

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS  
PRO REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
DEPARTAMENTO DE APOIO A PESQUISA  
PROGRAMA INSTITUCIONAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

AVALIAÇÃO COMPORTAMENTAL EM RATOS WISTAR  
ADULTOS QUE FORAM EXPOSTOS AO EXTRATO DA *Passiflora  
nitida Kunth* DURANTE O PERÍODO PRÉ-NATAL

Bolsista: Jacqueline Oliveira Miranda da Costa, UFAM

MANAUS

2014

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS  
PRO REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
DEPARTAMENTO DE APOIO A PESQUISA  
PROGRAMA INSTITUCIONAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

RELATÓRIO FINAL

PIB – S – 0120-2013

AVALIAÇÃO COMPORTAMENTAL EM RATOS WISTAR  
ADULTOS QUE FORAM EXPOSTOS AO EXTRATO DA *Passiflora*  
*nitida Kunth* DURANTE O PERÍODO PRÉ-NATAL

Bolsista: Jacqueline Oliveira Miranda da Costa, UFAM

Orientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Geane Antiques Lourenço

MANAUS

2014

Todos os direitos desse relatório são reservados à Universidade Federal do Amazonas, ao Departamento de Ciências Fisiológicas/Farmacologia e aos seus autores. Parte deste relatório só poderá ser reproduzida para fins acadêmicos ou científicos.

Esta pesquisa, financiada pela Universidade Federal do Amazonas - UFAM, através do Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica da Universidade Federal do Amazonas, foi desenvolvida pelo Departamento de Ciências Fisiológicas/Farmacologia e se caracteriza como sub projeto do projeto de pesquisa Etnofarmacologia do Amazonas.

## RESUMO

Fitoterápicos são medicamentos obtidos empregando-se exclusivamente derivados de droga vegetal (extrato, tintura, óleo, exsudato, e outros). E, assim como todos os medicamentos, devem oferecer garantia de qualidade, ter efeitos terapêuticos comprovados, composição padronizada e segurança de uso para a população (Brasil, 2004). No entanto, a maior parte dos fitoterápicos utilizada atualmente por automedicação ou por prescrição médica não apresenta perfil tóxico definido, justamente pela falta de avaliação em testes biológicos destes compostos. A exposição materna a várias substâncias durante a gravidez e a lactação pode causar desenvolvimento de neurotoxicidade e/ou anormalidades comportamentais nos descendentes, que pode persistir através de toda vida desses indivíduos (Palermo-Neto, 1994 – AMITRAZ). Assim, análises simples de animais experimentais neonatos oriundos de mães tratadas com fitoterápicos durante a gestação, mostram informações sobre a toxicidade destes compostos. Os testes de avaliação da toxicidade reprodutiva geralmente compreendem a exposição de animais sexualmente maduros antes da concepção, durante o desenvolvimento pré-natal e após o nascimento e, continuamente até sua maturação sexual (Lemônica, 2001). O composto escolhido para o desenvolvimento desse projeto é o extrato das folhas da *Passiflora nitida* Kunth (maracujá-do-mato ou maracujá-suspiro), que em experimentos prévios (Carvalho, 2008), produziu um efeito de alteração comportamental aparentemente de origem central, dependente da dose. Porém, na literatura constam apenas dados da atividade desse extrato sobre a agregação plaquetária e coagulação sanguínea (Carvalho, et. al., 2010). Não existem estudos sobre a ação dessa espécie vegetal no sistema nervoso central, mas sabe-se que outras espécies do mesmo gênero são amplamente utilizadas com comprovado efeito ansiolítico, sedativo, antiinflamatório, antinociceptivo, antihipertensivo (Di Strasi, et. al., 2002; Dhawan e Sharma, 2002, 2003). Quanto às características fitoquímicas da *Passiflora nitida*, os flavonóides, cumarinas e taninos, são as substâncias ativas majoritárias neste extrato e, conforme descrito na literatura, são compostos ativos em nível central. A proposta deste projeto é efetuar uma avaliação farmacológica dos efeitos do extrato das folhas de *Passiflora nitida* Kunth no comportamento de ratos Wistar adultos que foram expostos a esse extrato durante o período pré-natal. Para isso, iremos observar o comportamento dos ratos Wistar adultos através da avaliação da atividade motora, aprendizado e memória, ansiedade e

depressão por meio de testes de avaliação comportamental (campo aberto, natação forçada, ambiente enriquecido, interação social, esquiva discriminativa no labirinto em cruz elevado) e identificar as possíveis alterações comportamentais decorrentes da exposição ao extrato das folhas de *Passiflora nitida* Kunth.

Palavras- chave: *Passiflora nítida Kunth*; Estudos comportamentais; Ratos adultos.

## ABSTRACT

Herbal Medicines are drugs obtained using only drug derived from plant (extract, tincture, oil, exudate, and others). And, like all medicines, should provide quality assurance, have proven therapeutic effects, standardized composition and safe usage for the population (Brazil, 2004). However, most of the herbal medicines currently used for self-medication or a prescription has no toxicity profile defined precisely by the lack of biological evaluation tests of these compounds. Maternal exposure to various substances during pregnancy and lactation can cause neurotoxicity develops and / or behavioral abnormalities in the offspring which can persist throughout life of these individuals (Palermo-Neto, 1994 - AMITRAZ). Therefore, simple analyzes of experimental animals from newborns of mothers treated with herbal medicines during pregnancy, show information about the toxicity of these compounds. The tests of reproductive toxicity generally comprise exposure of sexually mature animals before conception, during prenatal development and after birth, and continuously until sexual maturity (Lemônica, 2001). The compound chosen for the development of this project is the extract of leaves of *Passiflora nitida* Kunth (passion fruit-eating fox or passionfruit sigh), which in previous experiments (Carvalho, 2008), produced an effect behavioral change apparently of central origin, dose dependent. However, the literature contained only data from the activity of this extract on platelet aggregation and blood coagulation (Carvalho, et. Al., 2010). There are no studies on the action of this plant species in the central nervous system, but it is known that other species of the same genus are widely used with proven anxiolytic, sedative, anti-inflammatory, antinociceptive, antihypertensive (Di Strasi, et al, 2002.; Dhawan and Sharma, 2002, 2003). As for the phytochemical characteristics of *Passiflora nitida*, flavonoids, coumarins and tannins, are the majority in this extract and active substances, as described in the literature, are active compounds at the central level. The purpose of this project is to perform a review of the pharmacological effects of the extract of leaves of *Passiflora nitida* Kunth in the behavior of adult Wistar rats that were exposed to this extract during the prenatal period. For this, we will observe the behavior of adult Wistar rats by assessing motor activity, learning and memory, anxiety and depression through behavioral assessment (open field, forced swim, enriched environment, social interaction, discriminative

avoidance test in maze high cross) and identify possible behavioral changes resulting from exposure to the extract of *Passiflora nitida* Kunth.

Keywords: *Passiflora nitida* Kunth; Behavioral studies; Adult rats

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Número de entradas nos braços do labirinto em cruz elevado (machos).....	20
Tabela 2: Tempo de permanência nos braços fechados aversivo e não aversivo (machos).....	21
Tabela 3: Tempo de permanência nos braços abertos (machos) .....	21
Tabela 4: Tempo de locomoção no campo aberto (machos) .....	22
Tabela 5: Tempo de contato com o objeto (machos) .....	22
Tabela 6: Emissão de excrementos (machos) .....	23
Tabela 7: Tempo de permanência em nado ou imóvel (machos) .....	23
Tabela 8: Número de escaladas (machos) .....	24
Tabela 9: Número de entradas nos braços do labirinto (fêmeas) .....	25
Tabela 10: Tempo de permanência nos braços fechados aversivo e não aversivo (fêmeas).....	25
Tabela 11: Tempo de permanência nos braços abertos (fêmeas) .....	26
Tabela 12: Tempo de locomoção no campo aberto (fêmeas) .....	26
Tabela 13: Tempo de contato com o objeto (fêmeas) .....	27
Tabela 14: Emissão de excrementos (fêmeas) .....	27
Tabela 15: Tempo de permanência em nado ou imóvel (fêmeas) .....	28
Tabela 16: Número de escaladas (fêmeas) .....	28



## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	10
2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	11
2.1. Fitoterápicos.....	11
2.2. Estudos pré-natal, perinatal e vida adulta.....	13
2.3. <i>Passiflora nítida Kunth</i> .....	15
3. DESCRIÇÃO METODOLÓGICA.....	16
3.1 . Local de realização da pesquisa.....	16
3.2 Sujeitos experimentais.....	16
3.3 Substância teste.....	16
3.4 Cruzamento de animais e diagnóstico de prenhes.....	16
3.5 Avaliação do desenvolvimento reprodutivo materno.....	17
3.6 Avaliação do desenvolvimento comportamental.....	17
3.7 Análise estatística.....	19
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO DOS DADOS.....	19
5. CONCLUSÃO.....	29
6. REFERÊNCIAS.....	30

## 1. INTRODUÇÃO

O avanço da ciência e tecnologia em uma determinada Região se faz à custa de formação competente de mão de obra, incentivo à pesquisa com incremento do fomento, políticas de fixação da mão de obra formada na própria Região, dentre outras estratégias.

Mais de 10 mil espécies de plantas da Amazônia são portadoras de princípios ativos para uso medicinal, cosmético e controle biológico de pragas. Ao todo, a Amazônia guarda em suas florestas um total de 33 mil espécies de plantas superiores (Saccaro-Junior, 2011). Demonstra-se com isso que não basta ter uma rica biodiversidade se a ela não se associar um enorme esforço concentrado de pesquisa que possa cobrir todos os passos da bioprospecção, que vão desde o inventário biológico até o patenteamento e o licenciamento, passando pelas etapas especificamente laboratoriais e os ensaios clínicos. A química andou mais rápido que a farmacologia, no sentido de existir muitos princípios ativos naturais ou sintéticos, novas moléculas prontas para serem testadas, porém há limitações de laboratórios apropriados nas Universidades Públicas para realização de testes pré-clínicos com esses compostos.

No Laboratório de Farmacologia do Departamento de Ciências Fisiológicas da Universidade Federal do Amazonas (UFAM), apesar de poucos recursos atuais, é possível implementarmos um núcleo de estudos farmacológicos, visando fixar na Região os testes biológicos com os compostos vegetais Amazônicos, formando parcerias com outros Departamentos dentro da própria Universidade, e em outros Institutos do Estado ou fora dele. A efetivação desse Projeto irá propiciar de forma natural à formação de alunos de iniciação científica e pós-graduação, alavancando a produção científica na UFAM, bem como gerando mão de obra qualificada para a Indústria Farmacêutica regional e para própria Universidade. Não há dúvidas que dentre tantas espécies vegetais da flora Amazônica existem substâncias que ainda nem foram caracterizadas, mas que possuem um grande potencial de se tornarem medicamentos capazes de alterar a história terapêutica mundial. Para que essas substâncias saiam da floresta para a utilização em larga escala existe um caminho extenso e árduo, mas que deve ser iniciado o mais rápido possível se quisermos deter o controle sobre essa potencial biodiversidade. A capacitação e a formação de pesquisadores são fundamentais neste processo e quanto mais mão de obra qualificada esse projeto puder gerar, melhor será o futuro da bioprospecção na Região Amazônica.

A proposta deste projeto é efetuar uma avaliação farmacológica dos efeitos do extrato das folhas de *Passiflora nitida Kunth* no comportamento de ratos wistar adultos, além de verificar os possíveis efeitos desse extrato na exposição pré-natal. Para tanto contaremos com a parceria do Dr Emerson Silva Lima (Faculdade de Ciências Farmacêuticas - UFAM), da Dra Cinthya Iamile Frithz Brandão de Oliveira (Departamento de Ciências Fisiológicas, Lab de Farmacologia - UFAM); da Dra Rosany Piccolotto Carvalho (Departamento de Ciências Fisiológicas, Lab de Fisiologia - UFAM); bem como uma parceria já efetivada com a Dra Valquiria A. Coronado Dorce e Dra Ana Leonor A. Nencioni, ambas do Laboratório de Farmacologia do Instituto Butantan/São Paulo. Objetivamos também inserir nossos alunos nos centros de pesquisa mais habilitados (Faculdade de Ciências Farmacêuticas -UFAM, Instituto Butantan) e que participam deste projeto, para que recebam treinamento e transmitam esse conhecimento à todo grupo, otimizando os trabalhos do Laboratório de Farmacologia da UFAM.

O uso de plantas medicinais durante a gestação ou lactação é também um assunto delicado uma vez que podem causar estímulo da contração uterina e conseqüentemente aborto ou parto prematuro; ação sobre o sistema hormonal que possibilite alterações no desenvolvimento fetal ou do sexo da criança; ações mutagênicas e teratogênicas que podem levar a má formação do feto (Silveira, et al, 2008). Análises simples de animais experimentais neonatos oriundos de mães tratadas com fitoterápicos durante a gestação são indicativos sobre a toxicidade ou não destes compostos. Esse estudo de avaliação do desenvolvimento dos animais expostos ao extrato no período pré-natal será desenvolvido em paralelo ao estudo da ação central desse extrato, e contará com a participação efetiva da Dra Valquiria e da Dra Ana Leonor, que possuem extenso conhecimento nesta área de pesquisa, e participarão do delineamento experimental dessa parte do projeto.

## **2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA**

### **2.1 FITOTERÁPICOS**

Segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária, fitoterápicos são medicamentos obtidos empregando-se exclusivamente derivados de droga vegetal (extrato, tintura, óleo, cera, exsudato, suco, e outros). Os fitoterápicos, assim como

todos os medicamentos, devem oferecer garantia de qualidade, ter efeitos terapêuticos comprovados, composição padronizada e segurança de uso para a população. A eficácia e a segurança devem ser validadas através de levantamentos etnofarmacológicos, documentações tecnocientíficas em bibliografia e/ou publicações indexadas e/ou estudos farmacológicos e toxicológicos pré-clínicos e clínicos (Brasil, 2004).

Infelizmente a maior parte dos fitoterápicos utilizada atualmente por automedicação ou por prescrição médica não apresenta perfil tóxico definido, justamente pela falta de avaliação em testes biológicos destes compostos. A utilização inadequada de um produto, mesmo de baixa toxicidade, pode produzir problemas graves (Silveira, et al, 2008).

As gestantes constituem o grupo populacional que culturalmente utiliza as plantas medicinais, por acreditarem que estas não causam danos ao feto ou ao neonato (Weier e Beal, 2004).

O uso de plantas medicinais durante a gestação ou lactação é também um assunto delicado uma vez que podem causar estímulo da contração uterina e conseqüentemente aborto ou parto prematuro; ação sobre o sistema hormonal que possibilite alterações no desenvolvimento fetal ou do sexo da criança; ações mutagênicas e teratogênicas que podem levar a má formação do feto (Silveira, et al, 2008). Os órgãos sexuais e o sistema nervoso central que ainda estão se diferenciando, nas fases pré e pós-natal, podem ser atingidos por substâncias presentes no sangue materno através da placenta, durante a gestação, ou através do leite, durante a lactação. (Zenick e Klegg, 1989).

Sabe-se que para o bom desenvolvimento de um ser vivo é necessário que se tenha uma complexa coordenação de divisões, migrações e interações celulares, regulação gênica e diferenciação. Qualquer substância que possa interferir nestes processos pode causar malformações no embrião. Com isso, a preocupação e investigação com agentes exógenos capazes de causar mortes ou anomalias comportamentais e estruturais no neonato, têm aumentando. Análises simples de animais experimentais neonatos oriundos de mães tratadas com fitoterápicos durante a gestação, mostram informações sobre a toxicidade destes compostos. Os testes de avaliação da toxicidade reprodutiva geralmente compreendem a exposição de animais

sexualmente maduros antes da concepção, durante o desenvolvimento pré-natal e após o nascimento e, continuamente até sua maturação sexual (Lemônica, 2001).

## 2.2 ESTUDOS PRÉ-NATAL, PERINATAL E VIDA ADULTA

As mudanças no sistema materno durante a gestação vão além de crescimento e incluem alterações na absorção, distribuição, metabolismo e excreção de nutrientes e xenobióticos para melhor suprir e proteger o sistema em desenvolvimento (Walton, 1992).

Durante o período de gestação os níveis de progesterona materno podem estimular enzimas celulares e conseqüentemente, aumentar a metabolização de substâncias químicas que podem alterar sua toxicidade, aumentando-a ou diminuindo-a dependendo do metabólito formado (Lemonica, 1996).

Em mamíferos, a exposição materna a substâncias tóxicas pode causar desvios comportamentais nas mães (toxicidade materna), e têm como consequência, perturbações no desenvolvimento da prole, mesmo que esta não tenha contato direto, via placenta, com a substância (Franková, 1985). Outras substâncias, mesmo sem alterar aparentemente o metabolismo da mãe, podem alcançar o feto e causar danos diretamente sobre ele através de passagem pela placenta e penetração na circulação fetal (Cruttenden, 2003).

A exposição a uma substância tóxica pode ocorrer durante todo o ciclo reprodutivo nos mamíferos. Conforme o período do ciclo reprodutivo, a susceptibilidade individual e entre espécies e a intensidade da exposição, as conseqüências podem ser bastante variadas (Lemonica, 1996).

Nos mamíferos o desenvolvimento ocorre em quatro fases: implantação, organogênese, desenvolvimento fetal e neonatal (Manson e Kang, 1989).

A fase de implantação começa na fecundação do óvulo e vai até o implante do blastocisto no útero materno, nesta fase um agente tóxico pode provocar embriofetalidade, sendo bastante rara a ocorrência de teratogênese (Bernardi, 1999).

O período seguinte, organogênese, inicia-se na fase de proliferação celular e vai até a formação de órgãos rudimentares. O desenvolvimento embrionário é mais sensível aos insultos durante este período, durante o qual cada órgão/tecido exibe um período crítico de maior susceptibilidade às injúrias (Walton, 1992).

Nesta fase os agentes tóxicos podem levar à teratogênese caso a alteração seja compatível com a vida do indivíduo, caso contrário, à embriofetalidade. É neste período que ocorre a maioria das anomalias do desenvolvimento. Cada um dos sistemas que compõe o organismo do animal apresenta um tempo diferente de desenvolvimento e consequentemente um período crítico particular dentro da organogênese no qual ele é mais susceptível aos agentes tóxicos. (Bernardi, 1999). No desenvolvimento fetal e neonatal os órgãos começam a apresentar crescimento tecidual e maturação. As anomalias neste período são mais sutis do que nas que ocorrem no período de organogênese (Manson e Kang, 1989).

Várias espécies animais apresentam, durante o período de desenvolvimento, diferentes períodos críticos, porém existe em algumas delas, bastante similaridade com os respectivos períodos na espécie humana (Bernardi, 1999). O rato é o animal de escolha para estes testes (OECD, 2001).

A exposição materna a várias substâncias durante a gravidez e a lactação pode causar desenvolvimento de neurotoxicidade e/ou anormalidades comportamentais nos descendentes, que pode persistir através de toda vida dos desses indivíduos (Palermo-Neto, 1994 – AMITRAZ).

Os ratos, ao nascer, têm um sistema nervoso central imaturo, com deficiente irrigação cerebral e ausência de barreira hematoencefálica (Bernardi, 1999). Seu desenvolvimento acontece no decorrer do período pós-natal. Qualquer influência que o feto possa sofrer durante a gestação, desde a organogênese até a amamentação pode agir sobre esse processo, podendo causar desde anomalias sutis até teratogênese. O desenvolvimento pós-natal da atividade motora do rato compreende alguns processos comportamentais como o desenvolvimento da postura e locomoção quadrúpede, ajustes dinâmicos posturais, algumas respostas de orientação e de habilidade motoras complexas. Por testes comportamentais é possível avaliar tais parâmetros nos animais (Dorce, 2006).

Para um bom desenvolvimento de um ser vivo é fundamental ter uma complexa coordenação de divisões, migrações e interações celulares, regulação gênica e diferenciação. Qualquer substância que possa interferir nestes processos pode causar malformações no embrião. Com isso, a preocupação e investigação com agentes exógenos capazes de causar mortes ou anomalias comportamentais e estruturais vêm aumentando (Dorce, 2006).

### 2.3 *Passiflora nitida* Kunth

O composto escolhido para o desenvolvimento desse projeto é o extrato das folhas da *Passiflora nitida* Kunth (maracujá-do-mato ou maracujá-suspiro), que em experimentos prévios (Carvalho, 2008), produziu um efeito de alteração comportamental aparentemente de origem central, dependente da dose. Porém na literatura constam apenas dados da atividade desse extrato sobre a agregação plaquetária e coagulação sanguínea (Carvalho, et. al., 2010). Várias espécies do gênero *Passiflora*, denominadas popularmente como maracujá, são empregadas extensivamente na medicina popular em muitos países, sob diversas formas farmacêuticas.

A *Passiflora nitida* cresce espontaneamente em vegetação secundária, beira de rios e estradas e seus frutos são consumidos *in natura* pela população local da Região Amazônica (Hopkins e Souza, 1999). Não existem estudos sobre a ação dessa espécie vegetal sobre o sistema nervoso central, porém outras espécies do mesmo gênero são amplamente utilizadas com comprovado efeito ansiolítico, sedativo, antiinflamatório, antinociceptivo, antihipertensivo (Di Strasi, et. al., 2002; Dhawan e Sharma, 2002, 2003).

Quanto às características fitoquímicas da *Passiflora nitida*, os flavonóides, cumarinas e taninos, são as substâncias ativas majoritárias neste extrato e, conforme descrito na literatura, são compostos ativos em nível central. Os flavonóides são compostos de origem vegetal muito estudados e que demonstram efeitos antimicrobiano, antiviral, antiulcerogênico, antineoplásico, antioxidante, antihepatotóxico, antihipertensivo, hipolipidêmico, antiinflamatório, antiplaquetário (Machado, et. al., 2008).

### **3. DESCRIÇÃO METODOLÓGICA**

3.1 LOCAL DE REALIZAÇÃO DA PESQUISA: A pesquisa foi desenvolvida no Laboratório de Farmacologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Amazonas - UFAM.

3.2 SUJEITOS EXPERIMENTAIS: Os ratos adultos (machos e fêmeas) foram obtidos do cruzamento de ratos Wistar macho e fêmeas, sexualmente maduros, pesando entre 180 e 200g. Todos os animais experimentais foram mantidos em condições padronizadas no biotério do Instituto de Ciências Biológicas - UFAM. O trabalho foi realizado observando-se os Princípios Éticos na Experimentação Animal do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal - COBEA (1991). Informo ainda que esse projeto foi submetido à avaliação do Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Amazonas (CEP/UFAM), recebeu o Protocolo CEUA nº 004/2013 e foi considerado aprovado.

3.3 SUBSTÂNCIA TESTE: Nos experimentos anteriores com a *Passiflora nítida* utilizou-se extratos aquoso, etanólico e hexânico, mas o extrato hora disponível é hidroalcoólico. O extrato foi cedido pelo Prof. Dr. Emerson Silva Lima (que é colaborador deste projeto), da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da UFAM, e foi obtido em parceria com o Prof Adley Antonini Neves de Lima, da mesma Faculdade. A dose utilizada nos tratamentos das fêmeas prenhes, foi determinada em teste piloto onde fixamos 150mg/kg. Todas as administrações foram via oral, pois será a via de administração do fitoterápico após liberação para utilização clínica.

3.4 CRUZAMENTO DE ANIMAIS E DIAGNÓSTICO DE PREENHEZ: As ratas foram agrupadas em gaiolas de polietileno com tampa metálica contendo duas fêmeas cada. Um macho foi colocado no final do dia aproximadamente às 17 horas e retirado pela manhã do dia seguinte (por volta das 9:00h). As fêmeas foram avaliadas quanto a presença de espermatozoides através de lavado vaginal. O lavado vaginal consistiu em injeção de 60 microlitros de solução salina, com ajuda de uma micropipeta, no canal vaginal da rata e da retirada desta solução com esta mesma pipeta. Este líquido foi colocado na lâmina e observado ao microscópio onde se verifica a presença de espermatozóides para confirmação do diagnóstico de prenhez (dia zero de gestação). Após esta confirmação as fêmeas foram separadas individualmente. Os machos e as



fêmeas não prenhes foram utilizados em novos cruzamentos. As fêmeas prenhes foram pesadas nos dias 0, 5, 10, 16 e 21 da gestação, para avaliação indireta da possível toxicidade materna através da evolução ponderal.

**3.5 AVALIAÇÃO DO DESENVOLVIMENTO REPRODUTIVO MATERNO:** Ratas prenhes receberam tratamento com o extrato ou o veículo de diluição, via oral, agudo em dias específicos do período gestacional (10º e 15º dia gestacional). As mesmas foram pesadas de três em três dias para avaliação ponderal. O número de filhotes nascidos viáveis foram quantificados, além da porcentagem de machos e fêmeas nascidos de cada ninhada. Foram avaliados os filhotes quanto a presença de anomalias fenotípicas macroscópicas, além de serem pesados no segundo dia de vida, para estimativa de um possível efeito tóxico do extrato. A manipulação dos filhotes ocorreu sempre a partir do segundo dia de vida, para não ocorrer o risco de rejeição dos mesmos pelas mães. Estes filhotes, com 60 dias de vida, foram utilizados para a sequência de experimentos seguintes.

### **3.6 AVALIAÇÃO DO DESENVOLVIMENTO COMPORTAMENTAL**

#### ***a) Esquiva discriminativa no labirinto em cruz elevado***

Foi utilizado um labirinto em cruz elevado modificado, feito de madeira, contendo dois braços fechados (50 x 15 x 40 cm) e dois braços abertos (50 x 15 x 40 cm). Os braços são dispostos perpendicularmente uns aos outros, formando uma cruz e são elevados a aproximadamente 50 cm. Um dos braços fechados foi denominado como não-aversivo. O outro braço fechado foi denominado aversivo, neste foi colocado exatamente sobre o meio do braço uma lâmpada e um secador de cabelo, para produzir o estímulo aversivo.

Na sessão treino ou sessão de aquisição, da esquiva discriminativa cada animal foi colocado, individualmente, por 10 minutos, no centro do labirinto em cruz elevado modificado. Toda vez que o animal entrava no braço fechado aversivo, a situação aversiva era produzida até o animal deixar este braço. Este estímulo aversivo era produzido pela lâmpada acesa, pelo fluxo de ar quente e do pelo barulho produzido pelo secador. Os animais dos grupos controle e experimentais serão observados durante

a fase clara do ciclo de luz, entre 13:00 e 17:00 horas. Entre as observações de cada rato, o labirinto era limpo com uma solução de água-álcool de 5%.

Na sessão de teste ou sessão de retenção, realizada 24 horas após o condicionamento (sessão treino) o animal era novamente colocado no centro do aparelho, mas sem receber qualquer estimulação aversiva, porém com a lâmpada e o secador, ambos desligados, ainda presente em um dos braços fechados. Nesta sessão serão utilizados os mesmos procedimentos quanto ao período de observação e limpeza.

Ao redor do aparelho de esquiwa discriminativa existiam várias pistas visuais, tais como portas, janelas, bancadas e observador, que os animais poderiam utilizar para localizar os diferentes braços do labirinto. Tanto na sessão de treino como na sessão de teste foi quantificado o número de entradas e o tempo de permanência no braço fechado aversivo, no braço não aversivo e nos braços abertos.

O aprendizado e a memória foram avaliados por meio da comparação do tempo de permanência nos braços fechados aversivos e não-aversivos. Ao mesmo tempo em que o aprendizado e memória são avaliados, o modelo de esquiwa discriminativa em labirinto em cruz elevado permite a avaliação de outros parâmetros do comportamento animal: os níveis de ansiedade (avaliados por meio da quantificação da porcentagem de tempo de permanência nos braços abertos do aparelho) e a atividade motora (avaliada por meio de número total de entradas nos braços do aparelho).

#### **b) Ambiente enriquecido em campo aberto**

Este teste visou analisar a motivação e o processamento de informações que dizem respeito à importância de novos estímulos.

Foi utilizado um aparelho de campo aberto, constituído de um círculo de aproximadamente 90 cm de diâmetro com paredes de aproximadamente 50 cm de altura, recobertas por uma lona branca. O fundo da arena foi dividido em 60 quadrantes - do quadrante 1 ao 40 foi considerado periferia e, do quadrante 41 ao 59 foi considerado centro; no quadrante 60 foi colocado o objeto capaz de induzir o comportamento exploratório do rato (uma prateleira plástica).

Os ratos foram colocados individualmente no canto da arena de teste, voltados para a parede e observados por 5 minutos de teste. Foram analisados o tempo de locomoção nos quadrantes periféricos e centrais, o tempo de contato com o objeto e a

emissão de bolo fecal e urina. A elevação da taxa de ambulação, a exploração de setores mais centrais e a diminuição da frequência de fezes e urina tendem a indicar uma condição de menor resposta emocional de medo.

### **c) Natação Forçada**

Este teste visa avaliar o comportamento depressivo em animais. Para o teste, foi utilizado um recipiente de PVC com aproximadamente 50cm de altura e 30cm de diâmetro, preenchido com água a uma profundidade de aproximadamente 40 cm (evitando que os ratos tocassem no fundo) na temperatura média de 25°C. Os animais foram colocados individualmente no interior do recipiente por 10 minutos na sessão treinamento. Em seguida, foram retirados, secos e aquecidos. Após 24 horas da primeira exposição, os animais foram recolocados neste recipiente por 5 minutos (sessão teste), onde foram avaliados o comportamento de natação (definido como movimentos horizontais, no qual o animal realiza movimentos circulares e cruzamentos de um quadrante para o outro; a escala (considerada quando o animal nada ativamente tentando fugir pela parede do recipiente; a imobilidade (verificada quando não existe nenhum movimento adicional além daqueles necessários para manter a cabeça do animal fora da água. A imobilidade observada na situação do nado forçado é considerada uma manifestação equivalente ao da depressão psiquiátrica (Porsolt et al., 1977; Michelan et al., 2006).

Tanto na sessão teste como na sessão treinamento, os animais foram acompanhados para evitar que o mesmo se afogasse.

Ressaltamos que todos os testes foram padronizados de acordo com a linhagem dos animais em experimento e filmados com câmera digital para posterior análise.

3.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA: Os dados foram analisados utilizando-se primeiramente o teste de Bartlett para determinação da distribuição paramétrica ou não paramétrica. Por esta análise os dados considerados com distribuição paramétrica foram analisados utilizando o teste ANOVA.

## **5. RESULTADOS E DISCUSSÃO DOS DADOS**

### **AVALIAÇÃO COMPORTAMENTAL ATRAVÉS DO TESTE ESQUIVA DISCRIMINATIVA NO LABIRINTO EM CRUZ ELEVADO – MACHOS**

**EXPERIMENTO 1:** Avaliação da atividade locomotora em ratos adultos através do teste de esquiwa discriminativa no labirinto em cruz elevado

Tabela 1: Número de entradas nos braços do labirinto (machos)

<b>NÚMERO DE ENTRADAS</b>	<b>CONTROLE (SALINA)</b>	<b>TRATADOS 10º DIA (150Mg/Kg)</b>	<b>TRATADOS 15º DIA (150Mg/Kg)</b>
Braço fechado aversivo	4,00 ± 0,91	2.25 ± 0,48	3.25 ± 0,63
Braço fechado não aversivo	2,25 ± 0,25	3,25 ± 0,48	4,00 ± 0,58
Braços abertos	2,50 ± 0,65	1,75 ± 0,63	4,00 ± 0,91

Os dados se referem à média ± erro padrão da média -Teste ANOVA

Com base na tabela 1, verificamos que houve uma diminuição na média do número de entradas no braço fechado aversivo quando comparamos os animais tratados do 10º dia com os animais controle. No entanto, não houve uma diminuição tão considerável quando comparados os animais tratados do 15º dia com os animais controle.

Em relação ao número de entradas no braço fechado não aversivo, houve um aumento significativo quando comparados, tanto os animais tratados do 10º dia quanto os do 15º dia, com o grupo controle.

No que se refere aos braços abertos, ocorreu uma diminuição no número de entradas do grupo tratado 10º dia e um aumento no número de entradas do grupo tratado 15º dia quando comparados com o grupo controle.

No geral, pode-se afirmar que o grupo tratado 15º dia apresentou uma atividade locomotora maior quando comparado ao grupo controle e grupo tratado 10º dia.

**EXPERIMENTO 2:** Avaliação do aprendizado e memória em ratos adultos através do teste de esquiwa discriminativa no labirinto em cruz elevado

Tabela 2: Tempo de permanência nos braços fechados aversivo e não aversivo (machos)

<b>TEMPO DE PERMANÊNCIA (em segundos)</b>	<b>CONTROLE (SALINA)</b>	<b>TRATADOS 10º DIA (150Mg/Kg)</b>	<b>TRATADOS 15º DIA (150Mg/Kg)</b>
Braço fechado aversivo	4,00 ± 0,91	5,00 ± 1,78	7,75 ± 1,55
Braço fechado não aversivo	229,75 ± 23,35	251,25 ± 22,21	146,50 ± 25,45

Os dados se referem à média ± erro padrão da média -Teste ANOVA

Quando comparado o tempo de permanência do braço aversivo com o não aversivo, foi observado maior tempo de permanência no braço aversivo em todos os grupos. Sendo que o grupo tratado do 15º dia apresentou o maior tempo de permanência nesse braço quando comparado aos outros grupos, indicando assim, menor aprendizado e memória.

No repertório normal do comportamento de roedores, a busca por lugares fechados e mais abrigados vem em primeiro lugar. Lugares abertos e altos, como o braço aberto do labirinto, geram medo e ansiedade e são normalmente evitados. A diminuição de permanência no braço fechado não aversivo pelos animais expostos à Passiflora no 15º dia indica um comportamento menos ansioso, corroborando com o resultado deste grupo de animais ter maior número de entradas nos braços abertos, se comparados ao grupo controle.

**EXPERIMENTO 3:** Avaliação da ansiedade em ratos adultos através do teste de esQUIVA discriminativa no labirinto em cruz elevado

Tabela 3: Tempo de permanência nos braços abertos (machos)

<b>TEMPO DE PERMANÊNCIA (em segundos)</b>	<b>CONTROLE (SALINA)</b>	<b>TRATADOS 10º DIA (150Mg/Kg)</b>	<b>TRATADOS 15º DIA (150Mg/Kg)</b>
Braços abertos	66,25 ± 23,03	43,75 ± 21,39	145,75 ± 26,93

Os dados se referem à média ± erro padrão da média -Teste ANOVA

O aumento de entradas nos braços abertos (Tabela 2) e a maior permanência nestes (Tabela 3) indica um comportamento livre de medo e, conseqüentemente, menos ansioso, indicando assim que a exposição à Passiflora no 15º dia gestacional, pode ter

ocasionado uma diminuição dos fatores envolvidos na gênese da ansiedade; pois mesmo sendo confrontados com uma situação estressante que gera medo, esses animais demonstraram ser menos responsivos a situação. Contudo estes dados são apenas preliminares e devem ser complementados com outros testes para que possamos afirmar.

## AVALIAÇÃO COMPORTAMENTAL ATRAVÉS DO TESTE AMBIENTE ENRIQUECIDO EM CAMPO ABERTO - MACHOS

**EXPERIMENTO 4:** Avaliação do medo (ansiedade) em ratos adultos através do teste de ambiente enriquecido em campo aberto

A atividade geral e a emocionalidade foram analisados com base na locomoção nos quadrantes periféricos (1 – 40) e centrais (41 - 59), no contato com o objeto a ser explorado (localizado no quadrante central 60) e na frequência da emissão de fezes e urina.

Observe as tabelas 4, 5 e 6 abaixo:

Tabela 4: Tempo de locomoção no campo aberto (machos)

<b>TEMPO DE LOCOMOÇÃO (em segundos)</b>	<b>CONTROLE (SALINA)</b>	<b>TRATADOS 10º DIA (150Mg/Kg)</b>	<b>TRATADOS 15º DIA (150Mg/Kg)</b>
Periferia	159,00 ± 51,00	167,50 ± 24,79	149,25 ± 12,33
Centro	12,25 ± 4,33	19,50 ± 2,32	22,00 ± 4,78

Os dados se referem à média ± erro padrão da média -Teste ANOVA

Tabela 5: Tempo de contato com o objeto (machos)

	<b>CONTROLE (SALINA)</b>	<b>TRATADOS 10º DIA (150Mg/Kg)</b>	<b>TRATADOS 15º DIA (150Mg/Kg)</b>
Tempo de contato com o objeto (em segundos)	128,75 ± 47,02	113,00 ± 26,62	128.75 ± 9.71

Os dados se referem à média ± erro padrão da média -Teste ANOVA

Tabela 6: Emissão de excrementos (machos)

<b>EMIÇÃO DE EXCREMENTOS</b>	<b>CONTROLE (SALINA)</b>	<b>TRATADOS 10º DIA (150Mg/Kg)</b>	<b>TRATADOS 15º DIA (150Mg/Kg)</b>
Bolo fecal	0,75 ± 0,48	3,25 ± 0,75	1,25 ± 0,75
Urina	3,75 ± 1,49	5,75 ± 1,03	2,25 ± 1,32

Os dados se referem à média ± erro padrão da média -Teste ANOVA

A análise das tabelas 4, 5 e 6, nos permite afirmar que na comparação entre os grupos, o grupo tratado do 10º dia apresentou maior média do tempo de locomoção e a exploração dos quadrantes mais periféricos, conseqüentemente menor taxa nos quadrantes centrais, menor tempo de contato com o objeto e a maior média de emissão de excremento (fezes e urina), indicando para esse grupo uma condição de maior resposta emocional de medo. Já os animais do grupo do 15º dia apresentam uma maior permanência no centro do campo aberto e se comparado aos animais controle. Quando um roedor é colocado no centro de um campo aberto ele fica exposto a um paradigma “explorar o novo ambiente X medo do novo”. Frente a esta situação normalmente os animais exploram a arena do campo aberto tentando permanecer mais tempo na periferia do aparelho pois se sentem mais protegidos. A exploração do centro do aparelho é um indicativo de falta de medo do novo, que transportando para nós indica um estado livre de ansiedade em humanos.

#### AVALIAÇÃO COMPORTAMENTAL ATRAVÉS DO TESTE NATAÇÃO FORÇADA - MACHOS

EXPERIMENTO 5: Avaliação da depressão em ratos adultos através do teste de natação forçada

Tabela 7: Tempo de permanência em nado ou imóvel (machos)

<b>TEMPO DE PERMANÊNCIA (em segundos)</b>	<b>CONTROLE (SALINA)</b>	<b>TRATADOS 10º DIA (150Mg/Kg)</b>	<b>TRATADOS 15º DIA (150Mg/Kg)</b>
Natação	222,50 ± 28,24	239,25 ± 8,46	187,25 ± 14,28
Imobilidade	77,50 ± 28,24	60,75 ± 8,46	112,75 ± 14,29

Os dados se referem à média ± erro padrão da média -Teste ANOVA

Tabela 8: Número de escaladas (machos)

	<b>CONTROLE (SALINA)</b>	<b>TRATADOS 10º DIA (150Mg/Kg)</b>	<b>TRATADOS 15º DIA (150Mg/Kg)</b>
Número de escalada	31,75 ± 6,33	31,50 ± 1,04	21,50 ± 2,60

Os dados se referem à média ± erro padrão da média -Teste ANOVA

O comportamento depressivo dos animais foi avaliado através do tempo de permanência em natação ou imobilidade e através do número de escalada que representa as tentativas de fuga.

As tabelas 7 e 8 mostram que dentre os grupos analisados, o grupo tratado 15º dia foi o que mais apresentou comportamento depressivo, quantificando o maior tempo de imobilidade e o menor número de escaladas. A imobilidade observada na situação do nado forçado é considerada uma manifestação equivalente ao da depressão psiquiátrica (Porsolt et al., 1977; Michelan et al., 2006).

O medo leva os animais a reagirem de forma mais adequada em situações de perigo. A falta desta resposta emocional a uma situação de perigo pode ter ocasionado o estado depressivo apresentado por esse grupo de animais, uma vez que a falta de resposta fisiológica não desencadeou o start para o animal tentar fugir da situação aversiva.

O grupo tratado no 10º dia gestacional não apresentou alterações quando comparado ao controle.

#### AVALIAÇÃO COMPORTAMENTAL ATRAVÉS DO TESTE ESQUIVA DISCRIMINATIVA NO LABIRINTO EM CRUZ ELEVADO – FÊMEAS

EXPERIMENTO 6: Avaliação da atividade locomotora em ratas adultas através do teste de esQUIVA discriminativa no labirinto em cruz elevado



Tabela 9: Número de entradas nos braços do labirinto (fêmeas)

<b>NÚMERO DE ENTRADAS</b>	<b>CONTROLE (SALINA)</b>	<b>TRATADOS 10º DIA (150Mg/Kg)</b>	<b>TRATADOS 15º DIA (150Mg/Kg)</b>
Braço fechado aversivo	2,25 ± 0,95	1,00 ± 0,41	1,25 ± 1,25
Braço fechado não aversivo	3,75 ± 1,25	2,50 ± 0,50	2,25 ± 1,25
Braços abertos	3,00 ± 0,71	1,75 ± 0,75	1,50 ± 0,87

Os dados se referem à média ± erro padrão da média -Teste ANOVA

A tabela 9, mostra que ocorreu uma diminuição na média do número de entradas nos braços fechados aversivo e não aversivo e abertos quando comparamos os animais tratados (10º dia e 15º dia) com os animais controle. Assim, pode-se afirmar que os grupos tratados apresentaram uma atividade locomotora menor quando comparado ao grupo controle.

EXPERIMENTO 7: Avaliação do aprendizado, memória e ansiedade em ratas adultas através do teste de esquiwa discriminativa no labirinto em cruz elevado

Tabela 10: Tempo de permanência nos braços fechados aversivo e não aversivo (fêmeas)

<b>TEMPO DE PERMANÊNCIA (em segundos)</b>	<b>CONTROLE (SALINA)</b>	<b>TRATADOS 10º DIA (150Mg/Kg)</b>	<b>TRATADOS 15º DIA (150Mg/Kg)</b>
Braço fechado aversivo	4,75 ± 1,65	1,25 ± 0,48	1,75 ± 1,75
Braço fechado não aversivo	228,75 ± 13,90	232,00 ± 15,02	267,00 ± 26,71

Os dados se referem à média ± erro padrão da média -Teste ANOVA

As ratas dos grupos expostos a Passiflora apresentaram um maior tempo de permanência no braço não aversivo se comparadas ao grupo controle. Além disto podemos notar também na tabela 10 que o tempo de permanencia no braço aversivo é menor para as ratas experimentais. Evitar o braço aversivo indica aprendizado mais eficiente e boa aquisição de memória.

**EXPERIMENTO 8:** Avaliação da ansiedade em ratas adultas através do teste de esquiwa discriminativa no labirinto em cruz elevado

Tabela 11: Tempo de permanência nos braços abertos (fêmeas)

<b>TEMPO DE PERMANÊNCIA (em segundos)</b>	<b>CONTROLE (SALINA)</b>	<b>TRATADOS 10º DIA (150Mg/Kg)</b>	<b>TRATADOS 15º DIA (150Mg/Kg)</b>
Braços abertos	66,50 ± 13,763	66,75 ± 15,16	31,25 ± 24,96

Os dados se referem à média ± erro padrão da média -Teste ANOVA

A diminuição do tempo de permanência nos braços abertos indica um comportamento de medo e, conseqüentemente, mais ansioso.

Baseado nos dados da tabela 11, verificamos que os animais tratados do 15º dia apresentaram um tempo de permanência nos braços abertos menor quando comparado aos outros grupos, sugerindo assim, um maior grau de ansiedade. Isso pode indicar que a exposição à Passiflora, pode ter ocasionado um aumento dos fatores envolvidos na gênese da ansiedade nas ratas tratadas no 15º dia gestacional; porém estes dados são apenas preliminares e devem ser complementados com outros testes para que possamos afirmar.

**AVALIAÇÃO COMPORTAMENTAL ATRAVÉS DO TESTE AMBIENTE ENRIQUECIDO EM CAMPO ABERTO - FÊMEAS**

**EXPERIMENTO 9:** Avaliação do medo em ratas adultas através do teste de ambiente enriquecido em campo aberto

A atividade geral e a emocionalidade foram analisadas com base na locomoção nos quadrantes periféricos e centrais, no contato com o objeto a ser explorado (localizado no quadrante central 60) e na frequência da emissão de fezes e urina. Observe, abaixo, as tabelas 12,13 e 14:

Tabela 12: Tempo de locomoção no campo aberto (fêmeas)

<b>TEMPO DE LOCOMOÇÃO (em segundos)</b>	<b>CONTROLE (SALINA)</b>	<b>TRATADOS 15º DIA (150Mg/Kg)</b>
Periferia	188,25 ± 46,70	108,00 ± 56,37
Centro	18,50 ± 7,80	17,50 ± 5,58

Os dados se referem à média ± erro padrão da média -Teste ANOVA

Tabela 13: Tempo de contato com o objeto (fêmeas)

	<b>CONTROLE (SALINA)</b>	<b>TRATADOS 15º DIA (150Mg/Kg)</b>
Tempo de contato com o objeto (em segundos)	93,25 ± 45,19	174.50 ± 53,54

Os dados se referem à média ± erro padrão da média -Teste T

Tabela 14: Emissão de excrementos (fêmeas)

<b>EMIÇÃO DE EXCREMENTOS</b>	<b>CONTROLE (SALINA)</b>	<b>TRATADOS 15º DIA (150Mg/Kg)</b>
Bolo fecal	2,00 ± 1,68	0,25 ± 0,25
Urina	2,00 ± 1,68	0,25 ± 0,25

Os dados se referem à média ± erro padrão da média -Teste T

De acordo com as tabelas acima, observamos que ao compararmos o grupo tratado do 15º dia com o grupo controle, verificamos que o grupo tratado do 15º dia apresentou menor média do tempo de locomoção nos quadrantes mais periféricos, teve maior tempo de contato com o objeto e a menor média de emissão de excremento (fezes e urina), indicando para esse grupo uma menor resposta emocional de medo.

Apesar de não haver aumento da locomoção nos quadrantes centrais, vale lembrar que o objeto de interação estava colocado no centro da arena do campo aberto. O fato do animal passar mais tempo interagindo com o objeto significa que permaneceu mais tempo no centro da arena. Como já discutido anteriormente para os machos, a diminuição da resposta emocional diante de uma situação que deveria gerar medo e ansiedade implica em possíveis alterações na plasticidade neuronal envolvidas neste comportamento. Contudo, apenas com estes testes preliminares não é possível determinarmos o real efeito da Passiflora na gênese destas alterações.

AVALIAÇÃO COMPORTAMENTAL ATRAVÉS DO TESTE  
NATAÇÃO FORÇADA - FÊMEAS

EXPERIMENTO 10: Avaliação da depressão em ratas adultas através do teste de natação forçada

Tabela 15: Tempo de permanência em nado ou imóvel (fêmeas)

<b>TEMPO DE PERMANÊNCIA (em segundos)</b>	<b>CONTROLE (SALINA)</b>	<b>TRATADOS 15º DIA (150Mg/Kg)</b>
Natação	156,25 ± 15,20	217,75 ± 14,96
Imobilidade	151,75 ± 15,59	82,25 ± 14,96

Os dados se referem à média ± erro padrão da média -Teste T

Tabela 16: Número de escaladas (fêmeas)

	<b>CONTROLE (SALINA)</b>	<b>TRATADOS 15º DIA (150Mg/Kg)</b>
Número de escalada	16,25 ± 5,07	10,00 ± 3,71

Os dados se referem à média ± erro padrão da média -Teste T

O comportamento depressivo dos animais foi avaliado através do tempo de permanência em natação ou imobilidade e através do número de escalada que representa as tentativas de fuga.

De acordo com as tabelas 15 e 16, o grupo tratado 15º dia apresentou menor tempo de imobilidade e menor número de escaladas quando comparado com o grupo

controle. Ao contrário do que ocorre com os machos, as fêmeas do grupo do 15º dia apresentam um comportamento de resistência para entrar em estado de depressão, uma vez que continuam nadando, mesmo tendo aprendido no treino que não há fuga para a situação na qual se encontram. A alteração que ocorre no emocional destes animais submetidos a *Passiflora* durante o período gestacional, parece sofrer influência hormonal, pois que possui respostas antagônicas para machos e fêmeas no teste de natação forçada.

## **6- CONCLUSÕES**

A exposição dos animais machos ao extrato hidroetanólico de *Passiflora* nítida no 10º dia gestacional sugere um efeito de aumento da emocionalidade, que ficou evidenciado nos testes de ambiente enriquecido em campo aberto e na esquiwa discriminativa em labirinto em cruz elevado. Já o grupo exposto ao fitoterápico no 15º dia gestacional apresentou, nos mesmos testes, um padrão de menor resposta as situações que causam medo aos roedores, nos levando a acreditar em uma modulação comportamental que permite aos animais apresentarem um comportamento menos ansioso frente a um problema.

Quanto ao estado depressivo, os animais machos do grupo do 10º dia não apresentaram alteração no teste de nado forçado, porém o grupo do 15º dia apresentou uma tendência ao estado depressivo, corroborando com a falta de resposta ao medo. O medo leva os animais a reagirem de forma mais adequada em situações de perigo. A falta desta resposta emocional a uma situação de perigo pode ter ocasionado o estado depressivo apresentado por esse grupo de animais.

As fêmeas dos grupos experimentais apresentaram um padrão de comportamento diferente dos machos de mesmo tratamento, demonstrando uma performance melhor no aprendizado e na aquisição de memória, sendo menos deprimidas e menos ansiosas.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BERNARDI, M. M. Exposição aos elementos durante o período perinatal. In: SOUZA-SPINOZA, H; GÓRNIK, S. L. AND BERNARDI, M. M. **Farmacologia Aplicada à Medicina Veterinária**. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1999, p. 566-574.

BRASIL. Ministério da Saúde. ANVISA. Resolução-RE nº48 de 16 de março de 2004. Diário Oficial da República, D. F.168 de março de 2004. Seção1.

CARVALHO, M.J., Dissertação de Mestrado: "Caracterização fitoquímica e atividades farmacológicas de extratos das folhas do maracujá-do-mato (*Passiflora nitida Kunth*)", Universidade Federal do Amazonas, Mestrado em Patologia Tropical, 2008.

CARVALHO, M.J., PEDROSA, T.N., GUILHON-SIMPLÍCIO, F., NUNEZ, C.V., OHANA, D.T., PEREIRA, M.M., LIMA, E.S., Estudo farmacognóstico e atividade *in vitro* sobre a coagulação sanguínea e agregação plaquetária das folhas de *Passiflora nitida Kunth* (Passifloraceae). Acta Amazonica, 40 (1), 199-206, 2010.

CRUTTENDEN, K. **Exposição pré natal da mãe ao veneno do escorpião *Tityus serrulatus*: efeitos na prole de ratos**. São Paulo, 2003, 84 p. Tese (Mestrado). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo.

DI STASI, L.C.; HIRUMA-LIMA, C.A.; GONZALES, F.G.;PORTILHO, W. G. Violaes medicinais. In: DI Stasi, Luiz Claudio; Hirumalima,Clélia Akiko. Plantas medicinais na Amazônia e na Mata Atlântica. 2. ed. São Paulo: **Editora da UNESP**, 2002.

DORCE, Ana Letícia. **Exposição pré-natal da mãe ao veneno do escorpião *Tityus bahiensis*: efeitos na prole de ratos no período pós-natal e na vida adulta**. São Paulo, 2006, Tese( mestrado). Instituto Butantan.

FRANKOVÁ, S. Maternal behavior in females of the laboratory rat selected for high and low activity and defecation rates. **Actv. Nerv. Sup.**, v. 27, p. 186-198, 1985.

LEMONICA, I. P. Embriofetotoxicidade. In: OGA, S. **Fundamentos de Toxicologia**. São Paulo: Atheneu Editora, 1996. P. 85-94.

LEMÔNICA, I.P. Teratogênese experimental e sua aplicação em humanos. In: SPRITZER, D.T.; SANSEVERINO, M.T.V.; SCHÜLER-FACCINI, L. (Eds). *Manual de teratogênese*. Porto Alegre: UFRGS, 2001. p.19-39.

MACHADO, H.; NAGEM, T. J.; PETERS, V. M.; FONSECA, C. S.; OLIVEIRA, T. T. Flavonóides e seu potencial terapêutico. **Boletim do Centro de Biologia da Reprodução**, Juiz de Fora, 27 (1/2), 33-39, 2008.

MANSON, J. M. KANG, Y. J. Test Methods for Assessing Female Reproductive and Developmental Toxicology. In: HAYES, A. W. **Principles and Methods of Toxicology**. Raven Press, Ltda. New York, 1989, p. 311-358.

OECD, 2001. GUIDELINES FOR THE TESTING OF CHEMICALS. Proposal for Updating Guideline 414. Prenatal Developmental Toxicity Study.

PALERMO-NETO, J.; FLÓRIO, J. C.; SAKATE, M. Developmental and Behavioral Effects of Prenatal Amitraz Exposure in Rats. **Neurotoxicology and Teratology**, v. 16, n. 1, p. 65-70, 1994.

SCCARO-JUNIOR, N.L., Desafios da Bioprospecção no Brasil. **Texto para discussão nº 1569, do Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada do Governo Federal**, 2011.

SILVEIRA, P.F., BANDEIRA, M.A.M., ARRAIS, P.S.D., Farmacovigilância e reações adversas às plantas medicinais e fitoterápicos: uma realidade. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. 18 (4), 618-626, 2008.

WALTON, K. D.; LIEBERMAN, D.; LLINÁS, A.; BEGIN, M.; LLINÁS, R. R. Identification of the critical period for motor developmental in neonatal rats. **Neuroscience**, v. 51, 4: p. 763-767, 1992.

WEIER, K. M.; BEAL, M. Complementary therapies as adjuncts in the treatment of postpartum depression. **Journal of Midwifery & Womens Health**, v. 49, n. 2, p. 96-104, 2004.

ZENICK, H.; CLEGG, E.D. Assessment of male reproductive toxicity: A risk of assessment approach. In: *Principles and methods of toxicology*. New York: Raven Press, p. 937-988.