

## Comportamento de ratas (*Rattus norvegicus* Berkenhout, 1769) expostas ao extrato de *Ginkgo biloba* durante a lactação

Dieime Elaine de Faria<sup>1</sup>, João Evangelista de Paula Reis<sup>1</sup>, Luis Cláudio Ribeiro<sup>2</sup>, Vera Maria Peters<sup>1</sup> & Martha de Oliveira Guerra<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Centro de Biologia da Reprodução, Universidade Federal de Juiz de Fora, Caixa Postal 328, 36.001-970, Juiz de Fora, MG, Brasil. Tel.: 55 32 3229 3251. Fax: 55 32 32293255. cbr@cbr.ufjf.br

<sup>2</sup> Departamento de Estatística, Instituto de Ciências Exatas, Universidade Federal de Juiz de Fora. Tel.: 55 32 3229 3306

**Abstract. Maternal behavior of rats treated with *Ginkgo biloba* during lactation.** The present work observes the effect of the administration of *Ginkgo biloba* extract on the behavior of lactating rats. Animals were divided into two experimental groups (n = 15 rats/group): Control (1 mL of distilled water) and Treated (3,5 mg/Kg body weight of *G. biloba*), which were treated via oral gavage during the full lactation period (from the 2<sup>nd</sup> to 16<sup>th</sup> post-natal day). Observed variables: [1] signs of maternal toxicity – body weight and food and water intake increase/decrease, locomotion inside the cage, piloerection, stereotypy, diarrhea and deaths; [2] Maternal behavior – indifference to offspring, nest organization, retrieving and licking the pups; [3] Number of live, dead and cannibalized pups. There were no significant differences in any of the variables. It can be concluded that *Ginkgo biloba* extract does not alter the behavior of lactating rats in the experimental model used.

**Key words:** *Ginkgo biloba*, lactation, behavior, rat.

**Resumo:** O presente estudo observou o efeito da administração de extrato de *Gynkgo biloba* no comportamento de ratas lactantes. Os animais foram divididos em dois grupos experimentais (n=15 ratas/grupo): Controle (1 mL de água destilada) e Tratado (3,5 mg/Kg por peso de *G. biloba*), os quais foram tratados por gavagem via oral durante o período de lactação plena (do 2º ao 16º dia pós-natal). Variáveis observáveis: [1] sinais de toxicidade materna - massa corporal e aumento/diminuição da ingestão de água e alimento, locomoção dentro da gaiola, ereção de pêlos, estereotípias, diarreia e mortes; [2] Comportamento materno - indiferença a ninhada, organização do ninho, recolher e lambar filhotes; [3] Número de filhotes vivos, mortos e canibalizados. Não foi possível evidenciar diferenças significativas para quaisquer das variáveis. Pode-se concluir que o extrato de *Ginkgo biloba* não alterou o comportamento de ratas lactantes no modelo experimental utilizado.

**Palavras-chave:** *Ginkgo biloba*, lactation, behavior, rat.

### INTRODUÇÃO

O bem estar do animal, definido como o estado de saúde física e mental no qual o indivíduo encontra-se em harmonia com o meio (ANDERSEN *et al.*, 2004), é um fator essencial para a manutenção da gestação e para o desenvolvimento pós-

natal das crias, visto que pode afetar não só o comportamento materno como também a produção de leite, ambos indispensáveis para o desenvolvimento pós-natal. Entende-se como comportamento materno todo o cuidado dado pelas mães aos seus filhotes, desde o nascimento até que eles desenvolvam características e habilidades que as-

segurem sua própria sobrevivência. No caso dos mamíferos, a lactação é crucial para a sobrevivência das crias (MARCHLEWSKA-KOJ *et al.*, 1999). O comportamento materno é desencadeado por diversos mecanismos, dentre eles a elevação de ocitocina que ocorre durante o parto; elevação de prolactina, lactógeno placentário e estradiol e queda de progesterona (BRIDGES *et al.*, 1997; NUMAN *et al.*, 1999). Fatores que alteram tais hormônios podem afetar o comportamento materno.

Vários fatores podem interferir com o bem estar animal, causando alterações físicas e comportamentais que podem gerar resultados falsos em pesquisas.

Como alterações físicas, podem ser citadas: modificações da temperatura corporal, de concentrações sanguíneas de hormônios, da frequência respiratória e outros. A simples rotina de criação ou de manuseio dos animais gera estresse. Por exemplo, a troca de um animal de uma para outra gaiola acelera os batimentos cardíacos (aumento de 46% dos batimentos por minuto) e aumenta sua pressão sanguínea em 19%. A intubação gástrica (gavagem), para administração de água destilada, aumenta em 58% os níveis plasmáticos de corticosterona (Vide revisão em BALCOMBE & BARNARD, 2004).

Alterações do comportamento podem ser causadas por dor ou mal estar, induzidas por drogas ou fatores físicos (choques e ferimentos, por exemplo). Qualquer fator que modifique a homeostasia interna da mãe pode comprometer a viabilidade das crias, por alteração de seu comportamento ou da qualidade do leite (nutrientes, volume, presença de substâncias tóxicas).

Quando se deseja observar se a cria, na fase de lactação, é afetada pela exposição materna a uma droga é importante avaliar o comportamento da mãe, tanto no que se refere a indícios de toxicidade quanto a alterações do seu comportamento. Tal procedimento permite diferenciar o efeito tóxico da droga, diretamente na cria (via ingesta do leite contaminado) do que seria consequência de um com-

portamento anormal ou de alterações da homeostasia interna da mãe.

Alguns fitoterápicos, considerados desprovidos de toxicidade por sua tradição de uso, não foram avaliados, ainda, quanto ao seu efeito tóxico sobre o organismo materno e de alteração de seu comportamento. É o caso do extrato de *Ginkgo biloba* (Lin., 1771) (Fam. Ginkgoaceae), planta nativa da Coreia, China e Japão (FORLENZA, 2003).

O extrato de *G. biloba* é usado como: antiinflamatório (SEGURA *et al.*, 2000; SMITH & LUO, 2004); no tratamento da depressão (SEGURA *et al.*, 2000; PETTY *et al.*, 2001), doença de Alzheimer (ONDRIZEK *et al.*, 1999; DIAMOND *et al.*, 2000; FORLENZA, 2003), vertigens, doenças auditivas, distúrbios vestibulares, síndrome pre-menstrual (FETROW & ÁVILA, 2000), isquemia cerebral e periférica e outros (GABY, 1996; DIAMOND *et al.*, 2000; SEGURA *et al.*, 2000; TESKE, 2003).

O extrato de *G. biloba* – EGB 761 – é obtido das folhas da planta e comercialmente padronizado para conter 24% de flavonóides (ginkgetina, isoginkgetina e bilobetina) e 6% de terpenos (bilobalide e ginkgolídeos) (DIAMOND *et al.*, 2000; FORLENZA, 2003; SIERPINA *et al.*, 2003; NISHIDA & SATOH, 2003; CHAO & CHU, 2004). Os principais flavonóides presentes são os derivados do kaempferol, quercetina e da isorhamnetina (WHO, 1999; MCKENNA *et al.*, 2001; VAN BEEK, 2002).

Compostos flavonóides possuem propriedades estrogênicas, ainda que fracas, mas que podem ter efeitos na fisiologia reprodutiva, quando estão presentes em quantidades suficientes na dieta (SHUTT, 1976). Vários fitoestrógenos já tiveram sua ação estrogênica comprovada *in vitro*, inclusive o kaempferol (MIKSICEK, 1993; BREINHOLT & LARSEN, 1998).

Na produção de leite é indispensável a síntese e a liberação de prolactina, hormônio habitualmente inibido pela dopamina. Estrógenos e progesterona inibem a dopamina e conseqüentemente liberam a produção de prolactina que promove a síntese de leite pelos alvéolos mamários (LEAVITT, 1995; SILVA &

VASCONCELLOS, 1988), portanto alterações na concentração plasmática de tais hormônios levam a perturbações na produção de leite.

Diante das pesquisas anteriormente relacionadas, torna-se necessário avaliar os efeitos da exposição ao extrato de *G. biloba* sobre o bem estar e o comportamento materno de ratas, como forma de contribuir com os estudos pré-clínicos do fitoterápico.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Modelo Experimental

Foram utilizadas 30 ratas Wistar, no 21<sup>o</sup> dia de prenhez e com pesos corporais semelhantes, obtidas da colônia do Centro de Biologia da Reprodução (CBR)–Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF).

### Condições de Criação e Alojamento dos Animais

O alojamento dos animais no biotério do CBR-UFJF é provido de estantes climatizadas (temperatura e umidade controladas e fluxo de ar constantemente renovado). A iluminação é mista combinando luz natural e lâmpadas incandescentes, sendo estas controladas automaticamente para acenderem às seis horas e apagarem às 18h, constituindo um fotoperíodo de 12h de luz e 12h de escuro. Tais condições são as preconizadas por WOLFENSOHN & LLOYD (2003) como adequadas para criação de ratos. As fêmeas gestantes foram mantidas em gaiolas individuais, de polipropileno, providas de camas de maravalha selecionada, madeira para água filtrada e cocho para ração do tipo peletizada.

### Grupos Experimentais

Após o parto, as ratas e suas ninhadas foram distribuídas aleatoriamente em dois grupos, cada um contendo 15 animais: controle e tratado.

Calculou-se a dose de extrato de *G. biloba* a ser administrada, tomando como base a dose diária (120

a 240 mg) preconizada pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária para uso humano e fazendo a proporção em termos de peso corporal.

Cada animal do grupo controle recebeu 1mL de água destilada, enquanto o grupo tratado recebeu 3,5mg de *Ginkgo biloba* /Kg de peso corporal suspensos em 1mL de água destilada. O extrato de *Ginkgo biloba* e a água destilada foram administrados, diariamente, via intragástrica (por gavagem, às 10h) durante todo o período de lactação plena (do segundo ao 16<sup>o</sup> dia de lactação), quando a alimentação das crias se faz exclusivamente pelo leite (BROWN, 1988b).

### Desenho Experimental

Nas primeiras 24 horas decorridas após o parto (primeiro dia após o nascimento - 1DPN), as crias foram contadas, sexadas, identificadas e redistribuídas entre as mães que tiveram partos no mesmo dia (KUNKO *et al.*, 1996). A redistribuição das crias teve por objetivo obter ninhadas homogêneas, com oito crias, com participação igual de ambos os sexos na ninhada de tal forma que o acesso ao leite e aos cuidados maternos fosse semelhante em todos os grupos (SILVA, 1991). Foram aguardadas, pelo menos oito horas após o parto antes de manusear as crias de forma a evitar o canibalismo pelas mães (WOLFENSOHN & LLOYD, 2003).

A identificação de cada cria foi feita com injeção intradérmica de nanquim, em pontos específicos do corpo, conforme código do Biotério do Centro de Biologia da Reprodução – UFJF.

Para avaliar possíveis efeitos tóxicos do extrato de *G. biloba* sobre as mães, elas foram observadas diariamente, após o tratamento, por um período de 30 minutos, para a verificação de sinais indicativos de toxicidade tais como presença de piloereção, alteração da atividade locomotora (hipoatividade ou hiperatividade), movimentos estereotipados (lamber patas, coçar focinho e morder cauda), redução do consumo de alimentos e

água (LEMÔNICA, 1996; CHRISTIAN, 2001).

As ratas foram pesadas a cada três dias durante o período de tratamento. Para estimar o consumo de ração e água, cada rata recebeu, todos os dias às 13h, 40g de ração e 100mL de água, quantidades superiores à sugerida por (WOLFENSOHN & LLOYD, 2003), tendo em vista o desgaste físico durante o período de lactação. Estimou-se o consumo de ração através da diferença de peso entre a sobra da ração encontrada em cada gaiola e o que foi colocado no dia anterior. A estimativa do consumo de água foi obtida pela diferença entre o volume colocado no dia anterior e o que restou na mamadeira.

Para avaliação de alterações do comportamento de cuidado materno, as ratas foram observadas por períodos de cinco minutos, pela manhã e à tarde. Os seguintes comportamentos foram anotados: postura de amamentação, organização e manutenção do ninho, indiferença à ninhada, recolher e lambar filhotes (BROWN, 1998a). Durante a observação do comportamento de recolher os filhotes foram contadas as crias vivas, mortas e canibalizadas.

### Procedimento Estatístico

Os dados foram analisados pelos testes "t" de Student ou Qui-quadrado. Nível de significância  $\alpha = 0,05$ .

Esse experimento foi aprovado pelo comitê de ética em experimentação animal da Universidade Federal de Juiz de Fora (Protocolo número: 52/2003 - CEA)

## RESULTADOS

Os sinais clínicos indicativos de toxicidade, obtidos em 221 observações em cada grupo experimental, encontram-se expressos na Tabela 1.

Em ambos os grupos experimentais não foram observados: piloereção, hipoatividade e mortes maternas. Embora as variáveis hiperatividade e diarreia tenham sido observadas com maior frequência no grupo tratado, não houve diferença significativa entre elas.

Na Tabela 2 encontra-se o peso corporal das ratas dos grupos controle e tratado, ao longo do estudo.

**Tabela 1.** Sinais clínicos indicativos de toxicidade (%) em ratas tratadas com 1mL solução aquosa de *Ginkgo biloba* ou com 1mL de água destilada durante o período de lactação plena (segundo ao 16º dia de lactação).

Variáveis	Grupos	
	Controle	Tratado
Piloereção	0 (0/221)	0 (0/221)
Hiperatividade	9 (20/221)	15,8 (35/221)
Hipoatividade	0 (0/221)	0 (0/221)
Diarreia	1,8 (4/221)	6,3 (14/221)
Morte	0 (0/221)	0 (0/221)

(Número de vezes em que a variável foi observada/total de observações).  $p > 0,05$ .

**Tabela 2.** Peso corporal materno (g) de ratas tratadas com 1mL solução aquosa de *Ginkgo biloba* ou com 1mL de água destilada durante o período de lactação plena (segundo ao 16º dia de lactação).

Dias de Lactação	Peso Corporal (g)*	
	Controle	Tratado
2	191,70 ± 12,90 (15)	190,17 ± 13,50 (15)
5	185,56 ± 8,96 (15)	189,96 ± 4,15 (15)
8	196,97 ± 13,36 (15)	194,17 ± 14,29 (15)
11	202,53 ± 10,98 (15)	198,38 ± 12,67 (15)
14	198,60 ± 10,87 (15)	196,03 ± 14,04 (15)
16	194,19 ± 10,77 (15)	192,35 ± 13,59 (15)

\*Resultados expressos em média ± desvio padrão (número de animais estudados).  $p > 0,05$ .

Os pesos corporais maternos das ratas dos grupos controle e tratado sofrem flutuações, entretanto não há diferença significativa entre os grupos ou entre dias do mesmo grupo.

A estimativa do consumo médio de ração (Tab.3) e de água (Tab. 4) não diferiu entre os grupos estudados.

**Tabela 3.** Estimativa do consumo médio de ração por ratas tratadas com 1 mL solução aquosa de *Ginkgo biloba* ou com 1 mL de água destilada durante o período de lactação plena (2º ao 16º dia de lactação).

Dias de Lactação	Consumo de Ração (g)	
	Controle	Tratado
2	15,78 ± 2,15 (15)	16,43 ± 2,58 (15)
3	21,44 ± 3,21 (15)	22,78 ± 3,00 (15)
4	25,09 ± 2,61 (15)	23,69 ± 3,23 (15)
5	29,12 ± 3,93 (15)	27,96 ± 3,48 (15)
6	32,05 ± 4,75 (15)	32,47 ± 3,54 (15)
7	30,91 ± 6,26 (15)	31,26 ± 4,22 (15)
8	36,75 ± 2,93 (15)	36,42 ± 3,29 (15)
9	36,54 ± 3,58 (15)	35,00 ± 3,04 (15)
10	38,20 ± 1,87 (15)	37,38 ± 3,89 (15)
11	38,60 ± 2,18 (15)	36,97 ± 5,50 (15)
12	39,61 ± 0,68 (15)	39,39 ± 2,12 (15)
13	39,95 ± 0,20 (15)	39,86 ± 0,52 (15)
14	38,00 ± 7,74 (15)	39,66 ± 1,10 (15)
15	40,00 ± 0,00 (15)	39,76 ± 0,94 (15)
16	40,00 ± 0,00 (15)	40,00 ± 0,00 (15)

Resultados expressos em média ± desvio padrão (número de animais estudados).  $p > 0,05$ .

**Tabela 4.** Estimativa do consumo de água por ratas tratadas com 1mL solução aquosa de *Ginkgo biloba* ou com 1mL de água destilada durante o período de lactação plena (segundo ao 16º dia de lactação).

Dias de Lactação	Consumo de água (mL)	
	Controle	Tratado
2	28,43 ± 4,18 (14)	28,80 ± 4,09 (15)
3	30,79 ± 4,49 (14)	33,60 ± 5,93 (15)
4	35,93 ± 5,62 (15)	36,27 ± 4,71 (15)
5	44,47 ± 5,90 (15)	47,33 ± 8,14 (15)
6	46,93 ± 5,99 (14)	46,20 ± 9,14 (15)
7	45,71 ± 8,56 (14)	47,20 ± 9,14 (15)
8	53,93 ± 6,39 (15)	57,20 ± 8,19 (15)
9	53,00 ± 8,10 (15)	49,93 ± 8,67 (15)
10	53,93 ± 5,76 (15)	52,80 ± 11,14 (15)
11	56,27 ± 7,27 (15)	55,87 ± 6,86 (15)
12	63,20 ± 6,67 (15)	63,80 ± 7,42 (15)
13	64,07 ± 5,44 (15)	63,40 ± 7,73 (15)
14	64,07 ± 8,43 (15)	65,27 ± 7,18 (15)
15	64,80 ± 7,51 (15)	64,93 ± 7,83 (15)
16	63,73 ± 6,33 (15)	64,87 ± 6,08 (15)

Resultados expressos em média ± desvio padrão (número de animais estudados).  $p > 0,05$ .

Não houve diferença no comportamento materno das ratas de ambos os grupos experimentais (Tab. 5).

O índice de viabilidade precoce (sobreviventes no quarto dia/recém-nascidos X 100) foi de 100% (120/120 x 100) para o grupo controle e de 99,16% (119/120 x 100) para o grupo tratado e o índice de sobrevivência no período de lactação plena (sobreviventes no 16º DPN/nascidos vivos X 100) foi de 97,5% (117/120 x 100) no grupo controle e 95% (114/120 x 100) para o grupo tratado. Não houve diferença significativa entre os grupos estudados.

## DISCUSSÃO

Condições como genética, doenças, tipo de dieta, exposição a drogas e a toxicantes do meio ambiente, estresse e outros fatores, podem interferir com o desenvolvimento intra-uterino e pós-natal das crias (CHERNOFF *et al.*, 1989).

Entre os indicadores clínicos sugeridos para identificar toxicidade materna encontram-se: piloereção (ericação de pêlos), alterações da locomoção no interior da gaiola (hiper ou hipoatividade), movimentos estereotipados como lambar patas, coçar focinho e morder cauda, presença de cromodacriorréia (secreção lacrimal com pigmento vermelho), diarreias, aumento da diurese, perda ou aumento do peso corporal, alteração no consumo de ração e água e mortes maternas (CHRISTIAN, 2001). Em ratos, o sofrimento e o estresse do animal manifestam-se por sinais como perda de peso, piloereção, postura encurvada, isolamento, hipotermia, redução na alimentação e aumento da atividade de lambeduras (RIVERA, 2002; WOLFENSHON & LLOYD; 2003; MEZADRI *et al.*, 2004).

Os sinais de toxicidade materna, avaliados no presente trabalho, não mostraram diferenças significativas entre os grupos controle e tratado, do mesmo modo que em nenhum dos grupos pareceu existir indicação de desconforto ou estresse dos animais, indicando que, no modelo experimental usado não foi observado, em ratas lactando, efeito nocivo do extrato de *G. biloba*.

**Tabela 5.** Comportamento materno (%) em ratas tratadas com 1mL solução aquosa de *Ginkgo biloba* ou com 1mL de água destilada durante o período de lactação plena (segundo ao 16º dia de lactação).

Variáveis	Grupos	
	Controle	Tratado
Organização e Manutenção do Ninho	98,2 (217/221)	95,4 (211/221)
Postura de Amamentação	98,2 (217/221)	95,4 (211/221)
Recolher e Lamber Filhotes	100 (221/221)	94,1 (208/221)
Indiferença a Ninhada	3,2 (7/221)	3,6 (8/221)

(Número de vezes que o comportamento foi observado/total de observações).  $p > 0,05$ .

Como já mencionado, os cuidados maternos são necessários à sobrevivência, tanto quanto à qualidade e quantidade de leite (BROWN, 1998a). O comportamento materno depende de fatores do ambiente, modificações hormonais internas e estímulos da própria cria, mas é, também, um reflexo do estado de saúde do animal. Processos infecciosos ou tóxicos que causem estresse interferem tanto no comportamento materno quanto na qualidade do leite, que pode ser contaminado por agentes infecciosos ou por substâncias químicas ingeridas pela mãe, e põe em risco a sobrevivência da cria. Como exemplo, LEON *et al.* (1990) citam que a hipertermia materna leva ao abandono do ninho e redução do tempo de amamentação, o que acarreta a má nutrição das crias e o risco para sua sobrevivência.

Os comportamentos maternos em ratos manifestam-se antes do nascimento e durante a lactação e incluem a construção do ninho, que começa de quatro a cinco dias antes do parto, seguindo-se, já no período de lactação, do arranjo do ninho, da posição de amamentação, do tempo gasto amamentando, da recuperação da cria e de sua limpeza e estímulo, pelo ato de lambê-las (HAFEZ, 1995; KUNKO *et al.*, 1996; BROWN, 1998a).

O arranjo do ninho e a permanência junto aos recém-nascidos são necessários para o aquecimento adequado das crias visto que, em ratos nesta idade, o mecanismo central regulador da temperatura, não está desenvolvido (DASTON, 1994), aparecendo do quarto dia de vida em diante (SILVA, 1991). A organização do ninho é feita pela rata, recolhendo o material do ninho e organizando-o ao redor dos filhotes. Sempre que o material está desorganizado a fêmea o recolhe novamente, puxando-o ou empurrando-o ao seu redor, até reorganizá-lo. Além disso, a mãe arranja as paredes do ninho mais espessas e altas quando a temperatura abaixa e menos espessas e mais baixas quando a temperatura se eleva (BARNETT & BURN, 1970). A rata, particularmente no período de lactação plena, mantém os filhotes juntos no ninho, e os carrega de volta quando são retirados. O ato de lamber os filhotes tem a função de

estimulá-los e mantê-los limpos (BROWN, 1998b) além de estimular a defecação e a micção (BROUETTE-LAHLLOU *et al.*, 1998). Em nenhum dos grupos experimentais foi observada alteração nesses comportamentos, sendo observados em proporções semelhantes tanto no grupo controle quanto no tratado, indicando que o extrato de *G. biloba*, administrado a ratas no período de lactação, não afetou o seu comportamento com relação à prole.

A quantidade e a qualidade do leite, bem como o número e frequência de amamentação, embora não tenham sido medidos podem, indiretamente, ser avaliados pelo elevado índice de sobrevivência das crias e a ausência de canibalismo. Assim, aparentemente os flavonóides presentes no extrato de *G. biloba* (SHUTT, 1976; MIKSICEK, 1993; BREINHOLT & LARSEN, 1998) não interferiram na produção de leite.

Os dados apresentados permitem concluir que, no modelo experimental utilizado, não foram evidenciados sinais indicativos de efeito tóxico do extrato de *G. biloba* sobre o comportamento materno de ratas.

#### AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à doutoranda Luciana Valente Borges pela leitura, formatação e versão do resumo e o auxílio e a Bolsa de Apoio Técnico (Nathália Barbosa do Espírito Santo Borges), concedidos pela FAPEMIG (Projeto CDS- 960/04).

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDERSEN, M.L.; D'ALMEIDA, V.; KO, G.M.; KAWAKAMI, R.; MARTINS, P.J.F.; MAGALHÃES, L.E. & TUFIK, S. 2004. **Princípios éticos e práticos do uso de animais de experimentação**. São Paulo, UNIFESP. 167p.
- BALCOMBE, J.P.; BARNARD, N.D. & SANDUSKY, C. 2004. Sandusky Laboratory Routines Cause Animal Stress. **Contemporary Topics** 43(6): 42-51.
- BARNETT, S.A. & BURN, J. 1970. Maternal and infant behavior, pp.177-191. *In*: HAFEZ, E.S.E. **Reproduction and breeding techniques for laboratory animal**. Philadelphia, Lea & Febiger. 375p.

- BREINHOLT, V. & LARSEN, J.C. 1998. Detection of weak estrogenic flavonoids using a recombinant yeast strain and a modified MCF7 cell proliferation assay. **Chemical Research Toxicology** 11(6): 622-629.
- BRIDGES, R.S.; ROBERTSON, M.C.; SHIU, R.P.; STURGIS, J.D.; HENRIQUEZ, B.M. & MANN, P.E. 1997. Central lactogenic regulation of maternal behavior in rats: Steroid dependence, hormone specificity, and behavioral potencies of rat prolactin and rat placental lactogen I. **Endocrinology** 138(2):756-763.
- BROUETTE-LAHLLOU, I.; GODINOT, F. & VERNET-MAURY, E. 1998. The mother rat's vomeronasal organ is involved in detection of dodecil propionate, the pup's preputial gland pheromone. **Physiology & Behavior** 66(3): 427-436.
- BROWN, R.E. 1998a. Hormônios e comportamento parental. pp.53-99. *In*: COSTA, M.J.R.P. & CROMBERG, V.U.(eds.). **Comportamento Materno em Mamíferos: Bases teóricas e aplicações aos ruminantes domésticos**. São Paulo, Sociedade Brasileira de Etologia. 272p.
- BROWN, R.E. 1998b. Influências da experiência prévia e hormônios no comportamento paterno de roedores: uma abordagem integrativa, pp.115-160. *In*: COSTA, M.J.R.P. & CROMBERG, V.U.(eds.). **Comportamento Materno em Mamíferos: Bases teóricas e aplicações aos ruminantes domésticos**. São Paulo, Sociedade Brasileira de Etologia. 272 p.
- CHAO, J.C.J. & CHU, C.C. 2004. Effects of *Ginkgo biloba* extract on cell proliferation and cytotoxicity in human hepatocellular carcinoma cells. **World Journal of Gastroenterology** 10(1): 37-41.
- CHERNOFF, N.; ROGERS, J.M. & KAVLOCK, R.J. 1989. An overview of maternal toxicity and prenatal development: considerations for developmental toxicity hazard assessments. **Toxicology** 59: 111-125.
- CHRISTIAN, M.S. 2001. Test methods for assessing female reproductive and developmental toxicology. pp.1301-1381. *In*: HAYES, W. **Principles and Methods of Toxicology**. 4<sup>th</sup> ed. Philadelphia: Taylor & Francis. 1887p.
- DASTON, P.D. 1994. Relationships between maternal and developmental toxicity, pp.189-212. *In*: KIMMEL, C.A. & BUELKE-SAM, J. **Developmental Toxicology**. 2.ed. New York, Raven Press. 479p.
- DIAMOND, B.J.; SHIFLETT, S.C.; FEIWEL, N.; MATHEIS, R.J.; NOSKIN, O.; RICHARDS, J.A. & SCHOENBERGUER, N.E. 2000. *Ginkgo biloba* extract: mechanisms and clinical indications. **Archives of Physical Medicine of Rehabilitation** 81(5): 668- 678.
- FETROW, C.W. & AVILA, J.R. 2000. **Manual de medicina alternativa para o profissional**. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan. 742p.
- FORLENZA, O.V. 2003. *Ginkgo biloba* e memória: mito ou realidade? **Revista de Psiquiatria Clínica** 30(6): 218-220.
- GABY, A.R. 1996. *Ginkgo biloba* extract: a review. **Alternative Medicine Review** 1: 236- 242.
- HAFEZ, E.S.E. 1995. Comportamento reprodutivo, pp.241-262. *In*: \_\_\_\_\_. **Reprodução animal**. 6.ed. São Paulo, Manole. 582p.
- KUNKO, P.M.; SMITH, J.A.; WALLACE, M.J.; MAHER, J.R.; SAADY, J.J. & ROBINSON, S.E. 1996. Perinatal methadone exposure produces physical dependence and altered behavioral development in the rat. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics** 277(3): 1344-1351.
- LEAVITT, W.W. 1995. The female reproductive system during pregnancy, parturition, and lactation, pp.45-60. *In*: WITORSCH, R.J.(ed.). **Reproductive Toxicology**. New York, Raven Press. 335p.
- LEMÔNICA, I. P. 1996. Embriofetotoxicidade, pp.86-94. *In*: SEIZI, O.(ed.). **Fundamentos de Toxicologia**. Rio de Janeiro, Atheneu. 515p.
- LEON, M.; COOPERSMITH, R.; BEASLEY, L. J. & SULLIVAN, R.; et al. 1990. Thermal aspects of parenting, pp.400-415. *In*: KRASNEGOR, N.A. & BRIDGES, R.S. **Mammalian parenting**. Oxford, Oxford University Press. 440 p.
- MARCHLEWSKA-KOJ, A.; KAPUSKA, J. & OLEJNICZAK, P. 1999. Ultrasonic response of CBA newborn mice to bedding odour. **Behaviour** 136(3): 269-278.
- McKENNA, D.J.; JONES, K. & HUGHES, K. 2001. Efficacy, safety, and use of *Ginkgo biloba* in clinical and preclinical applications. **Alternative Therapies Health Medicine** 7(5): 70-90.
- MEZADRI, T.J.; TOMÁZ, V.A. & AMARAL, V.L.L. 2004. **Animais de Laboratório: Cuidados na iniciação experimental**. UFSC. 154p.
- MIKSICEK, R.J. 1993. Commonly occurring plant flavonoids have estrogenic activity. **Molecular Pharmacology** 44(1): 37-43.
- NISHIDA, S. & SATOH, H. 2004. Comparative vasodilating actions among terpenoids and flavonoids contained in *Ginkgo biloba* extract. **Clinica Chimica Acta** 339(1-2): 129-133.
- NUMAN, M.; ROACH, J.K.; DEL CERRO, M.C.; GUILLAMON, A.; SEGOVIA, S.; SHEEHAN, T.P. & NUMAN, M.J. 1999. Expression of intracellular progesterone receptors in rat brain during different reproductive states, and involvement in maternal behavior. **Brain Research** 830: 358-371.

- ONDRIZEK, R.R.; CHAN, P.J.; PATON, W.C. & KING, A. 1999. An alternative medicine study of herbal effects on the penetration of zona-free hamster oocytes and the integrity of sperm deoxyribonucleic acid. **Fertility & Sterility** 71(3): 517-522.
- PETTY, H.R.; FERNANDO, M.; KINDZELSKII, A.L.; ZAREWYCH, B.N.; KSEBATI, M.B.; HRYHORCZUK, L.M. & MOBASHERY, L.M. 2001. Identification of colchicine in placental blood from patients using herbal medicines. **Chemical Research Toxicology** 14(9): 1254-1258.
- RIVERA, E.A. 2002. Estresse em animais de laboratório. pp. 263-273. *In*: Andrade, A.; Pinto, S.C. & Oliveira, R.S.(orgs). **Animais de laboratório. Criação e experimentação**. Rio de Janeiro, Fiocruz. 368p.
- SEGURA, M.A.M., DELGADO, S. B. & TORRES, G. T. 2000. Aplicaciones clínicas del extrato de la hoja de *Ginkgo biloba*. **Revista Fitoterapia** 1: 95-105.
- SHUTT, D.A. 1976. The effects of plant estrogens on animal reproduction. **Endeavour (Oxf.)** 35:110-113.
- SIERPINA, V.S.; WOLLSCHLAEGER, B. & BLUMENTHAL, M. 2003. *Ginkgo biloba*. **American Family Physician** 68(5): 923-926.
- SILVA, V.A. 1991. Métodos experimentais utilizados na avaliação de efeitos tóxicos sobre o desenvolvimento, pp. 218-234. *In*: RABELLO-GAY, M.N.; RODRIGUES, M.A.L.R. & MONTELEONE-NETO, R. (eds.). **Mutagênese, Teratogênese e Carcinogênese: Métodos e critérios de avaliação**. Ribeirão Preto, Sociedade Brasileira de Genética. 241p.
- SILVA, S.Z.C. & VASCONCELLOS, A.C. 1988. A lactação. pp.14-23. *In*: BEDRAN, J.N. **O uso de drogas na gravidez e na lactação**. Rio de Janeiro, Guanabara. 366 p.
- SMITH, J.V. & LUO Y., 2004. Studies on molecular mechanisms of *Ginkgo biloba* extract. **Applied Microbiology and Biotechnology** 64(4): 465-472.
- TESKE, M. & TRENTINI, A.M. **Herbarium: Compêndio de Fitoterapia**. Curitiba, Herbarium Laboratório Botânico. 268p.
- VAN BEEK, T.A. 2002. Chemical analysis of *Ginkgo biloba* leaves and extracts. **Journal Chromatography A**. 967(1): 21-55.
- WOLFENSOHN, S. & LLOYD, M. 2003. Pain, stress and human end points. pp.58-73. **Handbook of laboratory animal management and welfare**. 3<sup>rd</sup> ed. Oxford, Blackwell Publishing.
- WHO. World Health Organization. 1999. **Monographs on selected medicinal plants**.pp.154-165. Geneva.

Recebido: 18/01/2006

Revisado: 11/04/2006

Aceito: 03/05/2006