



## **Desenvolvimento Embrionário em Ratas (*Rattus norvegicus* Berkenhout, 1769) Tratadas com Óleo Essencial de *Rosmarinus Officinalis* Linn.**

**Martha de Oliveira Guerra<sup>1\*</sup>, Nathália Barbosa do Espírito-Santo Borges<sup>1</sup>, Pedro Martins Bellei<sup>1</sup>, Marco Aurélio Faria Elias<sup>1</sup>, Sâmia Martins da Costa Silveira<sup>1</sup> & Vera Maria Peters<sup>1</sup>.**

<sup>1</sup>Centro de Biologia da Reprodução, Universidade Federal de Juiz de Fora, Campus da UFJF – C.P. 328, CEP 36.001-970, Juiz de Fora MG, Brasil. \*E-mail: martha.guerra@uff.edu.br

**Abstract. Embryonic development in rats (*Rattus norvegicus* Berkenhout, 1769) treated with essential oil of *Rosmarinus Officinalis* Linn.** Essential oils from *Rosmarinus officinalis* are used for flavor and fragrance in the perfume, pharmaceutical, cosmetic and food industries and presents antimicrobial activities. It is related that essential oil could be involved with alterations in cell membrane. Other extracts of *R. officinalis* could interfere with synthesis/secretion of steroid hormones, with glucose levels and with endothelial cell proliferation. Those processes might alter the embryofetal development that led us to plan the present work with the aim of observe fetal development in rats treated with essential oil of *R. officinalis*. Wistar rats from the vivarium of Center of Reproductive Biology were inseminated by male of proven fertility. The inseminated female were randomly divided into control and treated 1, 2 and 3 (T1, T2 and T3) groups, which received respectively 242mg/kg; 484mg/ kg and 968mg/ kg of essential oil of *R. officinalis*. Animals were treated from the eighth to the 15<sup>th</sup> post coitus day, and euthanasia was accomplished on the 21<sup>st</sup> day through excessive anesthesia. Variables analyzed: clinical, hematological and biochemical signs of maternal toxicity, and reproductive data, body weight, weight of maternal and fetal organs. The higher concentration of urea had no conclusion at the present experiment. Except for the brain and lungs weight, which were lighter on T3 comparing to the control group, there were no significant differences on the fetuses variables analyzed. It can be concluded that the essential oil of *R. officinalis* caused fetal body and brain weight decrease probably cause by maternal metabolic unbalance.

**Key-words:** fetotoxicity, *Rosmarinus officinalis*, rats, alecrim.

**Resumo.** O óleo essencial de *Rosmarinus officinalis* é utilizado em perfumes e cosméticos, na indústria alimentícia e em medicamentos, apresentando também atividade antimicrobiana. Há informações de que o óleo essencial poderia estar envolvido com alterações de membrana celular e que outros extratos de *R. officinalis* poderiam interferir com síntese/secreção de hormônios esteroidianos, concentração de glicose e proliferação de células endoteliais, processos que poderiam alterar o desenvolvimento embrio-fetal, o que levou a se planejar o presente trabalho com o objetivo de verificar o desenvolvimento fetal em ratas tratadas com *R. officinalis*. Ratas Wistar do Biotério do Centro de Biologia da Reprodução foram inseminadas por machos de fertilidade comprovada e distribuídas aleatoriamente em grupos controle e tratados 1, 2 e 3 (T1, T2 e T3) que receberam, respectivamente: 242 mg/ kg; 484 mg/ kg e 968 mg/ kg de óleo essencial de *R. officinalis*. Os animais foram tratados do 8º ao 15º dia pós-coito e submetidos a eutanásia por excesso de anestesia no 21º dia. Variáveis observadas: indícios clínicos, hematológicos e bioquímicos de toxicidade materna e parâmetros reprodutivos, peso corporal e de órgãos maternos e fetais. Não foram observadas diferenças significativas nas variáveis maternas analisadas, havendo apenas aumento da concentração de uréia que não foi esclarecido. O peso corporal e o de cérebro dos fetos foram menores em T3 com relação ao grupo controle. Conclui-se que o óleo essencial de *Rosmarinus officinalis*, no desenho experimental usado, causou diminuição do peso corporal e do cérebro fetais, possivelmente devido a alterações metabólicas maternas.

**Palavras-chave:** fetotoxicidade, *Rosmarinus officinalis*, ratos, alecrim.

## INTRODUÇÃO

*Rosmarinus officinalis* é uma planta arbustiva (conhecida no Brasil por alecrim), oriunda da região mediterrânea da Europa, atingindo até dois metros de altura que apresenta folhas opostas, flores pequenas, bilabiadas, lilás clara ou branca (GEMTCHÚJNICOV, 1976).

As partes utilizadas da planta são as folhas, flores e o óleo essencial, as quais apresentam função adstringente, analgésica, anti-séptica, antiespasmódica, antiinflamatória, antioxidante, aromática, digestiva, estimulante, tônica e vasodilatadora (FLAMINI *et al.*, 2002). Extrato e óleo essencial do alecrim são utilizados em perfumaria, na indústria alimentícia e medicinalmente (McCARTY *et al.*, 2001).

Entre os componentes químicos do alecrim, já extraídos e identificados, encontram-se: ácido ascórbico, ácido labiático, ácido rosmarínico, borneol, canfeno, cânfora, beta-caroteno, cineol, elemol, eugenol, alfa-pineno, beta pineno, rosmadiol, rosmanol, rosmaricina, rosmarinol, sabineno, beta-sitosterol, tanino, alfa-terpineno, timol, alfa-tocoferol, carnosol, ácido carnósico, epirosmanol e dimetilisorosmanol, sendo encontrados, no óleo essencial alfa-pineno, borneol, (-) canfeno, cânfora, verbeno e bornilo-acatato (ANGIONI *et al.*, 2004).

Segundo AL-SEREITI *et al.* (1999), a planta tem sido usada há muito tempo como antiespasmódico em cólica renal, dismenorréia e distúrbios respiratórios. Foi verificado efeito protetor hepático (SOTELO-FELIX *et al.*, 2002), atividade anticarcinogenesis (SINGLETTARY & NELSHOPPEN 1992; HUANG *ET AL.*, 1994; OFFORD *et al.*, 1995), atividade inibitória sobre a HIV-1 protease (PARIS *et al.*, 1994), inibição da motilidade de *Typanosoma cruzi* em cultura (ABE *et al.*, 2002); atividade antiulcerogênica (DIAS *et al.*, 2000), antiinflamatória

(ENGLBERGER *et al.*, 1988) para tratamento de complicações diabéticas (KIM & KIM, 2003); efeito diurético (HALOUI *et al.*, 2000).

O óleo essencial de *R. officinalis* é utilizado em perfumes e cosméticos, na indústria alimentícia e em medicamentos, tendo ação antimicrobiana e antifúngica (LARRONDO *et al.*, 1995; MANGENA & MUYIMA 1999; GIORDANI *et al.*, 2004); inibe contrações do músculo liso traqueal (AQEL, 1991); apresenta atividade hiperglicêmica e inibitória da liberação de insulina (AL-HADER *et al.*, 1994); além de atividade antimutagênica e hepatoprotetora (FAHIM *et al.*, 1999)

A ação antimicrobiana dos óleos essenciais se faz por diferentes vias, entre elas a sensibilização da bicamada lipídica da membrana celular e alterações de atividade dos canais de cálcio o que aumenta a permeabilidade celular e libera constituintes intracelulares. A célula também se torna hipertônica, aumentando a pressão interna e levando à lise da célula bacteriana (PORTE & GODOY, 2001). O ácido carnosólico teria atividade anticancerígena por inibir a proliferação de células endoteliais e, conseqüentemente, a vascularização necessária à sobrevivência do tumor (BERTL *et al.*, 2004).

Avaliações quanto à toxicidade reprodutiva do alecrim sugerem que o extrato alcoólico reduza os níveis de testosterona (NUSIER *et al.*, 2007), enquanto o óleo essencial induziu aumento do peso de vesícula seminal de ratos, compatível com um aumento da testosterona (SÁ, 2006). O extrato aquoso do alecrim inibiu a implantação do blastocisto de rata (LEMONICA *et al.*, 1996) e o extrato alcoólico das folhas diminuiu o metabolismo hepático de estrógeno e a ação uterotrópica do hormônio em fêmeas de camundongos (Zhu *et al.*, 1998) além de reduzir a produção de prostaglandina E2 (AL-SEREITI *et al.*, 1999).

As modificações de membrana celular, alterações de atividade dos canais de cálcio, acompanhadas de aumento da permeabilidade celular com liberação de constituintes intracelulares, além da inibição de proliferação de células endoteliais e, conseqüentemente, da vascularização podem afetar o desenvolvimento embrionário. Diante disso, desenvolveu-se o presente trabalho com o objetivo de avaliar o desenvolvimento embrionário em ratas, tratadas, no período de organogênese, com o óleo essencial de *R. officinalis*.

## MATERIAL E MÉTODOS

Para a realização do experimento foi usada parte das normas preconizadas pela "International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use (ICH) Guideline S5 (R2) (2005)" com algumas adaptações.

### Modelo experimental

Foram utilizadas ratas Wistar (*Rattus norvegicus*), nulíparas e nuligestas, com três meses de idade, obtidas na colônia do Centro de Biologia da Reprodução (CBR) – Universidade Federal de Juiz de Fora. Criadas e alojadas conforme descrito previamente (PINTO *et al.* 2007).

Durante o experimento os animais foram mantidos em gabinetes climatizados, em gaiola de polipropileno, providas de camas de maravalha selecionada, mamadeira para água filtrada e cocho para ração do tipo peletizada.

### Acasalamento e organização dos grupos experimentais

Os animais foram acasalados no sistema poligâmico, com machos de fertilidade previamente comprovada, ao final da tarde (17h00min), na propor-

ção de três fêmeas por macho. Na manhã seguinte, identificaram-se os animais inseminados pela presença de espermatozóides no esfregaço vaginal, sendo este dia designado o dia 1 pós-coito (p.c).

Comprovada a inseminação, as ratas foram distribuídas aleatoriamente em quatro grupos com 15 animais cada: Controle e Tratados 1, 2 e 3 (T1, T2 e T3) que receberam, respectivamente: 242mg/kg; 484mg/kg e 968mg/kg de óleo essencial de *R. officinalis* (Rosmarinho, OE@, código STM0433, lote 0608433, Stratus, SP, Brazil). O tratamento foi realizado do 8<sup>o</sup> ao 15<sup>o</sup> dia pós-inseminação.

Durante todo o período do experimento procedeu-se à medida do peso corporal de três em três dias, a partir do primeiro até o dia da eutanásia; à estimativa diária do consumo de ração e avaliação de comportamento indicativo de estresse ou toxicidade materna como: piloereção, hipo ou hipermotilidade no interior da gaiola, estereotípias, diarreia, perdas sangüíneas vaginais, cromodacriorréia e mortes (HOOD, 2006).

Procedeu-se à eutanásia por exsanguinação total sob anestesia (180 mg/kg de ketamine + 10mg xylazine, via intraperitoneal) no 21<sup>o</sup> dia pc. O sangue foi processado para se obterem os valores de hemograma completo que envolveu: hematimetria, hematócrito, hemoglobina, volume globular médio, hemoglobina globular média, concentração de hemoglobina globular, contagem de leucócitos total e diferenciados e de dosagens bioquímicas como: colesterol, triglicérides, transaminase glutâmico oxalacética (TGO), transaminase glutâmico pirúvica (TGP), uréia e creatinina. O hemograma foi processado em aparelho contador automático da marca CELM e as dosagens bioquímicas foram feitas no aparelho

semi-automático SB 190 com kits da MERK.

Posteriormente foi realizada laparohisterectomia, obteve-se o peso corporal corrigido (peso corporal após remoção de útero e seu conteúdo) e os órgãos internos foram inspecionados para identificação de lesões. Rins, fígado e ovários foram removidos e pesados. Nos ovários foram contados os corpos lúteos e nos cornos uterinos, os implantes, reabsorções, fetos vivos, mortos e malformados.

Os fetos foram sexados, pesados por ninhadas de machos e fêmeas, obtendo-se depois o peso médio. Foram submetidos à criotanestesia e autopsiados para identificação de lesões ou malformações de órgãos internos e para remoção e posterior pesagem dos seguintes órgãos: fígado, rins, pulmão e cérebro. As placentas foram pesadas em grupos de ninhadas, obtendo-se, depois o peso médio.

### Procedimento estatístico

Os dados coletados foram analisados por Análise de variância uma via e teste de Dunnett para variáveis contínuas e amostras homocedásticas. Dados não homocedásticos ou com distribuição não normal foram analisados pelo teste de Kruskal-Wallis, seguidos de Mann-Whitney. Dados descontínuos foram avaliados pelo teste do Qui-quadrado. Nível de significância dos testes:  $\alpha = 0.05$ .

O presente protocolo experimental foi aprovado pela Comissão de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal de Juiz de Fora, que segue as orientações de normas do International Council of Laboratory Animal Science, (Protocolo nº 53/2003 – CEA/UFJF).

## RESULTADOS

Em nenhum dos grupos experimentais avaliados foram notados sinais clínicos indicativos de

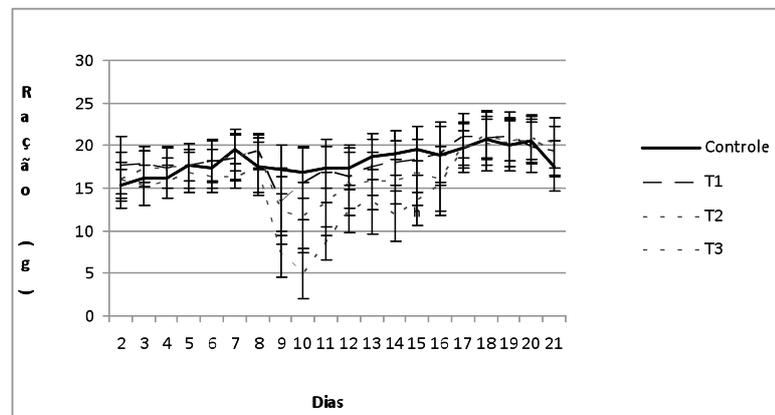
toxicidade materna. As fêmeas de todos os grupos experimentais ganharam peso ao longo da prenhez apesar dos animais tratados com as doses maiores de OERO terem reduzido, em alguns dias, o consumo de ração (Fig. 1).

Durante o período de tratamento os grupos tratados com a dose maior de OERO consumiram menos ração que o grupo controle ( $p < 0,05$ ). Antes e depois do tratamento o consumo foi semelhante entre todos os grupos.

Também não foi observada diferença significativa no peso corporal, mas o peso (absoluto e relativo) do fígado foi maior ( $p < 0,05$ ) no grupo tratado com a maior dose quando comparados com o grupo controle, enquanto que o peso relativo dos rins foi maior com as duas doses maiores (Tab. 1). As demais variáveis maternas não apresentaram diferença significativa

O número de implantes, de fetos vivos, as perdas pré e pós-implantação foram semelhantes em todos os grupos experimentais (Tab. 1).

O peso médio das placentas foi de  $0,46 \pm 0,05(14)$ ;  $0,45 \pm 0,04(15)$ ;  $0,49 \pm 0,06(15)$  e  $0,43 \pm 0,03(15)$  para



**Figura 1** Estimativa de consumo de alimento em ratas controles e tratadas com OERO (T1: 242 mg/kg; T2: 484 mg/kg e T3: 968 mg/kg) do 8º ao 15º dia pós-coito.

os grupos controle, T1, T2 e T3, respectivamente, não havendo diferença significativa entre os grupos.

O hemograma não diferiu quando se compararam os grupos tratados com o controle, mas a concentração de uréia foi maior nos dois

grupos tratados com as maiores doses de OERO e o nível sérico de colesterol foi mais elevado no grupo tratado com a dose de 484 mg/kg (Tab. 2).

Os fetos de sexo masculino e feminino tiveram, no grupo tratado com a maior dose de OERO, peso

**Tabela 1** Variáveis maternas em ratas do grupo controle e tratadas com OERO (T1: 242 mg/kg; T2: 484 mg/kg e T3: 968 mg/kg) do 8º ao 15º dia pós-coito.

	Controle	T1	T2	T3
Peso inicial	186,6 ± 9,38(14)	186,8 ± 8,04(15)	180,5 ± 6,02(15)	182,5 ± 9,20(15)
Peso final corrigido	205,8 ± 14,52(14)	205,1 ± 14,74(15)	196,4 ± 14,76(15)	189,9 ± 10,00(15)
Peso de fígado absoluto	9,90 ± 0,86(12)	10,25 ± 1,07(15)	10,02 ± 0,98(15)	10,81 ± 0,92(15)*
Peso de fígado relativo	4,83 ± 0,29(12)	5,00 ± 0,43(15)	5,10 ± 0,35(15)	5,70 ± 0,47(15)*
Peso de rim absoluto	1,34 ± 0,11(14)	1,37 ± 0,12(15)	1,37 ± 0,15(15)	1,33 ± 0,12(15)
Peso de rim relativo	0,65 ± 0,04(14)	0,67 ± 0,05(15)	0,70 ± 0,04(15)*	0,70 ± 0,05(15)*
Peso de ovários	0,08 ± 0,01(14)	0,08 ± 0,012(15)	0,07 ± 0,01(15)	0,07 ± 0,01(15)
Corpos lúteos/rata	12,36 ± 1,28(14)	12,47 ± 1,41(15)	11,40 ± 1,18(15)	11,87 ± 1,19(15)
Implantes/rata	11,36 ± 1,34(14)	11,00 ± 2,31(15)	9,60 ± 1,72(15)	10,53 ± 1,99(15)
Fetos vivos/mães	10,57 ± 1,78(14)	8,73 ± 3,69(15)	8,13 ± 2,13(15)	8,07 ± 3,10(15)
Perdas pré-implantação (%) / ratas com perdas <sup>a</sup>	11,90 ± 6,5 (10)	12,10 ± 6,0 (9)	22,3 ± 16,1(10)	18,8 ± 13,4 (9)
Perdas pós-implantação (%) / ratas com perdas <sup>b</sup>	13,6 ± 4,8 (8)	13,5 ± 6,1(9)	18,6 ± 11,0(13)	22,3 ± 14,2 (10)

Resultados expressos em média ± desvio padrão, exceto perdas pré e pós-implantação, expressos em proporção. \* p < 0,05.

<sup>a</sup> (((número de corpos lúteos – número de implantes) / número de corpos lúteos] x 100).

<sup>b</sup> (((número de implantes – número de fetos vivos) / número de implantes] x 100).

corporal e de cérebro significativamente inferior ao grupo controle ( $p < 0,05$ ). Fetos de sexo masculino tiveram peso absoluto de fígado, pulmão (Grupo T3) e peso relativo de pulmão (Grupo T1) menores

que o grupo controle. O peso absoluto de pulmões foi, também, menor em fetos do sexo feminino, oriundos de mães tratadas com a dose máxima de OERO ( $p < 0,05$ ) (Tab. 3).

**Tabela 2** Dados do hemograma e das análises bioquímicas em ratas controles e tratadas com OERO (T1: 242 mg/kg; T2: 484 mg/kg e T3: 968 mg/kg), do 8º ao 15º dia pós-coito.

	<b>Controle (n =14)</b>	<b>Tratado 1 (n =15)</b>	<b>Tratado 2 (n = 15)</b>	<b>Tratado 3 (n =15)</b>
Hematimetria	5690714,29 ± 511460,42	5678750,00 ± 664558,75	5716875,00 ± 551092,47	5438666,67 ± 487718,69
Hematócrito	36,78 ± 2,26	37,62 ± 4,01	38,25 ± 4,92	35,40 ± 2,92
Leucócitos	5278,57 ± 897,16	5468,75 ± 1394,26	4912,50 ± 1555,58	4600,00 ± 2042,06
Linfócito	55,14 ± 6,07	61,12 ± 8,81	54,81 ± 7,02	55,07 ± 10,14
Segmentado	38,78 ± 6,82	33,12 ± 8,26	40,31 ± 6,65	40,27 ± 10,32
Hemoglobina	11,71 ± 0,76	11,56 ± 1,27	11,85 ± 0,76	11,15 ± 0,80
V.G.M.	64,86 ± 5,30	66,56 ± 6,24	67,06 ± 5,31	64,33 ± 4,43
H.G.M.	20,64 ± 2,02	20,44 ± 1,86	20,94 ± 2,20	20,20 ± 0,68
C.H.G.M.	32,07 ± 1,90	31,44 ± 2,58	31,25 ± 2,93	31,87 ± 2,59
Colesterol	86,16 ± 13,05	95,32 ± 21,42	152,34 ± 52,80*	104,37 ± 22,35
AST	45,43 ± 12,16	59,94 ± 19,37	61,06 ± 18,23	58,73 ± 23,52
ALT	45,57 ± 16,28	38,56 ± 11,48	56,81 ± 26,97	46,67 ± 15,97
Uréia	38,21 ± 8,85	46,19 ± 8,53	58,19 ± 10,27*	59,13 ± 12,95*
Creatinina	0,65 ± 0,11 <sup>a</sup>	0,56 ± 0,08	0,61 ± 0,21	0,64 ± 0,16

Resultados expressos em média ± desvio padrão. <sup>a</sup>n = 13. \*  $p < 0,05$ . VGM=volume globular médio; HGC= hemoglobina globular média; CHGM= concentração de hemoglobina globular; AST = aminotransferase. ALT = alanina aminotransferase.

**Tabela 3** Média de peso corporal e de órgãos de fetos de mães controles e tratadas com OERO (T1: 242 mg/kg; T2: 484 mg/kg e T3: 968 mg/kg) do 8º ao 15º dia pós-coito.

<b>Variáveis</b>	<b>Controle</b>	<b>T1</b>	<b>T2</b>	<b>T3</b>
<b>MACHOS</b>				
Peso corporal (g)	3,34 ± 0,16	3,41 ± 0,23	3,20 ± 0,24	3,02 ± 0,25*
Peso do fígado (g)	0,29 ± 0,03	0,28 ± 0,03	0,27 ± 0,02	0,26 ± 0,03*
Peso relativo do fígado (g)	8,59 ± 0,69	8,24 ± 0,64	8,62 ± 0,38	8,47 ± 0,54
Peso do rim (g)	0,02 ± 0,00	0,02 ± 0,00	0,02 ± 0,00	0,02 ± 0,00
Peso relativo do rim (g)	0,72 ± 0,08	0,70 ± 0,09	0,69 ± 0,05	0,69 ± 0,05
Peso do pulmão (g)	0,12 ± 0,01	0,11 ± 0,01	0,11 ± 0,01	0,10 ± 0,01*
Peso relativo do pulmão (g)	3,47 ± 0,28	3,18 ± 0,21*	3,28 ± 0,25	3,33 ± 0,26
Peso do cérebro (g)	0,13 ± 0,02	0,14 ± 0,02	0,14 ± 0,01	0,11 ± 0,01*
<b>FÊMEAS</b>				
Peso corporal (g)	3,11 ± 0,16	3,09 ± 0,16	3,05 ± 0,10	2,85 ± 0,28*
Peso do fígado (g)	0,26 ± 0,02	0,27 ± 0,03	0,28 ± 0,01	0,24 ± 0,02
Peso relativo do fígado (g)	8,46 ± 0,52	8,47 ± 0,59	8,97 ± 0,63*	8,65 ± 0,52
Peso do rim (g)	0,02 ± 0,00	0,02 ± 0,00	0,02 ± 0,00	0,02 ± 0,00
Peso relativo do rim (g)	0,67 ± 0,06	0,68 ± 0,07	0,73 ± 0,08	0,70 ± 0,04
Peso do pulmão (g)	0,10 ± 0,01	0,10 ± 0,01	0,10 ± 0,01	0,09 ± 0,01*
Peso relativo do pulmão (g)	3,31 ± 0,30	3,18 ± 0,27	3,20 ± 0,30	3,30 ± 0,25
Peso do cérebro (g)	0,14 ± 0,01	0,13 ± 0,01	0,13 ± 0,01	0,11 ± 0,01*

Resultados expressos em média ± desvio padrão. \* p < 0,05.

## DISCUSSÃO

Para avaliar o desenvolvimento embrionário em ratas expostas ao OERO procedeu-se à análise de possíveis efeitos tóxicos maternos capazes de alterar a embriogênese. Tais efeitos habitualmente são detectados através de observações clínicas. Redução superior a 10% do peso corporal inicial costuma ser indicativo de toxicidade (HOOD, 2006). Nenhum dos animais perdeu peso ao longo da prenhes, embora tenha sido observada redução do consumo de ração no grupo tratado com a maior dose de OERO, durante o período de tratamento.

Observou-se aumento do peso relativo de fígado e de rins entre os animais que receberam a dose mais alta de OERO, como a literatura relata efeito hepatoprotetor do alecrim (AL-SEREITI *et al.*, 1999; FAHIM *et al.*, 1999) e não foram observadas alterações de TGO e TGP, é possível sugerir que não deva ter ocorrido lesão hepática nos animais tratados. Em coelhos foi descrito que o óleo essencial de alecrim teria efeito hiperglicêmico e inibidor de liberação de insulina (AL-HADER *et al.*, 1994). Embora no presente estudo não tenha sido dosada a glicemia, observou-se aumento dos níveis de colesterol plasmático, que foi significativo com a dose intermediária (T2), mas evidenciou tendência elevada na dose maior, assim, seria possível cogitar da possibilidade de uma hiperglicemia, levando ao conseqüente aumento de colesterol. A hiperglicemia poderia induzir hiperfunção hepática e renal sem, contudo significar efeito tóxico. Exame anatomopatológico de fígado e de rins está em processamento para procurar esclarecer os dados observados.

O aumento da concentração de uréia nos grupos tratados com as doses maiores (T2 e T3), pode ser indicativa de uma lesão renal inicial,

mesmo desacompanhado de alterações dos níveis de creatinina, uma vez que essa última se eleva quando a lesão já se encontra avançada ou quando se tem um estímulo crônico pelo uso contínuo do medicamento.

Quando se avalia o desenvolvimento do conceito, verifica-se que a exposição materna ao OERO, durante a fase de implantação do blastocisto, não impede a implantação e o desenvolvimento posterior, como pode ser depreendido das perdas pós-implantação, número de implantes e de fetos vivos. Entretanto os pesos corporais e de cérebros entre os fetos de sexo masculino e feminino de mães tratadas com a dose mais elevada de OERO foi significativamente menor ( $p < 0,05$ ) que os do grupo controle, indicando redução do crescimento intra-uterino. Como ocorreu aumento do colesterol materno, havendo a possibilidade de uma hiperglicemia, a redução de crescimento poderia estar relacionada a alterações metabólicas maternas e não significar retardo de crescimento intra-uterino, entretanto é necessário avaliar se ocorreu comprometimento das funções cerebrais dos fetos, inclusive, em função das alterações de canais de cálcio, que podem alterar as transmissões sinápticas.

Em conclusão: A administração de OERO a ratas durante o período de organogênese causou redução do peso corporal e do cérebro dos fetos de 21 dias, provavelmente em função de alterações metabólicas maternas.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao excelente trabalho técnico do Bolsista Humberto José Deotti (FAPEMIG CDS 51679/05), da Bióloga Evelise Rocha de Souza Almeida e do Sr. Paulo Sérgio do Carmo. Este

trabalho foi financiado pela FAPEMIG CDS 1679/05; FAPEMIG Rede TOXIFAR 2827/05 e FAPEMIG Rede BIOTERISMO 2824/05.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABE, F.; YAMAUCHI, T.; NAGAO, T.; KINJO, J.; OKABE, H.; HIGO, H. & AKAHANE, K. 2002. Ursolic acid as a trypanocidal constituent in rosemary. **Biological & Pharmaceutical bulletin** **25** (11): 1485-1487.
- AL-HADER, A.A.; HASAN, Z.Z. & AQEL, M.B. 1994. Hyperglycemic and insulin release inhibitory effects of *Rosmarinus officinalis*. **Journal of Ethnopharmacology** **43** (3): 217-221.
- AL-SEREITI, M.R.; ABU-AMER, K.M. & SEM, P. 1999. Pharmacology of rosemary (*Rosmarinus officinalis* Linn.) and its therapeutic potentials. **Indian Journal of Experimental Biology** **37** (2): 124-130.
- ANGIONI, A.; BARRA, A.; CERETI, E.; BARILE, D.; COISSON, J.D.; ARLOORIO, M.; DESSI, S.; CORONEO, V. & CABRAS, P. 2004. Chemical composition, plant genetic differences, antimicrobial and antifungal activity investigation of the essential oil of *Rosmarinus officinalis* L. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** **52** (11): 3530-3535.
- AQEL, M.B. 1991. Relaxant effect of the volatile oil of *Rosmarinus officinalis* on tracheal smooth muscle. **Journal of Ethnopharmacology** **33**: 57-62.
- BERTL, E.; BECKER, H.; EICHER, T.; HERHAUS, C.; KAPADIA, G.; BARTSCH, H. & GERHAUSER, C. 2004. Inhibition of endothelial cell functions by novel potential cancer chemopreventive agents. **Biochemical and Biophysical Research Communications** **325** (1): 287-295.
- DIAS, P.C.; FOGLIO, M.A.; POSSENTI, A. & CARVALHO, J.E. 2000. Antiulcerogenic activity of crude hydroalcoholic extract of *Rosmarinus officinalis* L. **Journal of Ethnopharmacology** **69**: 57-62.
- ENGLBERGER, W.; HADDING, U.; ETSCHENBERG, E.; GRAF, E.; LEYCK, S.; WINKELMANN, J. & PARNHAM, M.J. 1988. Rosmarinic acid: a new inhibitor of complement C3-convertase with anti-inflammatory activity. **International Journal of Immunopharmacology** **10** (6): 729-737.
- FAHIM, F. A.; ESMAT, A.Y.; FADEL, A.M. & HASSAN, K.F. 1999. Allied studies on the effect of *Rosmarinus officinalis* L. on experimental hepatotoxicity and mutagenesis. **International Journal of Food Sciences and Nutrition** **50** (6): 413-427.
- FLAMINI, G.; CIONI, P.L.; MORELLI, I.; MACCHIA, M. & CECCARINI, L. 2002. Main agronomic-productive characteristics of two ecotypes of *Rosmarinus officinalis* L. and chemical composition of their essential oils. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** **50** (12): 3512-3517.
- GIORDANI, R.; REGLI, P.; KALOUSTIAN, J.; MIKAIL, C.; ABOU, L. & PORTUGAL, H. 2004. Antifungal effect of various essential oils against *Candida albicans*. Potentiation of antifungal action of amphotericin B by essential oil from *Thymus vulgaris*. **Phytotherapy Research** **18** (12): 990-995.
- HALOUI, M.; LOUEDEC, L.; MICHEL, J.B. & LYOUSSI, B. 2000. Experimental diuretic effects of *Rosmarinus officinalis* and *Centaurium erythraea*. **Journal of Ethnopharmacology** **71** (3): 465-472.
- HOOD, R. 2006. **Developmental and reproductive toxicology** - a practical approach. Londres, Taylor & Francis. 1149p.
- HUANG, M. T.; HO, C.T.; WANG, Z.Y.; FERRARO, T.; LOU, Y.R.; STAUBER, K.; MA, W.; GEORGIADIS, C.; LASKIN, J.D. & CONNEY, A.H. 1994. Inhibition of skin tumorigenesis by rosemary and its constituents carnosol and ursolic acid. **Cancer Research** **54** (3): 701-708.
- ICH (International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use). 2005. **ICH**

- Harmonized Tripartite Guideline S5 (R2):** Detection of Toxicity to Reproduction for Medicinal Products & Toxicity to Male Fertility.
- KIM, H.Y. & KIM, K. 2003. Protein glycation inhibitory and antioxidative activities of some plant extracts in vitro. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** **51** (6): 1586-1591.
- LARRONDO, J.V.; AGUT, M. & CALVO-TORRAS, M.A. 1995. Antimicrobial activity of essences from labiates. **Microbios** **82** (332): 171-172.
- LEMONICA, I.P.; DAMASCENO, D.C. & DI-STASI, L.C. 1996. Study of the embryotoxic effects of an extract of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.). **Brazilian Journal of Medical and Biological Research** **29** (2): 223-227.
- MANGENA, T. & MUYIMA, N.Y. 1999. Comparative evaluation of the antimicrobial activities of essential oils of *Artemisia afra*, *Pteronia incana* and *Rosmarinus officinalis* on selected bacteria and yeast strains. **Letters in Applied Microbiology** **28**: 291-296.
- NUSIER, M. K.; BATAINEH, H.N. & DARADKAH, H.M. 2007. Adverse effects of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) on reproductive function in adult male rats. **Experimental Biology and Medicine** **232** (6): 809-813.
- OFFORD, E. A.; MACE, K.; RUFFIEUX, C.; MALNOE, A. & PFEIFER, A.M. 1995. Rosemary components inhibit benzo[a]pyrene-induced genotoxicity in human bronchial cells. **Carcinogenesis** **16** (9): 2057-2062.
- PARIS, A.; STRUKELJ, B.; RENKO, M.; TURK, V.; PUKL, M.; UMEK, A. & KORANT, B.D. 1993. Inhibitory effect of carnolic acid on HIV-1 protease in cell-free assays. **Journal of Natural Products** **56** (8): 1426-1430.
- PINTO, R.M.; FERNANDES, E.S.; REIS, J.E.; PETERS, V.M. & GUERRA, M.O. 2007. Intra-uterine growth retardation after prenatal administration of *Ginkgo biloba* to rats. **Reproductive Toxicology** **23** (4): 480-485.
- PORTE, A. & GODOY, R.L.O. 2001. Alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.): Propriedades antimicrobiana e química do óleo essencial. **Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos** **19** (2): 193-210.
- SÁ, R.C.S.; LEITE, M.N.; OLIVEIRA, L.E.G.; TOLEDO, M.M.; GREGGIO, T.C. & GUERRA, M.O. 2006. Preliminary assessment of *Rosmarinus officinalis* toxicity on male Wistar rats' organs and reproductive system. **Brazilian Journal of Pharmacognosy** **16**: 324-332.
- SINGLETERY, K.W. & NELSHOPPEN, J.M. 1991. Inhibition of 7,12- dimethylbenz[a]anthracene (DMBA)-induced mammary tumorigenesis and of in vivo formation of mammary DMBA-DNA adducts by rosemary extract. **Cancer Letters** **60**: 169-175.
- SOTELO-FELIX, J.I.; MARTINEZ-FONG, D. & MURIEL DE LA TORRE, P. 2002. Protective effect of carnosol on CCl<sub>4</sub>-induced acute liver damage in rats. **European Journal of Gastroenterology & Hepatology** **14** (9): 1001-1006.
- SOTELO-FELIX, J.I.; MARTINEZ-FONG, D.; MURIEL, P.; SANTILLAN, R.L.; CASTILLO, D. & YAHUACA, P. 2002. Evaluation of the effectiveness of *Rosmarinus officinalis* (Lamiaceae) in the alleviation of carbon tetrachloride-induced acute hepatotoxicity in the rat. **Journal of Ethnopharmacology** **81** (22): 145-154.
- ZHU, B.T.; LODER, D.P.; CAI, M.X.; HO, C.T.; HUANG, M.T. & CONNEY, A.H. 1998. Dietary administration of an extract from rosemary leaves enhances the liver microsomal metabolism of endogenous estrogens and decreases their uterotrophic action in CD-1 mice. **Carcinogenesis** **19** (10): 1821-1827.

Recebido: 13/02/2009

Revisado: 03/11/2009

Aceito: 08/06/2010