

# Desenvolvimento embrionário durante o trânsito tubário em ratas wistar (*Rattus norvegicus* Berkenhout, 1769) tratadas com lapachol

Evelise Rocha de Souza<sup>1</sup>, Marcos Antônio Fernandes Brandão<sup>2</sup>, Leandra Eugênia Gomes de Oliveira<sup>3</sup>, Martha de Oliveira Guerra<sup>1</sup>, Vera Maria Peters<sup>1</sup>

Embryonic development during tubal transit in wistar rats (*Rattus norvegicus* Berkenhout, 1769) treated with lapachol

**ABSTRACT:** The present work studies the embryo development during tubal transit in inseminated rats distributed into three groups: control (distilled water), vehicle (hydroalcoholic solution) and Lapachol (100mg of Lapachol/kg/ body weight). Treatment was made by oral gavage on the 1<sup>st</sup>, 2<sup>nd</sup>, 3<sup>rd</sup> or 4<sup>th</sup> post coitum day (pc). The female were killed by total exsanguination, under anesthesia, on the 5<sup>th</sup> pc day. Maternal ovaries were weighed and corpora lutea counted. Uterine tubes and horns were washed and the embryos collected were counted and examined to observe their morphologic development. No clinical signs of maternal toxicity; no significant difference on ovaries weight, number of corpora lutea and number of embryo were observed. No morphological alteration in the embryos was observed after the treatment with Lapachol. The data obtained in the experimental design used indicate that there has been no toxic effect of Lapachol upon the mothers or the embryos.

**Keywords:** Lapachol, Toxicity, Embryos, Rat.

## INTRODUÇÃO

O fitofármaco Lapachol é uma naftoquinona, obtida da casca de várias espécies de plantas do gênero *Tabebuia*, da família Bignoneaceae (SANTANA *et al.*, 1968; FINKEL & HARRISON, 1969; MORRISON *et al.*, 1970; RAO, 1974; LINARDI *et al.*, 1975; SAIZARBITORIA *et al.*, 1997; KUMAGAI *et al.*, 1998; KNECHT, 2000, SCHMEDA-HIRSCHANN & PAPASTERGIU, 2003).

<sup>1</sup> Centro de Biologia da Reprodução, Universidade Federal de Juiz de Fora - Campus Universitário 36036-900, Juiz de Fora/M.G. ppvmp@cbr.ufjf.br

<sup>2</sup> Faculdade de Farmácia e Bioquímica- UFJF -MG

<sup>3</sup> Universidade Estadual da Bahia. Jequié, BA

*Tabebuia* é um gênero neotropical que agrupa em torno de 100 espécies. Dentre elas, a *Tabebuia ochracea*, conhecida popularmente por ipê-amarelo, pau-d'arco-amarelo ou simplesmente ipê, encontra-se amplamente distribuída no Brasil, desde o Amazonas até o estado do Paraná.

Ao lapachol e aos seus derivados têm sido atribuídas atividades: antiulcerogênica (GOEL *et al.*, 1987); antimicrobiana (OLIVEIRA *et al.*, 1990); antiinflamatória (ALMEIDA *et al.*, 1990; DUARTE *et al.*, 2000); antimalárica (CARVALHO *et al.*, 1988); tripanossomicida (AUSTIN, 1974; LOPES *et al.*, 1978; PINTO *et al.*, 1987; CHIARI *et al.*, 1991; DUARTE *et al.*, 2000; PINTO *et al.*, 2000); antipsoríase (MULLER *et al.*, 1999); antiviral (LAGROTA *et al.*, 1987; SACAU *et al.*, 2003); antiesquistossomótica (AUSTIN, 1974; PINTO *et al.* 1977; LIMA *et al.*, 2002); analgésica (GRAZZIOTIN *et al.*, 1992); e antineoplásica (SANTANA *et al.*, 1968; MORRISON *et al.*, 1970; RAO, 1974; LINARD *et al.*, 1975; SIEBER *et al.*, 1976; ALMEIDA *et al.*, 1988; HODNETT *et al.*, 1983; HOUGHTON *et al.*, 1994; DINNEN & EBISUZAKI *et al.*, 1997; SAIZARBITORIA *et al.*, 1997; DUARTE *et al.*, 2000, PINTO *et al.*, 2000). Também apresenta ação contra *Biomphalaria glabrata* (SANTOS *et al.*, 2000; SANTOS *et al.*, 2001) e bactérias e fungos (GUIRAUD *et al.*, 1994; BINUTU *et al.*, 1996; ROTHERY *et al.*, 1998).

Nos estudos toxicológicos sobre o lapachol, SANTANA *et al.* (1968) relataram uma DL50 de 1,6g/kg de peso corporal para ratos albinos, enquanto que MORRISON *et al.* (1970) reportaram uma DL50 maior que 2,4g/kg de peso corporal para a mesma espécie. O tratamento de ratos com Lapachol (50mg/Kg), via IP, durante 90 dias, resultou em anemia discreta reversível (SANTOS *et al.*, 1988).

Os estudos relativos à toxicologia reprodutiva mostram que o lapachol, na dose de 100 mg/kg de peso corporal, é embriotóxico quando administrado no período de implantação (MAGANHA, 2002), de organogênese (GUERRA *et al.*, 1999, 2001) e fetogênese (FELÍCIO *et al.*, 2002) de ratos.

No início da gestação existem resultados contraditórios: ALMEIDA ER *et al.* (1988) relataram 100% de mortes fetais, quando a rata recebe 100 mg/kg de peso corporal de Lapachol nos primeiros cinco dias de prenhez e ALMEIDA ME *et al.* (1999) não encontraram quaisquer alterações (mortes ou alteração no

desenvolvimento) quando ratas são tratadas com a mesma dose nos dias três, quatro e cinco de prenhez.

Os resultados discordantes levaram a que se realizasse o presente trabalho para avaliar os embriões durante os cinco primeiros dias de prenhez da rata – quando ocorre o desenvolvimento embrionário no interior da tuba uterina.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram usadas ratas Wistar, com três meses de idade, da colônia do Biotério do Centro de Biologia da Reprodução – Universidade Federal de Juiz de Fora. Os animais foram mantidos em gaiolas de polipropileno, providas de camas de maravalha selecionada (não esterilizada), mamadeira para água filtrada e cocho para ração do tipo peletizada. O alojamento dos ratos no Biotério do CBR-UFJF é provido de amplos basculantes telados e de dois exaustores, além de aquecedores de ambientes. A temperatura é mantida em torno de 22°C; a iluminação é mista combinando luz natural e lâmpadas incandescentes, sendo as últimas controladas automaticamente para acenderem às 6:00 e apagarem às 18:00h, compreendendo um fotoperíodo de 12h de luz e 12h de escuro, considerado ideal para o rato, segundo WOLFENSOHN & LLOYD (1998).

### Procedimento Experimental

Os animais foram acasalados com machos de fertilidade previamente comprovada e a presença de espermatozóide no esfregaço vaginal foi considerada indicativa de inseminação, sendo este dia designado o primeiro dia pós-coito.

As ratas inseminadas foram distribuídas aleatoriamente em três grupos: controle, veículo e tratado. Os animais do grupo controle receberam 1mL de água destilada; os do grupo veículo receberam 1mL de solução hidroalcoólica (0,5mL de água + 0,5mL de álcool), e os tratados receberam 100 mg de Lapachol/Kg (dissolvido em 1mL de solução hidroalcoólica). Em todos os grupos, a administração foi feita por via gástrica às 10h.

Com o objetivo de estabelecer a fase em que os embriões poderiam ser lesados foram realizados os seguintes experimentos:

**Experimento I** : Tratamento das ratas no 1º dia pós-coito

**Experimento II** : Tratamento das ratas no 2º dia pós-coito

Evelise  
Rocha de  
Souza,  
Marcos  
Antônio  
Fernandes  
Brandão,  
Leandra  
Eugênia  
Gomes de  
Oliveira,  
Martha de  
Oliveira  
Guerra,  
Vera Maria  
Peters

Rev. bras.  
Zooiências  
Juiz de Fora  
V. 7 N° 1  
Jun/2005  
p. 25-37

### **Experimento III:** Tratamento das ratas no 3<sup>o</sup> dia pós-coito

### **Experimento IV:** Tratamento das ratas no 4<sup>o</sup> dia pós-coito

Durante o experimento e até a data do sacrifício, os animais foram examinados para avaliar sinais clínicos de toxicidade materna (mortes, diarreia, piloereção e alteração na deambulação no interior das gaiolas) conforme MANSON & KANG (1994). As ratas inseminadas foram pesadas no dia do tratamento e no dia do sacrifício (5<sup>o</sup> dia pós-coito, por exsanguinação total sob anestesia).

Para o estudo dos embriões coletados no 5<sup>o</sup> dia foram usadas as técnicas de coleta e exame de estruturas embrionárias, conforme descrito por FORCELEDO *et al.* (1981) e ORTIZ *et al.* (1989). Resumidamente, tubas uterinas e cornos uterinos, expostos por laparotomia, são removidos para uma placa de Petri contendo soro fisiológico. As tubas uterinas são separadas da extremidade tubária do corno uterino e do óstio ovariano. Este último é identificado sob microscópio estereoscópico e canulado com sonda apropriada, por onde se perfunde soro fisiológico à temperatura ambiente. O lavado tubário é 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 coleta de embriões. Cada cápsula embrionária foi examinada para contagem do número de embriões e para avaliação do seu desenvolvimento morfológico até a fase de blastocisto.

O procedimento estatístico compreendeu análise de variância – uma via, seguida do teste de Dunnet para comparação de médias de medidas contínuas; teste *t* de Student pareado para comparação de médias de pesos corporais de ratas antes e depois do tratamento e teste do Qui-quadrado para proporção de blastocistos expandidos. O nível de significância dos testes foi estabelecido para  $\alpha = 0,05$ .

O protocolo experimental foi aprovado pela Comissão de Ética em Experimentação Animal – Protocolo 02/1998.

## **RESULTADOS**

O tratamento das ratas com lapachol não causou mortes maternas, alteração da deambulação, piloereção, diarreia

e nem alterou o peso corporal das mães, conforme pode ser verificado na Tabela 1 .

Não houve perda de peso entre os animais de todos os grupos quando foram considerados os pesos no início do tratamento e na data do sacrifício.

Os pesos médios dos ovários de ratas submetidas aos diferentes experimentos encontram-se resumidos na Tabela 2.

**Tabela 1.** Peso corporal de ratas Wistar, tratadas com 100mg de lapachol/kg; via gástrica, nos dias 1, 2, 3 ou 4 pós-coito, de veículos que receberam 1 mL de solução hidroalcoólica, e de controles que receberam 1 mL de água destilada, pela mesma via e nos mesmos dias de tratamento.

Experi-mentos	Grupos	Peso Corporal (g)*	
		Início do tratamento	Dia da eutanásia
I	Controle	173,4 ± 10,2 (15)	180,3 ± 12,2 (15)
	Veículo	177,8 ± 15,4 (10)	186,4 ± 11,4 (10)
	Tratado	176,7 ± 11,1 (10)	182,9 ± 14,4 (10)
II	Controle	171,6 ± 14,5 (15)	175,7 ± 14,9 (15)
	Veículo	178,3 ± 10,8 (10)	181,6 ± 12,0 (10)
	Tratado	172,7 ± 19,0 (10)	176,5 ± 20,4 (10)
III	Controle	172,7 ± 14,3 (15)	176,9 ± 13,7 (15)
	Veículo	169,9 ± 8,56 (10)	171,9 ± 10,6 (10)
	Tratado	166,2 ± 12,6 (10)	166,1 ± 11,4 (10)
IV	Controle	168,4 ± 15,8 (15)	166,9 ± 15,7 (15)
	Veículo	180,7 ± 12,1 (10)	178,4 ± 13,8 (10)
	Tratado	178,9 ± 13,5 (10)	172,7 ± 14,8 (10)

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

**Tabela 2.** Peso (mg) de ovários de ratas Wistar, tratadas com 100mg lapachol/kg, via gástrica, nos dias 1, 2, 3 ou 4 pós-coito, de veículos que receberam 1 mL de solução hidroalcoólica e de controles, que receberam 1 mL de água destilada, pela mesma via e mesmos dias de tratamento.

Experi-mentos	Grupos	Peso de Ovários *	
		Direito	Esquerdo
I	Controle	22,0 ± 4,0 (15)	19,0 ± 3,0 (15)
	Veículo	24,1 ± 4,5 (10)	19,2 ± 5,4 (10)
	Tratado	22,9 ± 4,3 (10)	16,6 ± 4,6 (10)
II	Controle	23,0 ± 4,0 (15)	23,0 ± 3,0 (15)
	Veículo	23,1 ± 3,4 (10)	17,7 ± 3,1 (10)
	Tratado	23,7 ± 2,7 (10)	19,7 ± 5,1 (10)
III	Controle	24,0 ± 4,0 (15)	20,0 ± 2,0 (15)
	Veículo	20,8 ± 5,3 (10)	19,4 ± 2,8 (10)
	Tratado	20,8 ± 3,5 (10)	20,7 ± 4,2 (10)
IV	Controle	25,0 ± 4,0 (17)	22,0 ± 6,0 (17)
	Veículo	23,8 ± 4,6 (10)	21,1 ± 5,3 (10)
	Tratado	22,5 ± 4,4 (10)	18,5 ± 3,5 (10)

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

Evelise  
Rocha de  
Souza,  
Marcos  
Antônio  
Fernandes  
Brandão,  
Leandra  
Eugênia  
Gomes de  
Oliveira,  
Martha de  
Oliveira  
Guerra,  
Vera Maria  
Peters

Rev. bras.  
Zootecias  
Juiz de Fora  
V. 7 N° 1  
Jun/2005  
p. 25-37

Não houve diferença significativa entre os grupos.

A Tabela 3 mostra a média de corpos lúteos por ovário e nos dois ovários de ratas submetidas aos diferentes experimentos.

Não ocorreram diferenças significativas entre os grupos experimentais.

A média de embriões coletados por corno uterino e em ambos os cornos encontra-se expressa na Tabela 4.

**Tabela 3.** Média de corpos lúteos nos ovários de ratas Wistar, tratadas com 100mg de lapachol/kg, via gástrica, nos dias 1, 2, 3 ou 4 pós-coito, de veículos que receberam 1 mL de solução hidroalcoólica, e de controles que receberam 1 mL de água destilada, pela mesma via e mesmos dias de tratamento.

Experimentos	Grupos	Corpos Lúteos / Ovário*		
		Direito	Esquerdo	Total
I	Controle	6,3 ± 1,9 (15)	5,1 ± 1,4 (15)	11,4 ± 1,1 (15)
	Veículo	6,5 ± 2,1 (10)	4,8 ± 2,1 (10)	11,3 ± 1,5 (10)
	Tratado	6,1 ± 1,0 (10)	2,1 ± 1,6 (10)	10,8 ± 1,7 (10)
II	Controle	5,9 ± 2,0 (15)	5,8 ± 1,8 (15)	11,7 ± 1,4 (15)
	Veículo	6,7 ± 1,2 (10)	4,3 ± 1,0 (10)	11,0 ± 1,1 (10)
	Tratado	6,0 ± 1,1 (10)	4,7 ± 1,8 (10)	10,7 ± 1,3 (10)
III	Controle	7,0 ± 1,9 (15)	5,1 ± 1,3 (15)	12,2 ± 1,8 (15)
	Veículo	5,1 ± 2,0 (10)	5,5 ± 1,6 (10)	10,6 ± 1,1 (10)
	Tratado	5,4 ± 1,5 (10)	5,1 ± 1,8 (10)	10,5 ± 1,3 (10)
IV	Controle	6,1 ± 1,6 (17)	4,9 ± 2,0 (17)	11,0 ± 1,8 (17)
	Veículo	7,0 ± 2,2 (10)	5,0 ± 1,9 (10)	12,3 ± 1,5 (10)
	Tratado	5,9 ± 1,5 (10)	5,0 ± 1,0 (10)	10,9 ± 1,3 (10)

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

**Tabela 4.** Média de embriões coletados nos cornos uterinos de ratas Wistar, tratadas com 100 mg de lapachol/kg, via gástrica, nos dias 1, 2, 3 ou 4 pós-coito, de veículos que receberam 1 mL de solução hidroalcoólica, e de controles que receberam 1 mL de água destilada, pela mesma via e mesmos dias de tratamento.

Experimentos	Grupos	Embriões nos Cornos Uterinos*		
		Direito	Esquerdo	Total
I	Controle	4,7 ± 1,9 (15)	5,1 ± 1,4 (15)	11,4 ± 1,1 (15)
	Veículo	5,7 ± 1,7 (10)	3,9 ± 1,5 (10)	9,6 ± 2,1 (10)
	Tratado	5,1 ± 1,4 (10)	3,7 ± 1,6 (10)	8,8 ± 1,8 (10)
II	Controle	4,9 ± 2,0 (15)	5,8 ± 1,8 (15)	11,7 ± 1,4 (15)
	Veículo	6,3 ± 1,2 (10)	3,7 ± 1,7 (10)	10,0 ± 1,1 (10)
	Tratado	5,0 ± 1,2 (10)	4,4 ± 1,6 (10)	9,4 ± 1,1 (10)
III	Controle	6,1 ± 1,9 (15)	5,1 ± 1,3 (15)	12,2 ± 1,8 (15)
	Veículo	4,8 ± 2,1 (10)	4,6 ± 1,7 (10)	9,4 ± 1,0 (10)
	Tratado	4,5 ± 0,9 (10)	4,8 ± 1,5 (10)	9,3 ± 1,7 (10)
IV	Controle	5,2 ± 1,6 (17)	4,9 ± 2,0 (17)	11,0 ± 1,8 (17)
	Veículo	6,4 ± 2,3 (10)	4,8 ± 1,7 (10)	11,3 ± 1,7 (10)
	Tratado	5,2 ± 1,7 (10)	4,2 ± 1,0 (10)	9,7 ± 1,6 (10)

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

Não foram observadas diferenças significativas no número de embriões coletados, quando comparados os grupos controle, veículo e tratado.

A Tabela 5 apresenta o percentual de blastocistos expandidos (Blastocistos expandidos / Total de embriões) x 100, encontrados nos cornos uterinos direitos e esquerdos.

O número de blastocistos expandidos foi semelhante em todos os grupos experimentais.

Não foram encontrados embriões no lavado tubário.

**Tabela 5.** Percentual de blastocistos expandidos obtidos de cornos uterinos de ratas Wistar tratadas com 100mg de lapachol/kg, via gástrica, nos dias 1, 2, 3 ou 4 pós-coito, de veículos que receberam 1 mL de solução hidroalcoólica, e de controles que receberam 1 mL de água destilada, pela mesma via e mesmos dias de tratamento.

Experimentos	Grupos	Percentual de Blastocistos Expandidos	
I	Controle	91,4	(139/152)
	Veículo	92,7	(89/96)
	Tratado	95,4	(84/88)
II	Controle	88,6	(132/149)
	Veículo	95,0	(95/100)
	Tratado	89,4	(84/94)
III	Controle	94,3	(148/157)
	Veículo	93,6	(88/94)
	Tratado	84,4	(81/96)
IV	Controle	97,6	(161/165)
	Veículo	86,6	(97/112)
	Tratado	94,7	(89/94)

\*Blastocisto expandido/total de blastocisto x 100 (p>0,05)

## DISCUSSÃO

KHERA (1987) definiu toxicidade materna como alterações transitórias ou permanentes na fisiologia materna (alteração na homeostasia, dos níveis hormonais, das membranas fetais ou mesmo alterações comportamentais) com potencial para causar efeitos adversos nas crias durante o desenvolvimento embrio-fetal ou pós-natal. O mesmo autor, 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), é usual avaliar-se a toxicidade materna para descartar a possibilidade sugerida por KHERA (1985).

Os sinais de toxicidade materna, habitualmente usados para avaliar toxicidade, são o aumento ou decréscimo de peso corporal, redução no consumo de alimento e/ou de água, diarreia, perdas sangüneas, além de mortes maternas (CHAHOU *et al.*, 1999).

Nos grupos experimentais estudados não se observaram quaisquer indícios clínicos de toxicidade materna, o que sugere que o Lapachol, no desenho experimental usado, não parece ter efeito tóxico clinicamente observável sobre as mães.

A redução de níveis de progesterona pode ser causa de mortes embrionárias por alterar as condições do ambiente tubário e uterino. O peso de ovários, ainda que seja um processo grosseiro, constitui uma forma indireta de se avaliar o estado gestacional materno. Analisa-se o peso de ovários, pois, seu maior componente, é formado pelos corpos lúteos que aumentam de volume ao longo da gestação (WAYNFORTH, 1971). Os corpos, por serem a fonte principal de secreção de progesterona (KATO *et al.*, 1979), são responsáveis pelo sucesso da gestação, tendo sido demonstrado que o seu crescimento está intimamente correlacionado com o aumento de secreção de progesterona e 20-hidroxi-progesterona (UCHIDA *et al.*, 1970). Como o peso de ovários não diferiu entre os grupos experimentais é possível supor que a produção de progesterona teria sido semelhante em ambos grupos, embora seja necessária a dosagem do hormônio na circulação sangüinea para confirmar a suposição.

Considerando-se que, em princípio, cada ovulação corresponde a um corpo lúteo (INMAN & MARKIVEE, 1963), pode-se supor que o número de ovulações foi semelhante nos animais dos diferentes grupos experimentais, visto que o número de corpos lúteos não diferiu significativamente entre eles.

Tomadas em conjunto, as observações anteriores sugerem que as ratas utilizadas nos experimentos teriam produção hormonal semelhante e, conseqüentemente, capacidade reprodutiva também semelhante.

As alterações no desenvolvimento do embrião podem ser devidas a lesão direta ou indireta de um agente tóxico. No segundo caso, a lesão pode decorrer de modificação do tempo de transporte até o útero, prejudicando a sincronia necessária da fase do desenvolvimento embrionária com a preparação do



endométrio e, assim, impedindo a implantação (ROBLERO *et al.*, 1987).

A redução do número de embriões coletados informa sobre lesões diretas enquanto que a presença de embriões, em fase atrasada de seu desenvolvimento, leva à suspeita de ação lesiva que retarda o processo de segmentação ou que acelera o trânsito pelas tubas uterinas. Como o número de embriões recolhidos não se modificou após o tratamento materno com lapachol, pode-se sugerir que o lapachol não teve efeito lesivo direto sobre os embriões em fase de pré-implantação.

O embrião permanece por dois a cinco dias no oviduto, onde fica isolado do restante do trato reprodutor pela oclusão de duas junções do oviduto - istmo-ampolar e útero-tubária. Nessa região encontram-se nutrientes e fatores específicos necessários a sua sobrevivência e ao seu desenvolvimento progressivo até a fase de blastocisto, quando a junção útero – tubária abre-se, permitindo a passagem do blastocisto para o útero (MOORE & CROXATTO, 1988; CROXATTO *et al.*, 1991). No interior da tuba uterina, a cavidade do blastocisto começa a se expandir e está completamente expandida ao chegar ao útero. Assim, pode-se considerar que o blastocisto expandido é a fase final do desenvolvimento embrionário intratubário e o início daquela que se desenvolverá no útero. Considerando-se que não foram encontrados embriões no lavado tubário e que os embriões coletados eram, predominantemente, blastocistos, pode-se sugerir que a administração do lapachol não afetou o trânsito tubário nem o desenvolvimento embrionário desde a fertilização até a fase de blastocisto expandido. Entretanto, o fato de o embrião ser morfológicamente normal não implica em que não possa ter alguma alteração cromossômica que comprometa sua viabilidade em longo prazo.

Os resultados encontrados no presente trabalho parecem confirmar aqueles encontrados por ALMEIDA ME *et al.* (1999) que não observaram alterações no desenvolvimento embrionário e discordar daqueles de ALMEIDA ER *et al.* (1988). Entretanto estes últimos autores trataram as ratas no início da prenhez (dias 1-5), mas sacrificaram-nas no 21<sup>o</sup> dia de prenhez, enquanto que no presente trabalho foram examinados embriões, cuja etapa mais avançada do desenvolvimento foi o blastocisto expandido. O critério de análise de “normalidade”

Evelise  
Rocha de  
Souza,  
Marcos  
Antônio  
Fernandes  
Brandão,  
Leandra  
Eugênia  
Gomes de  
Oliveira,  
Martha de  
Oliveira  
Guerra,  
Vera Maria  
Peters

Rev. bras.  
Zootecias  
Juiz de Fora  
V. 7 N<sup>o</sup> 1  
Jun/2005  
p. 25-37

do blastocisto foi o aspecto morfológico, havendo necessidade de se realizarem outros estudos como o transplante dos blastocisto para ratas controles e a análise de seus cromossomos para um diagnóstico preciso de sua viabilidade.

Uma das possibilidades de discrepância entre os resultados obtidos por ALMEIDA ER *et al.* (1988) e os nossos pode ser o acúmulo do fitofármaco, que aqueles autores administraram em dias sucessivos, enquanto que no presente trabalho foi feito em dias únicos. Esta possibilidade está sendo examinada em outro trabalho em fase de conclusão.

Em conclusão, no presente trabalho, a administração de 100 mg de lapachol/kg de peso corporal, em dias isolados do início da prenhez da rata (1<sup>o</sup> – 4<sup>o</sup> dias) não causou alteração numérica ou do desenvolvimento morfológico dos embriões.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMEIDA, E.R., A.A.S. FILHO, E.R. dos SANTOS, *et al.* 1990. Antiinflammatory action of Lapachol. **J. Ethnopharmacol.** **29**(2): 239-241.
- ALMEIDA, E.R., A.C. MELLO, C.F. SANTANA, *et al.* 1988. The action of 2-hydroxy-3-(3-methyl-2-butenyl)-1,4-naphthoquinone (Lapachol) in pregnant rats. **Rev Port Farm.** **38**: 21-23.
- ALMEIDA, M.E., M.A. BRANDÃO, M.O. GUERRA, *et al.* 1999. Avaliação preliminar do efeito interceptivo do Lapachol em ratas Wistar. **Bol. Cent. Biol. Reprod. UFJF.** **18**: 37-48.
- AUSTIN, F.G. 1974. *Schistosoma mansoni* chemoprophylaxis with dietary Lapachol. **Am. J.Trop. Med. Hyg.** **23**: 412-419.
- BINUTU, O.A., K.E. ADESOGAN, J.L. OKOGUN. 1996. Antibacterial and antifungal compounds of *Kigelia pinnata*. **Planta Med.** **62**: 352-353.
- CARVALHO, L.H., E.M.M. ROCHA, D.S. RASLAN, *et al.* 1988. In vitro activity of natural and synthetic naphthoquinones against erythrocytic stages of *Plasmodium falciparum*. **Brazilian J. Med. Bio. Res.** **21**: 485-487.
- CHAHOUD, I., A. LIGENSA, L. DIETZEL, *et al.* 1999. Correlation between maternal toxicity and embryo/fetal effects. **Reprod. Toxicol.** **13**: 375-381
- CHIARI, E., A.B. de OLIVEIRA, D.S. RASLAN *et al.* 1991. Screening in vitro of natural products against blood forms of *Trypanosoma cruzi*. **Trans. R. Soc. Trop. Med. Hygiene** **85**: 372-374.
- CROXATTO, H.B., M.E. ORTIZ, M.L. FORCELLEDO, *et al.* 1991. Hormonal control of ovum transport through the rat oviduct. **Arch. Biol. Med. Grap.** **24**: 403-410.
- DINNEN, R.D., K. EBISUZAKI. 1997. The search for novel anticancer agents: a differentiation-based assay and analysis of a folklore product. **Anti-cancer Res.** **17**: 1027-1033.
- DUARTE, D.S., M.F. DOLABELA, C.E. SALAS. 2000. Chemical characterization and biological activity of *Masfaduena unguis-cati* (Bignoneaceae). **J. Pharm. Pharmacol.** **52**: 347-352.

- FELÍCIO, A.C., C.V. CHANG, M.A. BRANDÃO, *et al.* 2002. Fetal growth in rats treated with Lapachol. **Contraception** **66**: 289-293.
- FINKEL, J.M., S.D. HARRISON. 1969. Fluorometric method for determination of Lapachol in serum. **Anal. Chem.** **41**: 1854-1855.
- 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**: 760-765.
- GOEL R.K. *et al.* 1987. Effect of Lapachol, a naphthaquinone isolated from *Tectona grandis*, on experimental peptic ulcer and gastric secretion. **J.Pharm pharmacol** **39**(2):138-140.
- GRAZZIOTIN, J.D., E.E.S. SCHAPOVAL, C.G. CHAVES. 1992. Phytochemical and analgesic investigation of *Tabebuia chrysostricha*. **J. Ethnopharmacol.** **36**: 249-251.
- GUERRA, M.O., A.S. MANZONI, M.A. BRANDÃO, *et al.* 1999. Interceptive effects of lapachol in rats. **Contraception** **60**: 305-307.
- GUERRA, M.O., A.S. MANZONI, M.A. BRANDÃO, *et al.* 2001. Toxicology of lapachol in rats: embryoletality. **Rev. Bras. Biol.** **61**: 171-174.
- GUIRAUD, P., R. STEIMAN, G.M. CAMPOS-TAKAKI, *et al.* 1994. Comparison of antibacterial and antifungal activities of Lapachol and beta-lapachone. **Planta Med.** **60**: 373-374.
- HODNETT, E.M., C. WONGWIECHINTANA, W.J.III DUAN. 1983. Mars P. Substituted 1,4- naphthoquinones vs. The Ascitic Sarcoma 180 of mice. **J. Med. Chem.** **26**: 570-574.
- HOUGHTON, P.J., A. PHOTIOOU, S. UDDIN, *et al.* 1994. Activity of extracts of *kigelia pinnata* against melanoma and renal carcinoma cell lines. **Planta Med.** **60**: 430-433.
- INMAN, O.R., C.R. MARKIVEE. 1963. Gross effects on rabbit embryos and newborns of x – irradiation in the blastocyst stage. **Anat. Rec.** **174**: 139-147.
- 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**: 846-850.
- KHERA, K.S. 1985. Maternal toxicity: a possible etiological factor in embryo-fetal deaths and fetal malformations of rodent-rabbit species.** *Teratology* **31**: 129-153.
- KHERA, K.S. 1987. Maternal toxicity of drugs and metabolic disorders—a possible etiologic factor in the intrauterine death, and congenital malformation: a critique on human data. **Crit. Rev. Toxicol.** **17**: 345-375.
- KNECHT, W., J. HENSELING, M. LOFFER. 2000. Kinetics of inhibition of human and rat dihydroorotate dehydrogenase by atovaquone, lawsone derivatives, brequinar sodium and polyporic acid. **Chem. Biol. Interact.** **124**: 61-76.
- KUMAGAI, Y., H. NAKAJIMA, K. MIDORIKAWA, *et al.* 1998. Inhibition of nitric oxide formation by neuronal nitric oxide synthase by quinases: nitric oxide synthase as a quinone reductase. **Chem. Res. Toxicol.** **11**: 608-613.
- LAGROTA, M.H.C., M.D. WIGG, A.N.S. AGUIAR, *et al.* 1987. Antiviral activity of naphthoquinones. I. Lapachol derivatives against enteroviruses. **Rev. Lat-Amer. Microbiol.** **29**:15-20.
- LIMA, N.M., A.F. dos SANTOS, Z. PORFÍRIO, *et al.* 2002. Toxicity of Lapachol and their potassium salts against *Biomphalaria glabrata*, *Schistosoma mansoni* cercariae, *Artemia salina* and *Tilapia nilotica*. **Acta trop.** **83**(1): 43-47.
- LINARDI, M.C.F., M.M. de OLIVEIRA, M.R.P. SAMPAIO. 1975. Lapachol derivative active against mouse lymphocytic leukemia P-388. **J. Med. Chem.** **18**: 1159-1161.
- LOPES, J.N., F.S. CRUZ, R. DOCAMPO, *et al.* 1978. *In vitro* and *in vivo* evaluation

Evelise  
Rocha de  
Souza,  
Marcos  
Antônio  
Fernandes  
Brandão,  
Leandra  
Eugênia  
Gomes de  
Oliveira,  
Martha de  
Oliveira  
Guerra,  
Vera Maria  
Peters

Rev. bras.  
Zooecências  
Juiz de Fora  
V. 7 N° 1  
Jun/2005  
p. 25-37

- of the toxicity of 1,4-naphtoquinone and 1,2-naphtoquinone derivatives against *Trypanosoma cruzi*. **Ann. Trop. Med. Parasitol.** **76**: 523-531.
- MAGANHA, J. 2002. **Desenvolvimento embrionário no microambiente uterino de ratas (*Rattus norvegicus* Berkenhout, 1769), tratadas com o Lapachol.** Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Juiz de Fora. 79p.
- MANSON, J.M. & Y.J. KANG. 1994. Test methods for assessing female reproductive and developmental toxicology. In: HAYES, A.W. **Principles and methods of toxicology**. 3 ed. New York: Raven Press 28:989-1037.
- MORRISON, R.K., D.E. BROWN, J.J., OLESON *et al.* 1970. Oral toxicology studies with Lapachol. **Toxicol. Appl. pharm.** **17**: 1-11.
- MOORE, G.D., H.B. CROXATTO. 1988. Effects of delayed treatment with estrogen on the transport of microspheres by the rat oviduct. **J. Reprod. Fertil.** **83**: 795-802.
- MÜLLER, K., A. SELLMER, W. WIEGREBE. 1999. Potential antipsoriatic agents: Lapachol compounds as potent inhibitors of HaCaT cell growth. **J. Nat. Prod.** **62**: 1134-1136.
- OLIVEIRA, A. B., *et al.* 1990. Selenium reagent in the synthesis of naphtho [2,3-b] furan-4, 9- diones. **Tetrahedron letters.** **31** (47): 6873-6876.
- 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**: 381-384.
- PINTO, C.N., A.P. DANTAS, K.C. de MOURA, *et al.* 2000. Chemical reactivity studies with naphthoquinones from *Tabebuia* with antitrypanosomal efficacy. **Arzneimittelforschung.** **50** (12):1120-1128.
- PINTO, A.V, M.C.R. PINTO, B. GILBERT. 1977. *Schistossoma mansoni*: blockage of cercarial skin penetration by chemical agents: I. Napthoquinones and derivatives. **Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.** **71**: 133-135.
- PINTO, A.V, M.C.R. PINTO, B. GILBERT. 1987. Activity of some naphthoquinones on blood stream forms of *Trypanosoma cruzi*. **Trans. R. Soc. Trop. Med. Hygiene.** **81**: 609-610.
- RAO, K.V. 1974. Quinone natural products: Streptonigrin (NSC-45383) and Lapachol (NSC – 11905) structure-activity relationships. **Cancer Chemother. Rep.** **2** (4): 11-17.
- ROBLERO, L.S., O. FERNANDEZ, H.B. CROXATTO. 1987. The effect of RU 486 on transport, development and implantation of mouse embryos. **Contraception.** **36**: 549-555.
- ROTHERY, R.A., I. CHATTERJEE, G. KIEMA, *et al.* 1998. Hydroxylated naphthoquinones as substrates for *Ischerichia coli* anaerobic reductases. **Biochem. J.** **332**: 35-41.
- SACAU, E.P., A. ESTÉVEZ-BRAUN, A.G. RAVELO, *et al.* 2003. Inhibitory effects of Lapachol derivatives on epstein-barr virus activation. 2003. **Biorg. Med. Chem.** **11**(4): 483-488.
- SAIZARBITORIA, C.T., J.E. ANDERSON, D. ALFONSO, *et al.* 1997. Bioactive furonaphthoquinones from *Tabebuia barbata* (Bignoneaceae). **Acta Cient. Venez.** **48**: 42-46.
- SANTANA, C.F., O.G. de LIMA, I.L. D'ALBUQUERQUE. *et al.* 1968. Observações sobre as propriedades antitumorais e toxicológicas do extrato do líber e de alguns componentes do cerne do pau d'arco (*Tabebuia avellanadae*). **Rev. Inst. Antibiot.** **8**: 89-94.
- SANTOS, E.R.D., E.R.D. ALMEIDA, A.A.S. FILHO, *et al.* 1988. Avaliação hematológica e bioquímica do Lapachol e Beta Lapachona. In: *Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil*. São Paulo – São Paulo, 18.
- SANTOS, A.F., A.P.L. FERRAZ, A.V. PINTO, *et al.* 2000. Molluscicidal activity of

- 2-hydroxy- 3-alkyl-1,4 naphthoquinones and derivates. **Int. J. Parasitol.** **30**: 1199-1202.
- SANTOS, A.F., P.A. FERRAZ, F.C. de ABREU, *et al.* 2001. Molluscicidal and trypanocidal activities of Lapachol derivatives. **Planta Med.** **67** (1): 92-93.
- SCHMEDA-HIRSCHANN, G., F. PAPASTERGIOU. 2003. Naphthoquinone derivatives and lignans from the Paraguayan crude drug "tayipyta" (*Tabebuia heptaphylla*, Bignoniaceae). **Z. Naturforsch. [C]** **58** (7-8): 495-501.
- SIEBER, S.M., J.A.R. MEAD, R.H. ADAMSON. 1976. Pharmacology of antitumor agents from higher plants. **Cancer Treat. Rep.** **60**:1127-1139.
- UCHIDA, K., M. KADOWAKI, Y. NOMURA, *et al.* 1970. Relationship between ovarian progesterin secretion and corpora lutea function in pregnant rat. **Endocri. Jpn.** **17**(6): 499-507
- 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, p. 334.

Recebido: 12/12/04

Aceito: 02/03/05

Evelise  
Rocha de  
Souza,  
Marcos  
Antônio  
Fernandes  
Brandão,  
Leandra  
Eugênia  
Gomes de  
Oliveira,  
Martha de  
Oliveira  
Guerra,  
Vera Maria  
Peters

Rev. bras.  
Zooiciências  
Juiz de Fora  
V. 7 N° 1  
Jun/2005  
p. 25-37

