

UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA

VINÍCIUS DE ALMEIDA VIEIRA

AVALIAÇÃO DO COMPORTAMENTO DE RATAS WISTAR TRATADAS DURANTE A GRAVIDEZ COM *Hypericum perforatum* L. NO PERÍODO PÓS-NATAL E DE SEUS DESCENDENTES (F1) NA FASE ADULTA

Juiz de Fora

2012

VINÍCIUS DE ALMEIDA VIEIRA

AVALIAÇÃO DO COMPORTAMENTO DE RATAS WISTAR TRATADAS DURANTE A GRAVIDEZ COM *Hypericum perforatum* L. NO PERÍODO PÓS-NATAL E DE SEUS DESCENDENTES (F1) NA FASE ADULTA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde da Universidade Federal de Juiz de Fora, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre.

Área de concentração: Saúde Brasileira

ORIENTADORA: VERA MARIA PETERS

CO-ORIENTADORA: RITA DE CÁSSIA DA SILVEIRA E SÁ

Juiz de Fora

2012

Vieira, Vinícius de Almeida.

Avaliação do comportamento de ratas wistar tratadas durante a gravidez com *Hypericum perforatum L.* no período pós-natal e de seus descendentes (F1) na fase adulta / Vinicius de Almeida Vieira. – 2012.
113 f. : il.

Dissertação (Mestrado em Saúde Brasileira)–Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, 2012.

1. Comportamento animal. 2. Gravidez. I. Título.

CDU 591.51

VINÍCIUS DE ALMEIDA VIEIRA

AVALIAÇÃO DO COMPORTAMENTO DE RATAS WISTAR TRATADAS DURANTE A GRAVIDEZ COM *Hypericum perforatum* L. NO PERÍODO PÓS-NATAL E DE SEUS DESCENDENTES (F1) NA FASE ADULTA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde da Universidade Federal de Juiz de Fora, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre.

Área de concentração: Saúde Brasileira

APROVADO EM: 21/11/2012

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dra. Vera Maria Peters

Universidade Federal de Juiz de Fora

Prof. Dra. Rita de Cássia da Silveira e Sá

Universidade Federal da Paraíba

Prof. Dra. Martha Guerra de Oliveira

Universidade Federal de Juiz de Fora

*À Jane, pelo companheirismo em mais essa etapa de minha vida, pelo amor e pela
inspiração diária.*

*Aos meus pais, Euclides e Nélia, pela herança de amor, dedicação, responsabilidade e
orgulho.*

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela saúde que me manteve forte em todas as situações e pelas oportunidades e pessoas maravilhosas que colocou em meu caminho.

Ao avô Olívio e avó Naíde, pela inspiração à busca pelo conhecimento.

Ao avô Nero, pelo exemplo e incentivo, e à avó Thereza pela torcida, orações e bênçãos diárias.

Aos meus irmãos, Olívio, Nero e Euclides, minhas cunhadas e minha irmã Malu, pela torcida e apoio.

À amiga e sogra Lucilene, pelo apoio e incentivo.

À minha orientadora Dra. Vera Maria Peters, pela confiança, dedicação, responsabilidade e presença materna em toda a jornada.

À minha co-orientadora Dra. Rita de Cássia da Silveira e Sá, pela amizade e confiança em mim depositada desde os tempos de iniciação científica.

À professora Dra. Martha Guerra de Oliveira, pela ajuda incondicional e exemplo.

Aos funcionários, estagiários, professores e amigos do Centro de Biologia da Reprodução, pela ajuda imensurável e dedicação. Sem vocês meu trabalho não seria possível.

Aos funcionários do Programa de Pós-graduação em Saúde da Universidade Federal de Juiz de Fora pela dedicação, fundamental para minha conquista.

A todos, que de forma direta e indireta contribuíram com essa jornada.

RESUMO

A depressão gestacional é um assunto de grande preocupação, considerando-se os riscos de reincidência de sintomas futuros e os efeitos deletérios à saúde materna e de seus descendentes. Os antidepressivos sintéticos não diminuem a reincidência de sintomas no pós-parto, possuem muitos efeitos colaterais e não são isentos de riscos ao feto. O *Hypericum perforatum* L. (HP) é um fitofármaco muito utilizado no tratamento da depressão, que apresenta menos efeitos colaterais, parece não apresentar efeitos teratogênicos, e o seu uso demonstrou diminuição da recorrência futura de sintomas. Por outro lado, ainda não se sabe seus reais efeitos, quando utilizado na gravidez, no comportamento futuro da mãe e no desenvolvimento comportamental de sua prole. Portanto, este trabalho avaliou o comportamento de ratas tratadas durante a gravidez com HP no período pós-natal e de seus descendentes na fase adulta. Ratas prenhas foram divididas em três grupos tratados (T1, T2 e T3) e um grupo controle (C), que receberam, por via intragástrica e uma vez ao dia durante toda a gestação, o extrato de HP nas doses de 36, 72 e 144 mg/kg e água destilada, respectivamente. As ratas foram submetidas, com 10 e 60 dias de pós-natal, ao teste do labirinto em cruz elevado para avaliação da ansiedade e aos testes do nado forçado e suspensão da cauda para avaliação da depressão. Os seus filhotes machos foram divididos em quatro grupos, de acordo com o tratamento recebido pelas mães, e avaliados aos 90 dias de vida. Eles foram submetidos aos testes da barra giratória e do tempo de sono induzido por barbitúricos para avaliação de uma possível ação no sistema nervoso central (SNC), aos testes do labirinto em cruz elevado e da placa perfurada para avaliação da ansiedade, e aos testes do nado forçado e de suspensão da cauda para avaliação da depressão. As ratas pertencentes aos grupos T2 e T3, apresentaram um menor comportamento ansioso no teste do labirinto em cruz elevado, e um menor comportamento depressivo nos testes de suspensão da cauda e nado forçado, quando avaliadas 10 e 60 dias após o nascimento dos filhotes e suspensão do tratamento. Nos testes da barra

giratória e do tempo de sono induzido por barbitúricos, os descendentes das ratas dos grupos T2 e T3 apresentaram um desempenho sugestivo de ação do HP no SNC, quando comparados aos descendentes das ratas do grupo controle. Nos testes da placa perfurada e do labirinto em cruz elevado e nos testes de suspensão da cauda e do nado forçado, os animais destes mesmos grupos apresentaram um comportamento menos ansioso e depressivo, respectivamente. Portanto, o uso de HP na gestação diminuiu o comportamento depressivo e de ansiedade de ratas Wistar no período pós-natal e também de seus descendentes (F1) quando alcançam a fase adulta.

Palavras-chave: *Hypericum perforatum*. Gravidez. Sistema nervoso central. Ratos Wistar.

ABSTRACT

Gestational depression is a subject of great concern, considering the risks for the recurrence of symptoms and its harmful effects to the mother's and offspring's health. Synthetic antidepressants do not decrease the recurrence of symptoms in the postpartum period, present many side effects, and are not exempt of risks to the fetus. *Hypericum perforatum* (HP) is a phytopharmakon largely used in the treatment of depression, presents less side effects, does not seem to present teratogenic effects, and its use showed a decrease in the future recurrence of symptoms. On the other hand, its real effects in the future behavior of the mother and in the behavioral development of her offspring when used during pregnancy is not yet known. Therefore, this study evaluated the behavior of rats treated with HP during pregnancy in the postnatal period and of their offspring in their adult phase. Pregnant rats were divided into three treated groups (T1, T2 and T3) and a control group (C) that received, intragastrically, once a day, during the gestational period, HP extract in doses of 36, 72 and 144 mg/kg respectively and distilled water. At ten and 60 days of postnatal life, the rats were submitted to the elevated cross maze test for evaluation of anxiety and to the forced swim and tail suspension tests for evaluation of depression. Their male offspring were divided into four groups, according to the treatment received by the mothers, and evaluated at 90 days of age. They were submitted to the rotarod and barbiturate sleep-induced tests for evaluation of a possible action on the central nervous system (CNS), to the elevated cross maze and hole-board tests for evaluation of anxiety, and to the forced swim and tail suspension tests for evaluation of depression. The rats from groups T2 and T3 displayed less anxious behavior in the elevated cross maze test, and less depressive behavior in the tail suspension and forced swim tests when evaluated 10 and 60 days after the parturition of their offspring and discontinuation of treatment. In the rotarod and barbiturate sleep-induced tests, the offspring of the rats from groups T2 and T3 presented a suggestive performance of the HP action in the CNS, when compared with the offspring of

the rats from the control group. In the hole-board and elevated cross maze tests, as well as in the tail suspension and forced swim tests, the animals of these groups displayed less anxious and depressive behavior, respectively. Therefore, the use of HP during pregnancy reduced the depressive and anxiety behavior in Wistar rats in the postnatal period and also in their offspring (F1) when they reached their adult phase.

Key-words: *Hypericum perforatum*. Pregnancy. Central nervous system. Wistar rats.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	14
2. REVISÃO DA LITERATURA	16
2.1 Depressão	16
2.1.1 Etiologia	16
2.1.2 Clínica	19
2.1.3 Diagnóstico	20
2.1.4 Tratamento	21
2.2 Depressão e gestação	22
2.2.1 Diagnóstico	22
2.2.2 Consequências para mãe e filho	23
2.2.3 Tratamento	24
2.3 Hypericum perforatum	26
2.4 Protocolos em psicofarmacologia comportamental	29
2.4.1 Testes para avaliação de ação inespecífica no SNC	30
2.4.1.1 Teste da barra giratória	30
2.4.1.2 Teste do sono induzido por barbitúricos	32
2.4.2 Testes de avaliação da ansiedade	33
2.4.2.1 Teste do labirinto em cruz elevado	33
2.4.2.2 Teste da placa perfurada	35
2.4.3 Testes de avaliação da depressão	37
2.4.3.1 Teste do nado forçado	37
2.4.3.2 Teste de suspensão da cauda	38
2.5 Variáveis em psicofarmacologia comportamental	39
2.5.1 Modelo animal	40

2.5.2	Restrição alimentar	41
2.5.3	Gênero	42
2.5.4	Ambiente	43
3.	HIPÓTESE	45
4.	OBJETIVO	46
4.1	Objetivo geral	46
4.2	Objetivos Específicos	46
5.	MATERIAIS E MÉTODOS	47
5.1	Animais	47
5.2	Material botânico	47
5.3	Procedimento experimental	48
5.3.1	Teste da barra giratória	50
5.3.2	Teste do sono induzido por barbitúricos	50
5.3.3	Teste do labirinto em cruz elevado	51
5.3.4	Teste da placa perfurada	51
5.3.5	Teste do nado forçado	52
5.3.6	Teste de suspensão da cauda	52
5.4	Análise estatística	52
5.5	Aspectos éticos	53
6.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	54
6.1	Resumo Artigo I	54
6.2	Resumo Artigo II	56
7.	COMENTÁRIOS FINAIS	58
8.	CONCLUSÃO	59
	REFERÊNCIAS	60

ANEXO A	69
ANEXO B	70

1. INTRODUÇÃO

O transtorno depressivo é um mal que acomete a população mundial em proporções consideráveis (OMS, 2001). Nas mulheres, a depressão gestacional é um problema ainda maior, de alta prevalência e potencialmente prejudicial ao desenvolvimento fetal (LOVISI; PEREIRA, 2007; FIELD *et al.*, 2008). Além disso, o transtorno depressivo iniciado na gravidez, mesmo quando tratado, pode reincidir no futuro, sendo um fator de risco para o aparecimento de sintomas depressivos e de ansiedade no puerpério, que são também prejudiciais à saúde materna e da prole (BROCKINGTON, 2004; RIECHER-ROSSLER; STEINER, 2005;).

Os antidepressivos sintéticos, mais comumente utilizados, não são totalmente seguros para o uso na gravidez e a escolha entre eles não se relaciona com a diminuição da prevalência de depressão no período pós-natal (DODD *et al.*, 2006). Por isso, torna-se necessário estabelecer uma alternativa de tratamento eficaz e segura, que diminua a reincidência de sintomas, e motive o questionamento de como esses medicamentos agem no organismo fetal e se há consequências para os descendentes quando alcançam a idade adulta.

O *Hypericum perforatum* (Linnaeus, 1753) (HP) é um fitocomplexo utilizado de forma eficaz e segura no tratamento da depressão. Estudos mostraram que quando utilizado na gravidez e durante a amamentação, apresenta efeito antidepressivo eficaz sem desencadear prejuízos à saúde materna e fetal. Por outro lado, ainda não está definido se existe uma relação da reincidência da depressão no período pós-parto com o seu uso no tratamento de depressão gestacional, e qual sua real ação no organismo fetal e consequências no desenvolvimento do sistema nervoso central

(SNC) de descendentes que atingiram a fase adulta (BALHS, 2001; HOWLAND, 2010).

Não existe ainda uma definição concreta do mecanismo de ação do HP no SNC, até mesmo pela grande quantidade de substâncias que compõe o extrato. Mas é sabido que o HP inibe a recaptação de dopamina, serotonina e noradrenalina, e o fato de aumentar a concentração desses neurotransmissores na fenda sináptica pode ocasionar neuromodulações e sensibilização de neurorreceptores envolvidos no comportamento. Logo, um tratamento crônico ou subcrônico pode determinar efeitos prolongados do HP, mesmo após a suspensão de seu uso, o que poderia, conseqüentemente, diminuir a incidência de depressão recorrente (RODRIGUEZ-LANDA; CONTRERAS, 2003; CRUPI *et al.*, 2011).

Considerando a eficácia e a segurança do uso do HP como antidepressivo, um possível efeito prolongado e diminuição de recorrência de sintomas, é pertinente avaliar o comportamento pós-parto em ratas Wistar tratadas com HP durante a gestação, e o comportamento de seus descendentes da primeira geração (F1) quando alcançam a fase adulta.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Depressão

A depressão é um problema de saúde pública mundial, sendo que em 2001 já atingia cerca de 154 milhões de pessoas com a estimativa de que em 2030 será a doença mais comum no planeta. O transtorno depressivo é considerado a causa mais frequente de anos vividos com alguma incapacidade e desencadeia prejuízos consideráveis ao funcionamento social. A prevalência ainda é maior na mulher do que no homem e varia conforme a idade, estado e situação socioeconômica (OMS, 2001).

2.1.1 Etiologia

A depressão ainda não tem uma etiologia totalmente definida, mas alguns fatores estão diretamente relacionados com o aparecimento, evolução e gravidade do transtorno. Os fatores causais podem ser divididos como psicossociais, genéticos e neurobiológicos.

Os fatores psicossociais relacionam-se com a resposta psicológica que cada indivíduo apresenta frente uma situação estressante ou que desencadeie tristeza. Essas situações precedem, frequentemente, os primeiros episódios depressivos e apesar da tristeza ser uma reação humana natural, diante de uma perda, é um sentimento que tem uma relação de causalidade com o transtorno depressivo (SCHULBERG *et al.*, 2002).

A herança genética possui uma relação significativa com o desenvolvimento da depressão. A incidência do transtorno depressivo é maior em pessoas com história familiar positiva do que na população geral, e em gêmeos monozigóticos, a chance de desenvolvimento depressivo em ambos é maior do que em gêmeos dizigóticos. Sabe-se ainda, que filhos de pais com depressão apresentam maior risco de desenvolverem o transtorno, mesmo quando afastados pela adoção (LAFFER; VALLADA FILHO, 1999; KESSLER *et al.*, 2003).

Os fatores neurobiológicos, além de estarem relacionados com causalidade, são importantes no desenvolvimento de tratamentos farmacológicos e determinantes na fisiopatologia do transtorno depressivo. A neurobiologia envolvida na depressão sofre a influência de vários sistemas e fatores neuronais, mas os mecanismos envolvidos na propagação do impulso nervoso são os principais. Os neurotransmissores são substâncias responsáveis pela propagação do estímulo nervoso na fenda sináptica que modulam diversos eventos neurológicos, sendo vitais para o funcionamento do SNC. Os principais neurotransmissores envolvidos no comportamento são as monoaminas noradrenalina, serotonina e dopamina (FIGURA 1), e conseqüentemente estão diretamente relacionadas com um comportamento depressivo (CARLINI; MENDES, 2011).

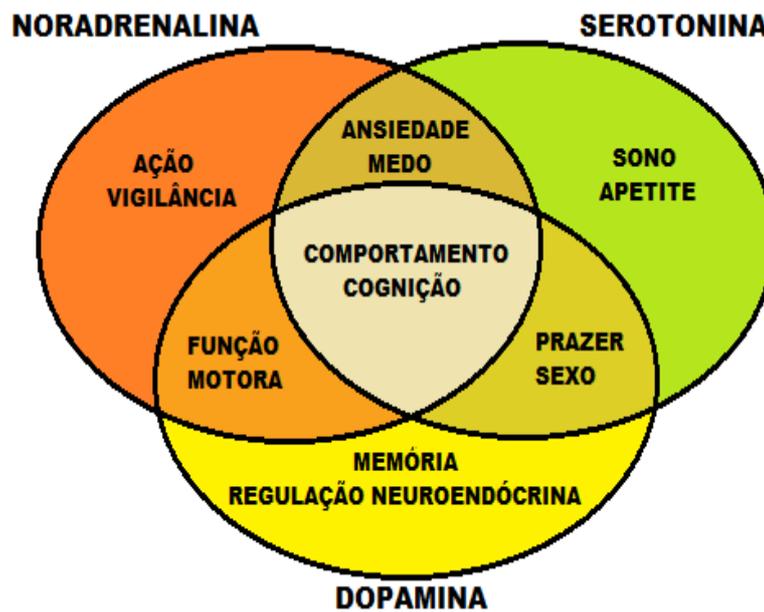


FIGURA 1: Principais eventos neurológicos modulados pela ação de noradrenalina, dopamina e serotonina. Adaptado do original disponível em <<http://www.fateffir.com.br>>, acessado em 02/06/2011.

A hipótese monoaminérgica é a principal teoria abordada na descrição da origem da depressão, e baseia-se no fato de que no transtorno depressivo há um déficit na concentração de monoaminas. Por outro lado, sabe-se que não é apenas a baixa concentração dessas substâncias que interfere nos eventos neurológicos mediados por elas, mas também a modulação de seus receptores e da transdução do sinal neurológico envolvido (BECK; BRAD, 2008; CARLINI; MENDES, 2011). É importante salientar, que as alterações neurobiológicas encontradas em pessoas deprimidas são semelhantes às encontradas em modelos animais utilizados no estudo da depressão (WILLNER, 1991).

2.1.2 Clínica

A tristeza é a principal queixa em um paciente com depressão. No entanto, a sintomatologia no transtorno depressivo é bem variada e se manifesta na forma de sintomas leves a eventos suicidas. Podemos encontrar alterações fisiológicas, sintomas afetivos, alterações de cognição, sintomas psicóticos e alterações de pensamentos (BAIR *et al.*, 2003; BECK; BRAD, 2008):

1. Alterações fisiológicas: astenia, fadiga, distúrbios sexuais, alterações gastrointestinais, irregularidades menstruais e hormonais, alterações do sono, alterações de apetite, alterações do peso e cefaleia, dentre outras.
2. Sintomas afetivos: melancolia, choro frequente, preocupações excessivas, desprazer, perda de interesse pelas atividades cotidianas e angústia, dentre outros.
3. Alterações de cognição: dificuldade de concentração, dificuldades para tomar decisões, distúrbios de memória, falsa demência depressiva, dentre outras.
4. Sintomas psicóticos: manias, alucinações e delírios, dentre outros.
5. Alterações de pensamentos: ideias suicidas, pessimismo, negativismo, baixa autoestima, sentimento de culpa, dentre outras.

É importante ressaltar que é comum os episódios depressivos serem acompanhados de sintomas de ansiedade, de intensidade muitas vezes considerável. Mas esses sintomas, quando secundários à depressão, também desaparecem com o tratamento do transtorno (RIBEIRO, 2007). A avaliação de um comportamento ansioso pode, então, auxiliar no diagnóstico, tratamento e acompanhamento da depressão.

2.1.3 Diagnóstico

A Classificação Estatística Internacional de Doenças e Problemas Relacionados à Saúde (CID-10) foi criada com o objetivo de padronizar o diagnóstico de doenças usando critérios diagnósticos específicos e facilitar a troca de informações entre diferentes profissionais (OMS, 2003).

O diagnóstico de episódios depressivos, segundo o CID-10, é feito na presença de dois sintomas fundamentais, o humor depressivo e a perda de interesse por atividades cotidianas. Além disso, a presença e gravidade de sintomas acessórios, como concentração e atenção reduzidas, baixa autoestima, ideias de culpa, pessimismo, negativismo, fadiga, sintomas somáticos, distúrbios do sono, diminuição do apetite e ideias de suicídio, permitem classificar o episódio depressivo em leve, moderado ou grave.

No paciente que já apresentou episódios depressivos anteriores, seu transtorno é classificado como transtorno depressivo recorrente. Sabe-se ainda, que quando recorrente, o transtorno pode se manifestar com episódios atuais leves, moderados e até mesmo graves, exigindo muitas vezes um tratamento contínuo (OMS, 2003; KATON, 2003; RIBEIRO, 2007).

2.1.4 Tratamento

O tratamento do transtorno depressivo deve ser bem planejado, considerando-se sua segurança e eficácia, sendo precedido de um diagnóstico bem feito, visando o bem-estar futuro do paciente. A tendência atual é associar o tratamento farmacológico e a psicoterapia. O acompanhamento psicossocial deve

alcançar também os familiares do doente ou as pessoas diretamente e ativamente em contato com eles, mas, se não for associado ao tratamento farmacológico, não é uma medida eficaz (STAHL, 1998; ALLEN *et al.*, 2002).

Os antidepressivos tricíclicos, inibidores de monoaminoxidase (IMAO), inibidores seletivos da recaptação de serotonina, dentre outros, são as classes de medicações sintéticas utilizadas no tratamento do transtorno depressivo. Geralmente, eles melhoram os sintomas em cerca de 60 a 70%, em 30 dias, independentemente da classe utilizada. Por outro lado, apresentam inúmeros efeitos adversos, como a disfunção sexual, alucinações, delírios, risco de episódio maníaco, efeitos gastrointestinais, efeitos anticolinérgicos, sedação e intoxicação, dentre outros (SOUZA, 1999). Portanto, na escolha da medicação utilizada, deve-se considerar não a classe em que pertence, e sim o paciente, individualmente e o menor risco potencial para ele. (KROENKE *et al.*, 2001; DOOD *et al.*, 2006).

2.2 Depressão e gravidez

Na mulher, a depressão torna-se ainda mais preocupante quando presente durante a gravidez. Segundo alguns autores, as mudanças neuroendócrinas ocorridas nesse período são fatores de risco a uma maior predisposição a transtornos do humor (STEINER *et al.*, 2003; CAMPAGNE, 2004), e ao contrário do que se acreditou por muito tempo, o período gestacional não apresenta nenhuma proteção para a saúde mental feminina (CAMACHO *et al.*, 2006). Portanto, a depressão é o transtorno mental mais prevalente na mulher grávida, com prevalência em torno de 20%, e cuja incidência tem aumentado progressivamente

nos últimos anos (SCHMIDT *et al.*, 1997; BENNETT, 2004; PEREIRA; LOVISI, 2007).

2.2.1 Diagnóstico

A depressão gestacional pode não ser diagnosticada, muitas vezes, pela confusão entre queixas comuns na mulher grávida e sintomas leves do transtorno do humor. Por outro lado, mesmo em condições subclínicas, o transtorno depressivo pode desencadear consequências severas à saúde materna e fetal (CAMPAGNE, 2004), exigindo uma abordagem minuciosa.

A depressão na mulher grávida também pode se manifestar desde sintomas leves até manifestações graves como o suicídio. Aqui também os sintomas de ansiedade podem estar presentes com frequência, sendo importantes para se estabelecer uma suspeita, conduta e acompanhamento da depressão na gravidez, ou se recorrente posteriormente. Os critérios diagnósticos são os mesmos já mencionados e devem ser sempre levados em conta para se definir o tratamento.

2.2.2 Consequências para a mãe e filho

A depressão gestacional modifica o ambiente materno e desencadeia importantes prejuízos à saúde da mãe e do filho, incluindo a diminuição dos escores de qualidade de vida e da adesão às medidas positivas de saúde pela mulher grávida, complicações obstétricas, hiperemese gravídica, prematuridade, baixo peso fetal, aumento de internações em Unidade de Tratamento Intensivo Neonatal e prejuízos no desenvolvimento das crianças (KURKI *et al.*, 2000; LINDGREN, 2001;

ANDERSON *et al.*, 2004; RAHMAN *et al.*, 2004; DAYAN *et al.*, 2006; NICHOLSON *et al.*, 2006; OBERLANDER *et al.*, 2006; FERRI *et al.*, 2007; O'CONNOR *et al.*, 2007; ROSEN *et al.*, 2007; FIELD *et al.*, 2008).

O transtorno depressivo durante a gestação é um fator de risco importante para o aparecimento de transtornos do humor e de ansiedade no período pós-natal, e é durante esse período que ocorre um maior risco de piora dos sintomas surgidos na gravidez (RIECHER-RÖSSLER; STEINER, 2005). Além disso, há evidências suficientes de que, assim como na gravidez, as alterações neuroendócrinas da mulher favorecem um comportamento depressivo e ansioso da mãe no puerpério. Tal comportamento é prejudicial à amamentação e tem efeitos deletérios à saúde da criança (BROCKINGTON, 2004).

O comportamento materno durante a gravidez e amamentação influencia diretamente o desenvolvimento neurocomportamental de suas crias, onde qualquer alteração na mãe desencadeia no filho respostas fisiológicas e comportamentais semelhantes. Portanto, o fato de se tratar ou não a depressão na gravidez pode influenciar o comportamento futuro das crias (BENSON *et al.*, 1987; BENOIT *et al.*, 1997; DIPIETRO *et al.*, 2008; ALHUSEN, 2008; DIPIETRO, 2010).

2.2.3 Tratamento

Os malefícios à saúde, decorrentes do transtorno depressivo na mulher grávida, são determinantes para que o reconhecimento de seus fatores de risco, o diagnóstico e o tratamento, muitas vezes farmacológico, tornem-se indispensáveis como medidas pré-natais. Porém, estudos mostram que os antidepressivos sintéticos apresentam muitos efeitos indesejáveis e são de uso restrito na gravidez.

Sendo assim, o seu uso na mulher grávida pode ser desencorajado pelos médicos (DODD *et al*, 2006).

Os medicamentos e substâncias são classificados pela *Federal Drugs and Foods Administration* (FDA) em cinco categorias (A, B, C, D e X), de acordo com o grau de riscos à gestação. A categoria A significa que não há evidência de risco em mulheres, pois segundo estudos bem controlados, não revelam problemas no primeiro trimestre de gravidez e não há evidências de problemas nos segundo e terceiro trimestres. Na categoria B, não há estudos adequados em mulheres, e em estudos em animais não evidenciaram riscos. A categoria C compreende os medicamentos sobre os quais não há estudos adequados em mulheres, mas que em animais evidenciaram a ocorrência de alguns efeitos colaterais no feto, devendo então ser usados com cautela e critérios. Os medicamentos da categoria D apresentam evidências de risco em fetos humanos e só deverão ser usados se o benefício justificar o risco potencial. A categoria X representa os medicamentos em que estudos revelaram anormalidades no feto ou evidências de risco para o feto, sendo contraindicados.

Os antidepressivos mais tradicionalmente utilizados no país são a amitriptilina, citalopram, fluoxetina, imipramina, paroxetina e sertralina, todos pertencentes à categoria C. Quando for necessário seu uso, a prescrição deve conter o medicamento de menor risco com a indicação da menor dose necessária, evitando associações com outros medicamentos (DODD *et al.*, 2006). Em relação ao contato com o feto ou recém-nascido, estudos já demonstraram que alguns desses antidepressivos cruzam a placenta e podem ser encontrados no líquido amniótico e leite materno (LLEWELLYN; STOWE, 1998; HOSTETTER *et al.*, 2000; NEWPORT *et al.*, 2001). Sabe-se ainda, que não há uma relação entre a escolha das

medicações e a diminuição na reincidência de sintomas ou na prevalência de depressão puerperal em mulheres tratadas na gravidez.

Essas considerações expõem a necessidade de busca de uma alternativa eficaz de tratamento para depressão, que possa ser usada de forma segura na mulher grávida e que diminua a reincidência de sintomas e os riscos de transtornos de humor no puerpério, consequentes à depressão iniciada na gravidez.

2.3 *Hypericum perforatum*

A espécie *Hypericum perforatum* (Linnaeus, 1753), pertencente à família das *Hyperricoideae*, e popularmente conhecida como hipérico (HP) ou erva de São João, é um fitofármaco eficaz e seguro no tratamento da depressão leve a moderada e de comprovada ação no SNC (BAHLS, 2001; HOWLAND, 2010; NAHAS; SHEIKH, 2011). Em 1996, na Alemanha, o extrato de HP foi a medicação mais utilizada no tratamento da depressão no país, sendo prescritos 131,5 milhões de doses diárias de preparações contendo o extrato da planta (ORTH *et al.*, 1999; GRAY, 1999; JOHNE *et al.*, 1999).

Estudos mostraram a eficácia clínica do HP no tratamento da depressão leve a moderada, comparado a antidepressivos sintéticos ou placebos (LINDE, 1996; WHISKEY *et al.*, 2001; BEHNKE *et al.*, 2002; LINDE *et al.*, 2008; KASPER *et al.*, 2008). Em um deles, 3250 pacientes depressivos, em acompanhamento ambulatorial, foram tratados com o extrato de HP (900 mg/dia) durante 28 dias, e 80% destes obtiveram melhora clínica (WOELK *et al.*, 1994). Em crianças, o HP também foi eficaz no tratamento de sintomas depressivos, como evidenciado em estudo com 101 crianças tratadas durante 28 dias, com doses variando de 300 a

1800 mg/dia. Após 14 dias de tratamento, 72% delas obtiveram melhora clínica e, após 28 dias, este percentual atingiu 97% (HUBNER; KIRSTE, 2001). Por outro lado, a falta de estudos da ação do HP no desenvolvimento do SNC o contraindica para uso em crianças menores de seis anos.

O uso de HP foi eficaz no controle da recorrência do transtorno depressivo. Pacientes tratados com HP por seis semanas foram acompanhados após o término do tratamento e apresentaram uma menor taxa de reincidência de sintomas depressivos (14,8%), quando comparados a pacientes tratados com citalopram, inibidor seletivo da recaptção de serotonina, durante o mesmo período. Além disso, nos poucos pacientes tratados com o HP que tiveram recorrência, os sintomas reapareceram mais tardiamente, em média, 1817 dias após a suspensão do tratamento (SINGER *et al.*, 2011). Em estudos com animais, o extrato de HP também apresentou efeito antidepressivo, comprovado em modelos experimentais apropriados (DE VRY *et al.*, 1999; BUTTERWECK. *et al.*, 2000; CHAN *et al.*, 2001; GAMBARANA *et al.*, 2001; COLETA *et al.*, 2001). A ação significativa do HP no SNC de ratos ocorreu com a utilização de doses variando de 30 a 100 mg/kg/dia, que com base na área de superfície corporal, compara-se à dose clínica utilizada em humanos (GREGORETTI *et al.*, 2004; CRUPI *et al.*, 2011).

O extrato de HP apresenta menos efeitos adversos quando comparado aos antidepressivos sintéticos e tradicionalmente utilizados, sendo uma maneira segura de se tratar a depressão. Os principais efeitos adversos encontrados foram sintomas gastrointestinais, alérgicos e fototoxicidade. Além disso, efeitos sedativos, prejuízos à memória, dependência e intolerância, comuns com uso de substâncias psicoativas, não foram encontrados com uso de HP (WOELK *et al.*, 1994; LINDE *et al.*, 1996; LAAKMANN *et al.*, 1998; BRATTSTROM, 2009).

Poucos trabalhos são encontrados na literatura relacionados ao uso de HP durante a gravidez, e não há uma conclusão definitiva sobre sua segurança. Apenas um trabalho, utilizando roedores, faz referência aos efeitos teratogênicos do HP (GREGORETTI *et al.*, 2004). Por outro lado, existem maiores evidências de que sua utilização em tal período não seja prejudicial à saúde materna e da prole (HOWLAND, 2010). Por exemplo, o tratamento de ratas prenhas com HP não causou efeitos tóxicos para a mãe nem para o embrião (BORGES *et al.*, 2005), e em pacientes tratadas com HP durante a gravidez, o risco de malformações fetais e de prematuridade foi semelhante ao esperado na população geral (MORETTI *et al.*, 2009). Portanto, a administração de HP na gestação deve ser realizada com cautela, mas não chega a ser limitado ou contraindicado (TSCHUDIN, 2005; DUGOUA *et al.*, 2006).

O HP é considerado um fitocomplexo composto por inúmeras substâncias, como a hipericina, pseudo-hipericina, flavonoides (quercetina, hiperosida e rutina), hiperforina, taninas e procianidinas, sendo que, nas apresentações comerciais do extrato foram encontradas concentrações variadas dessas substâncias (BERGONZI *et al.*, 2001). Porém, o que define a padronização do extrato é a sua concentração de hipericina, de forma que, o extrato de HP considerado padrão deve conter 0,3% de tal substância (MÜLLER *et al.*, 1997; GRAY, 1999). O efeito antidepressivo do extrato de HP pode estar relacionado com ação das diferentes substâncias que o compõe, que podem agir isoladamente ou de maneira sinérgica (REICHLING *et al.*, 2003). Há relatos que a hipericina, a pseudo-hipericina, a hiperforina ou os flavonoides podem ser os responsáveis pelo efeito antidepressivo do extrato (COTT, 1995; BUTTERWECK. *et al.*, 2000; ECKERT *et al.*, 2004; XU *et al.*, 2005; BORRELI.; IZZO, 2009).

Em relação ao mecanismo de ação do HP, ainda há controvérsias, seja pela real atividade de suas substâncias ou pela discussão do principal componente responsável pelo seu efeito antidepressivo. Sua atividade psicotrópica pode estar relacionada ao bloqueio não seletivo da recaptção de alguns neurotransmissores excitatórios (noradrenalina, dopamina, e serotonina) ou à afinidade por receptores gabaérgicos, de atividade inibitória (RODRIGUEZ- LANDA; CONTRERAS, 2003). A utilização crônica do extrato de HP pode estabelecer adaptações e alterações na transdução de sinal, na atividade de mensageiros intracelulares ou no número, expressão e regulação de receptores de neurotransmissores (FRANKLIN, 2003; RUEDEBERG *et al.*, 2010), e pode também resultar em adaptações morfológicas em neurônios do hipocampo (CRUPI *et al.*, 2011).

2.4 Protocolos em psicofarmacologia comportamental

A experimentação animal é fundamental para os avanços científicos, levando-se em conta a restrição de trabalhos com humanos pelos aspectos éticos. Os modelos animais têm contribuído significativamente no desenvolvimento de estudos do SNC e aproximadamente 70% dos progressos em psicofarmacologia relacionam-se com a sua utilização (NICOLL; RUSSEL, 1991). Mas, embora a experimentação animal seja fundamental para pesquisas em neurociências, nenhum modelo é considerado ideal, totalmente sensível ou específico em sua abordagem psicofarmacológica (GUIMARÃES, 1993), sendo necessário o emprego de pelo menos dois testes quando se objetiva determinar um efeito ou interferência no SNC (DOURISH *et al.*, 1995).

O efeito de uma substância no SNC depende diretamente do seu mecanismo de ação e das regiões neurológicas envolvidas, sendo capaz de modular diferentes respostas. Neste sentido, primeiro é necessário definir se a substância age no SNC, para posteriormente avaliar os efeitos específicos, respeitando o objetivo do trabalho. Para isso, foram criados protocolos, utilizando-se testes em experimentação animal que nos permitem avaliar simplesmente se uma droga possui atividade no SNC, sem definir sua ação, e testes que definem qual o seu efeito, possibilitando classificá-la, por exemplo, como uma droga ansiolítica ou antidepressora (ALMEIDA, 2006). Além disso, o uso de modelos experimentais em psicofarmacologia também é importante na avaliação do comportamento de descendentes expostos a substâncias psicoativas durante o período pré-natal (BIGNAMI *et al.*, 1992; COLEMAN *et al.*, 1999).

2.4.1 Testes para avaliação de ação inespecífica no SNC

O teste da barra giratória e o teste do sono induzido por barbitúricos são exemplos clássicos de testes realizados em roedores para avaliar, de forma inespecífica, se uma substância tem efeito sobre o SNC.

2.4.1.1 Teste da barra giratória

O teste da barra giratória (rota-rod) foi proposto por Dunham e Miya (1957) e inicialmente utilizado para avaliar uma possível ação bloqueadora na placa neuromuscular, mas drogas com diferentes ações no SNC também foram capazes de interferir no desempenho de roedores (RILEY; SPINKS, 1958; CARLINI;

BURGOS, 1979). O teste da barra giratória é, portanto, um teste utilizado para definir a presença de atividade inespecífica de uma substância no SNC, seja ela excitatória, depressora ou tóxica, baseando-se na avaliação da coordenação motora (DALLMEIER; CARLINI, 1981).

O aparelho do rota-rod consiste em uma barra cilíndrica, de superfície áspera, posicionada horizontalmente e acoplada a um motor, que a mantém em rotação com velocidade constante (FIGURA 2). A barra também pode ser girada de forma manual, mas o controle da velocidade deve ser padronizado, evitando contradições nos resultados. As dimensões do aparelho são definidas, respeitando-se a espécie utilizada (ratos ou camundongos). Os animais são colocados sobre a barra e avalia-se o tempo de permanência sobre a mesma, correspondendo à sua capacidade de coordenação motora (CARLINI; MENDES, 2011).



FIGURA 2: Aparelho do teste da barra giratória (modelo LE 8200, empresa Panlab s.l.) para observação de coordenação motora. Fonte: Vinícius de Almeida Vieira.

2.4.1.2 Teste do sono induzido por barbitúricos

O teste do sono induzido por barbitúricos permite analisar se a substância ou extrato em estudo tem ação depressora sobre o SNC, considerando-se o conceito de sinergismo entre as drogas de mesmo efeito farmacológico (SANTOS *et al.*, 1996). Assim, se a substância modula um efeito depressor sobre o SNC, independente do mecanismo de ação, ela sempre irá potencializar a ação hipnótica de um barbitúrico injetado no animal. Por outro lado, existem drogas, sem atividade no SNC, e situações específicas, como por exemplo, hipovitaminoses e alterações hormonais, que podem interferir no tempo de sono, determinando baixa especificidade do teste, apesar de sua alta sensibilidade (RILEY; SPINKS, 1958; KALYAMPUR *et al.*, 1968).

O barbitúrico utilizado pode ser o tiopental, o hexabarbital ou o pentobarbital sódico, devendo ser injetado por via intraperitoneal (i.p.). Neste teste é avaliado o tempo necessário para o animal começar a dormir e o tempo total do sono, sendo a ausência do reflexo postural, incapacidade do animal sair da posição de decúbito dorsal por mais de uma tentativa, o fator determinante para se considerar o início do sono (WAMBEBE, 1985; ROLLAND *et al.*, 1991) (FIGURA 3). Um menor tempo para o animal começar a dormir e o aumento do tempo total do sono refletem a potencialização do efeito do barbitúrico.



FIGURA 3: Perda de reflexo postural de animal, após injeção intraperitoneal de pentobarbital sódico. Fonte: Vinícius de Almeida Vieira.

2.4.2 Testes de avaliação da ansiedade

Os modelos experimentais têm contribuído de forma significativa no entendimento da ansiedade, tanto em aspectos neurobiológicos como comportamentais. Para avaliar efeito ansiolítico podemos utilizar o teste do labirinto em cruz elevado e o teste da placa perfurada, que se baseiam no comportamento exploratório e no medo do animal diante de uma situação desconhecida.

2.4.2.1 Teste do labirinto em cruz elevado

O teste do labirinto em cruz elevado inicialmente utilizado por Handley e Mithani em 1984 e por Pellow e colaboradores em 1985 é classicamente utilizado na avaliação da ansiedade em modelos experimentais com roedores. É um teste fundamentado no medo dos animais por espaços abertos, determinante em seu comportamento exploratório (GRAEFF; GUIMARÃES, 1999; CARLINI; MENDES,

2011). Uma vez colocados no centro do labirinto, os animais tem preferência pelos braços fechados e a exploração dos braços abertos é limitada pelo medo do animal. Drogas capazes de diminuir a ansiedade dos animais aumentam a quantidade de entradas nos braços abertos e o tempo de permanência nos mesmos (MORATO; BRANDÃO, 1997; BERTOGLIO *et al.*, 2005). Vale a pena ressaltar que o tempo de permanência no labirinto influi no grau de ansiedade devido à memorização do animal que ocorre minuto a minuto, o que justifica como sendo o ideal uma observação nos primeiros minutos do experimento (CAROBREZ; BERTOGLIO, 2005).

O labirinto em cruz consiste em uma cruz formada por quatro braços, dois abertos e dois fechados. As paredes dos braços fechados devem ser, preferencialmente, de material opaco e os diâmetros dependem do modelo experimental utilizado. Para camundongos, o labirinto fica suspenso 38,5 cm do piso e seus braços medem, cada um, 30 cm de comprimento e 5 cm de largura, enquanto as paredes laterais dos braços fechados medem 15 cm de altura. Quando se utiliza ratos no procedimento experimental, o aparelho fica suspenso a 50 cm de altura e os braços do labirinto devem medir 50 cm de altura e 10 cm de largura, e a parede lateral dos braços fechados 30 cm de altura (VIOLLE *et al.*, 2009) (FUGURA 4).



FIGURA 4: Labirinto em cruz elevado. Fonte: Vinícius de Almeida Vieira.

2.4.2.2 Teste da placa perfurada

Os roedores, quando colocados em um ambiente não conhecido, tendem a explorar o local. Nos momentos iniciais, a locomoção do animal sofrerá uma maior influência de sua atividade exploratória, mediada principalmente pelo medo. A atividade puramente motora não é determinante nas alterações que podem ocorrer nesses primeiros instantes e sim a partir do momento em que o animal vai reconhecendo e memorizando o novo ambiente. A deambulação do animal, enquanto o local for desconhecido, assim como movimentos estereotipados ou movimentos exploratórios (exploração de buracos) refletem o grau de ansiedade dos animais (LEYNAND *et al.*, 1976; PELLOW, 1985; CARLINI; BURGOS, 1979), tornando o teste da placa perfurada um modelo amplamente usado na avaliação desse comportamento.

O teste consiste em colocar o animal em uma plataforma contendo buracos na superfície inferior, equidistantes entre si, num ambiente silencioso e com baixa

luminosidade. São, então, avaliados os movimentos de locomoção, movimentos estereotipados e de exploração nos buracos da placa, durante os minutos iniciais e na primeira vez em que o animal é colocado no aparelho (BOISSER *et al.*, 1976; MATTEI; CARLINI, 1995; SAITOH, 2006; CARLINI; MENDES 2011).

Atualmente, existem variações nos equipamentos e protocolos para a realização do teste. A espécie utilizada, o tamanho e quantidade de buracos, as dimensões do aparelho e o tempo e modo de observação podem variar sem comprometer os resultados. Existem também aparelhos com células fotoelétricas em suas laterais capazes de fazer a leitura automatizada dos movimentos, evitando contradições provenientes da observação pelo próprio pesquisador (FIGURA 5).



FIGURA 5: Aparelho para teste da placa perfurada (modelo LE 8811 da empresa Panlab s.l.). Fonte: Vinícius de Almeida Vieira.

2.4.3 Testes de avaliação da depressão

A depressão muitas vezes se relaciona com fatores não mensuráveis e os sintomas subjetivos tornam-se mais valiosos no diagnóstico do que sinais clinicamente visíveis. Por outro lado, fenômenos neurobiológicos e neuroquímicos envolvidos na fisiopatologia da doença já estão definidos e sabe-se que os modelos experimentais puderam contribuir para tal definição. Dentre os estudos pré-clínicos utilizados na avaliação da depressão, estão o teste do nado forçado e o teste da suspensão da cauda.

2.4.3.1 Teste do nado forçado

O teste do nado forçado descrito por Porsolt *et al.* (1977) é provavelmente o mais utilizado em estudos pré-clínicos para avaliar o potencial antidepressivo de novos compostos (ALMEIDA, 2006). Baseia-se na resposta comportamental dos roedores diante de uma situação estressante e percebida como sem solução. Os animais são individualmente colocados para nadar em um recipiente de vidro transparente preenchido com água durante cinco minutos (FIGURA 6), quando então iniciam movimentos intensos na tentativa de escapar dessa situação. Logo que o animal reconhece a impossibilidade de fuga, permanece imóvel ou realiza apenas movimentos mínimos e necessários para manter a cabeça fora d'água. A depressão é medida, então, a partir dessa imobilidade, sendo que, o aumento do tempo total da imobilidade e um menor tempo para se desistir da fuga (latência) representam um maior comportamento depressivo (TEIXEIRA-SILVA *et al.*, 2006).



FIGURA 6: Teste do nado forçado. Fonte: Vinícius de Almeida Vieira.

2.4.3.2 Teste de suspensão da cauda

O teste de suspensão da cauda foi descrito por Steru *et al.* (1985) e é um método amplamente utilizado na avaliação da depressão. Baseia-se nos mesmos fundamentos já descritos para o teste do nado forçado, porém, a situação estressante em que o animal é submetido consiste em suspendê-lo pela cauda durante cinco minutos (FIGURA 7). As drogas antidepressivas classicamente utilizadas e qualquer fenômeno que consiga disponibilizar uma maior concentração ou potencializar os efeitos das monoaminas envolvidas no comportamento são capazes de diminuir o tempo total de imobilidade e aumentar o tempo de latência para a imobilidade (CARLINI; MENDES, 2011).



FIGURA 7: Teste de suspensão da cauda. Fonte: Vinícius de Almeida Vieira.

2.5 Variáveis em psicofarmacologia comportamental

As variáveis determinadoras do resultado de um experimento deverão ser apenas as propostas pelo estudo, pois os erros ou ações não planejadas prejudicam a pesquisa. É indispensável, portanto, que o pesquisador planeje previamente e de forma organizada toda a sua metodologia, para não comprometer posteriormente o fenômeno biológico investigado. O modelo animal escolhido, o sexo dos animais, as condições ambientais e a alimentação, quando não adequadas, podem interferir nos resultados (ALMEIDA, 2006).

2.5.1 Modelo animal

É indispensável salientar que não há um modelo animal capaz de representar perfeitamente a condição humana. Por isso, a escolha do modelo está intimamente

ligada aos objetivos específicos da pesquisa e aos testes a serem utilizados, sendo necessário mimetizar as diferenças entre ele e a espécie alvo final da pesquisa (GEYER; MARKOU, 1995). As espécies animais utilizadas como modelos para o ser humano devem possuir similaridades biológicas, anatômicas, fisiológicas, comportamentais e genéticas (DAMY, 2010). O comportamento muitas vezes está relacionado com a subjetividade e torna ainda mais difícil a aproximação da experimentação animal com a realidade em humanos. Portanto, em protocolos de psicofarmacologia, conhecer as características neuroendócrinas, relações sociais e comportamento das espécies facilita a escolha do modelo animal a ser utilizado e permite um desenho experimental mais apropriado (ANDREATINI, 2002).

Os animais mais utilizados em protocolos comportamentais são o camundongo (*Mus musculus* Linnaeus, 1758) e o rato (*Rattus norvegicus* Berkenhaut, 1769), destacando-se dentre esses as linhagens Swiss e Wistar, respectivamente. Além de serem modelos acessíveis, de fácil manejo e economicamente favoráveis, os roedores são animais ativos que apresentam características neuroendócrinas, relações sociais, respostas ao ambiente e padrões comportamentais que se aproximam, de certa forma, do ser humano, tornando-se de grande interesse para a pesquisa em psicofarmacologia (ALMEIDA, 2006; CARLINI; MENDES, 2011).

2.5.2 Restrição alimentar

Privação ou restrição de água e alimentos podem influenciar os sistemas neurológico, imunológico e endocrinológico dos animais e interferir nos resultados de uma pesquisa. A variação hormonal, o estresse e as sensações de fome e sede

alteram o comportamento animal; portanto, quando o desenho experimental exige privação ou restrição de alimentos e água, deve-se minimizar o desconforto, garantir a manutenção das condições fisiológicas dos animais e padronizar essas ações (MACUCO, 1998).

O tipo de jejum e a sua duração, em algumas situações, podem levar ao questionamento de muitos estudos científicos e, levando-se em consideração a influência do nível de sofrimento causado para o animal nos resultados práticos esperados, alguns trabalhos podem ser até mesmo proibidos. A dieta tem uma profunda interferência em experimentos animais não somente com relação ao jejum, mas também pela concentração de nutrientes, tipo de ração, qualidade da água, armazenamento e o modo como os alimentos e água são ofertados aos animais (MARQUES, 2005).

A espécie utilizada, a metodologia e os objetivos do estudo também devem ser considerados no planejamento dos cuidados com a alimentação. No caso de procedimentos pré-anestésicos, para suínos recomenda-se privação alimentar de 12 horas e hídrico entre quatro e 12 horas e no caso de roedores é recomendável um jejum de quatro horas, mas sem restrição de água. Em animais ruminantes, o tempo de restrição de alimentos e água se eleva para 48 horas, devido ao lento esvaziamento gástrico observado nestes animais (ANGELI, 2009; DAMY, 2010).

A restrição alimentar, mesmo que não influencie nos resultados de uma pesquisa, deve ser planejada por aspectos éticos. Um estudo utilizando ensaios sobre motilidade intestinal em camundongos preconizou a redução para três horas nas experiências pré-operatórias nestes animais, considerando o princípio de Russel e Burch dos 3 R's, "*replace*" (substituir), "*reduction*" (reduzir) e "*refinement*" (refinar), valorizando a questão ética (MARONA, 2003).

2.5.3 Gênero

Em experimentação animal, o sexo utilizado é um fator relevante e é necessário cuidado na sua escolha e, principalmente, na padronização. A escolha inadequada do sexo ou o fato de se utilizar animais com gêneros diferentes em um mesmo teste podem ser, dentre outras particularidades, as causas da inviabilização de uma pesquisa (FAGUNDES, 2004). Animais machos e fêmeas apresentam comportamentos diferentes e particularidades neurológicas e hormonais, que influenciam diretamente nos resultados de um trabalho em psicofarmacologia. Em roedores, os pesquisadores conseguem dizer se o cérebro pertence a um macho ou a uma fêmea, baseando-se apenas no volume hipotalâmico (DAMIANI, 2005). Vale ainda ressaltar que é preferível a utilização de machos para a avaliação do comportamento, devido a possível interferência da variação hormonal em fêmeas (ALMEIDA, 2006).

As diferenças entre os gêneros são evidentes e usar proporções desiguais de animais machos e fêmeas em grupos experimentais distintos ou separar os grupos pelo sexo do animal interferem nos resultados. Em uma avaliação comportamental de um grupo X com 10 ratas e de um grupo Y com 5 ratas e 5 ratos, submetidos as mesmas condições, a média dos resultados será diferente entre os grupos. Já um estudo comparativo entre rações A e B, por exemplo, não pode separar uma para machos e outra para fêmeas, pois a causa das diferenças nos resultados será duvidosa, e não será possível saber se a diferença foi devido à ração ou ao sexo (MONTEIRO, 2002). Portanto, a padronização do sexo, é ainda mais importante que a sua escolha.

2.5.4 Ambiente

Os animais reagem diferentemente às condições ambientais e a temperatura, iluminação, umidade, ciclo claro/escuro, qualidade do ar e o barulho podem influenciar direta ou indiretamente nos resultados de um trabalho (BESCH, 1980; NIH, 2002). Portanto, as condições de um ambiente de pesquisa devem ser adequadas ao modelo animal utilizado, padronizadas, conter o mínimo de estímulos externos e serem controladas, preferencialmente, de forma automatizada (RUYS, 1991; HEINE, 1998; CHORILLI *et al.*, 2007).

A temperatura e a umidade do ambiente devem ser mantidas dentro das faixas adequadas para a espécie (POOLE, 1999), sendo que, grandes variações desses parâmetros ocasionam alterações fisiológicas, metabólicas e comportamentais (DE LUCA, 1996). O barulho do ambiente e o ciclo claro-escuro são mecanismos relacionados com o seu estado de sono e de alerta e com o ciclo circadiano, que uma vez prejudicados influenciarão seu comportamento (DE LUCA, 1996; MAJEROWICZ, 2005). Além disso, o nível de iluminação do ambiente experimental é um fator determinante do comportamento animal em alguns testes realizados em psicofarmacologia (MARTINEZ *et al.*, 2005).

3. HIPÓTESE

O uso de HP durante a gravidez diminui o comportamento depressivo e ansioso, das mães, no período pós-natal e interfere no desenvolvimento comportamental dos descendentes (F1).

4. OBJETIVO

4.1 Objetivo geral

Avaliar o comportamento depressivo e de ansiedade de ratas tratadas durante a gravidez com HP no período pós-natal e avaliar se há interferência no comportamento de seus descendentes (F1) ao alcançarem a fase adulta.

4.2 Objetivos Específicos

1. Avaliar a ansiedade das mães no pós-natal.
2. Avaliar a depressão das mães no pós-natal.
3. Avaliar interferência no SNC dos descendentes (F1) machos ao alcançarem a fase adulta.
4. Avaliar a ansiedade dos descendentes (F1) machos ao alcançarem a fase adulta.
5. Avaliar a depressão dos descendentes (F1) machos ao alcançarem a fase adulta.

5. MATERIAIS E MÉTODOS

5.1 Animais

No desenvolvimento do presente estudo foram utilizados ratos e ratas Wistar (*Rattus norvegicus* Berkenhout, 1769) de 90 dias de idade, pesando entre 200 a 350 g. Os animais foram provenientes do Biotério do Centro de Biologia da Reprodução da Universidade Federal de Juiz de Fora.

Os animais foram alojados em grupos de cinco em gaiolas de polipropileno (40X30X16 cm), e mantidos sob condições monitoradas de temperatura, equivalente a $23 \pm 2^{\circ}$ C, com livre acesso a uma dieta controlada a base de ração tipo *pellets* (Nuvilab®) e água filtrada. Os animais foram mantidos em ciclo claro/escuro de 12 horas, sendo a fase clara de 6:00 às 18:00 horas e a fase escura de 18:00 às 6:00 horas.

Do nascimento até o desmame, cada mãe com seus respectivos filhotes foram colocados em gaiolas individuais.

5.2 Material Botânico

No presente trabalho, foi utilizado extrato seco de HP, contendo 0,3% de hipericina, preparado pela Mbpharma Manipulações LTDA, Lote 10124778, e mantido em local e condições adequadas durante todo o tratamento (ANEXO B). O extrato utilizado foi previamente utilizado em outro estudo para avaliação e confirmação de seu efeito antidepressivo (APÊNDICE C).

5.3 Procedimento experimental

Todos os animais foram privados de água e ração 60 minutos antes dos testes, e após a realização dos mesmos, os animais foram anestesiados com injeção intraperitoneal da associação de Quetamina (90mg/kg) e Xilazina (10 mg/kg) (WOLFENSOHN; LLOYD, 1994) e eutanasiados por exsanguinação por punção cardíaca. Os animais não utilizados nos testes foram destinados a outros trabalhos científicos do Centro de Biologia da Reprodução.

Todas as etapas do experimento foram executadas no período compreendido entre às 9:00 horas da manhã e às 17:00 horas. O ambiente para a realização dos testes foi sempre o mesmo, silencioso e com iluminação homogênea, centralizada, com lâmpada fluorescente e a três metros de altura. A equipe foi treinada por um período prévio para a realização das etapas do experimento e durante a execução dos testes cada membro da equipe realizou sempre a mesma função, tomando-se o cuidado de manter as mesmas condições de observação e manejo dos animais.

As ratas provenientes do biotério, no primeiro dia de gestação, foram distribuídas, aleatoriamente, em quatro grupos de 10 ratas: Tratado 1 (T1), Tratado 2 (T2), Tratado 3 (T3) e Controle (C). As ratas pertencentes aos grupos tratados receberam durante toda a gestação, por via intragástrica e uma vez ao dia, o extrato de HP nas doses de 36 mg/kg (T1), 72 mg/kg (T2) e 144 mg/kg (T3) e as ratas do grupo controle (C) receberam água destilada durante o mesmo período.

As mães foram submetidas à avaliação de ansiedade e depressão, 10 e 60 dias após o nascimento dos filhotes. Para avaliação das ratas após 10 dias do nascimento, foi realizada a mínima manipulação necessária dos animais, para evitar prejuízos à amamentação (BALCOMBE *et al.*, 2004). Para avaliação da depressão,

nesse momento, realizou-se apenas o teste de suspensão da cauda, não tendo sido realizado o teste do nado forçado devido a possível interferência da hipotermia, geralmente observada após o teste, na amamentação. Aos 60 dias após o nascimento foram realizados ambos os testes. Para avaliação da ansiedade, foram realizados os testes do labirinto em cruz elevado e da placa perfurada, nos dois momentos. As ratas foram pesadas no primeiro dia de gestação e semanalmente até 60 dias após o nascimento

Para avaliação comportamental dos descendentes, após o desmame, os filhotes foram assim distribuídos: descendentes tratado 1 (DT1), descendentes tratado 2 (DT2), descendentes tratado 3 (DT3) e descendentes controle (DC). Os grupos DT1, DT2 e DT3 com descendentes machos (F1) foram provenientes das ratas dos grupos T1, T2 e T3, respectivamente, e o grupo CD com descendentes de ratas do grupo C. Aos 90 dias de vida, um descendente de cada rata foi separado, de forma aleatória, totalizando-se 10 animais de cada grupo. Estes animais foram, então, submetidos ao teste da barra giratória, e após sete dias, ao teste do sono induzido por barbitúricos. Da mesma forma, outros 10 animais de cada grupo foram separados e submetidos ao teste do labirinto em cruz elevado, e posteriormente, ao teste do nado forçado. Outros 10 de cada grupo, ao teste da placa perfurada, e após sete dias, ao teste de suspensão da cauda. Para medida da variável tempo nos testes, foram utilizados cronômetros da marca AKSO®, modelo AK71. Os descendentes (F1) foram pesados com 90 dias de vida, antes da realização dos testes.

5.4 Testes

5.4.1 Teste da barra giratória

No teste da barra giratória, foi utilizado equipamento específico, modelo LE 8200, adquirido da empresa Panlab s.l. Todos os animais passaram por um pré-teste antes de serem avaliados. No pré-teste, os animais foram colocados no aparelho da barra giratória por até três tentativas e considerados aptos sempre que se mantiverem sobre a barra por no mínimo 60 segundos em pelo menos uma tentativa. Vinte e quatro horas após o pré-teste, os animais selecionados foram colocados na barra giratória para registro do tempo de permanência sobre a barra, em apenas uma tentativa, ou seja, após ter caído o animal não foi recolocado.

5.4.2 Teste do tempo de sono induzido por barbitúricos

Os animais receberam injeção i.p. de pentobarbital sódico (40 mg/kg) e colocados individualmente em uma gaiola para observação. Foram registrados o tempo entre a administração do barbitúrico e o adormecimento do animal (perda de reflexo postural), e o tempo total de duração do sono (recuperação do reflexo postural). Foi considerado reflexo postural o fato de o animal sair da posição de decúbito dorsal por três vezes consecutivas.

5.4.3 Teste do labirinto em cruz elevado

Neste experimento, cada animal foi colocado no centro do labirinto em cruz elevado e observado por um período de 3 minutos. Durante esse tempo foi registrado o tempo total de permanência nos braços abertos e fechados e no centro do aparelho. Para a padronização, foi considerada entrada do animal em um braço do labirinto toda vez que ele colocou as quatro patas dentro do mesmo.

5.4.4 Teste da placa perfurada

No teste da placa perfurada, foi utilizado equipamento específico, modelo LE 8811, adquirido da empresa Panlab s.l. O equipamento consiste em uma caixa acrílica transparente com orifícios em sua superfície inferior, equidistantes uns dos outros e com células fotoelétricas em placas laterais capazes de realizar leitura automatizada dos movimentos do animal, evitando possíveis erros humanos durante a observação. Os animais foram colocados, individualmente, no centro da placa, e observados durante os cinco primeiros minutos. Foi registrada a quantidade de movimentos em mergulho nos orifícios da placa, a quantidade de movimentos com deslocamento horizontal (deambulação do animal) e de movimentos estereotipados.

5.4.5 Teste do nado forçado

Cada animal foi colocado individualmente para nadar durante cinco minutos em um cilindro de vidro transparente de 50 cm de altura e 20 cm de diâmetro preenchido com água. A água do recipiente foi sempre trocada entre a avaliação de

um animal e de outro. Foram avaliados e registrados os seguintes parâmetros: tempo para os animais pararem de se mover (tempo de latência) e tempo de cessação de fuga (tempo total de imobilidade).

5.4.6 Teste de suspensão da cauda

Os animais foram suspensos, individualmente, pela cauda a uma altura de 50 cm durante cinco minutos. Foram avaliados e registrados o tempo para os animais pararem de se mover (tempo de latência) e o tempo de cessação de fuga (tempo total de imobilidade).

5.5 Análise estatística

Para a análise estatística dos resultados, todos com distribuição normal, foi utilizado o One-way Analysis of Variance (ANOVA), seguido do teste de Dunnett sempre que apresentaram variância homocedástica, e do teste de Dunnett T3, quando não apresentaram. Foi utilizado o programa *Statistical Product and Service Solutions* (SPSS) versão 13.0 e considerados significativos os valores que apresentarem $p < 0,05$ (SOKAL; ROHLF, 1995).

5.6 Aspectos Éticos

O projeto foi avaliado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal de Juiz de Fora e aprovado através do protocolo número 003/2011.

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados e a discussão serão apresentados sob a forma de artigos.

O artigo I, intitulado “EVALUATION OF POSTNATAL BEHAVIOR IN RATS TREATED WITH *Hypericum perforatum* L., Hypericaceae, DURING GESTATION”, foi submetido ao periódico Revista Brasileira de Farmacognosia.

O artigo II, intitulado “INTERFERÊNCIA DE *Hypericum perforatum*, ADMINISTRADO DURANTE A GRAVIDEZ, NO DESENVOLVIMENTO COMPORTAMENTAL DA PROLE”, está em fase final de elaboração.

6.1 Resumo artigo I

EVALUATION OF POSTNATAL BEHAVIOR IN RATS TREATED WITH *Hypericum perforatum* L., Hypericaceae DURING GESTATION

Vinícius A. Vieira^{1*}, Leandro V. Campos¹, Lorena R. Silva¹, Martha O. Guerra¹, Vera M. Peters¹, Rita de Cássia S. e Sá^{1,2}

¹Centro de Biologia da Reprodução – Universidade Federal de Juiz de Fora - Brazil

²Departamento de Fisiologia e Patologia - CCS – Universidade Federal da Paraíba – Brazil

*Correspondence

R: Nair Furtado de Souza, 210/302, Jardim Laranjeiras, 36016-190, Juiz de Fora - MG, Brazil. Fax: + 55 03221023205. E-mail: viniciusav@hotmail.com

ABSTRACT

Gestational depression is harmful to the health of the mother and offspring and contributes to the appearance of depressive and anxiety symptoms in the postnatal period. Traditional antidepressants offer risks when used during gestation, but *Hypericum perforatum* (HP) is an efficient and safe antidepressant, preventing the recurrence of symptoms. This study verified the effect of HP in the behavior of Wistar rats treated during gestation and evaluated 10 and 60 days after treatment. Pregnant Wistar rats were divided into four groups of 10 animals: one control and three treated which received distilled water and the extract of HP at doses of 36, 72 and 144 mg/kg, respectively. After 10 and 60 days of parturition and suspension of treatment, the rats were submitted to the hole-board, the tail suspension, and the forced swim tests. The animals treated with 144 mg/kg exhibited higher head-dipping activity in the holeboard and reduced immobility in the tail suspension and forced swim tests, suggesting a lesser degree of anxiety and depression 10 and 60 days after the suspension of treatment. We concluded that the treatment with HP in rats in the gestational period decreases the depressive behavior and anxiety after 10 and 60 days of treatment.

Keywords: *Hypericum perforatum*. Pregnancy. Central nervous system. Wistar rats.

6.2 Resumo artigo II

Interferência de *Hypericum perforatum* L., administrado durante a gravidez, no desenvolvimento comportamental da prole

Vieira, V. A.^{1,*}, Campos, L. V.¹, Silva, L. R.¹, Guerra, M. G.¹, Peters, V. M.¹, Sá, R. C. S.^{1,2}

¹Centro de Biologia da Reprodução – Universidade Federal de Juiz de Fora - Brasil

²Departamento de Fisiologia e Patologia - CCS – Universidade Federal da Paraíba – Brasil

* Autor para correspondência

Vinícius de Almeida vieira (viniciusav@hotmail.com)

R: Nair Furtado de Souza, 210/302, Jardim Laranjeiras, 36016-190, Juiz de Fora - MG, Brasil.

Fone: (32) 32188481. Fax: (32) 21023205.

RESUMO

A depressão durante a gestação, cuja incidência tem aumentado progressivamente nos últimos anos, tornou-se um assunto de grande preocupação. Estudos prévios relatam que diversos fármacos utilizados no tratamento do transtorno depressivo cruzam a placenta, estão presentes no líquido amniótico e são excretados no leite, motivando o questionamento de como esses medicamentos agem no organismo fetal e se há consequências para os descendentes ao

alcançarem a idade adulta. O *Hypericum perforatum* (HP) é um fitofármaco muito utilizado no tratamento da depressão. Poucas informações sobre a toxicidade do HP, administrado durante a gestação, são encontradas na literatura e as disponíveis não definem quais as reais alterações no desenvolvimento do Sistema nervoso central (SNC) das crias. Logo, este trabalho avaliou o comportamento de ratos Wistar adultos, descendentes da primeira geração de progenitoras tratadas com extrato de HP durante a gestação. Os filhotes machos foram divididos em três grupos tratados, em que as mães receberam o extrato de HP durante toda a gestação, DT1 (36 mg/kg), DT2 (72 mg/kg) e DT3 (144 mg/kg); e um grupo controle (DC) em que as mães receberam água destilada. Os animais foram avaliados ao alcançarem a fase adulta, aos 90 dias de vida, nos testes da barra giratória, do sono induzido por barbitúricos, labirinto em cruz elevado, placa perfurada, nado forçado e suspensão da cauda. Nos testes da barra giratória e do tempo de sono induzido por barbitúricos, os animais dos grupos DT2 e DT3 apresentaram um desempenho sugestivo de ação do HP no SNC, quando comparados aos animais do grupo DC. Nos testes da placa perfurada e do labirinto em cruz elevado e nos testes de suspensão da cauda e do nado forçado, os animais destes mesmos grupos apresentaram um comportamento menos ansioso e depressivo, respectivamente. Portanto, o uso de HP, durante a gestação, diminui o comportamento depressivo e ansioso da prole, quando alcançam a fase adulta.

Palavras-chaves: *Hypericum perforatum*. Comportamento. Gestação. Ratos Wistar

7. COMENTÁRIOS FINAIS

No presente trabalho o efeito antidepressivo do HP, em ratas tratadas durante a gestação, foi observado mesmo após 10 e 60 dias após a interrupção do tratamento. Esses dados indicam que o extrato de HP, além de ser eficaz e seguro para o tratamento da depressão, pode ser uma boa alternativa para tratamento do transtorno depressivo durante a gravidez, levando-se em consideração a necessidade de diminuir a reincidência, permanência ou piora de sintomas depressivos e de ansiedade no período pós-natal, decorrentes da depressão gestacional.

Os descendentes machos (F1) de ratas tratadas com HP durante a gestação, avaliados aos 90 dias de vida, apresentaram desempenho diferente em testes de avaliação de ação inespecífica no SNC, comparados com descendentes de animais não tratados, e um menor grau de depressão e ansiedade, em testes específicos para avaliação de tais comportamentos. Essas alterações podem ser explicadas pelas modificações que ocorrem no SNC devido ao uso crônico (FRANKLIN, 2003; RUEDEBERG *et al.*, 2010; CRUPI *et al.*, 2011).

Por outro lado, não foi avaliado no presente estudo se o efeito observado ocorreu devido ou não à passagem do HP ou substâncias que o compõe pela barreira placentária, agindo diretamente no SNC em formação. Portanto, são necessários mais estudos para a definição da farmacodinâmica e farmacocinética do HP quando utilizado na gravidez.

8. CONCLUSÃO

O uso de HP durante a gravidez diminuiu o comportamento depressivo e ansioso de ratas Wistar no período pós-natal e também de seus descendentes (F1) quando alcançaram a fase adulta.

REFERÊNCIAS

- ALHUSEN, J. L. A literature update on maternal-fetal attachment. **Journal of Obstetric, Gynecological and Neonatal Nursing**, v. 37, p. 315–328, 2008.
- ALLEN, L. A.; ESCOBAR, J. I.; LEHRER, P. M.; GARA, M.; WOOLFOLK, R. L. Psychosocial treatments for multiple unexplained physical symptoms: a review of literature. **Psychosom Medicine**, v. 64, p. 939-950, 2002.
- ALMEIDA, R. N. **Psicofarmacologia: Fundamentos práticos**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006.
- ANDERSSON, L.; SUNDSTRÖM-POROMAA, I.; WULFF, M.; ÅSTRÖM, M.; BIXO, M. Implications of antenatal depression and anxiety for obstetric outcome. **Obstetrics and Gynecology**, v. 104, p. 467-476, 2004.
- ANDREATINI, R. A. A Importância dos modelos animais em psiquiatria. **Revista Brasileira Psiquiatria**, v. 24 (4), p. 164, 2002.
- ANGELI, R. D.; LAVINSKY, L.; DOLGANOV, A. Alterações na função coclear durante a indução aguda de hiperinsulinismo em um modelo animal. **Revista Brasileira de Otorrinolaringologia**, v. 75 (5), p. 760-764, 2009.
- BAHLS, S. C. Tratamento fitoterápico da depressão. **Jornal brasileiro de Psiquiatria**, v. 50 (11/12), p. 389-396, 2001.
- BAIR, M. J.; ROBINSON, R. L.; KATON, W.; KROENKE, K. Exploring depression and pain comorbidity: a literature review. **Archives of Internal Medicine**, v. 163, p. 2433-2445, 2003.
- BALCOMBE, R.; MACKETT, R.; PAULLEY, N.; PRESTON, J.; SHIRES, J.; TITHERIDGE, H.; WARDMAN, M.; WHITE, P. **The demand for public transport: a practical guid**. London: Transportation Research Laboratory, 2004.
- BECK, A. T.; BRAD, A. A. **Depression: cause and treatment**. Philadelphia: University of Pennsylvania Press, 2008.
- BEHNKE, K.; JENSEN, G. S.; GRAUBAUM, H. J.; GRUENWALD, J. *Hypericum perforatum* versus fluoxetine in the treatment of mild to moderate depression. **Advances in therapy**, v. 19, p. 43-52, 2002.

BENNETT, H. A.; EINARSON, A.; KOREN, G.; EINARSON, T. R. Prevalence of depression during pregnancy: sistematic review. **Obstetrics and Gynecology**, v. 103(4), p. 698-709, 2004.

BENOIT, D.; PARKER, K.; ZEANAH, C. Mothers' representation of their infants assessed prenatally: stability and association with infants' attachment classifications. **Journal of Child Psychology and Psychiatry**, v. 38, p. 307–313, 1997.

BENSON, P.; LITTLE, B. C.; TALBERT, D. G.; DEWHURST, J.; PRIEST, R. G. Foetal heart rate and maternal emotional state. **British Journal of Medical Psychology**, v.60, p. 151–154, 1987.

BERGONZI, M. C.; BILIA, A. R.; GALLORI, S.; GUERRINI, D.; VINCIERI, F. F. Variability in the content of the constituents of *Hypericum perforatum* L. and some commercial extracts. **Drug development and industrial pharmacy**, v. 27(6), p. 491-497, 2001.

BERTOGLIO, L. J.; ANZINI, C.; OLIVEIRA, L. C.; CAROBREZ, A. P. Enhanced dorsolateral periaqueductal gray activity counteracts the anxiolytic response to midazolam on the elevated plus maze trial 2 in Rats. **Behavioural Brain Research**, v. 162, p. 99-107, 2005.

BESCH, E. L. Environmental quality within animal facilities. **Laboratory Animal Science**, v. 30(2), p. 385- 406, 1980.

BIGNAMI, G.; ALLEVA, E.; CHIAROTTI, F.; LAVIOLA, G. Selective changes in mouse behavioral development after prenatal benzodiazepine exposure: a progress report. **Progress in Neuro-psychopharmacology & Biological Psychiatry**, v. 16(5), p. 587-604, 1992.

BOISSER, J. R.; SIMON, P.; SOUBRIE, P. **Central Nervous System and Behavioural Pharmacology**, Oxford: Pergamon Press, 1976.

BORGES, L. V.; CARMO, J. C.; PETERS, V. M.; LAS CASAS, L.; GUERRA, M. O. Evaluation of *Hypericum perforatum* toxicity when administered to pregnant rats. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v.51(4), p. 206-208, 2005.

BORRELLI, F.; IZZO, A. A. Herb-drug interactions with St John's wort (*Hypericum perforatum*): an update on clinical observations. **The AAPS journal**, v. 11(4), p. 710-727, 2009.

BRATTSTROM, A. Long-term effects of St. John's wort (*Hypericum perforatum*) treatment: a 1-year safety study in mild to moderate depression. **Phytomedicine**:

International Journal of Phytotherapy and Phytopharmacology, v. 16(4), p. 277-283, 2009.

BROCKINGTON, I. Postpartum psychiatric disorders. **Lancet**, v. 363(9405), p. 303-310, 2004.

BUTTERWECK, V.; JURGENLIEMK, G.; NAHRSTEDT, A.; WINTERHOFF, H. Flavonoids from *Hypericum perforatum* show antidepressant activity in the forced swimming test. **Planta medica**, v. 66(1), p. 3-6, 2000.

CAMACHO, R. S.; CANTINELLI, F. S.; RIBEIRO, C. S.; CANTILINO, A.; GONSALES, B. K.; BRAGUITTONI, E.; RENNÓ, J. R. Transtornos psiquiátricos na gestação e no puerpério: classificação, diagnóstico e tratamento. **Revista de Psiquiatria Clínica**, v. 33(2). p. 92-102, 2006.

CAMPAGNE, D. M. The obstetrician and depression during pregnancy. **European Journal Obstetrics & Gynecology Reproductive Biology**, v. 116 (2), p. 125-130, 2004.

CARLINI, E. A.; BURGOS, V. Screening farmacológico de ansiolíticos: metodologia laboratorial e comparação entre o diazepam e o clorobenzapam. **Revista da Associação Brasileira de Psiquiatria**, v. 1, p. 25-31, 1979.

CARLINI, E. A.; MENDES, F. R. **Protocolos em psicofarmacologia comportamental: um guia para a pesquisa de drogas com ação sobre o SNC, com ênfase nas plantas medicinais**. São Paulo: Editora Fap-Unifesp, 2011.

CAROBREZ, A. P.; BERTOGLIO, L. J. Ethological and temporal analyses of anxiety-like behavior: the elevated plus-maze model 20 years on. **Neuroscience Biobehavioral Reviews Journal**, v. 29, p. 1193-1205, 2005.

CHAN, L. Y; CHIU, P.; LAU, T. A study of hypericin-induced teratogenicity during organogenesis using a whole rat embryo culture model. **Fertility Sterility**, v. 76, p.1073-1074, 2001.

CHORILLI, M.; MICHELIN, D. C.; SALGADO, H. R. N. Animais de laboratório: o camundongo. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 28(1), p. 11-23, 2007.

COLEMAN, F. H.; CHRISTENSEN, H. D.; GONZALEZ, C. L.; RAYBURN, W. F. Mudanças comportamentais em ratos em desenvolvimento após a exposição pré-natal a paroxetina (Paxil). **American Journal of Obstetrics & Gynecology**, v. 181, p. 1166-1171, 1999.

COLETA, M.; CAMPOS, M. G.; COTRIM, M. D.; PROENÇA DA CUNHA, A. Comparative evaluation of *Melissa officinalis* L., *Tilia europaea* L., *Passiflora edulis* Sims. and *Hypericum perforatum* L. in the elevated plus maze anxiety test. **Pharmacopsytry**, v. 34 (1), p. 20-21, 2001.

COTT, J. Medical plants and dietary supplements: Sources for innovative treatments or adjust? **Psychopharmacology Bulletin**, v. 31, p. 131-137, 1995.

CRUPI, R.; MAZZON, E.; MARINO, A.; SPADA, G. L.; BRAMANTI, P.; BATTAGLIA, F.; CUZZOCREA, S.; SPINA, E. *Hypericum perforatum* treatment: effect on behaviour and neurogenesis in a chronic stress model in mice. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 11, p. 7-17, 2011.

DALLMEIER, K.; CARLINI, E. A. Anesthetic, hypotermic, myorelaxant and anticonvulsant effects of synthetic eugenol derivatives and natural analogues. **Pharmacology**, v. 22, p. 113-127, 1981.

DAMIANI, D.; DAMIANI, D.; RIBEIRO, T. M.; SETIAN, N. Brain sex: just beginning to pave the way. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 49 (1), p. 37-45, 2005.

DAMY, S. B.; CAMARGO, R. S.; CHAMMAS, R.; DE FIGUEIREDO, L. F. P. Aspectos fundamentais da experimentação animal: aplicações em cirurgia experimental. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 56(1), p. 103-111, 2010.

DAYAN, J.; CREVEUIL, C.; MARKS, M. N.; CONROY, S.; HERLICOVIEZ, M.; DREYFUS, M.; TORDJAMAN, S. Prenatal depression, prenatal anxiety, and spontaneous preterm birth: a prospective cohort study among women with early and regular care. **Psychosomatic Medicine**, v. 68, p. 938-946, 2006.

DE LUCA, R. R.; ALEXANDRE, S. R.; MARQUES, T.; SOUZA, N. L.; MERUSSE, J. L. B.; NEVES, S. P. **Manual para Técnicos em Bioterismo**. São Paulo: Winner Graph, 1996.

DE VRY, J.; MAUREL, S.; SCHREIBER, R.; DE BEUN, R.; JENTZSCH, K. R. Comparison of hypericum extracts with imipramine and fluoxetine in animal models of depression and alcoholism. **European Neuropsychopharmacology**, v. 9(6), p. 461-468, 1999.

DIPIETRO, J. A. Psychological and psychophysiological considerations regarding the maternal-fetal relationship. **Infant and Child Development**, v. 19(1), p. 27-38, 2010.

DIPIETRO, J. A.; COSTIGAN, K. A.; NELSON, P.; GUREWITSCH, E.; LAUDENSLAGER, M. Maternal and fetal responses to induced relaxation during pregnancy. **Biological Psychology**, v. 77, p. 11–19, 2008.

DODD, S.; OPIE, J.; BERK, M. **Pharmacological treatment of anxiety and depression in pregnancy and lactation**. New York: Cambridge University Press, 2006.

DOURISH, C. T.; GREWAL, S. S.; SHEPHERD, J. K.; STANHOPE, K. J.; BILL, D. J.; FLETCHER, A. Benefits of ethological analysis of behavior. **TIPS**, v. 16, p. 260-261, 1995.

DUGOUA, J. J.; MILLS, E.; PERRI, D.; KOREN, G. Safety and efficacy of St. John's wort (*hypericum*) during pregnancy and lactation. **The Canadian Journal of Clinical Pharmacology**, v. 13(3), p. 268-276, 2006.

DUNHAM, N. W.; MIYA, T. S. A Note on a simple apparatus for detecting neurological deficit in rats and mice. **Journal of the American Pharmaceutical Association**, v. 46, p. 208-209, 1957.

ECKERT, G. P.; KELLER, J. H.; JOURDAN, C.; KARAS, M.; VOLMER, D. A. Hyperforin modifies neuronal membrane properties in vivo. **Neuroscience Letters**, v. 367(2), p. 139-143, 2004.

FAGUNDES, D. J.; TAHA, M. O. Modelo animal de doenças: critérios de escolha e espécies de animais de uso corrente. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 19(1), p. 63, 2004.

FIELD, T.; DIEGO, M.; HERNANDEZ-REIF, M.; FIGUEIREDO, B.; SCHANBERG, S.; KUHN, C.; DEEDS, O.; CONTOGEOGOS, J.; ASCENCIO, A. Chronic prenatal depression and neonatal outcome. **International Journal of Neuroscience**, v.118(1), p. 95-103, 2008.

FRANKLIN, M. Sub-chronic treatment effects of an extract of *Hypericum perforatum* (St. John's Wort, Li 160) on neuroendocrine responses to the 5-T2A agonist, DOI in the rat. **Pharmacopsychiatry**, v. 36(4), p.161-164, 2003.

GAMBARANA, C.; TOLU, P. L.; MAIS, F.; RINALDI, M.; GIACHETTI, D.; MORAZZONI, P.; DE MONTIS, M. G. A study of the antidepressant activity of *Hypericum perforatum* on animal models. **Pharmacopsychiatry**, v. 34(1), p. 42-44, 2001.

GEYER, M. A.; MARKOU, A. Animal models of psychiatric disorders. In: BLOOM, F. E.; KUPFER, D. J. **Psychopharmacology: the Fourth Generation of Progress**. New York: Raven Press, 1995.

GRAEFF, F. G.; GUIMARÃES, F. S. **Fundamentos da psicofarmacologia**. São Paulo: Atheneu, 1999.

GRAY, G. E. A psychiatric perspective on herbal remedies. **Directions in Psychiatry**, v. 19 (4), p. 349-361, 1999.

GREGORETTI, B.; STEBEL, M.; CANDUSSIO, L.; CRIVELLATO, E.; BARTOLI F.; DECORTI, G. Toxicity of *Hypericum perforatum* (St. John's wort) administered during pregnancy and lactation in rats. **Toxicology and applied pharmacology**, v. 200(3), p. 201-205, 2004.

GUIMARÃES, F. S. Modelos experimentais de doenças mentais. **Revista ABP-APAL**, v. 15 (4), p. 140-52, 1993.

HANDLEY, S. L.; MITHANI, S. Effects of alpha-adrenoceptor agonists in a maze-exploration model of "fear"-motivated behavior. **Archives of Pharmacology**, v. 327, p. 1-5, 1984.

HEINE, W. O. **Environmental management in laboratory animal units**. Berlin: Pabst Science Publishers, 1998.

HOSTETTER, A.; RITCHIE, J. C.; STOWE, Z. N. Amniotic fluid and umbilical cord blood concentrations of antidepressants in three women. **Biological Psychiatry Journal**, v. 48, p. 1032-4, 2000.

HOWLAND, R. H. Update on St. John's Wort. **Journal of Psychosocial Nursing and Mental Health Services**, v. 48(11), p. 20-24, 2010.

HÜBNER, W. D.; KIRSTE, T. Experience with St John's wort in children under 12 years with symptoms of depression and psychovegetative disturbances. **Phytotherapy Research**, v. 15, p. 367-370, 2001.

JOHNE, A.; BROCKMÖLLER, J.; BAUER, S.; MAURER, A.; LANGHEINRIC, M.; ROOTS, I. Pharmacokinetic interaction of digoxin with an herbal extract from St. John's wort. **Clinical Pharmacology & Therapeutics**, v. 66, p. 338-345, 1999.

KALYAMPUR, S. G.; NAIK, S. R.; SHETH, U. K. Study of some factors affecting pentobarbital sleeping time. **Archives Internationales of Pharmacodynamie et de Therapie**, v. 173, p. 1-10, 1968.

KASPER, S.; GASTPAR, M.; MÜLLER, W. E.; VOLZ, H. P.; DIENEL, A.; KIESER, M.; MÖLLER, H. J. Efficacy of St. John's wort extract WS 5570 in acute treatment of mild depression: a reanalysis of data from controlled clinical trials. **European Archives of Psychiatry and Clinical Neuroscience**, v. 258(1), p. 59-63, 2008.

KATON, W. J. Clinical and health services relationships between major depression, depressive symptoms, and general medical illness. **Biological Psychiatry Journal**, v. 54, p. 216-226, 2003.

KESSLER, R. C.; BERGLUND, P.; DEMLER, O.; JIN, R.; KORETZ, D.; MERIKANGAS, K. R.; RUSH, A. J.; WALTERS, E. E.; WANG, P. S. The epidemiology of major depressive disorder: results from the National Comorbidity Survey Replication. **Journal of the American Medical Association**, v. 289, p. 3095-3105, 2003.

KROENKE, K.; WEST, S. L.; SWINDLE, R.; GILSENAN, A.; ECKERT, G. J.; DOLOR, R.; STANG, P.; ZHOU, X. H.; HAYS, R.; WEINBERGER, M. Similar effects of paroxetine, fluoxetine, and sertraline in primary care: a randomized trial. **Journal of the American Medical Association**, v. 286, p. 2947-2955, 2001.

KURKI, T.; HIILESMA, A. V.; RAITASALO, R.; MATTILA, H.; YLIKORKALA, O. Depression and anxiety in early pregnancy and risk for preeclampsia. **Obstetrics & Gynecology**, v. 95, p.487-490, 2000.

LAACKMANN, G.; SCHÜLE, C.; BAGHAI, T.; KIESER, M. St. John's wort in mild to moderate depression: the relevance of hyperforin for the clinical efficacy. **Pharmacopsychiatry**, v. 31, p. 54-59, 1998.

LAFFER, B.; VALLADA FILHO, H. P. Genética e fisiopatologia dos transtornos depressivos. **Revista Brasileira de Psiquiatria**, v. 21, p. 12-17, 1999.

LEYLAND, M.; ROBBINS, T. W.; IVERSEN, S. D. Locomotor activity and exploration: The use of traditional manipulators to dissociate these two behaviors in the rat. **Animal Learning Behavior**, v. 4, p. 261-265, 1976.

LINDE, K.; RAMIREZ, G.; MULROW, C. D.; PAULS, A.; WEIDENHAMMER, W.; MELCHART, D. St. John's wort for depression – an overview and meta-analysis of randomized clinical trials. **British Medical Journal**, v. 313, p.253-258, 1996.

LINDE, K.; BERNER, M. M.; KRISTON, L. St John's wort for major depression. **Cochrane Database of Systematic Reviews**, v. 8(4), 2008.

LINDGREN, K. The relationships among maternal-fetal attachment, prenatal depression, and health practices in pregnancy. **Research in Nursing & Health**, v. 24, p. 203-217, 2001.

LLEWELLYN, A.; STOWE, Z. N. Psychotropic medications in lactation. **Journal of Clinical Psychiatry**, v. 59 (2), p. 41-52, 1998.

MACUCO, M. V. Jejum pré-operatório: validade de critérios. **Revista Brasileira de Anestesiologia**, v. 48 (4), P. 295 -308, 1998.

MAJEROWICZ, J. **Procedimentos de biossegurança para as novas instalações do laboratório de experimentação animal (Laean) de Bio-Manguinhos**. Rio de Janeiro: Instituto Oswaldo Cruz, Instituto de Tecnologia em Imunobiológicos, 2005.

MARONA, H. R. N; LUCHESI, M. B. B. Refining the intestinal motility test in mice to reduce animal stress. **Revista de Ciências Farmacêuticas**, v. 24(1), p. 79-82, 2003.

MARQUES, R. G.; MIRANDA, M. L.; CAETANO, C. E. R.; BIONDO-SIMÕES, M. L. P. Rumo à regulamentação da utilização de animais no ensino e na pesquisa científica no Brasil. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 20 (3), 2005.

MARTINEZ, R., GARCIA, A. M. B., MORATO, S. Papel da luminosidade do biotério no comportamento do rato no labirinto em cruz elevado. **Estudos de Psicologia**, v. 10(2), p. 239-245, 2005.

MATTEI, R.; CARLINI, E. A. Mazindol: anorectic and behavioral effects in female rats. **Archives Internationales de Pharmacodynamie et de Thérapie**, v. 330, p. 279-287, 1995.

MONTEIRO. L. S. A. **Experimentação e a experiência**. Porto: Universidade do Porto, 2002.

MORATO, S.; BRANDÃO, M.L. Paradoxical increase of exploratory behavior in the elevate plus-maze by rats exposed to two kinds of aversive stimuli. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 30, p. 1113-1120, 1997.

MORETTI, M. E.; MAXSON, A.; HANNA, F.; KOREN, G. Evaluating the safety of St. John's wort in human pregnancy. **Reproductive Toxicology Journal**, v. 28(1), p. 96-99, 2009.

MÜLLER, W. E.; ROLLI, M.; SCHÄFER, C.; HAFNER, U. Effects of Hypericum extract (LI 160) in biochemical models of antidepressant activity. **Pharmacopsychiatry**, v. 30, p.102-107, 1997.

- NAHAS, R.; SHEIKH, O. Complementary and alternative medicine for the treatment of major depressive disorder. **Canadian Family Physician**, v. 57(6), p. 659-663, 2011.
- NEWPORT, D. J.; MOLLY, M. W.; STOWE, Z. N. Antidepressants during pregnancy and lactation: defining exposure and treatment issues. **Seminars in Perinatology**, v. 25 (3), p. 177-90, 2001.
- NICHOLSON, W. K.; SETSE, R.; HILL-BRIGGS, F.; COOPER, L. A.; STROBINO, D.; POWE, N. R. Depressive symptoms and health-related quality of life in early pregnancy. **Obstetrics & Gynecology**, v. 107(4), p. 798-806, 2006.
- NICOLL, C. S; RUSSELL, S. M. Mozart, Alexander the Great, and the animal rights/liberation philosophy. **FASEB Journal**, v. 5, p. 2888-2892, 1991.
- NIH. National Institute of Health. Environment, housing and animal management. In: **Institutional Animal Care and use Committee Book guidebook**. Bethesda: NIH; 2002.
- O'CONNOR, T. G.; CAPRARIELLO, P.; BLACKMORE, E. R.; GREGORY, A. M.; GLOVER, V.; FLEMING, P. Prenatal mood disturbance predicts sleep problems in infancy and toddlerhood. **Early Human Development Journal**, v. 83, p.451-458, 2007.
- OBERLANDE, R. T. F.; WARBURTON, W.; MISRI, S.; AGHAJANIAN, J.; HERTZMAN, C. Neonatal outcomes after prenatal exposure to selective serotonin reuptake inhibitor antidepressants and maternal depression using population-based linked health data. **Archives of General Psychiatry**, v. 63, p. 898-906, 2006.
- OMS. **CID 10: Classificação internacional de doenças e problemas relacionados à saúde**. São Paulo: Editora da Universidade de São Paulo, 2003.
- OMS. The World Health Report – Mental health: new understanding, new hope. Geneva, 2001.
- ORTH, H. C.; RENDEL, C.; SCHMIDT, P. C. Isolation, purity analysis and stability of hyperforin as a standard material from *Hypericum perforatum* L. **The Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 51(2), p. 193-200, 1999.
- PELLOW, S.; CHOPIN, P.; FILE, S. E.; BRILEY, M. Validation of open:closed arm entries in the elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. **Journal of Neuroscience Methods**, v. 14, p. 149-167, 1985.

PEREIRA, P. K.; LOVISI, G. M. Prevalência da depressão gestacional e fatores associados. **Revista de Psiquiatria Clínica**, v. 35(4), p. 144-53, 2008.

POOLE, T. B. **The UFAW Handbook on the care and management of laboratory animals**. London: Longman Scientific & Technical, 1999.

PORSOLT, R. D.; LE PICHON, M.; JALFRE, M. Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments. **Nature**, v. 266, p. 730-732, 1977.

RAHMAN, A.; IQBAL, Z.; BUNN, J.; LOVEL, H.; HARRINGTON, R. Impact of maternal depression on infant nutritional status and illness. A cohort study. **Archives of General Psychiatry**, v. 61, p. 946-952, 2004.

REICHLING, J.; HOSTANSKA, K.; SALLER, R. St. John's wort (*Hypericum perforatum* L.) multicomponent preparations versus single substances. **Forschende Komplementärmedizin und klassische**, v. 10 (1), p. 28-32, 2003.

RIBEIRO, M. S. **Ferramentas para descomplicar a atenção básica em saúde mental**. Juiz de Fora: Editora UFJF, 2007.

RIECHER-RÖSSLER, A.; STEINER M. **Perinatal mood and anxiety disorders**. Basel: Karger, 2005.

RILEY, H.; SPINKS, A. Biological assessment of tranquilizers. **The Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 10, p. 657-671, 1958.

RODRIGUEZ-LANDA, J. F.; CONTRERAS, C. M. A review of clinical and experimental observations about antidepressant actions and side effects produced by *Hypericum perforatum* extracts. **Phytomedicine**, v. 10(8), p. 688-699, 2003.

ROLLAND, A.; FLEURENTIN, J.; LANHERS, M.C.; *et al.* Behavioural effects of the American traditional plant *Eschscholzia californica*: sedative and anxiolytic properties. **Planta Medica**, v. 57, p. 212-216, 1991.

RUEDEBERG, C.; WIESMANN, U. N.; BRATTSTROEM, A.; HONEGGER, U. E. *Hypericum perforatum* L. (St John's wort) extract Ze 117 inhibits dopamine re-uptake in rat striatal brain slices. An implication for use in smoking cessation treatment? **Phytotherapy Research**, v. 24(2), p. 249-251, 2010.

RUYS, T. **Handbook of facilities planning**. New York: Van Nostrand Reinhold, 1991.

SAITOH, A.; HIROSE, N.; YAMADA, M.; NOZAKI, C.; OKA T.; KAMEI, J. Changes in emotional behavior of mice in the hole-board test after olfactory bulbectomy. **Journal of Pharmacological Sciences**, v. 102, p. 377-386, 2006.

SANTOS, F. A.; RAO, V. S. N.; SILVEIRA, E. R. Studies on the neuropharmacological effects of *Psidium guyanensis* and *Psidium pholianum* essential oils. **Phytotherapy Research**, v.10, p. 655-658, 1996.

SCHMIDT, L. A.; GREENBERG, B. D.; HOLZMAN, G.B.; SCHULKIN, J. Treatment of depression by obstetrician gynecologists: a survey study. **Obstetrics & Gynecology**, v. 90 (2), p. 296-300, 1997.

SCHULBERG, H. C; RAUE, P. J; ROLLMAN, B. L. The effectiveness of psychotherapy in treating depressive disorders in primary care practice: clinical and cost perspectives. **General Hospital Psychiatry**, v. 24, p. 203-212, 2002.

SINGER, A.; SCHMIDT, M.; HAUKE, W.; STADE, K. Duration of response after treatment of mild to moderate depression with Hypericum extract STW 3-VI, citalopram and placebo: A reanalysis of data from a controlled clinical trial. **Phytotherapy Research**, v. 18(8-9), p. 739-742, 2004.

SOKAL, R. R.; ROHLF, F. J. **Biometry. The principles and practice of statistics in biological research**. New York: [s. n.], 1995.

SOUZA, F. G. M. Tratamento da depressão. **Revista Brasileira de Psiquiatria**, v. 21, p. 18-23, 1999.

STAHL, S. M. **Psicofarmacologia: Bases neurocientíficas e aplicações clínicas**. Rio de Janeiro: Medsi, 1998.

STEINER, M.; DUNN, E.; BORN, L. Hormones and mood: from menarche to menopause and beyond. **Journal of Affective Disorders**, v. 74, p. 67-83. 2003.

STERU, L.; CHERMAT, R.; THIERRY, B.; SIMON, P. The tail suspension test: a new method for screening antidepressants in mice. **Psychopharmacology**, v. 85, p. 67-370, 1985.

TEIXEIRA-SILVA, F.; QUEIROGA, M. N. G.; VARELA, R. W. B.; FECHINE, M. F. Métodos para avaliar drogas antidepressivas. In: Almeida RN, org. **Psicofarmacologia: Fundamentos Práticos**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006.

TSCHUDIN, S.; LAPAIRE, O. Antidepressants and pregnancy. **Ther Umsch**, v. 62(1), p. 17-22, 2005.

VIOLLE, N.; BALANDRAS, F.; LE ROUX, Y.; DESOR, D.; SCHROEDER H. Variations in illumination, closed wall transparency and/or extramaze space influence both baseline anxiety and response to diazepam in the rat elevated plus-maze. **Behavioural Brain Research**, v. 203, p. 35–42, 2009.

WAMBEBE, C. Influence of some agents that affect 5-hydroxy-tryptamine metabolism and receptors on nitrazepam-induced sleep in mice. **Brazilian Journal of Pharmacology**, v. 84, p. 185-191, 1985.

WHISKEY, E.; WERNEKE, U.; TAYLOR, D. A systematic review and meta-analysis of *Hypericum perforatum* in depression: a comprehensive clinical review. **International Clinical Psychopharmacology**, v. 16, p. 239-252, 2001.

WILLNER, P. **Behavioral models in psychopharmacology: theoretical, industrial and clinical perspectives**. New York: Cambridge University Press, 1991.

WOELK, H.; BURKARD, G.; GRÜNWARD, J. Benefits and risks of the Hypericum extract LI 160: drug monitoring study with 3250 patients. **Journal of Geriatric Psychiatry and Neurology**, v. 7 (suppl 1), p. 34-38, 1994.

WOLFENSOHN, S.; LLOYD, M. **Handbook of laboratory animal management and welfare**. New York: Oxford University Press Inc, 1994.

XU, L.; WEI, C. E.; ZHAO, J. N.; TU, P. F.; LIU, J. X. Experimental study of the total flavonoid in *Hypericum perforatum* on depression. **Zhongguo Zhong Yao Za Zhi**, v. 30(15), p. 1184-1188, 2005.

ANEXO A _ Submissão de Artigo I ao periódico Revista Brasileira de Farmacognosia



Revista Brasileira de Farmacognosia

[Edit Account](#) | [Instructions & Forms](#) | [Log Out](#) | [Get Help Now](#)

SCHOLARONE™
Manuscripts

[Main Menu](#) → [Author Dashboard](#) → Submission Confirmation

You are logged in as Vinicius Vieira

Submission Confirmation

Thank you for submitting your manuscript to *Revista Brasileira de Farmacognosia*.

Manuscript ID: RBFAR-2012-0071

Title: Evaluation of postnatal behavior in rats treated with *Hypericum perforatum* L., Hypericaceae, during gestation

Authors: Vieira, Vinicius
Campos, Leandro
Silva, Lorena
Guerra, Martha
Peters, Vera
Sá, Rita de Cássia

Date Submitted: 21-Oct-2012

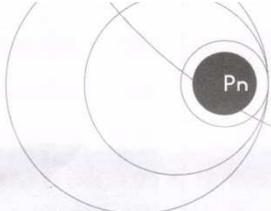
 Print  Return to Dashboard

ScholarOne Manuscripts™ v4.10.0 (patent #7,257,767 and #7,263,655). © ScholarOne, Inc., 2012. All Rights Reserved.
ScholarOne Manuscripts is a trademark of ScholarOne, Inc. ScholarOne is a registered trademark of ScholarOne, Inc.

 Follow ScholarOne on Twitter

[Terms and Conditions of Use](#) - [ScholarOne Privacy Policy](#) - [Get Help Now](#)

ANEXO B _ Laudo da manipulação do extrato utilizado



pharmanostra
Sintonia com o futuro

CERTIFICADO DE ANÁLISE

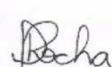
INSUMO: HYPERICUM PERFORATUM (EXT.SECO)		Pág 1	
ORIGEM/PROCEDÊNCIA:	CHINA/CHINA	DATA DE ANÁLISE:	21/02/2011
LOTE PHARMA NOSTRA:	10124778E	LOTE FABRICANTE:	20100913
DATA DE FABRICAÇÃO:	Setembro/2010	DATA DE VALIDADE:	Setembro/2012
CONDIÇÕES DE ARMAZENAGEM: TEMPERATURA ENTRE 15°C a 25°C			
Nome Científico: Hypericum perforatum L.		Parte Utilizada: Toda a planta	
Solvente Utilizado: Etanol e Água			
DATA DE EMISSÃO:	15/03/2011	NF:	1-039.489
ORDEM FRACIONAMENTO:		786-11	

TESTES	ESPECIFICAÇÕES	RESULTADOS	REFERÊNCIAS
Descrição*	Pó fino marrom escuro com odor característico	Pó fino marrom escuro com odor característico	Fabricante
Perda por Dessecação*	≤ 8,0% (2 horas / 105°C)	4,62%	Fabricante
Densidade Aparente*	40 - 60 g/100mL	46 g/100mL	Fabricante
Granulometria*	Malha 80	Retém 6,12%	Fabricante
Metais Pesados	≤ 20 ppm	Conforme	Fabricante
Arsênico	≤ 2 ppm	Conforme	Fabricante
Chumbo	≤ 2 ppm	Conforme	Fabricante
Teor	≥ 0,3% de Hipericina	0,31%	Fabricante
TESTES MICROBIOLÓGICOS			
Contagem total de bactérias*	≤ 1000 UFC/g	< 10 UFC/g	Fabricante
Fungos e leveduras*	≤ 100 UFC/g	< 10 UFC/g	Fabricante
Escherichia coli*	Negativo	Negativo	Fabricante
Salmonella*	Negativo	Negativo	Fabricante
Staphylococcus*	Negativo	Negativo	Fabricante

* Resultados obtidos em análise realizada no Laboratório de Controle de Qualidade Pharma Nostra (UNIDADE ANÁPOLIS). E os demais foram transcritos conforme certificado de análise do fabricante.

LEGENDA DAS REFERÊNCIAS: FB (Farmacopeia Brasileira) / USP (United States Pharmacopoeia) / EP (European Pharmacopoeia) / BP (British Pharmacopoeia) / JP (Japanese Pharmacopoeia) / MG (Método Geral farmacopeico) / Fabricante (especificação e metodologia conforme o fabricante do insumo) / Informativo (resultado fornecido como informativo pelo LCQ Pharma Nostra).

CONCLUSÃO: (X) Aprovado () Reprovado



Responsável pelo Lab. Controle de Qualidade
Danielle Rocha Barbosa - CRF-GO N° 7003



Responsável Técnico
Amin Gabriel Gebrim - CRF-GO N° 1829



Magistral 0800 707 07 06

Matriz - RJ
Rua Aquidabã, 1.144

Indústria 0800 727 48 80

Filial - SP
Rua Estácio de Sá, 530

Filial - GO
Via Primária, 5D. Qd 10. Mod. 01. s/n°