

Desenvolvimento do blastocisto em ratas (*Rattus norvegicus* Berkenhout, 1769) tratadas com extrato de jarsin (*Hypericum perforatum* L., 1753) ¹

Nathália Barbosa do Espírito Santo Borges ², Martha de Oliveira Guerra²,
Lucimar Las Casas ³ & Vera Maria Peters ²

BLASTOCYST DEVELOPMENT IN RATS (*RATTUS NORVEGICUS* BERKENHOUT, 1769) TREATED WITH JARSIN EXTRACT (*HYPERICUM PERFORATUM* L., 1753) ¹

ABSTRACT: The "Jarsin" extract (*Hypericum perforatum* L., 1753), is used as an alternative of the synthetic antidepressants. There are few papers concerning the reproductive toxicology of "Jarsin" extract and none related to the early embryonic development. The present work was aimed at verifying the effect of "Jarsin" extract, on the blastocyst development in Wistar rats. Female rats from the Centro de Biologia da Reprodução vivarium were mated with fertile males. After the insemination, the female rats were randomly distributed in two groups: Control (0.5 ml of distilled water) and treated (18mg of *H. perforatum*/0.5 ml of distilled water). Both groups received the treatment by oral gavage, twice a day from the first to the fourth day of gestation. The animals were terminated on the fifth day of gestation. The oviduct and uterine cornua were flushed with Talpe-Hepes medium and the embryos were collected, counting and their morphologic development performed. The dams were evaluated to clinical signs indicative of maternal intoxication (deaths, altered locomotion in the cage, piloerection, diarrhoea, vaginal bleeding, reduced food consumption and body weight gain or loss). Maternal ovary weight was measured and the number of corpora lutea was counted. The data were analyzed by the Student's t test ($\alpha = 0,05$). No clinical indicative of maternal intoxication were observed. The number of embryos and of the blastocyst phase were inalterated. The Jarsin extract, in the present experimental design doesn't seem to be toxic to the dams or the embryos.

Key Words: Jarsin extract; *Hypericum perforatum*; Rats; Blastocysts.

¹ Parte integrante da Dissertação de Mestrado em Comportamento e Ecologia Animal – ICB/UFJF. Financiamento: FAPEMIG – EDT 1879/02 – Rede Mineira de Ensaios Toxicológicos e Farmacológicos de Produtos Terapêuticos e FINEP – CT-Infra 1.

² Centro de Biologia da Reprodução, Universidade Federal de Juiz de Fora R. São Mateus, 187/1404, São Mateus, 36025001, Juiz de Fora, MG ppvmp@cbr.ufjf.br

³ Farmácia de Manipulação Las Casas - Juiz de Fora, MG, Brasil.

INTRODUÇÃO

A depressão que ocorre durante a gestação é menos comentada que a depressão pós parto, bastante estudada e conhecida, mas é igualmente importante para o desenvolvimento fetal. A depressão em mulheres gestantes é um fato conhecido e tem aumentado progressivamente nos últimos anos (SCHMIDT *et al.*, 1997). Ela gera alteração no ambiente materno, tanto por seus próprios mecanismos patológicos quanto pelos fármacos usados para tratá-la. Há relatos de que cerca de 70% de mulheres gestantes apresentam sintomas de depressão das quais 10% a 16% preenchem os critérios para o quadro de depressão maior (NEWPORT *et al.*, 2001).

O tratamento da depressão se faz através da psicanálise e com fármacos diversos que cruzam a placenta, estão presentes no líquido amniótico, são excretados no leite (NEWPORT *et al.*, 2001; LLEWELLYN & STOWE, 1998; HOSTETTER *et al.*, 2000) mas, não se tem certeza de como agem no organismo fetal.

Embora alguns autores sugiram que os antidepressivos, usados durante o início da gestação não mostrem indícios de risco adverso para a criança (ERICSON *et al.*, 1999), seu uso continua a ser desaconselhado em mulheres gestantes.

O hipérico (*Hypericum perforatum* Linnaeus, 1753) é um fitofármaco que possui potente atividade antiviral (BAHLS, 2001), tem sido indicado no tratamento de algumas formas de câncer (MERUELO *et al.*, 1988) e é amplamente usado no tratamento da depressão leve a moderada (SIMÕES *et al.*, 2001).

A atividade antidepressiva do hipérico deve-se a dois componentes: a hipericina e a pseudohipericina, seus principais componentes ativos (WAGNER & BLADT, 1994). Outro componente do hipérico, a hiperforina, tem sido objeto de controvérsias quanto a seu efeito antidepressivo, enquanto CHATTERJEE *et al.* (1998) lhe atribui tal efeito, COLETA *et al.* (2001) o negam.

Poucas informações sobre a toxicidade do hipérico, administrado durante a gestação, foram encontradas na literatura consultada. RAYBURN *et al.* (2001) relatam que a administração de 180mg de *H. perforatum*/Kg de peso corporal/dia, às mães, durante quinze dias antes do acasalamento e ao lon-

go de toda a gestação, não afeta o desenvolvimento nem a maturação física da prole de camundongos. CHAN *et al.* (2001), verificaram redução do número de somitos e do diâmetro do saco vitelino nos fetos de ratos, cultivados, *in vitro*, com hipericina, do nono ao décimo-primeiro dias da embriogênese. O tratamento com hipérico não altera o comportamento das crias de ratas (CADA *et al.*, 2001). ONDRIZEK *et al.* (1999) relatam que doses elevadas de hipérico causam mutagenicidade no espermatozóide. SCHWARZ *et al.* (2003) sugerem que o hipérico pode interferir com o efeito contraceptivo de hormônios esteroidianos.

Alguns extratos específicos do *H. perforatum* estão sendo estudados, dentre eles o extrato de Jarsin (GRAHAM *et al.*, 2000), que possui em sua constituição 0,4% de hipericina e tem mostrado eficácia e excelente tolerabilidade nos casos de depressão (WAGNER & BLADT, 1994; HARRER & SCHULZ, 1994).

Visando contribuir para os estudos pré-clínicos dessa substância, no presente trabalho, pretendeu-se avaliar o desenvolvimento embrionário até a fase de blastocisto, em ratas tratadas com extrato de Jarsin.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram usadas ratas, originalmente Wistar, com três meses de idade, nulíparas, pesando entre 150 e 180g, obtidas na colônia do Biotério do Centro de Biologia da Reprodução - Universidade Federal de Juiz de Fora.

O alojamento de ratos, no Biotério do Centro de Biologia da Reprodução - UFJF, é provido de amplos basculantes telados e de dois exaustores, além de aquecedores de meio ambiente. A temperatura é mantida em torno de 22° C. A ventilação é natural, a iluminação é mista - luz natural e lâmpadas incandescentes - sendo as últimas controladas automaticamente para acenderem às 6:00h e apagarem às 18:00h (fotoperíodo de 12h claro/12h escuro). Os ratos são mantidos em gaiolas de polipropileno, providas de camas de maravalha selecionada, mamadeira para água filtrada e cocho para ração do tipo peletizada.

A água é oferecida *ad libitum* e cada rato recebe, em média, 10g de ração/100g de peso corporal por dia (WOLFENSOHN & LLOYD, 1998; SHARP & LA REGINA, 1998).

Nathália
Barbosa do
Espírito
Santo
Borges,
Martha de
Oliveira
Guerra,
Lucimar Las
Casas, Vera
Maria Peters

Rev. bras.
Zoociências
Juiz de Fora
V. 7 Nº 2
Dez/2005
p. 259-272

Acasalamento e datação da gestação

Para a determinação das fêmeas inseminadas, fez-se o acasalamento pelo sistema poligâmico, usando-se machos de fertilidade previamente comprovada. Acasalaram-se, ao final da tarde (17:00h), três fêmeas por macho e, na manhã seguinte, determinou-se a inseminação pela presença de espermatozoides no esfregaço vaginal, sendo este dia designado o dia 1 após a inseminação (DPI₁) (TONG *et al.*, 2000).

Desenho experimental

As ratas inseminadas foram distribuídas aleatoriamente em dois grupos: tratado e controle, cada um contendo um lote de 10 animais.

O extrato seco de Jarsin, contendo 0,4% de hipericina (Lote SJ001108 - Galena Química e Farmacêutica Ltda) foi gentilmente cedido pela Farmácia de Manipulação Las Casas, Juiz de Fora, MG.

Os animais do grupo tratado receberam 18mg de extrato seco de Jarsin (*H. perforatum*) diluídos em 0,5mL de água destilada/Kg de peso corporal, por via intragástrica, duas vezes ao dia, uma pela manhã (9:00h) e outra à tarde (15:00h). A dose usada corresponde a maior dose (1800mg/dia) terapêutica humana, que varia de 300 a 1800mg de *H. perforatum*/dia (STAFFELDT *et al.*, 1994). Os animais do grupo controle receberam 0,5mL de água destilada, pela mesma via e nos mesmos horários que os do grupo tratado. A administração foi feita, consecutivamente, do primeiro ao quarto dia pós-inseminação, compreendendo o período da fertilização à formação do blastocisto inicial.

Durante todo o experimento os animais foram inspecionados – às 9:00h e às 15:00h para avaliar comportamentos indicativos de toxicidade materna, tais como, piloereção, alteração na deambulação do animal pela gaiola e diarreia, além de mortes maternas (MANSON & KANG, 1994; LEMÔNICA, 1996).

As ratas foram pesadas no início, no término do tratamento e no dia do sacrifício. O consumo de ração, do primeiro ao quinto dia após a inseminação, foi estimado pela diferença de peso da ração colocada em um dia e o peso das sobras no dia seguinte.

A eutanásia foi realizada por excesso de inalação de éter etílico, entre 9:00 e 10:00h, do quinto dia pós-inseminação. Em tal dia os blastocistos expandidos iniciam sua migração para o útero (YOSHINAGA & ADAMS, 1967; GANGULY *et al.*, 1986; SINGH *et al.*, 1993; SOUZA *et al.*, 1997) e ainda estão livres no corno uterino (SOUZA *et al.*, 1997).

Nathália
Barbosa do
Espírito
Santo
Borges,
Martha de
Oliveira
Guerra,
Lucimar Las
Casas, Vera
Maria Peters

Coleta e análise de embriões, em fase de pré-implantação

As técnicas de coleta e análise de embriões já foram previamente descritas (TONG *et al.*, 2000; FORCELLEDO *et al.*, 1981; ORTIZ *et al.*, 1989). Após laparotomia o trato reprodutor foi removido em bloco e os ovários foram separados para pesagem e contagem dos corpos lúteos.

Em seguida, as tubas uterinas e os cornos uterinos foram dissecados e removidos para uma placa de Petri, contendo soro fisiológico.

As tubas uterinas foram separadas dos cornos uterinos e cada óstio tubário foi canulado com sonda apropriada por onde se perfundiu o meio de cultura Talp Hepes. O lavado tubário foi recolhido em cápsulas embrionárias, para posterior exame dos embriões.

Cada corno uterino foi seccionado na extremidade tubária e acima do colo e, em seguida, foi submetido ao mesmo procedimento de lavagem para a coleta de embriões.

Cada cápsula embrionária foi examinada para contagem do número de embriões e para identificação de blastocistos.

Variáveis analisadas

Maternas: Ganho de peso corporal materno; estimativa do consumo médio de ração; ausência ou presença de sinais e sintomas indicativos de toxicidade; ausência ou presença de mortes; média do peso de ovários direito e esquerdo; média de corpos lúteos de gestação/mãe.

Embrionárias: Média de embriões em fase de pré-implantação/mãe; média de blastocistos/mãe.

Processamento Estatístico

Teste "t" de Student. Nível de significância: $\alpha = 0,05$.

Rev. bras.
Zoociências
Juiz de Fora
V. 7 Nº 2
Dez/2005
p. 259-272

O protocolo experimental foi submetido à Comissão de Ética na Experimentação Animal do Centro de Biologia da Reprodução, sendo aprovado em ata datada de doze de janeiro de 2001. Protocolo nº 001/2001.

RESULTADOS

A administração do extrato de Jarsin não alterou a deambulação dos animais pela gaiola, não causou diarreia, piloereção nem mortes maternas.

Ratas do grupo controle ganharam $3,16 \pm 4,70$ de peso corporal (g) e as do grupo tratado $2,44 \pm 3,91$ ($p > 0,05$), não havendo diferença entre os grupos.

Não houve diferença significativa no consumo médio de ração, por rata, entre os grupos, nos quatro dias examinados (Tab. 1).

Os pesos de ovários dos animais dos grupos controles e tratados com extrato de Jarsin foram semelhantes, como pode ser visto na Tabela 2.

Nota-se que não ocorreram diferenças significativas nas médias de corpos lúteos (Tab. 3), de embriões (Tab. 4) e de blastocistos por mãe (Tab. 5).

Tabela 1. Estimativa do consumo médio de ração (g) por ratas prenhes, tratadas com 18mg de extrato de Jarsin/Kg de peso corporal (tratadas) ou com 0,5mL de água destilada (controles), duas vezes ao dia, via gástrica, do 1º ao 4º dia pós-inseminação.

DIAS DE PRENHEZ	CONSUMO DE RAÇÃO *	
	Controle	Tratado
2	11,86 \pm 2,94 (10)	10,91 \pm 4,48 (10)
3	14,13 \pm 2,16 (10)	15,07 \pm 2,75 (10)
4	14,89 \pm 2,62 (10)	14,84 \pm 1,90 (10)
5	15,03 \pm 3,44 (10)	14,09 \pm 1,57 (10)

* Resultados expressos em média \pm desvio-padrão, (nº de animais estudados). $p > 0,05$

Tabela 2. Peso de ovários (mg) no quinto dia de prenhez de ratas, tratadas com 18mg de extrato de Jarsin/Kg de peso corporal ou controles, com 0,5mL de água destilada, duas vezes ao dia, via gástrica, do 1^o ao 4^o dia pós-inseminação.

GRUPOS EXPERIMENTAIS	PESO DE OVÁRIOS *	
	Direito	Esquerdo
Controle	20,30 ± 3,50 (10)	18,30 ± 3,80 (10)
Tratado	20,30 ± 3,50 (10)	19,50 ± 3,03 (10)

* Resultados expressos em média ± desvio-padrão, (n^o de animais estudados). p > 0,05

Tabela 3. Média de corpos lúteos em ovários de ratas, no quinto dia pós-inseminação, tratadas com 18mg de extrato de Jarsin/Kg de peso corporal ou controles, com 0,5mL de água destilada, duas vezes ao dia, via gástrica, do 1^o ao 4^o dia pós-inseminação.

CORPOS LÚTEOS *	GRUPOS EXPERIMENTAIS	
	Controle	Tratado
Ovário Direito	5,70 ± 1,77(10)	6,40 ± 1,58(10)
Ovário Esquerdo	5,20 ± 1,69(10)	5,10 ± 1,37(10)
Total de Corpos Lúteos	10,90 ± 1,29(10)	11,50 ± 1,65(10)

* Resultados expressos em média ± desvio-padrão, (n^o de animais estudados). p > 0,05

Tabela 4. Média de embriões por rata, no quinto dia pós-inseminação, tratadas com 18mg de extrato de Jarsin/Kg de peso corporal ou controles, com 0,5mL de água destilada, duas vezes ao dia, via gástrica, do 1^o ao 4^o dia pós-inseminação.

EMBRIÕES *	GRUPOS EXPERIMENTAIS	
	Controle	Tratado
Corno Uterino Direito	4,90 ± 1,37(10)	5,60 ± 1,78(10)
Corno Uterino Esquerdo	4,30 ± 1,34(10)	3,60 ± 1,43(10)
Total de Embriões	9,20 ± 1,48(10)	9,20 ± 2,70(10)

* Resultados expressos em média ± desvio-padrão, (n^o de animais estudados). p > 0,05

Tabela 5. Média de blastocistos por rata, no quinto dia pós-inseminação, tratadas com 18mg de extrato de Jarsin/Kg de peso corporal ou controles, com 0,5mL de água destilada, duas vezes ao dia, via gástrica, do 1^o ao 4^o dia pós-inseminação.

BLASTOCISTOS *	GRUPOS EXPERIMENTAIS	
	Controle	Tratado
Corno Uterino Direito	4,80 ± 1,47(10)	4,20 ± 1,75(10)
Corno Uterino Esquerdo	4,30 ± 1,34(10)	3,40 ± 1,35(10)
Total de Blastocistos	9,10 ± 1,45(10)	7,60 ± 2,46(10)

* Resultados expressos em média ± desvio-padrão, (n^o de animais estudados). p > 0,05.

Nathália
Barbosa do
Espírito
Santo
Borges,
Martha de
Oliveira
Guerra,
Lucimar Las
Casas, Vera
Maria Peters

Rev. bras.
Zootecias
Juiz de Fora
V. 7 N^o 2
Dez/2005
p. 259-272

DISCUSSÃO

Alterações no organismo materno causam alterações do desenvolvimento embrionário conforme já demonstrado por KHERA (1987) que, em 1985, havia correlacionado malformações fetais que ocorrem com baixa frequência (exencefalia, encefalocele, micro ou anoftalmia e outras) à redução do peso materno. Embora, essa relação tenha sido contestada por CHAHOUD *et al.* (1999) não existem dúvidas de que a toxicidade materna pode influir no bom desenvolvimento do embrião.

Os indicativos de toxicidade materna, habitualmente observados em ratas, são: decréscimo ou aumento de peso corporal, de consumo de alimento e água, alteração da deambulação na gaiola, piloereção, diarreia, mortalidade materna, entre outros (MANSON & KANG, 1994; CHAHOUD *et al.*, 1999; LEMÔNICA, 2001). Como em nenhum dos grupos estudados observaram-se alterações nos dados clínicos, acima mencionados, pode-se supor que a administração do extrato de Jarsin às mães não causou toxicidade observável por critérios clínicos.

As condições hormonais maternas também são necessárias para o bom desenvolvimento embrionário, sendo amplamente conhecido que níveis sanguíneos de progesterona inadequados interferem com a viabilidade do embrião. Uma forma indireta de se avaliar a progesterona materna faz-se através do peso de ovário e do número de corpos lúteos de gestação (WAINFORTH, 1971; KATO *et al.*, 1979; UCHIDA *et al.*, 1970).

O peso do ovário depende bastante do número e do volume dos corpos lúteos de gestação, visto serem eles as maiores estruturas no ovário gestante (WAYNFORTH, 1971). Os corpos lúteos são os principais responsáveis pela secreção de progesterona (KATO *et al.*, 1979), eles aumentam de volume durante a gestação, tendo sido demonstrado que seu crescimento está intimamente correlacionado com o aumento de secreção de progesterona e 20-hidroxi-progesterona (UCHIDA *et al.*, 1970), hormônios também indispensáveis à manutenção da prenhez na rata.

Nos dois grupos experimentais foram encontrados pesos de ovários e número de corpos lúteos semelhantes, considerando as informações anteriores (WAINFORTH, 1971; KATO *et al.*, 1979; UCHIDA *et al.*, 1970), pode-se sugerir que o ambiente hormonal materno, pelo menos no que se refere à progesterona, não diferiu entre eles.

Os dados acima mencionados permitem supor que o hipérico não causou toxicidade materna clinicamente observável.

A ação de um toxicante sobre o embrião em fase de pré-implantação, pode envolver um ou vários mecanismos. O embrião pode sofrer uma lesão grave que leve à sua morte ou uma lesão moderada ou leve que retarde o seu crescimento e o seu desenvolvimento (BRINSTER, 1975; BROCCAS, 1997). Além disso, seu transporte pelo trato reprodutor pode ser acelerado ou retardado, levando a dissincronia entre o seu desenvolvimento e a janela de implantação, o que também resulta em morte do embrião.

Quando o embrião morre durante a fase precoce do seu desenvolvimento, observa-se como consequência um menor número deles ao se examinar o útero ou o oviduto. Alterações do desenvolvimento embrionário, no período de pré-implantação, podem ser reconhecidas pela defasagem entre a morfologia e a idade gestacional. A alteração no transporte pode ser observada pela presença de um embrião em fase precoce ou tardia em determinada região do trato reprodutor. Tais dados são tomados como guias para estudos como os que se efetuaram no presente trabalho.

O tratamento das ratas, com hipérico, em DPI₁ envolve o período em que ocorrem a fertilização e o início da primeira divisão da clivagem (SINGH *et al.*, 1993; SOUZA *et al.*, 1997; HILL, 2001). No segundo dia após a inseminação os embriões permanecem em fase de dois blastômeros (SINGH *et al.*, 1993; SOUZA *et al.*, 1997; HILL, 2001). Ao longo do terceiro dia após a inseminação, os embriões são coletados em fase de duas a quatro células (SINGH *et al.*, 1993; SOUZA *et al.*, 1997; HILL, 2001). No quarto dia após a inseminação o embrião evolui para a fase de mórula (SINGH *et al.*, 1993; SOUZA *et al.*, 1997; CARSON & NAFTOLIN, 1982; ACOSTA, 1994; ALBERTS *et al.*, 1997; MOLEY, 1999; MOORE & PERSAUD, 2000). Nessa

Nathália
Barbosa do
Espírito
Santo
Borges,
Martha de
Oliveira
Guerra,
Lucimar Las
Casas, Vera
Maria Peters

Rev. bras.
Zoociências
Juiz de Fora
V. 7 Nº 2
Dez/2005
p. 259-272

ocasião alguns blastocistos precoces também poderão ser detectados (SINGH *et al.*, 1993; HILL, 2001). Entre o terceiro e o quarto dias após a inseminação, inicia-se a blastogênese (MANSON & KANG, 1994; MOLEY, 1999).

Se a administração do extrato de Jarsin tivesse apresentado efeito lesivo sobre o desenvolvimento do embrião até a fase de blastocisto poderiam ser observados: número menor de embriões coletados ou eles poderiam ter sido encontrados em fase atrasada do desenvolvimento. Não foi esse o caso, pois os resultados mostram que o número de embriões recuperados do útero, no quinto dia de prenhez, foi semelhante nos dois grupos experimentais e, além disso, a maioria absoluta dos embriões encontrava-se em fase de blastocisto. Tais dados demonstram que o extrato de Jarsin não alterou os processos de desenvolvimento embrionário de ratos até a fase de blastocisto.

Outro fator que pode influir no desenvolvimento e sobrevivência do embrião em sua fase inicial de desenvolvimento diz respeito ao transporte tubário. Sabe-se que o transporte dos embriões depende de sinalização entre estes e as células epiteliais (o diálogo entre embrião e mãe), além de fatores hormonais. Entre esses últimos, estrogênio e progesterona são cruciais para as contrações tubárias. O estrogênio acelera o trânsito tubário enquanto que a progesterona o retarda (CARSON & NAFTOLIN, 1982; FORCELEDO & CROXATTO, 1988; VINIJISAMUN, 1990; CROXATTO *et al.*, 1991).

O tempo de transporte do embrião pela tuba uterina dura quatro dias (SINGH *et al.*, 1993; SOUZA *et al.*, 1997; CARSON & NAFTOLIN, 1982; KANJANAPOTHI *et al.*, 1981). A fertilização ocorre na região da ampola tubária, onde o(s) gametas/zigoto permanecem algumas horas. Na etapa seguinte, quando já ocorrem as clivagens sucessivas, o embrião fica no istmo por um tempo variável até passar para o útero, onde ocorrerá a implantação. A contractilidade das fibras musculares lisas do oviduto é importante para a progressão do embrião através do oviduto. As contrações são circulares, progressivas e em direção ao útero (HARPER, 1994).

Caso ocorresse aceleração no trânsito tubário, o número de embriões coletados poderia ser menor, por já terem sido destruídos no ambiente impróprio do útero, ou poderiam ser recolhidos embriões em fase precoce do desenvolvimento.

Nenhuma dessas situações ocorreu nos experimentos realizados com o extrato de Jarsin, o que leva a crer que não ocorreu aceleração do trânsito.

Caso ocorresse retardo no trânsito seriam encontrados embriões no lavado tubário, o que não aconteceu em nenhum dos grupos experimentais, sendo possível, portanto, sugerir que o extrato de Jarsin administrado a mães não alterou o transporte dos embriões.

O blastocisto é a fase final do desenvolvimento do embrião antes de sua implantação no útero. Alterações no desenvolvimento do blastocisto podem ser causadas por retardo no desenvolvimento ou morte de embriões. Como foi observado, não houve diferença significativa entre a média de blastocistos, recolhidos de mães do grupo controle e tratado, o que leva à suposição de que o desenvolvimento embrionário não foi afetado pela administração de *H. perforatum* às mães.

CONCLUSÕES

Tomando todos os dados em conjunto é possível admitir que, no modelo experimental apresentado, o extrato de Jarsin, administrado a ratas no período de pré-implantação, não causa toxicidade materna clinicamente observável, não induz mortes embrionárias, nem interfere com o desenvolvimento do embrião até a fase de blastocisto livre.

AGRADECIMENTOS

As autoras agradecem ao excelente trabalho técnico da Bióloga Evelise Rocha de Souza Almeida e do Sr. Paulo Sérgio do Carmo; e à CAPES pela bolsa concedida.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACOSTA, A.A. 1994. Implantación humana del pre-embrión: aspectos básicos, clínicos e investigación futura. **Rev. Lat. Amer. Est. Fert.** 8: 4-20.
- ALBERTS, B.; D. BRAY; J. LEWIS. et al. 1997. Células Germinativas e Fertilização, p. 1030-35. In: **Biologia Molecular da Célula**. 3.ed. Porto Alegre, Editora Artes Médicas, 1294p.
- BAHLS, S-C. 2001. Tratamento fitoterápico da depressão. **J. bras. psiquiatr.** 50(11/12): 389-96.

Nathália
Barbosa do
Espírito
Santo
Borges,
Martha de
Oliveira
Guerra,
Lucimar Las
Casas, Vera
Maria Peters

Rev. bras.
Zoociências
Juiz de Fora
V. 7 Nº 2
Dez/2005
p. 259-272

- BRINSTER, R.I. 1975. **Teratogenic testing using pre implantation embryo, p.113-24.** In: SHEPARD, T.H.; MILLER, J.R.; MAROIS, S.M. **Methods for detection of environmental agent that produce congenital defect.** New York: American Elsevier.
- BROCAS, C. et al. 1997. Deleterious action of gossypol on bovine spermatozoa, oocyte and **embryos.** *Biol. Reprod.* 57: **901-7.**
- CADA, A.M.; HANSEN, D.K.; LA BORDE, J.B.; FERGUSON, S.A. 2001. Minimal effects from developmental exposure to St. John's wort (*Hypericum perforatum*) in Sprague-Dawley rats. *Nutr.Neurosci.* 4(2): 135-41.
- CARSON, G-D. & F. NAFTOLIN. 1982. Fertilization and pre-implantation development. *La Vie médicale au Canada français.* 11: 216-25.
- CHAHOU, I.; A. LIGENSA; L.DIETZEL & A.S. FAQL. 1999. Correlation between maternal toxicity and embryo/fetal effects. *Reprod. Toxicol.* 13: 375-81.
- CHAN, L.Y.; P. CHIU & T. LAU. 2001. A study of hypericin-induced teratogenicity during organogenesis using a whole rat embryo culture model. *Fertil. Steril.* 76(5):1073-4.
- CHATTERJEE, S.S.; S.K. BHATTACHARYA.; M. WONNEMANN; A. SINGER & W.E. MÜLLER. 1998. Hyperforin as a possible antidepressant component of *Hypericum* extracts. *Life Sciences.* 63(6): 499-510.
- COLETA, M.; M.G. CAMPOS; M.D. COTRIM & A. PROENÇA DA CUNHA.2001. Comparative evaluation of *Melissa officinalis* L., *Tilia europaea* L., *Passiflora edulis* Sims. and *Hypericum perforatum* L. in the elevated plus maze anxiety test. *Pharmacopsychiatry.* 34(1): S20-1.
- CROXATTO, H.B.; M.E. ORTIZ.; M.L. FORCELLEDO; FUENTEALBA, B. et al. 1991. Hormonal control of ovum transport through the rat oviduct. *Arch. Biol. Med. Grap.* 24: 403-10.
- ERICSON, A.; B. KÄLLÉN & B-E. WIHOLM. 1999. Delivery outcome after the use of antidepressants in early pregnancy. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 55: 503-8.
- FORCELLEDO, M.L.; H.B. CROXATTO. 1988. Effects of 4-hydroxyandrostenedione and exogenous testosterone on blood concentration of oestradiol and oviductal embryo transport in the rat. *J. Endocrinol.* 118: 93-100.
- FORCELLEDO, M.L.; R. VERA & H.B. CROXATTO. 1981. Ovum transport in pregnant, pseudopregnant, and cyclic rats and its relationship to estradiol and progesterone blood levels. *Biol. Reprod.* 24: 760-5.
- GANGULY, T.; A. PAKRASHI & A.K. PAL. 1986. Disruption of pregnancy in mouse by aristolic acid: I. Plausible explanation in relation to early pregnancy events. *Contraception.* 34(6): 625-35.
- GRAHAM, J.G.; M.L. QUINN; D.S. FABRICANT & N.R. FARNSWORTH. 2000. Plants used against cancer – an extension of the work of Jonathan Hartwell. *J. Ethnopharm.* 73: 347-77.
- HARPER, M.J.K. 1994. Gamete and zygote transport, p.123-87. In: KNOBIL, E.; NEILL, J.D. **The physiology of reproduction** 2.ed. New York: Raven Press.
- HARRER, G. & V. SCHULZ. 1994. Clinical investigation of the antidepressant effectiveness of *Hypericum*. *J. Geriatr. Psychiatry Neurol.* 7(1): 56-8.
- HILL, M. Rat Development. 2001. UNSW Embryology [acessado em 21 Jan 2003] URL: <http://anatomy.med.unsw.edu.au/cbl/embryo/OtherEmb/Rat.htm>
- HOSTETTER, A.; J.C. RITCHIE & Z.N. STOWE. 2000. Amniotic fluid and umbilical cord blood concentrations of antidepressants in three women. *Biol. Psychiatry.* 48: **1032-4.**

- KANJANAPOTHI, D.; Y. SMITASIRI et al. 1981. Post coital anti-fertility effect of *Mentha arvensis*. **Contraception**. **24**(5): 559-68.
- KATO, H.; W.K. MORISHIGE & I. ROTCHILD. 1979. A quantitative relationship between the experimentally determined number of conceptuses and corpus luteum activity in pregnant rat. **Endocrinology**. **105**: 846-50.
- KHERA, K.S. 1985. Maternal toxicity: a possible etiological factor in embryo-fetal deaths and fetal malformations of rodent-rabbit species. **Teratology**. **31**: 129-53.
- _____. 1987. Maternal toxicity of drugs and metabolic disorders a possible etiologic factor in the intrauterine death and congenital malformation: a critique on human data. **CRC Critical Reviews in Toxicology**. **17**(4): 345-75.
- LEMÔNICA, I.P. 1996. Embriofetotoxicidade, p. 12-94. In: OGA, S. **Fundamentos de Toxicologia**. São Paulo: Ed. Atheneu, 515p.
- LEMÔNICA, I.P. 2001. Teratogênese experimental e sua aplicação em humanos, p. 19-39. In: SANSEVERINO, M.T.; SPRITZER, D.T.; SCHÜLER-FACCINI, L. **Manual de Teratogênese**. Porto Alegre: Ed. Universidade/UFRGS, 556p.
- LLEWELLYN, A. & Z.N. STOWE. 1998. Psychotropic Medications in Lactation. **J. Clin. Psychiatry**. **59**(2): 41-52.
- MANSON, J.M. & Y.J. KANG. 1994. Test methods for assessing female reproductive and developmental toxicology, p. 989-1037. In: HAYES, A.W. **Principles and Methods of Toxicology** 3.ed. New York: Raven Press.
- MERUELO, D.; G. LAVIE & D. LAVIE. 1988. Therapeutic agents with dramatic antiretroviral activity and little toxicity at affective doses: Aromatic polycyclic diones hypericin and pseudohypericin. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA** **85**: 85: 230-4.
- MOLEY, K.H. 1999. Diabetes and preimplantation events of embryogenesis. **Seminars in Reproductive Endocrinology**. **17**(2): 137-51.
- MOORE, K.L. & T.V.N. PERSAUD. 2000. **Embriologia clínica**. 5.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan AS, 543p.
- NEWPORT, D.J.; M.W. MOLLY & Z.N. STOWE. 2001. Antidepressants during pregnancy and lactation: defining exposure and treatment issues. **Seminars in Perinatology**. **25**(3): 177-90.
- ONDRIZEK, R.R.; P.J. CHAN; W.C. PATTON & A. KING. 1999. An alternative medicine study of herbal effects on the penetration of zona-free hamster oocytes and the integrity of sperm deoxyribonucleic acid. **Fertility and Sterility**. **71**(3): 517-22.
- ORTIZ, M.E.; C. LLADOS & H.B. CROXATTO. 1989. Embryos of different ages transferred to the rat oviduct enter the uterus at different times. **Biol. Reprod.** **41**: 381-4.
- RAYBURN, W.F.; C.L. GONZALEZ; H.D. CHRISTENSEN & J.D. STEWART. 2001. Effect of prenatally administered hypericum (St. John's wort) on growth and physical maturation of mouse offspring. **Am. J. Obst. Gynecol.** **184**(2): 191-5.
- SCHMIDT, L.A.; B.D. GREENBERG; G.B. HOLZMAN & J. SCHULKIN. 1997. Treatment of depression by obstetrician gynecologists: a survey study. **Obstetrics & Gynecology**. **90**(2): 296-300.
- SCHWARZ, U.I.; B. BÜSCHEL & W. KIRCH. 2003. Unwanted pregnancy on self-medication with St. John's wort despite hormonal contraception. **J. Clin. Pharmacol.** **55**: 112-13.
- SHARP, P.E. & M.C. LA REGINA. 1998. **The laboratory rat**. CRC Press. p.214.
- SIMÕES, C.M.O. et al. 2001. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 3 ed. rev. Editora da Universidade - UFRGS e Editora da UFSC.

Nathália
Barbosa do
Espírito
Santo
Borges,
Martha de
Oliveira
Guerra,
Lucimar Las
Casas, Vera
Maria Peters

Rev. bras.
Zoociências
Juiz de Fora
V. 7 Nº 2
Dez/2005
p. 259-272

- SINGH, M.M. et al. 1993. Antigestagenic activity of *Ixora finlaysoniana* in rat. **Contraception**. **48**:179-89.
- SOUZA, E.R.; M.O. GUERRA & V.M. PETERS. 1997. Desenvolvimento de pré-embrião de ratas Wistar da Colônia do Biotério do Centro de Biologia da Reprodução – UFJF. **Bol. Cent. Biol.Reprod.** **16**: 63-70.
- STAFFELDT, B.; R. KERB; J. BROCKMOLLER et al. 1994. Pharmacokinetics of hypericin and pseudohypericin after oral intake of the *Hypericum perforatum* extract LI 160 in healthy volunteers. **J. Geriatr. Psychiatry Neurol.** **7**(1): S47-53.
- TONG, T.Y.Y.; V.H.H. GOH; C.F. TAIN; H. MOK & S. TSANG. 2000. Direct effects of varying doses of oestradiol on early embryonic development in in vitro culture of rat's two-cell embryos. **Can. J. Physiol. Pharmacol.** **78**: 453-6.
- UCHIDA, K.; M. KADOWAKI; Y. NOMURA; K. MYATA; T. MIYAKE et al. 1970. Relationship between ovarian progesterin secretion and corpora lutea function in pregnant rat. **Endocri. Jpn.** **17**(6): 499-507.
- VINIJSAMUN, A. 1990. Effects of monoclonal antibody against progesterone on embryo transport, development and implantation in laboratory mice. **Reprod. Fertil. Develop.** **2**: 395-405.
- WAGNER, H. & S. BLADT. 1994. Pharmaceutical quality of *Hypericum* extracts. **J. Geriatr. Psychiatry Neurol.** **7**(1): 65-8.
- WAYNFORTH, H.B. 1971. Changes in the volume of rats corpus luteum during pregnancy and after surgical interference with the uterus and placenta. **Acta Endocrinol.** **66**: 296-302.
- WOLFENSOHN, S. & M. LLOYD. 1998. **Handbook of Laboratory Animal Management and Welfare**. 2 ed. Editora Blackwell Science Ltda. 334p.
- YOSHINAGA, K. & C.E. ADAMS, 1967. Reciprocal transfer of blastocysts between the rat and rabbit. **J. Reprod. Fertil.** **14**: 325-8.

Recebido: 15/10/04

Aceito: 16/07/05