CEUA**