

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS

VANESSA BARBOSA VERONESI

**INFLUÊNCIA DA DAPIRONA SÓDICA SOBRE AS RESPOSTAS
COMPORTAMENTAIS EM CAMUNDONGOS FEMÊAS LACTANTES E A
REPERCUSSÃO NOS FILHOTES ADOLESCENTES**

Alfenas/MG

2016

VANESSA BARBOSA VERONESI

**INFLUÊNCIA DA DIPIRONA SÓDICA SOBRE AS RESPOSTAS
COMPORTAMENTAIS EM CAMUNDONGOS FEMÊAS LACTANTES E A
REPERCUSSÃO NOS FILHOTES ADOLESCENTES**

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Biociências Aplicadas à Saúde da Universidade Federal de Alfenas, UNIFAL- MG. Área de concentração: Neurociências e Comportamento.

Orientadora responsável: Fabiana Cardoso Vilela Giusti

Alfenas/MG
2016

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)
Biblioteca Central da Universidade Federal de Alfenas

Veronesi, Vanessa Barbosa.

Influência da dipirona sódica sobre as respostas comportamentais em camundongos fêmeas lactantes e a repercussão nos filhotes adolescentes / Vanessa Barbosa Veronesi. -- Alfenas/MG, 2016. 86 f.

Orientador: Fabiana Cardoso Vilela Giusti.

Dissertação (Mestrado em Biociências Aplicadas à Saúde) - Universidade Federal de Alfenas, 2016.

Bibliografia.

1. Comportamento Materno. 2. Dipirona. 3. Animais - Filhotes. I. Giusti, Fabiana Cardoso Vilela. II. Título.

CDD 599.353

VANESSA BARBOSA VERONESI

**INFLUÊNCIA DA DIPIRONA SÓDICA SOBRE AS RESPOSTAS
COMPORTAMENTAIS EM CAMUNDONGOS FEMÊAS LACTANTES E A
REPERCUSSÃO NOS FILHOTES ADOLESCENTES**

A Banca examinadora abaixo-assinada aprova a Dissertação apresentada como requisito para a obtenção do título de Mestre em Biociências Aplicadas à Saúde da Universidade Federal de Alfenas, UNIFAL-MG. Área de concentração: Neurociências e Comportamento.

Aprovada em: 11/03/2016

Prof^o.: Dr^a Fabiana Cardoso Vilela Giusti

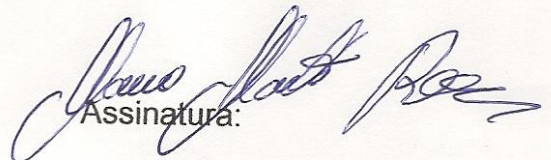
Instituição: Universidade Federal de Alfenas



Assinatura:

Prof^o.: Dr^a Maria Martha Benardi

Instituição: Universidade Paulista



Assinatura:

Prof^o.: Dr^o Marcelo Lourenço da Silva

Instituição: Universidade Federal de Alfenas

Assinatura:



Dedico às pessoas que são minha base, meus pais e minha irmã...

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelas inúmeras graças que me concedeu nestes dois anos de mestrado, por sempre guiar meus passos e por me permitir chegar até aqui.

Aos meus pais, Sérgio e Rita, que acreditaram no meu potencial, me ouviram, apoiaram e aconselharam, mostrando-me sempre o melhor caminho para construir um futuro digno. À vocês, pai e mãe, as palavras nunca serão suficientes para demonstrar tamanha gratidão, pois é por vocês que a cada dia tento ser uma pessoa melhor e assim retribuir tudo que já fizeram por mim.

A minha irmã Danielle, que é meu exemplo de dedicação como profissional farmacêutica, pelo carinho, palavras de conforto nas horas de desespero e pela emoção compartilhada a cada conquista.

Aos meus sobrinhos, Beatriz e Matheus, que são as maiores bênçãos que Deus podia ter me dado, pois são as alegrias nos meus dias, mostrando-me, na simplicidade de crianças, que a verdadeira felicidade está nas pequenas coisas.

Ao meu namorado, Rodrigo, pelo amor e paciência, pela compreensão e incentivo e por sempre estar ao meu lado.

Ao meu cunhado, Harrison, e a toda minha família, pelo apoio e principalmente pelas orações, que foram fundamentais para me manter firme na fé.

A minha orientadora, professora Dra Fabiana Cardoso Vilela Giusti, que desde o primeiro momento confiou em mim e acreditou em nosso trabalho. Obrigada pela amizade, paciência e por todos os ensinamentos transmitidos ao longo destes dois anos.

A professora Dra Josie Resende Torres Silva, por toda a atenção e amizade.

Ao professor Dr Alexandre Giusti Paiva, que desde o primeiro momento abriu as portas do laboratório para realização do trabalho

Aos professores das bancas de qualificação e defesa que aceitaram o convite e tanto colaboraram para a finalização deste.

Aos pós-graduandos do laboratório, que tanto me ajudaram e hoje se tornaram mais que simples colegas. Obrigada pela convivência, pelos cafés de confraternização e as muitas risadas.

As minhas irmãs científicas, Tati e Ana Cláudia e as “top’s do Lab”, obrigada pela amizade incondicional, pelo apoio físico e emocional, pelas longas conversas e pelas comilanças. Saibam que vocês foram fundamentais para minha formação!

Aos antigos técnicos e auxiliares, Luís Felipe, Marina, Marília e Martha, e aos atuais, José Reis, Helena e D. Zélia, por todo carinho e cuidado com os animais e com o laboratório.

À secretária, Maria Antonieta Nogueira, que sempre com muito carinho, zelo e um sorriso no rosto, resolveu todos os problemas e esclareceu todas as dúvidas.

Aos pequenos roedores que foram fundamentais para a realização deste trabalho.

À UNIFAL, CAPES E FAPEMIG, pelo apoio financeiro ao longo destes 2 anos.

Enfim, a todos que de uma forma ou outra participaram para que o trabalho fosse concluído e conseqüentemente meu sonho realizado, meu muito obrigada!

*“Construí amigos, enfrentei derrotas, venci obstáculos, bati na porta da vida
e disse-lhe: Não tenho medo de vivê-la.”*

CURY A., 2010

RESUMO

A dipirona sódica é um dos fármacos mais utilizados durante a gestação e lactação, mas até o momento, não foi demonstrado as possíveis alterações no cuidado materno e da prole. Portanto, nós avaliamos a influência da dipirona sódica sobre o comportamento materno (CM) de camundongos fêmeas lactantes e a repercussão nos filhotes, observando o desenvolvimento físico e de reflexo nos primeiros dias de vida e o comportamento na fase de adolescência. A dipirona sódica foi incorporada na água de consumo dos camundongos fêmeas lactantes, nas doses de 100mg/kg/dia, 300mg/kg/dia, 500mg/kg/dia e 0mg/kg/dia (ausência de dipirona - grupo controle), durante oito dias de lactação (DL). Os filhotes, machos e fêmeas, foram submetidos a análise da vocalização ultrassônica no 7° ou 8° dia de vida e a análises de desenvolvimento físico e de reflexo até o 20° DL. No período de adolescência, foram submetidos aos testes de campo aberto, labirinto em cruz elevado e ao teste de esconder esferas. O tratamento com dipirona sódica reduziu o comportamento materno das mães com maior dose (500mg/kg/dia), além de apresentarem redução da locomoção significativa. Os filhotes destas mães apresentaram retardo no desenvolvimento físico e de reflexo. Os machos adolescentes de mães com maior dose apresentaram redução da locomoção e comportamento tipo ansioso e as fêmeas adolescentes provindos de mães que receberam dipirona, na dose de 100mg/kg/dia, 300mg/kg/dia ou 500mg/kg/dia, também apresentaram comportamentos preditivos de ansiedade. Diante dos resultados obtidos, podemos concluir que, a dipirona sódica utilizada durante a lactação reduziu o CM de camundongos fêmeas lactantes e que esta redução pode estar relacionada com as alterações encontradas no desenvolvimento e no comportamento dos filhotes machos e fêmeas adolescentes. Todos os experimentos foram realizados nas instalações do Laboratório de Neuroendocrinologia Comportamental do Programa Multicêntrico de Pós-graduação em Ciências Fisiológicas da Universidade Federal de Alfenas.

Palavras-chave: Comportamento materno. Dipirona sódica. Filhotes.

ABSTRACT

The dipyrone is one of the drugs used during pregnancy and lactation, but so far has not been shown possible changes in breast care and offspring. Therefore, we evaluated the influence of dipyrone on maternal behavior (CM) of lactating female mice and the effect in the offspring, noting the physical and reflex in the first days of life and behavior in adolescence phase. The dipyrone was incorporated in drinking water of mice lactating females at doses of 100mg/kg/day, 300mg/kg/day, 500mg/kg/day and 0mg/kg/day (no dipirone - control group) during eight days of lactation (DL). Pups, male and female, were subjected to ultrasonic vocalization analysis on the 7th or 8th day of life and physical analysis and reflection until the 20th DL. In the adolescent period, they underwent the open field test, elevated plus maze and testing to hide balls. Treatment with dipyrone reduced maternal behavior of mothers with higher dose (500mg/kg/day) , in addition to having significantly reduced locomotion. The pups of these mothers had delayed physical development and reflection. Adolescent males of mothers with higher dose had reduced locomotion and behavior type anxious and adolescent females stemmed from mothers who received dipyrone, at a dose of 100mg/kg/day, 300mg/kg/day or 500mg/kg/day also showed predictive behaviors of anxiety. Based on these results, we can conclude that the dipyrone used during lactation reduced the CM of lactating female mice and that this reduction may be related to the changes found in the development and behavior of males and adolescent females puppies. All experiments were performed in the Laboratory of Neuroendocrinology facilities Behavioral the Multicenter Program Postgraduate Physiological Sciences, Federal University of Alfenas.

Keywords: Maternal behavior. Dipyrone sodic. Pups.

LISTA DE ILUSTRAÇÃO

Figura 1 -	Representação esquemática de alguns parâmetros de comportamento materno em roedores. Posição de cifoze (A), carregando filhote (B), lambendo filhote (<i>pup-grooming/licking pups</i>) (C), construindo ninho (D), fora do ninho (E), agrupando os filhotes (F), sobre os filhotes (G).....	24
Figura 2 -	Estrutura da dipirona e dos metabólitos responsáveis pela analgesia, 4-MAA e 4-AA.....	28
Figura 3 -	Representação do aparato de campo aberto.....	36
Figura 4 -	Representação do aparato de labirinto em cruz elevado.....	37
Figura 5 -	Representação da caixa para o teste de esconder esferas.....	40
Figura 6 -	Avaliação em porcentagem dos parâmetros do comportamento materno dos camundongos fêmeas lactantes controles (Controle n=9) e de camundongos fêmeas dipirona nas doses de 100mg/kg/dia (Dipi 100 n=9), 300mg/kg/dia (Dipi 300 n=9) e 500mg/kg/dia (Dipi 500 n=9). Análise em porcentagem no terceiro, sexto, nono e décimo segundo dia de lactação, gráficos A-J, (A) Fora do ninho, (B) Agrupando, (C) Cifoze-More, (D) Sobre os filhotes-More, (E) Cifoze-Less, (F) Sobre os filhotes-Less, (G) <i>Self-grooming</i> , (H) <i>Pup-grooming</i> , (I) Carregando filhotes, (J) Construção do ninho.....	46
Figura 7-	Avaliação em porcentagem Total dos parâmetros de comportamento materno dos camundongos fêmeas lactantes controles (Controle n=9) e de camundongos fêmeas dipirona nas doses de 100mg/kg/dia (Dipi 100 n=9), 300mg/kg/dia (Dipi 300 n=9) e 500mg/kg/dia (Dipi 500 n= 9). Análise em porcentagem total no terceiro, sexto, nono e décimo segundo dia de lactação, gráficos A-J, (A) Fora do ninho, (B) Agrupando, (C) Cifoze-More, (D) Sobre os filhotes-More, (E) Cifoze-Less, (F) Sobre os filhotes- Less, (G) <i>Self-grooming</i> , (H) <i>Pup-grooming</i> , (I) Carregando filhotes, (J) Construção do ninho.....	48
Figura 8 -	Avaliação do desempenho comportamental de camundongos	

	fêmeas lactantes controles (Controle n=8) e das doses de 100mg/kg/dia (Dipi 100 n=11), 300mg/kg/dia (Dipi 300 n=11) e 500mg/kg/dia (Dipi 500 n=9) no sétimo ou oitavo dia de lactação no aparato de campo aberto. (A) Número de entradas no Total, Periferia e Centro, (B) Número de <i>rearings</i> e (C) Centro/total.....	50
Figura 9 -	Avaliação do desempenho comportamental de camundongos fêmeas lactantes controles (Controle n=8) e das doses de 100mg/kg/dia (Dipi 100 n=11), 300mg/kg/dia (Dipi 300 n=11) e 500mg/kg/dia (Dipi 500 n=9) no aparato de labirinto em cruz elevado no sétimo ou oitavo dia de lactação. (A) Número de entradas nos braços abertos e nos braços fechados, (B) Tempo de permanência (s) nos braços abertos e braços fechados.....	52
Figura 10 -	Avaliação do desenvolvimento físico (DO: Descolamento da orelha, SDD: Separação dos Dígitos Dianteiros, SDT: Separação dos Dígitos Traseiros, RP: Revestimento Primário, EIS: Erupção dos Incisivos Superiores, EII: Erupção dos Incisivos Inferiores e AO: Abertura dos Olhos - Gráfico A), e de reflexo (ES: Endireitamento de Superfície, GN: Geotaxia Negativa, APD: Agarramento das Patas Dianteiras, RR: Reflexo de <i>Rooting</i> e RA: Resposta Auditiva - Gráfico B) dos filhotes machos de mães controles (Controle n=18) e dos filhotes machos de mães dipirona de 500mg/kg/dia (Dipi 500 n=19) do segundo dia de lactação até o vigésimo dia de lactação.....	53
Figura 11 -	Avaliação do desenvolvimento físico (DO: Descolamento da orelha, SDD: Separação dos Dígitos Dianteiros, SDT: Separação dos Dígitos Traseiros, RP: Revestimento Primário, EIS: Erupção dos Incisivos Superiores, EII: Erupção dos Incisivos Inferiores e AO: Abertura dos Olhos - Gráfico A), e de reflexo (ES: Endireitamento de Superfície, GN: Geotaxia Negativa, APD: Agarramento das Patas Dianteiras, RR: Reflexo de <i>Rooting</i> e RA: Resposta Auditiva - Gráfico B) e dos filhotes	

- fêmeas de mães controle (Controle n=18) e dos filhotes fêmeas de mães que receberam dipirona de 500mg/kg/dia (Dipi 500 n=17) do segundo dia de lactação até o vigésimo dia de lactação..... 54
- Figura 12 - Avaliação do desenvolvimento do crescimento nasoanal dos filhotes machos controles (Controle n=19) e dos filhotes provindos de mães dipirona na dose de 500mg/kg/dia (Dipi 500 n=19) no gráfico A e a avaliação do desenvolvimento do crescimento nasoanal dos filhotes fêmeas controles (Controle n=18) e dos filhotes fêmeas provindos de mães dipirona na dose de 500mg/kg/dia (Dipi 500 n=17) no gráfico B, no vigésimo dia de lactação..... 55
- Figura 13 - Avaliação do desenvolvimento da distância anogenital dos filhotes machos controles (Controle n=19) e dos filhotes provindos de mães dipirona na dose de 500mg/kg/dia (Dipi 500 n=19) no gráfico A e a avaliação do desenvolvimento do crescimento anogenital dos filhotes fêmeas controles (Controle n=18) e dos filhotes fêmeas provindos de mães dipirona na dose de 500mg/kg/dia (Dipi 500 n=17) no gráfico B, no vigésimo dia de lactação..... 56
- Figura 14 - Avaliação do desenvolvimento do índice de crescimento dos filhotes machos controles (Controle n=19) e dos filhotes provindos de mães dipirona na dose de 500mg/kg/dia (Dipi 500 n=19) no gráfico A e a avaliação do desenvolvimento do índice de crescimento dos filhotes fêmeas controles (Controle n=18) e dos filhotes fêmeas provindos de mães dipirona na dose de 500mg/kg/dia (Dipi 500 n=17) gráfico B, no vigésimo dia de lactação..... 57
- Figura 15 - Avaliação do número de vocalização dos filhotes machos e fêmeas. No gráfico A é a avaliação das vocalizações dos filhotes fêmeas Controles (Controle n=8) e filhotes fêmeas advindos de mães dipirona 100mg/kg/dia (n=8), 300 mg/kg/dia (n=8) e 500 mg/kg/dia (n=8), já no gráfico B é a avaliação das vocalizações dos filhotes machos Controles (Controle n=8) e

	filhotes machos advindos de mães dipirona 100mg/kg/dia (n=8), 300 mg/kg/dia (n=8) e 500 mg/kg/dia (n=8) no sétimo ou oitavo dia de lactação.....	58
Figura 16 -	Avaliação do desempenho comportamental dos filhotes machos adolescentes de mães controles (Controle n=6) e de mães que receberam doses de 100mg/kg/dia (Dipi 100 n=9), 300mg/kg/dia (Dipi 300 n=9) e 500mg/kg/dia (Dipi 500 n=8). (A) Número de entradas Total, Periferia e Centro, (B) Número de <i>rearings</i> e (C) Centro/total.....	60
Figura 17 -	Avaliação do desempenho comportamental de filhotes machos adolescentes de mães controles (Controle n=8) e de mães que receberam dipirona nas doses de 100mg/kg/dia (Dipi 100 n=9), 300mg/kg/dia (Dipi 300 n=10) e 500mg/kg/dia (Dipi 500 n=9) no aparato de labirinto em cruz elevado. (A) Número de entradas nos braços abertos e fechados, (B) Tempo de permanência nos braços abertos e fechados.....	61
Figura 18 -	Avaliação do desempenho comportamental dos filhotes fêmeas adolescentes de mães controles (Controle n=9) e de mães que receberam doses de 100mg/kg/dia (Dipi 100 n=10), 300mg/kg/dia (Dipi 300 n=9) e 500mg/kg/dia (Dipi 500 n=8) no aparato de campo aberto. (A) Número de entradas Total, Periferia e Centro, (B) Número de <i>rearings</i> e (C) Centro/total.....	63
Figura 19 -	Avaliação do desempenho comportamental dos filhotes fêmeas adolescentes de mães controles (Controle n=8) e de mães que receberam doses de 100mg/kg (Dipi 100 n=9), 300mg/kg (Dipi 300 n=9) e 500mg/kg (Dipi 500 n=8) no aparato de labirinto em cruz elevado. (A) Número de entradas nos braços abertos e fechados, (B) Tempo de permanência nos braços abertos e fechados.....	64
Figura 20 -	Avaliação do desempenho comportamental dos filhotes machos adolescentes advindos de mães controles (Controle n=7) e de mães que receberam dipirona nas doses de 100mg/kg/dia (Dipi	

100 n=8), 300mg/kg/dia (Dipi 300 n=7) e 500mg/kg/dia (Dipi 500 n=7) e filhotes advindos de mães controles (Controle n=7) e de mães que receberam dipirona nas doses de 100mg/kg/dia (Dipi 100 n=8), 300mg/kg/dia (Dipi 300 n=7) e 500mg/kg/dia (Dipi 500 n=7) no teste de esconder as esferas..... 65

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Peso (g) das mães controle (Controle n=7), dipirona 100mg/kg/dia (Dipi 100 n= 9).....	42
Tabela 2 -	Peso (g) das ninhadas controle (Controle n=10), dipirona 100mg/kg/dia (Dipi 100 n= 10), 300mg/kg/dia (Dipi 300 n=10) e 500mg/kg/dia (Dipi 500 n=10) durante o período de lactação.....	43
Tabela 3 -	Ingestão líquida diária (mL) das mães controle (Controle n=10), dipirona 100mg/kg/dia (Dipi 100 n= 10), 300mg/kg/dia (Dipi 300 n=10) e 500mg/kg/dia (Dipi 500 n=10) durante o período de lactação.....	44

LISTA DE ABREVIÇÕES E SIGLAS

4-AA	- 4-amino-antipirina
4-AAA	- 4-acetil-aminoantipirina
4-FAA	- 4-formil-aminoantipirina
4-MAA	- 4-metil-aminoantipirina
AINES	- Anti-inflamatório não esteroidais
AM	- Aparecimento dos mamilos
AM251	- Antagonista de receptores canabinóides
AO	- Abertura dos olhos
APD	- Agarramento das patas dianteiras
APT	- Agarramento das patas traseiras
CEUA	- Comissão de ética no uso animal
CM	- Comportamento materno
cm	- Centímetros
CNA	- Comprimento nasoanal
DAG	- Distância anogenital
Dipi 100	- Dipirona 100mg/kg/dia
Dipi 300	- Dipirona 300mg/kg/dia
Dipi 500	- Dipirona 500mg/kg/dia
DL	- Dia de lactação
DO	- Descolamento da orelha
EII	- Erupção dos incisivos inferiores
EIS	- Erupção dos incisivos superiores
ES	- Endireitamento de superfície
g	- Gramas
GN	- Geotaxia negativa
IC	- Índice de crescimento
Kg	- Quilograma
KHz	- Quilohertz
MG	- Minas Gerais
mg	- Miligrama

min	- Minuto
mL	- Mililitro
MMI	- Metimazol
nm	- Nanomol
PTU	- Propiltiuracil
RA	- Resposta auditiva
RP	- Revestimento primário
RR	- Reflexo de <i>rooting</i>
SDD	- Separação dos dígitos dianteiros
SDT	- Separação dos dígitos traseiros
SEM	- Erro padrão da média
THC	- Δ 9-Tetrahydrocannabinol
TOC	- Transtorno Obsessivo Compulsivo
USV	- Vocalização ultrassônica
WIN	- Agonista de receptores canabinóides

LISTA DE SÍMBOLOS

- °C - Graus celsius
- = - Igual
- + - Mais
- ± - Mais ou menos
- < - Menor
- / - Por
- % - Porcentagem
- ® - Referência

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	21
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	23
2.1	COMPORTAMENTO MATERNO.....	23
2.2	ALTERAÇÃO NO COMPORTAMENTO MATERNO PELA EXPOSIÇÃO A FÁRMACOS.....	25
2.3	DIPIRONA SÓDICA.....	27
3	JUSTIFICATIVA	30
4	OBJETIVO	31
4.1	OBJETIVO GERAL.....	31
4.2	OBJETIVO ESPECÍFICOS.....	31
5	MATERIAIS E MÉTODOS	32
5.1	ANIMAIS.....	32
5.2	ACASALAMENTO.....	32
5.3	TRATAMENTO COM DIPIRONA SÓDICA.....	33
5.4	GRUPOS EXPERIMENTAIS.....	33
5.5	AVALIAÇÃO DO PESO DA MÃE E NINHADA.....	34
5.6	AVALIAÇÃO DA INGESTÃO LÍQUIDA DIÁRIA DAS MÃES DURANTE A LACTAÇÃO.....	35
5.7	AVALIAÇÃO DO COMPORTAMENTO MATERNO DE CAMUNDONGOS FÊMEAS LACTANTES.....	35
5.8	DESEMPENHO COMPORTAMENTAL DE CAMUNDONGOS FÊMEAS LACTANTES NO LABIRINTO EM CRUZ ELEVADO E NO CAMPO ABERTO.....	36
5.8.1	Campo aberto	36
5.8.2	Labirinto em cruz elevado	37
5.9	AVALIAÇÃO DO DESENVOLVIMENTO DOS FILHOTES.....	37
5.10	AVALIAÇÃO DO NÚMERO DE VOCALIZAÇÕES DOS FILHOTES MACHOS E FÊMEAS.....	38
5.11	DESEMPENHO DOS FILHOTES ADOLESCENTES NO LABIRINTO EM CRUZ ELVADO E CAMPO ABERTO.....	39
5.12	AVALIAÇÃO DO DESEMPENHO DOS FILHOTES MACHOS E FÊMEAS ADOLESCENTES NO TESTE DE ESCONDER ESFERAS.....	39

6	ANÁLISES ESTATÍSTICAS.....	41
7	RESULTADOS.....	42
7.1	AVALIAÇÃO DO PESO DA MÃE E NINHADA DURANTE A LACTAÇÃO.....	42
7.1.1	Avaliação do peso das mães durante a lactação.....	42
7.1.2	Avaliação do peso das ninhadas durante a lactação.....	42
7.2	AVALIAÇÃO DA INGESTÃO LÍQUIDA DIÁRIA DAS MÃES DURANTE A LACTAÇÃO.....	43
7.3	AVALIAÇÃO DO COMPORTAMENTO MATERNO DE CAMUNDONGOS FÊMEAS LACTANTES.....	44
7.4	DESEMPENHO COMPORTAMENTAL DE CAMUNDONGOS FÊMEAS LACTANTES NO LABIRINTO EM CRUZ ELEVADO E NO CAMPO ABERTO.....	49
7.4.1	Campo aberto dos camundongos fêmeas lactantes.....	49
7.4.2	Labirinto em cruz elevado dos camundongos fêmeas lactantes.....	50
7.5	AVALIAÇÃO DO DESENVOLVIMENTO DOS FILHOTES.....	51
7.5.1	Avaliação do desenvolvimento físico e reflexo dos filhotes machos.....	52
7.5.2	Avaliação do desenvolvimento físico e reflexo dos filhotes fêmeas.....	53
7.5.3	Avaliação do desenvolvimento de crescimento dos filhotes machos e fêmeas.....	54
7.5.3.1	Comprimento nasoanal.....	55
7.5.3.2	Distância anogenital.....	55
7.5.3.3	Índice de crescimento.....	56
7.6	AVALIAÇÃO DO NÚMERO DE VOCALIZAÇÕES DOS FILHOTES MACHOS E FÊMEAS.....	57
7.7	DESEMPENHO DOS FILHOTES MACHOS ADOLESCENTES NO LABIRINTO EM CRUZ ELVADO E CAMPO ABERTO.....	59
7.7.1	Campo aberto dos filhotes machos adolescentes.....	59
7.7.2	Labirinto em cruz elevado dos filhotes machos adolescentes.....	60
7.8	DESEMPENHO DOS FILHOTES FÊMEAS ADOLESCENTES NO LABIRINTO EM CRUZ ELVADO E CAMPO ABERTO.....	61

7.8.1	Campo aberto dos filhotes fêmeas adolescentes.....	62
7.8.2	Labirinto em cruz elevado dos filhotes fêmeas adolescentes.....	63
7.9	AVALIAÇÃO DO DESEMPENHO DOS FILHOTES MACHOS E FÊMEAS ADOLESCENTES NO TESTE DE ESCONDER ESFERAS.....	64
8	DISCUSSÃO.....	66
9	CONCLUSÃO.....	76
	REFERÊNCIAS.....	77

1 INTRODUÇÃO

As alterações hormonais e modificações físicas no organismo materno, que antecedem e continuam logo após o parto, são de extrema importância para definir um comportamento, caracterizado por diversos cuidados da mãe em relação a prole recém nascida, sendo denominado de comportamento materno (CM) (NUMAM; INSEL, 2003; PIRES et al., 2013; SHEEHAN et al., 2001).

O CM englobam ações de cuidados diretos com a prole além de envolver ações indiretas, como ansiólise maternal e a defesa da mãe contra um intruso (FLEMING; ROSENBLATT, 1974; GROTA; ARDER, 1969).

Dentre os vários fatores como o estresse, mudanças no ambiente e na alimentação, o uso de drogas durante o período gestacional e lactacional podem alterar o CM, além de comprometer o desenvolvimento da prole. (BOSCH et al., 2007; COSTA; VILELA; GIUSTI-PAIVA, 2013).

De acordo com os estudos de Cook et al., (2003) e Lamounier et al., (2002), os fármacos mais prescritos são os anti-inflamatórios não esteroidais (AINES), sendo que a dipirona sódica é a mais utilizada no pós-parto.

A dipirona sódica é um comum antipirético, com grande potência analgésica, porém é considerado um anti-inflamatório fraco (CRUFLIN; VILELA; GIUSTI-PAIVA, 2015; SCHLOSBERG et al., 2012). Seu mecanismo de ação não está bem definido, acredita-se que os metabólitos da dipirona sejam inibidores de baixa potência das ciclooxigenases, além de possuírem um possível envolvimento com outros sistemas, como dos endocanabinóides (CRUFLIN; VILELA; GIUSTI-PAIVA, 2015; PAMPLONA et al., 2013; SCHLOSBERG et al., 2012).

Há muitas controvérsias quanto ao uso da dipirona, sendo que em muitos países ela foi proibida, após a publicação de estudos que descreviam a morte por depressão medular, agranulocitose e anemia aplástica (HUTCHISON; CONWAY, 1955; PATUCK, 1954). Porém, estudos atuais afirmam que estes riscos são insignificantes, pois outras drogas e pesticidas também podem causar os mesmos problemas (BENSEÑOR, 2001; NASCIMENTO, 2005).

Portanto, observa-se que até o presente momento, pouca ou nenhuma atenção foi dada às pesquisas que utilizam a dipirona sódica, durante a lactação, bem como estudos voltados a elucidar o seu mecanismo de ação e as influências geradas nas respostas comportamentais das mães e da prole.

Desta forma, o presente trabalho avaliou as possíveis alterações no comportamento materno provocadas pelo uso da dipirona sódica, as alterações físicas e de reflexo nos filhotes no período lactacional e, a análise comportamental da prole adolescente.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Ao final da gestação e início da lactação, as mães apresentam um perfil hormonal e características próprias, expressas em modalidades, contextos e condições fisiológicas diferentes. Tais condições resultam em um comportamento complexo, natural e involuntário, chamado de comportamento materno (MATTSON et al., 2001; NUMAN, 1994; OLAZÁBAL et al., 2013).

Este comportamento se caracteriza por ações que envolvem um cuidado da mãe com a prole, sendo indispensável para a sobrevivência, desenvolvimento adequado e o sucesso reprodutivo dos filhotes, pois ao nascerem, os filhotes de roedores são parcialmente imóveis, desprovidos de pelos, surdos, cegos e incapazes de regular a própria temperatura (ANGOA-PEREZ et al., 2014; FERREIRA et al., 2002; GROTA; ADER, 1969; GUBERNICK; KLOPFER, 1981; VILELA, 2011).

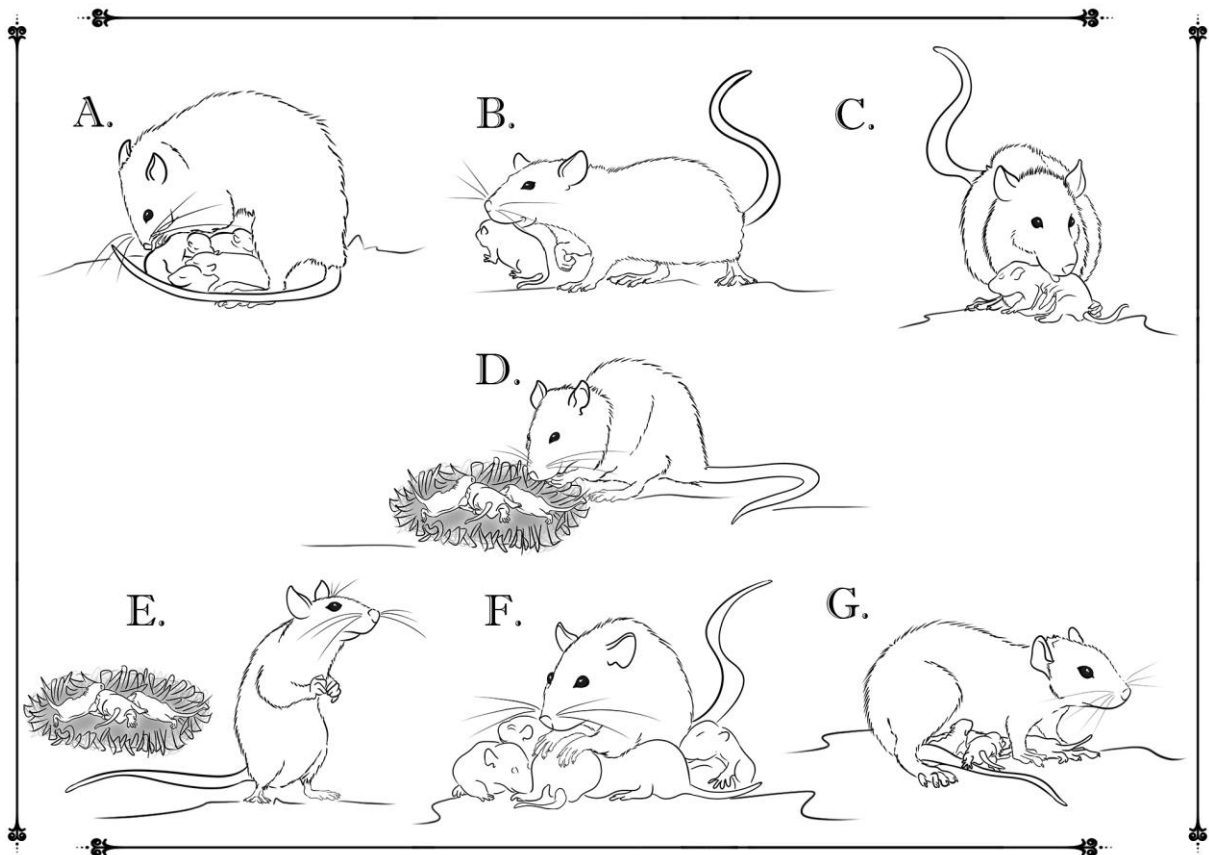
O início do CM é desencadeado por influências hormonais no final da gestação, como redução dos níveis de progesterona, aumento do estradiol e prolactina. Estudos sugerem que estes hormônios exercem suas atividades em regiões hipotalâmicas, tais como, área pré-óptica medial e porção ventral do núcleo intersticial da estria terminal, modulando assim tal comportamento (NUMAN; INSEL 2003; SHEEHAN et al., 2001).

Segundo Numan (1994), o CM tem seu auge nas duas primeiras semanas após o parto, diminuindo gradativamente durante o crescimento dos filhotes, até tornarem-se mais independentes na auto-regulação térmica e na procura de alimento e, a mãe torna-se menos responsiva às demandas da prole.

Em relação aos filhotes, o cuidado materno inclui ações diretas e indiretas; as diretas são: amamentação (posição de cifo e sobre os filhotes), *self grooming* materno (auto limpeza da região mamária), *pup grooming* (limpeza da ninhada), construção do ninho e recuperação dos filhotes. Já as ações indiretas são: comportamento agressivo contra o intruso (defesa própria e da ninhada) e comportamentos preditivos de ansiedade reduzida, denominado de ansiólise materno (BOSCH et al., 2005; FLEMING; LUEBKE, 1981; VILELA; GIUSTI-PAIVA, 2011).

Na figura 1 são apresentados alguns parâmetros maternos e não maternos, que são observados durante a análise do comportamento materno em roedores.

Figura 1 - Representação esquemática de alguns parâmetros analisados no comportamento materno em roedores.



Fonte: Criação da autora, desenho de Willian Firmino¹.

Nota: Posição de cifose (A), carregando filhote (B), lambendo filhote (*pup-grooming/licking pups*) (C), construindo ninho (D), fora do ninho (E), agrupando os filhotes (F), sobre os filhotes (G).

Alterações destas ações no CM, como a redução do tempo de lambida nos filhotes, podem influenciar nas respostas comportamentais e neuroendócrinas dos filhotes, na fase da adolescência e adulta. Isso porque, a estimulação dada pela mãe é uma relevante fonte de estímulos sensoriais, para o desenvolvimento inicial dos filhotes (CIRULLI; BERRY; ALLEVA, 2003; LEVINE, 2000; URIARTE et al., 2007).

Estudos com filhotes de mães classificadas como “*high licking*” (classificação dada às mães que lambem mais sua prole) tiveram a ansiedade diminuída no teste de campo aberto (CALDJI et al., 1998; URIARTE et al., 2007). Outro estudo demonstrou que estes filhotes são hiporresponsivos, ou seja, respondem menos ao medo no *shock probe-burying test*, quando comparados com filhotes de mães “*low*

¹ Desenhado pelo cirurgião dentista e desenhista Willian Firmino da cidade de Alfenas, Minas Gerais, a partir da criação e explicação da autora.

licking” (classificação dada às mães que lambem menos sua prole) (MENARD et al., 2004).

Como já dito anteriormente, a relação mãe-filhote se torna fundamental para a prole, mas também, a relação entre filhote e mãe é muito importante para a manutenção do comportamento materno e na investigação da ontogenia da emoção, como pode ser observado na vocalização ultrassônica (USV) dos filhotes. Esta análise, atualmente, tem sido uma medida bem estabelecida para avaliar a comunicação em roedores (HAHN; LAVOY, 2005; VELZEN; TOTH, 2010) e se tornou de extrema utilidade na detecção de efeitos, muitas vezes imperceptíveis, em tratamentos nocivos durante o desenvolvimento da prole. Já que geralmente o aumento das taxas de USV, é um comportamento indicativo de ansiedade nos filhotes (BRANCHI; SANTUCCI; ALLEVA, 2006; CUOMO et al., 1987; TREZZA et al., 2008).

Assim, os períodos pré e pós natal devem ser tratados com muita cautela pois, diversos fatores são capazes de influenciar o CM e comprometer prejudicialmente o futuro desenvolvimento comportamental dos filhotes. Como é o caso da exposição ao estresse (social ou de contenção), de modificações na dieta (dietas hipo/hiperproteica ou hipercalóricas) e o uso de fármacos no período gestacional ou lactacional (BOSCH et al., 2007; COSTA; VILELA; GIUSTI-PAIVA, 2013, TREZZA et al., 2008).

Portanto um ambiente materno tranquilo é fundamental para que não ocorram problemas futuros irreversíveis.

2.1 ALTERAÇÃO NO COMPORTAMENTO MATERNO PELA EXPOSIÇÃO A FÁRMACOS

O uso de fármacos deve ser empregado de maneira mais racional, principalmente quando a paciente requer cuidados especiais, como é o caso daquelas que se encontram no período gestacional e lactacional, sendo que na maioria dos casos, o tratamento medicamentoso é única conduta terapêutica adotado (MELO; RIBEIRO; STORPIRTIS, 2006; NASCIMENTO, 2002).

A necessidade do uso de fármacos, durante a gestação e amamentação é um assunto muito importante e preocupante na prática clínica, já que alguns

fármacos podem acarretar possíveis problemas iatrogênicos, além dos efeitos que podem ser induzidos nas crianças amamentadas, em razão da dificuldade de mensurar a exata quantidade de droga e dos metabólitos excretados no leite materno (ALLASTAR e WOOD, 2000).

Estudo de Liles et al. (2012), realizados em humanos, apresentaram relatos de comportamentos depressivos fortes e aumento do estresse lactacional, em mães que fizeram uso de metanfetamina durante a gravidez.

Estudo em roedores, demonstrou prejuízos do cuidado da mãe quando há exposição a fármacos, como é visto no trabalho de Moura et al. (2010), no qual ratas lactantes tiveram uma inibição dos parâmetros de agrupamento, construção do ninho e CM total, após receberem injeções centrais de morfina na substância cinzenta periaquedutal rostralateral.

Outro estudo é de Vilela e Giusti-Paiva (2014) que demonstrou uma redução do CM, aumento do tempo para o recolhimento do primeiro filhote e, diminuição no tempo de amamentação em cifose, em ratas tratadas com o agonista de receptor de canabinóides.

Além das alterações comportamentais, o uso de drogas em tais períodos tem sido relacionado com problemas de desenvolvimento, comportamento e até de malformações nos filhotes, como foi descrito no trabalho de Burdan et al. (2011), no qual utilizaram inibidores de ciclooxigenases na gravidez gerando defeitos no septo ventricular e más formações na fenda do esterno, além de uma mineralização incompleta dos ossos do crânio e do esterno.

Mesmo com trabalhos discutindo os riscos e demonstrando problemas com o risco da utilização de fármacos durante todo o período gestacional e lactacional, ainda é encontrado muitas prescrições utilizando-os durante estes períodos, sendo que os AINES são as classes de fármacos mais prescritos para mulheres grávidas (COOK et al., 2003) e no pós-parto (LAMOUNIER et al., 2002).

Em uma pesquisa de levantamento de dados sobre o uso de medicamentos nos períodos neonatal e pós-natal em uma cidade brasileira, apresentou que os AINEs mais usados durante o período neonatal foram: Diclofenaco (36,3%), clonixinato de lisina (30,2%), cetoprofeno (18,7%), dipirona (13,5%), paracetamol (0,7%), ácido acetilsalicílico (0,4%) e tenoxicam (0,2%), sendo que após a saída do hospital (pós-natal), num período observado de 12 meses, a dipirona sódica foi o fármaco mais utilizado (CHAVES, 2004; CHAVES et al., 2006).

A partir destes relatos relevantes, alguns estudos passaram a descrever sobre a segurança da maioria dos fármacos da classe dos AINES, principalmente durante o período da amamentação, demonstrando que tal classe é responsável por apenas 8% das queixas prescritas (CHAVES, 2004; HALE, 2003; HALE, 2004).

Dessa maneira, as pesquisas relacionadas ao uso de fármacos, principalmente da classe dos AINES durante a gestação e lactação, precisam ser intensificadas pois ainda não conseguem esclarecer todas as possíveis alterações no comportamento das mães e/ou nos filhotes.

2.2 DIPIRONA SÓDICA

A dipirona sódica é um dos derivados da família das pirazolonas, também conhecida como noramidopiriniometanossulfonato sódico, analgina, metamizol, metampirona, noramidopirona, sulpirina (NASCIMENTO, 2005).

No século XIX, devido à grande escassez de medicamentos, houve uma intensa pesquisa clínica na área da analgesia e anestesia com sintetização de novas moléculas. Começando em 1884 na Alemanha, com a sintetização da antipirina (pertencente à classe das pirazolonas), mais tarde, Hoechst AG sintetizou a melubrina, primeiro composto injetável da família, e em 1922, houve a introdução da dipirona no mercado brasileiro pela Hoechst AG (hoje, parte do laboratório Sanofi Aventis) com o nome de Novalgina® (BRASIL, 2001).

A dipirona sódica é uma droga anti-inflamatória não esteroide, sendo um potente analgésico e antipirético, e está entre as drogas mais utilizadas no Brasil (31,8%), em comparação com o paracetamol (29,7%) e o ácido acetilsalicílico (27,1%). É comercializada, por mais de oitenta anos, em diversos países (BRASIL, 2001; PIZZOL et al., 2009).

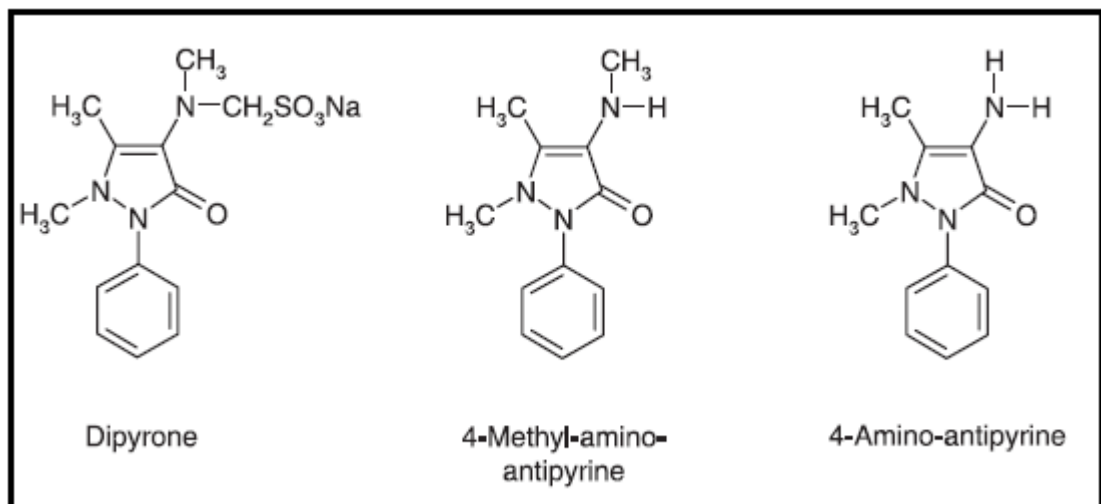
Nos Estados Unidos a sua comercialização está proibida desde 1937, devido a um possível efeito depressor da medula óssea, levando a uma anemia aplástica e agranulocitose (BENSEÑOR, 2001). Desde 1932, quando expuseram pela primeira vez a pesquisa, correlacionando o uso da aminopirina e agranulocitose, muitos países proibiram o seu uso. Até que o estudo internacional sobre a agranulocitose e anemia aplástica concluiu que, o risco de agranulocitose causada pela dipirona era muito baixo e tal efeito poderia ser ocasionado por outros

medicamentos e pesticidas, não havendo assim uma nítida correlação (NASCIMENTO, 2005; SHAPIRO, 1986).

Pesquisas realizadas em humanos por Levy et al., (1984), demonstraram que a dipirona apresenta quatro metabólitos, 4-metil-aminoantipirina (4-MAA), 4-amino-antipirina (4-AA), 4-acetil-aminoantipirina (4-AAA) e 4-formil-aminoantipirina (4-FAA), sendo que os dois primeiros metabólitos, 4-MAA e 4-AA, estão relacionados aos efeitos analgésicos (SCHUG; ZECH; DÖRR, 1990).

A dipirona é uma pró-droga e, quando administrada via oral sofre uma hidrólise, não enzimática formando o metabólito 4-MAA que é metabolizado no fígado, ocorrendo assim uma demetilação e uma oxidação formando o 4-AA e 4-FAA, respectivamente (ERGÜN; FRATTARELLI; ARANDA, 2004). Todos os metabólitos são excretados pelos rins e nenhum se liga fortemente às proteínas plasmáticas (ROHDEWALD et al., 1983).

Figura 2 - Estrutura da dipirona e dos metabólitos responsáveis pela analgesia, 4-MAA e 4-AA.



Fonte: HINZ et al., 2007

O mecanismo de ação da dipirona não apresenta uma elaboração completa e bem elucidada, propondo mecanismos periféricos e centrais alternativos tais como: a inibição das prostaglandinas no sistema nervoso central (SACHS; CUNHA; FERREIRA, 2004); ativação de uma via arginina-óxido nítrico, para analgesia periférica e espinal (LORENZETTI; FERREIRA, 1996) e possível inibição de uma outra isoforma da ciclooxigenase (ANDRADE, 2005)

Um outro mecanismo proposto é por via do sistema endocanabinóide, já que estudos tem relacionados os AINES com tal sistema, como é demonstrado no estudo de Ottani et al. (2006), no qual sugeriram que o paracetamol, que é uma AINE, tem sua ação antinociceptiva induzida pelo sistema canabinóides.

Assim, levando tal informação em consideração Cruflin, Vilela & Giusti-Paiva (2015) demonstraram que o sistema endocanabinóide está, também, envolvido nas ações da dipirona em promover hipolocomoção, catalepsia e analgesia via receptores de canabinóides CB1.

Até o presente momento, não foram encontrados relatos na literatura, com relação ao uso da dipirona no período gestacional ou lactacional e, suas possíveis consequências no comportamento materno, desenvolvimento e comportamento dos descendentes.

3 JUSTIFICATIVA

A utilização de fármacos pela mãe, durante o período de lactação, apresenta relevante preocupação, pois muitas drogas são capazes de alterar os cuidados da mãe com a prole, provocando possíveis prejuízos futuros na vida dos filhotes.

Uma das drogas mais prescritas e utilizadas pelas grávidas e lactantes é a dipirona sódica, pertencente à classe dos AINES, que é utilizada em quase todo o mundo, porém seu mecanismo de ação ainda não está bem elucidado, havendo hipóteses de que seus efeitos possam ser mediados pelos endocanabinóides.

Até o presente momento não encontramos pesquisas que avaliam a ação da dipirona no comportamento materno e as possíveis alterações no desenvolvimento futuro dos filhotes.

Diante disto, este estudo avaliou as influências comportamentais que as mães lactantes poderiam sofrer, quando submetidas a diferentes doses de dipirona sódica, observando ainda as consequências no desenvolvimento inicial dos filhotes e em parâmetros comportamentais na adolescência.

4 OBJETIVOS

Os objetivos deste trabalho estão descritos abaixo.

4.1 OBJETIVO GERAL

- a) Avaliar a influência da dipirona sódica sobre as respostas comportamentais em camundongos fêmeas lactantes e a repercussão no desenvolvimento sobre a prole adolescente.

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Verificar a influência da dipirona sódica no peso da mãe e da ninhada;
- b) Verificar a influência da dipirona sódica na ingestão líquida da mãe;
- c) Verificar a influência da dipirona sódica sobre o comportamento materno em camundongos fêmeas lactantes;
- d) Verificar a influência da dipirona sódica nos aparatos labirinto em cruz elevado e de campo aberto em camundongos fêmeas lactantes;
- e) Verificar a influência da dipirona sódica sobre o desenvolvimento físico, de reflexo e de crescimento dos filhotes;
- f) Verificar a influência da dipirona sódica na modulação do número de vocalização ultrassônica emitida pelos filhotes;
- g) Verificar a influência da dipirona sódica nos aparatos labirinto em cruz elevado e de campo aberto nos filhotes machos e fêmeas adolescentes;
- h) Verificar a influência da dipirona sódica nos filhotes machos e fêmeas adolescentes no teste de esconder as esferas.

5 MATERIAIS E MÉTODOS

Os materiais e métodos utilizados neste trabalho estão descritos a abaixo.

5.1 ANIMAIS

Foram utilizados camundongos fêmeas e machos *Swiss* pesando de 25 a 30g, a partir de sete semanas de vida provenientes do Biotério Central da UNIFAL-MG. Os camundongos foram alojados no Biotério do Laboratório de Neuroendocrinologia Comportamental - Campus II em Alfenas, em caixas de polipropileno, adequadas à sua manutenção e tratados com ração comercial Nuvilab® (22% de proteína) e água filtrada “*ad libitum*” e mantidas em sala climatizada a 21 ± 2 °C em ciclo 12 horas claro-escuro.

Todos os procedimentos com os animais foram aprovados pelo comitê de ética em experimentação animal da Unifal-MG (CEUA – protocolo nº 627/2015).

5.2 ACASALAMENTO

O acasalamento foi realizado no período do entardecer (entre as 17:00 - 18:30 horas), após 10 dias da chegada dos animais no Biotério do Laboratório de Neuroendocrinologia Comportamental - Campus II. Os camundongos fêmeas foram colocados na gaiola com camundongo macho sexualmente experiente, na proporção de duas fêmeas para um macho. O dia em cuja manhã foi constatada a presença de rolha vaginal foi considerado como sendo o dia 0 de gestação. Os camundongos fêmeas que estavam prenhas foram separadas individualmente em uma caixa e aguardaram os 21 dias de gestação.

O dia de nascimento dos filhotes foi considerado como o primeiro dia de lactação. No segundo dia de lactação, as ninhadas foram padronizadas em oito filhotes, sendo quatro machos e quatro fêmeas para todos os procedimentos experimentais. Neste mesmo dia as mães e os filhotes foram pesados e o tratamento foi iniciado.

5.3 TRATAMENTO COM DIPIRONA SÓDICA

No segundo dia de lactação foi iniciado o tratamento com a dipirona sódica via oral nos camundongos fêmeas lactantes e no nono dia de lactação o tratamento foi encerrado.

A droga utilizada foi a Novalgina®, infantil sabor framboesa do laboratório Sanofi Aventis de 50mg/mL, nas doses de 100mg/kg/dia, 300mg/kg/dia e 500mg/kg/dia e tais doses foram utilizadas segundo Schlosburg et al. (2012).

A partir da média de consumo diário de água pelos camundongos fêmeas lactantes do grupo controle e baseando-se no peso dos animais, foi incorporada na água de beber determinada quantidade de dipirona, com o objetivo de que ao final de um período de 24 horas cada animal tivesse ingerido 100, 300 ou 500 mg/kg/dia.

5.4 GRUPOS EXPERIMENTAIS

Os grupos experimentais do estudo consistiram em: Controle; aqueles que receberam apenas água, e animais que foram submetidos ao tratamento com dipirona sódica incorporada na água em três doses diferentes, os quais foram dipirona 100mg/kg/dia (Dipi 100), dipirona 300mg/kg/dia (Dipi 300) e dipirona 500mg/kg/dia (Dipi 500).

Os grupos experimentais dos filhotes consistiram em: Machos e Fêmeas dessas mães.

Os animais, mães e filhotes, foram direcionados aos seguintes testes:

- a) Avaliação do comportamento materno: n = 9 mães por grupo;
- b) Avaliação do peso da mãe: n = 7 a 9 mães por grupo;
- c) Avaliação da ingestão líquida diária das mães durante a lactação: n = 10 mães por grupo;
- d) Desempenho comportamental de camundongos fêmeas lactantes no aparato de campo aberto: n = 8 a 11 mães por grupo;

- e) Desempenho comportamental de camundongos fêmeas lactantes no aparato de labirinto em cruz elevado: n = 8 a 11 mães por grupo;
- f) Avaliação do peso da ninhada: n = 10 ninhadas por grupo;
- g) Avaliação do desenvolvimento dos filhotes: n= 5 ninhadas por grupo (4 machos e 4 fêmeas de cada ninhada por grupo) total de 18 a 19 machos e fêmeas por grupo;
- h) Avaliação do crescimento dos filhotes: n= 5 ninhadas por grupo (4 machos e 4 fêmeas de cada ninhada por grupo) total de 18 a 19 machos e fêmeas por grupo;
- i) Avaliação do número de vocalizações dos filhotes: n = 8 animais por grupo (1 macho e 1 fêmea por ninhada);
- j) Desempenho comportamental dos filhotes adolescentes machos e fêmeas no aparato de campo aberto: n = 6 a 9 animais por grupo (2 machos e 2 fêmeas por ninhada);
- k) Desempenho comportamental dos filhotes adolescentes machos e fêmeas no aparato de labirinto em cruz elevado: n = 8 a 10 animais por grupo (2 machos e 2 fêmeas por ninhada);
- l) Desempenho comportamental dos filhotes adolescentes machos e fêmeas no teste de esconder esferas: n = 7 a 8 animais por grupo (2 machos e 2 fêmeas por ninhada).

5.5 AVALIAÇÃO DO PESO DA MÃE E NINHADA

No segundo, quarto, sexto, oitavo, nono e décimo segundo dia de lactação a mãe foi pesada separadamente, em balança semianalítica e o seu peso em gramas foi registrado para futura análise estatística.

Posteriormente a ninhada foi pesada em balança semianalítica e o peso também foi anotado para futura análise.

5.6 AVALIAÇÃO DA INGESTÃO LÍQUIDA DIÁRIA DAS MÃES DURANTE A LACTAÇÃO

Diariamente a quantidade de líquido retido, na mamadeira de cada mãe, foi mensurado separadamente, e a quantidade em mililitros (mL) foi anotado para futura análise estatística.

No nono dia de lactação as mães que recebiam dipirona tiveram a suspensão da administração, passando a receber água sem incorporação da dipirona.

5.7 AVALIAÇÃO DO COMPORTAMENTO MATERNO DE CAMUNDONGOS FÊMEAS LACTANTES

A avaliação do comportamento materno foi realizada no terceiro, sexto, nono e décimo segundo dia de lactação, através de filmagem de 2 horas no período da manhã, para posterior análise (modificado de VIEIRA, et al. 2013).

A análise foi baseada no registro do comportamento do camundongo fêmea a cada minuto conforme os parâmetros abaixo:

- a) Fora do ninho;
- b) Agrupando;
- c) Posição de cifose (*More* - com 4 ou mais filhotes);
- d) Sobre os filhotes (*More* - com 4 ou mais filhotes);
- e) Posição de cifose (*Less* – com 3 ou menos filhotes);
- f) Sobre os filhotes (*Less* – com 3 ou menos filhotes)
- g) *Self grooming* maternal;
- h) *Pup grooming*;
- i) Carregando os filhotes;
- j) Construção do ninho.

5.8 DESEMPENHO COMPORTAMENTAL DE CAMUNDONGOS FÊMEAS LACTANTES NO LABIRINTO EM CRUZ ELEVADO E NO CAMPO ABERTO

Abaixo os testes de campo aberto e labirinto em cruz elevado foram descritos.

5.8.1 Campo aberto

O aparato de campo aberto consiste de uma arena circular de acrílico, com diâmetro de 60 cm e paredes com 50 cm de altura, com o piso dividido em quadrantes, dos quais 8 áreas junto às paredes do aparato são consideradas periferia e os 4 demais as centrais. Cada camundongo fêmea lactante (n= 8 animais por grupo) foi colocada no centro da arena e filmada por cinco minutos, para posterior análise. Foi registrado o número de cruzamentos com as quatro patas no centro, na periferia e o efeito anti-tigmotático (número de entradas no centro/número total de entradas). O número de *rearings*, número de vezes em que o roedor ficou sobre as duas patas traseiras, também foram analisados (VALLE, 1970).

Este teste também foi utilizado para avaliar a atividade locomotora dos animais, analisando o número de entradas com as quatro patas na periferia e o total de cruzamentos. Foi realizado no sétimo ou oitavo dia de lactação, logo após o teste de labirinto em cruz elevado.

Após o experimento com cada animal, o aparato foi limpo com álcool 10%.

Figura 3 - Representação do aparato de campo aberto



5.8.2 Labirinto em cruz elevado

O labirinto em cruz elevado é um aparato que possui dois braços abertos e dois braços fechados, sendo ligados por uma plataforma central. Os animais foram colocados no centro do aparato, de frente para um dos braços fechados. O comportamento do animal foi filmado durante 5 minutos, avaliando a frequência de entradas e o tempo gasto nos braços abertos e fechados. Tal teste foi realizado no sétimo ou oitavo dia de lactação.

Após o experimento com cada animal, o aparato foi limpo com álcool 10% (BISON et al., 2009).

Figura 4 - Representação do aparato de labirinto em cruz elevado.



Fonte: INSIGHT, 199-?

5.9 AVALIAÇÃO DO DESENVOLVIMENTO DOS FILHOTES

Do período pós-nascimento (segundo dia de lactação) até antes do desmame (vigésimo dia de lactação), as ninhadas controle e as ninhadas Dipi 500, foram submetidas à avaliação dos parâmetros de desenvolvimento físico, reflexo e das

medidas biométricas: comprimento nasoanal (CNA), distância anogenital (DAG) e o índice de crescimento ($IC = DAG$ dividida pela CNA).

a) Desenvolvimento físico:

Desdobramento da orelha (DO); Separação dos dígitos das patas dianteiras (SDD); Separação dos dígitos das patas traseiras (SDT); Revestimento primário (RP); Erupção dos incisivos superiores (EIS); Erupção dos incisivos inferiores (EII); Abertura dos olhos (AO) e Aparecimento dos mamilos (AM, apenas para as fêmeas).

b) Desenvolvimento reflexo:

Reflexo de endireitamento de superfície (ES); Geotaxia negativa (GN); Agarramento das patas dianteiras (APD); Reflexo de *Rooting* (RR) e Resposta Auditiva (RA).

c) Parâmetros biométricos:

O CNA e a DAG em milímetros foram medidos nos dias 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18 e 20, separadamente em machos e fêmeas.

5.10 AVALIAÇÃO DO NÚMERO DE VOCALIZAÇÕES DOS FILHOTES MACHOS E FÊMEAS

No sétimo ou oitavo dia de lactação, um filhote macho e um filhote fêmea de cada camundongo lactante foram colocados individualmente em uma caixa, com microfone conectado a um detector de vocalizações ultra sônicas a 40-100 kHz. A análise começou após a ambientação do filhote na caixa, por 60 segundos e os sons foram gravados por 3 minutos. Foram analisados o número de vocalizações no primeiro, segundo, terceiro minuto e o número total nos três minutos (modificada de BRANCHI et al., 2004).

5.11 DESEMPENHO DOS FILHOTES ADOLESCENTES NO LABIRINTO EM CRUZ ELEVADO E CAMPO ABERTO

O teste no labirinto em cruz elevado e de campo aberto foram realizados como descritos anteriormente.

Foram realizados com os filhotes adolescentes, no tempo de uma semana após o desmame (entre 28 a 30 dias de vida), utilizando dois camundongos fêmeas e dois camundongos machos de cada grupo para o teste de labirinto em cruz elevado. No dia seguinte ao teste de labirinto foi realizado o teste de campo aberto, utilizando mais dois animais de ambos os sexos.

5.12 AVALIAÇÃO DO DESEMPENHO DOS FILHOTES MACHOS E FÊMEAS ADOLESCENTES NO TESTE DE ESCONDER ESFERAS

O teste de esconder esferas (*Marble Burying*) foi realizado no período da adolescência dos filhotes machos e fêmeas (29º dia de vida dos filhotes).

Para o teste foi utilizado uma caixa de dimensões 30X60 cm de cor branco leitosa, com cerca de 5 cm de serragem bem compactada. Sobre a serragem foram colocadas 20 esferas translúcidas espaçadas uniformemente, como demonstrado na figura 5. Cada animal foi colocado individualmente dentro da caixa com as esferas por um período de 30 minutos e a análise foi realizada pela contagem do número de esferas escondidas completamente (modificado DE BOER e KOOLHAAS, 2003).

Figura 5 - Representação da caixa para o teste de esconder esferas.



Fonte: Da autora

6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados obtidos foram analisados utilizando o software *GraphPad Prism* versão 5.0 e serão expressos como média \pm erro padrão da média (SEM). Os resultados foram analisados por teste *t Student* para comparação de 2 grupos; *One-way ANOVA* seguida pelo pós-teste de *Dunnet* para comparação de mais de 2 grupos.

Foram considerados estatisticamente diferentes grupos analisados em que $p < 0,05$.

7 RESULTADOS

Os resultados do estudo estão apresentados a seguir.

7.1 AVALIAÇÃO DO PESO DA MÃE E NINHADA DURANTE A LACTAÇÃO

Abaixo se encontra os resultados da avaliação do peso das mães e das ninhadas durante a lactação.

7.1.1 Avaliação do peso das mães durante a lactação

A análise por ANOVA *one-way* demonstrou que não houve diferença significativa no peso das mães no 4º, 6º, 8º, 9º e 12º dia de lactação nas diferentes doses de dipirona 100, 300 e 500 mg/kg/dia ($F_{3,36} = 1,171$ e $p = 0,3341$; $F_{3,36} = 1,716$ e $p = 0,1811$; $F_{3,36} = 1,938$ e $p = 0,1409$; $F_{3,36} = 1,620$ e $p = 0,2035$; $F_{3,36} = 2,522$ e $p=0,0731$, respectivamente).

Tabela 1 – Variação do peso (g) das mães controle (Controle n=7), dipirona 100mg/kg/dia (Dipi 100 n= 9), 300mg/kg/dia (Dipi 300 n=9) e 500mg/kg/dia (Dipi 500 n=9) durante o período de lactação.

Tratamento	Controle	Dipi 100	Dipi 300	Dipi 500
4º	-2,57±4,98	-3,49±2,64	-0,97±3,21	-3,34±3,35
6º	-2,49±3,88	-1,70±3,02	1,07±3,61	-0,07±4,77
8º	-4,39±4,48	-3,40±4,03	-0,80±4,34	-2,52±4,02
9º	-1,43±4,55	-3,54±4,27	0,42±3,53	-1,42±3,83
12º	3,87±4,61	0,47±3,69	4,14±2,75	3,38±2,91

Fonte: Da autora

Nota: Valores expressos como média ± SEM (*One-way*, seguido do pós-teste de *Dunnet*)

7.1.2 Avaliação do peso da ninhada durante a lactação

A análise por ANOVA *one-way* demonstrou que não houve diferença significativa no peso da ninhada no 4º, 6º, 8º, 9º e 12º dia de lactação nas diferentes doses de dipirona 100, 300 e 500 mg/kg/dia ($F_{3,36} = 1,188$ e $p = 0,3281$; $F_{3,36} = 1,712$ e $p = 0,1819$; $F_{3,36} = 2,261$ e $p = 0,0980$; $F_{3,36} = 1,156$ e $p = 0,3399$; $F_{3,36} = 0,4326$ e $p = 0,7309$, respectivamente).

Tabela 2 – Peso (g) das ninhadas controle (Controle n=10), dipirona 100mg/kg/dia (Dipi 100 n= 10), 300mg/kg/dia (Dipi 300 n=10) e 500mg/kg/dia (Dipi 500 n=10) durante o período de lactação.

Tratamento	Controle	Dipi 100	Dipi 300	Dipi 500
4º	6,81±2.07	7.80±2,18	6,38±2,50	6,03±2,08
6º	15,19±4,75	15,84±2,89	15,03±3,33	12,45±3,17
8º	22,18±4,22	22,88±4,29	26,11±7,34	20,17±4,20
9º	25,00±4,05	27,25±4,27	25,65±6,63	23,21±4,22
12º	39,04±6,62	37,84±5,93	40,01±6,17	37,08±6,10

Fonte: Da autora

Nota: Valores expressos como média ± SEM (*One-way*, seguido do pós-teste de *Dunnet*)

7.2 AVALIAÇÃO DA INGESTÃO LÍQUIDA DIÁRIA DA MÃE DURANTE A LACTAÇÃO

A análise por ANOVA *one-way* demonstrou que não houve diferença significativa na ingestão líquida diária das mães no 4º, 6º, 8º e 9º dia de lactação nas diferentes doses de dipirona 100, 300 e 500 mg/kg/dia ($F_{3,36} = 0,8723$ e $p = 0,4644$; $F_{3,36} = 1,774$ e $p = 0,1696$; $F_{3,36} = 2,048$ e $p = 0,1244$; $F_{3,36} = 1,676$ e $p = 0,1893$; respectivamente).

Tabela 3 – Ingestão líquida diária (mL) das mães controle (Controle n=10), dipirona 100mg/kg/dia (Dipi 100 n= 10), 300mg/kg/dia (Dipi 300 n=10) e 500mg/kg/dia (Dipi 500 n=10) durante o período de lactação.

Tratamento	Controle	Dipi-100	Dipi-300	Dipi-500
4 ^o	8,67±0,76	8,35±1,47	8,45±1,16	7,80±1,48
6 ^o	7,47±0,55	7,47±1,60	7,30±1,44	6,35±1,26
8 ^o	8,60±0,74	8,57±0,76	8,85±0,61	7,97±1,08
9 ^o	7,65±0,94	7,72±1,36	7,76±1,24	6,72±1,09

Fonte: Da autora

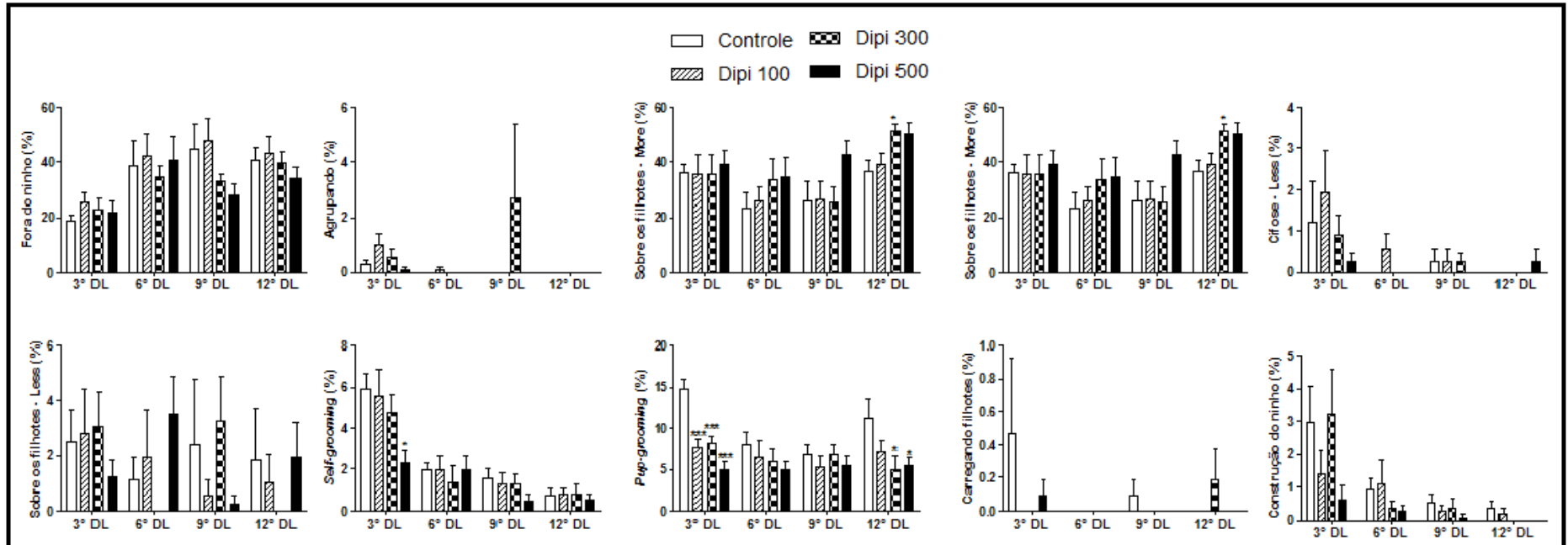
Nota: Valores expressos como média ± SEM (*One-way*, seguido do pós-teste de *Dunnet*)

7.3 AVALIAÇÃO DA DO COMPORTAMENTO MATERNO DE CAMUNDONGOS FÊMEAS LACTANTES

A figura 6 mostra os parâmetros analisados em porcentagem do número de visualizações do comportamento materno em uma análise de 120 minutos de filmagem no terceiro, sexto, nono e décimo segundo dia de lactação. A análise estatística foi realizada através da ANOVA *one-way*, seguida pelo pós-teste de *Dunnet*, a qual mostrou que houve diferença significativa na redução dos parâmetros de Sobre os filhotes - *More* (décimo segundo dia de lactação, na mãe Dipi 300 $F_{3,32} = 3,680$ e $p < 0,05$) *Self-grooming* (terceiro dia de lactação, na mãe Dipi 500 $F_{3,32} = 3,066$ e $p < 0,05$) e *Pup-grooming* (terceiro dia de lactação, nas mães Dipi 100, Dipi 300 e Dipi 500 $F_{3,32} = 14,66$ e $p < 0,0001$) quando comparados ao controle, como demonstrado nos gráficos G e H, respectivamente. Também houve uma diferença significativa no aumento do parâmetro de Sobre os filhotes – *More* (décimo segundo dia de lactação, na mãe Dipi 300 $F_{3,32} = 3,680$ e $p < 0,05$) quando comparado ao controle, como demonstrado nos gráficos D.

A análise dos parâmetros: Fora do ninho no 3° ($F_{3,32} = 0,6086$ e $p = 0,6143$), 6° ($F_{3,32} = 0,1804$ e $p = 0,9089$), 9° ($F_{3,32} = 2,005$ e $p = 0,1330$) e 12° ($F_{3,32} = 0,7085$ e $p = 0,5541$) dia de lactação; Agrupando no 3° ($F_{3,32} = 2,073$ e $p = 0,1243$), no 6° ($F_{3,32} = 1,000$ e $p = 0,4055$), 9° ($F_{3,32} = 1,000$ e $p = 0,4055$) e no 12° dia de lactação nenhum camundongo fêmea realizou o parâmetro de agrupando; Cifose-*More* no 3° ($F_{3,32} = 0,0482$ e $p = 0,9857$), no 6° ($F_{3,32} = 1,175$ e $p = 0,3347$), no 9° ($F_{3,32} = 1,945$ e $p = 0,1422$) e no 12° dia de lactação ($F_{3,32} = 1,640$ e $p = 0,1995$); Sobre os filhotes-*More* no 3° ($F_{3,32} = 0,0841$ e $p = 0,9682$), no 6° ($F_{3,32} = 0,8138$ e $p = 0,4957$) e no 9° ($F_{3,32} = 1,842$ e $p = 0,1595$); Cifose-*Less* no 3° ($F_{3,32} = 0,8197$ e $p = 0,4926$), 6° ($F_{3,32} = 2,000$ e $p = 0,1337$) e 9° ($F_{3,32} = 0,4000$ e $p = 0,7539$) e 12° dia de lactação ($F_{3,32} = 1,000$ e $p = 0,4055$); Sobre os filhotes-*Less* no 3° ($F_{3,32} = 0,4373$ e $p = 0,7278$), 6° ($F_{3,32} = 1,572$ e $p = 0,2153$) e 9° ($F_{3,32} = 0,9271$ e $p = 0,4389$) e 12° dia de lactação ($F_{3,32} = 0,5440$ e $p = 0,6557$); *Self-grooming* no 6° ($F_{3,32} = 0,1701$ e $p = 0,9158$), 9° ($F_{3,32} = 1,049$ e $p = 0,3845$) e 12° dia de lactação ($F_{3,32} = 0,1583$ e $p = 0,9235$); *Pup-grooming* no 6° ($F_{3,32} = 0,6573$ e $p = 0,5844$) e 9° dia de lactação ($F_{3,32} = 0,4707$ e $p = 0,7048$); Carregando filhotes no 3° ($F_{3,32} = 0,8719$ e $p = 0,4658$), no 6° dia de lactação nenhum camundongo fêmea realizou o parâmetro de carregando o filhotes, no 9° ($F_{3,32} = 1,000$ e $p = 0,4055$) e 12° dia de lactação ($F_{3,32} = 1,000$ e $p = 0,4055$); Construção do ninho no 3° ($F_{3,32} = 1,690$ e $p = 0,1888$), 6° ($F_{3,32} = 0,9269$ e $p = 0,4390$), 9° ($F_{3,32} = 0,8062$ e $p = 0,4997$) e 12° dia de lactação ($F_{3,32} = 1,676$ e $p = 0,1919$) não apresentaram diferenças significativas quando comparado aos grupos controles.

Figura 6 – Avaliação em porcentagem dos parâmetros do comportamento materno dos camundongos fêmeas lactantes controles, (Controle n=9) e de camundongos fêmeas dipirona nas doses de 100mg/kg/dia (Dipi 100 n=9), 300mg/kg/dia (Dipi 300 n=9) e 500mg/kg/dia (Dipi 500 n=9). Análise em porcentagem no terceiro, sexto, nono e décimo segundo dia de lactação, gráficos A-J, (A) Fora do ninho, (B) Agrupando, (C) Cifose-More, (D) Sobre os filhotes-More, (E) Cifose-Less, (F) Sobre os filhotes-Less, (G) *Self-grooming*, (H) *Pup-grooming*, (I) Carregando filhotes, (J) Construção do ninho.



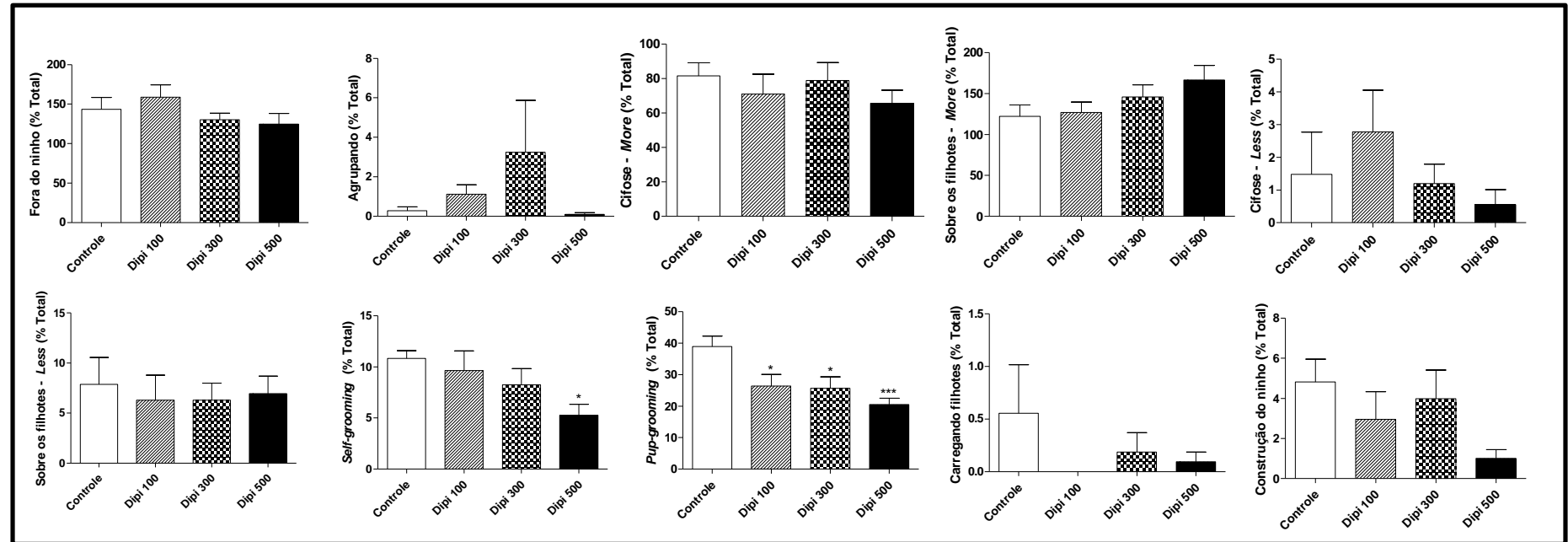
Fonte: Da autora

Nota: Valores expressos como média \pm SEM (ANOVA *one-way*, seguido de *Dunnet*). *p<0,05; **p<0,01; ***p<0,001 quando comparados com o respectivo controle.

Também foi realizado a análise de porcentagem total, de cada parâmetro nos quatro dias de análise.

A análise estatística foi realizada através da ANOVA *one-way*, seguida pelo pós-teste de *Dunnet*, a qual mostrou que houve diferença significativa na redução dos parâmetros de *Self-grooming* (na mãe Dipi 500 $F_{3,32} = 2,870$ e $p = 0,0517$) e *Pup-grooming* (nas mães Dipi 100, Dipi 300 e Dipi 500 $F_{3,32} = 5,949$ e $p < 0,01$) quando comparados aos controles, como demonstrado nos gráficos G e H, respectivamente.

Figura 7 – Avaliação em porcentagem Total dos parâmetros de comportamento materno dos camundongos fêmeas lactantes controles, (Controle n=9) e de camundongos fêmeas dipirona nas doses de 100mg/kg/dia (Dipi 100 n=9), 300mg/kg/dia (Dipi 300 n=9) e 500mg/kg/dia (Dipi 500 n= 9). Análise em porcentagem total no terceiro, sexto, nono e décimo segundo dia de lactação, gráficos A-J, (A) Fora do ninho, (B) Agrupando, (C) Cifose-More, (D) Sobre os filhotes-More, (E) Cifose-Less, (F) Sobre os filhotes-Less, (G) Self-grooming, (H) Pup-grooming, (I) Carregando filhotes, (J) Construção do ninho.



Fonte: Da autora

Nota: Valores expressos como média \pm SEM (ANOVA *one-way*, seguido de *Dunnet*). * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ quando comparados aos controles

Os parâmetros de % Total de Fora do ninho ($F_{3,32} = 1,265$ e $p = 0,3029$); Agrupando ($F_{3,32} = 1,155$ e $p = 0,3421$); Cifose-*More* ($F_{3,32} = 0,6019$ e $p = 0,6185$); Sobre os filhotes-*More* ($F_{3,32} = 1,829$ e $p = 0,1618$); Cifose-*Less* ($F_{3,32} = 0,9035$ e $p = 0,4502$); Sobre os filhotes-*Less* ($F_{3,32} = 0,1140$ e $p = 0,9513$); Carregando filhotes ($F_{3,32} = 0,9299$ e $p = 0,4376$) e Construção do ninho ($F_{3,32} = 1,966$ e $p = 0,1389$) não apresentaram diferenças significativas quando comparado aos grupos controles.

7.4 DESEMPENHO COMPORTAMENTAL DOS CAMUNDONGOS FÊMEAS LACTANTES NO LABIRINTO EM CRUZ ELEVADO E NO CAMPO ABERTO

Abaixo se encontra os resultados da avaliação do desempenho comportamental dos camundongos fêmeas lactantes nos testes de campo aberto e labirinto em cruz elevado.

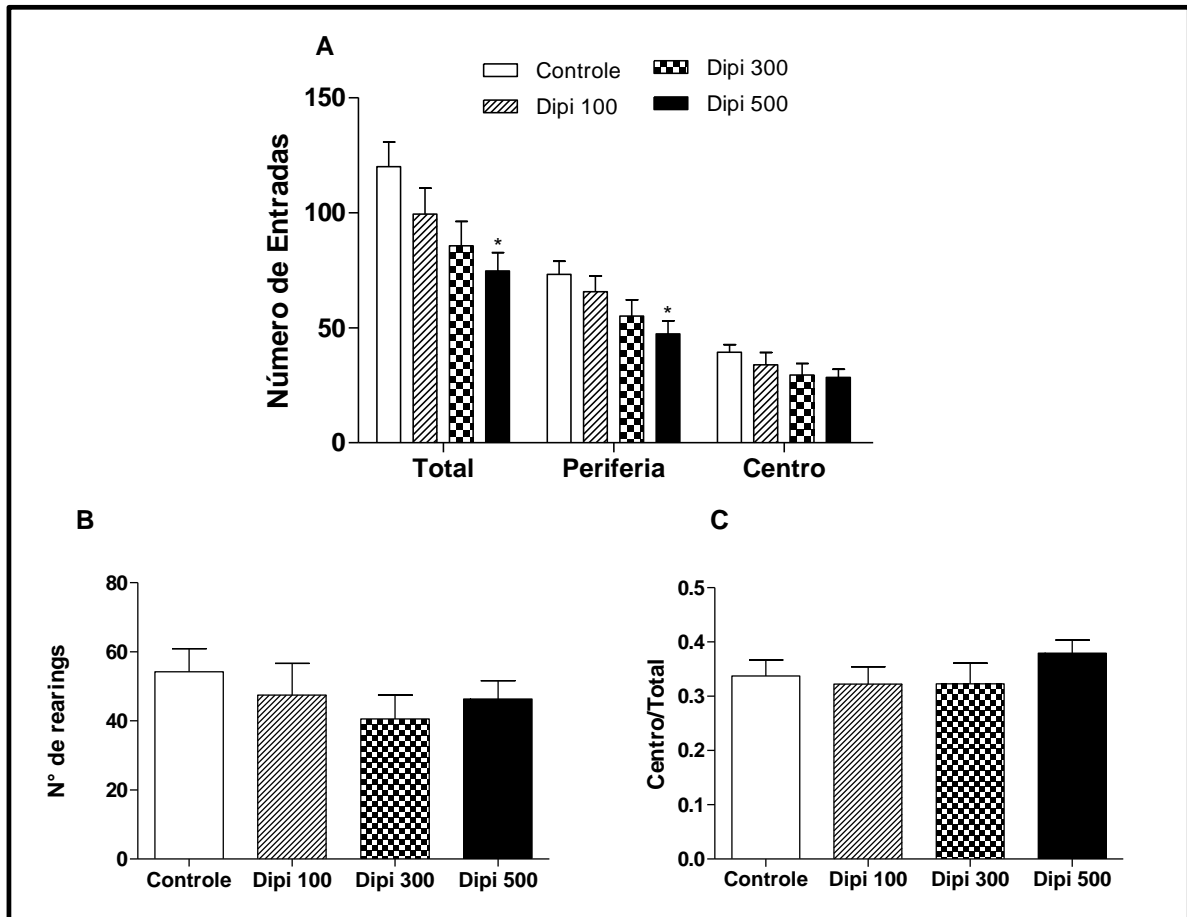
7.4.1 Campo aberto dos camundongos fêmeas lactantes

A figura 8 demonstra o desempenho dos camundongos fêmeas lactantes controle em comparação com as diferentes doses de dipirona no campo aberto no sétimo ou oitavo dia de lactação.

Pode-se observar que os camundongos fêmeas lactantes Dipi 500 quando comparadas com os controles apresentaram diferenças significativas na redução dos parâmetros de número de entradas na Periferia ($F_{3,33} = 2,941$ e $p < 0,05$), e na somatória do número de entradas no centro e periferia-Total ($F_{3,33} = 3,286$ e $p < 0,05$) como demonstrado no gráfico A.

O número de entradas no centro, gráfico A, ($F_{3,33} = 1,121$ e $p = 0,3549$), o número de *rearings*, gráfico B, ($F_{3,33} = 0,5665$ e $p = 0,6410$) e Centro/Total, gráfico C, ($F_{3,33} = 0,7081$ e $p = 0,5541$) não apresentaram diferenças significativas entre os grupos experimentais.

Figura 8 – Avaliação do desempenho comportamental de camundongos fêmeas lactantes controles (Controle n=8) e das doses de 100mg/kg/dia (Dipi 100 n=11), 300mg/kg/dia (Dipi 300 n=11) e 500mg/kg/dia (Dipi 500 n=9) no sétimo ou oitavo dia de lactação no aparato de campo aberto. (A) Número de entradas no Total, Periferia e Centro, (B) Número de rearings e (C) Centro/total.



Fonte: Da autora

Nota: Valores expressos como média \pm SEM (ANOVA *one-way*, seguido de *Dunnet*). * $p < 0,05$ quando comparado com controle.

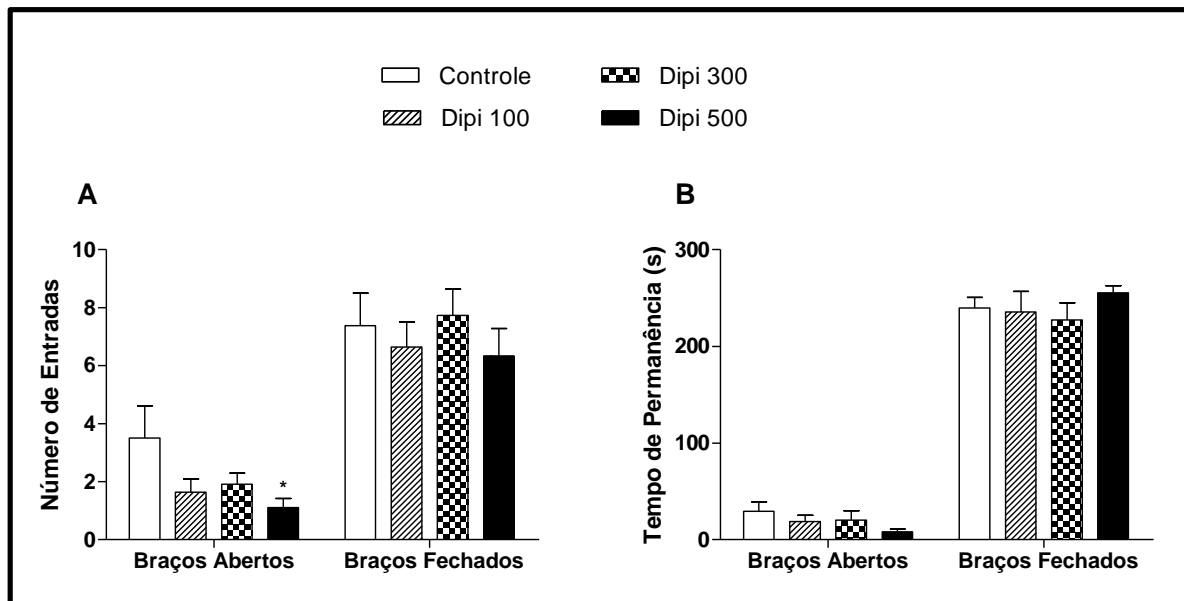
7.4.2 Labirinto em cruz elevado dos camundongos fêmeas lactantes

A figura 9 demonstra o desempenho dos camundongos fêmeas lactantes controles em comparação com os camundongos fêmeas lactantes de diferentes doses de dipirona no labirinto em cruz elevado no sétimo ou oitavo dia de lactação.

Pode-se observar que mães Dipi 500 quando comparadas com mães Controles apresentaram diferenças significativas na redução do parâmetro de número de entradas nos braços abertos, como demonstrado no gráfico A ($F_{3,35}=2,670$ e $p < 0,05$).

O tempo de permanência nos braços abertos ($F_{3,35} = 1,031$ e $p = 0,3908$) e fechados ($F_{3,35} = 0,5026$ e $p = 0,6830$) e o número de entradas nos braços fechados ($F_{3,35} = 0,4677$ e $p = 0,7067$) não apresentaram diferenças significativas quando comparado aos grupos controles, como observado nos gráficos abaixo.

Figura 9 – Avaliação do desempenho comportamental de camundongos fêmeas lactantes controles (Controle n=8) e das doses de 100mg/kg/dia (Dipi 100 n=11), 300mg/kg/dia (Dipi 300 n=11) e 500mg/kg/dia (Dipi 500 n=9) no aparato de labirinto em cruz elevado no sétimo ou oitavo dia de lactação. (A) Número de entradas nos braços abertos e nos braços fechados, (B) Tempo de permanência (s) nos braços abertos e braços fechados.



Fonte: Da autora

Nota: Valores expressos como média \pm SEM (ANOVA *one-way*, seguido de *Dunnet*). * $p < 0,05$ quando comparado com controle.

7.5 AVALIAÇÃO DO DESENVOLVIMENTO DOS FILHOTES

Se encontra, logo abaixo, os resultados da avaliação do desenvolvimento físico e de reflexo dos filhotes machos e fêmeas

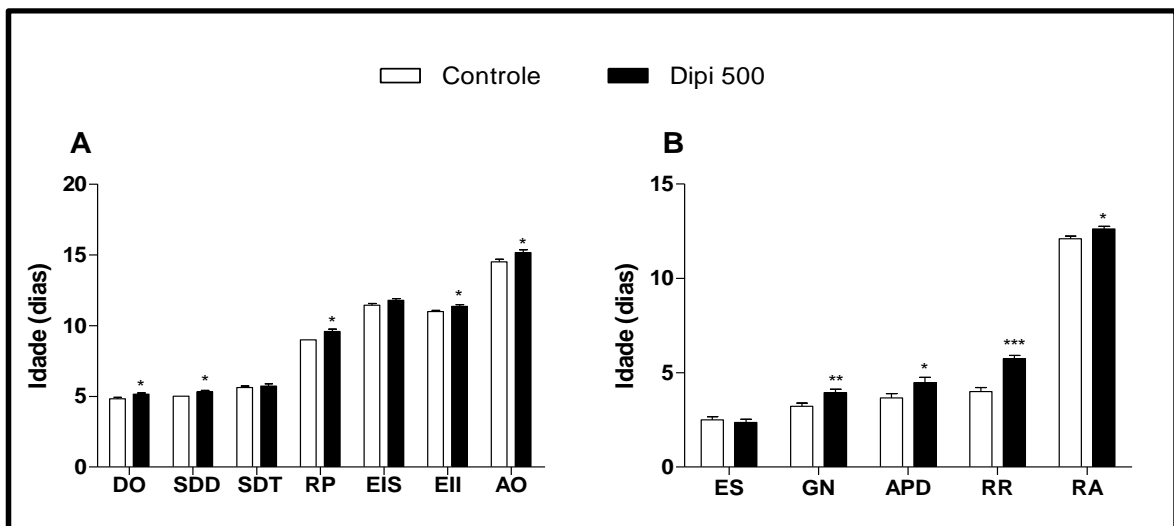
7.5.1 Avaliação do desenvolvimento físico e reflexo dos filhotes machos

A figura 10 demonstra o desenvolvimento físico dos filhotes machos de mães que fizeram uso Dipirona 500mg/kg durante oito dias na lactação em comparação com os filhotes machos de mães controles.

Pode-se observar que os filhotes de mães que fizeram uso de dipirona apresentaram um retardo no desenvolvimento físico e de reflexo quando comparados ao seu controle, apresentando diferenças significativas no aumento do dia observado dos parâmetros de desdobramento das orelhas (DO) ($p < 0,05$), separação dos dígitos dianteiros (SDD) ($p < 0,05$), revestimento primário (RP) ($p < 0,05$) e abertura dos olhos (AO) ($p < 0,05$) como demonstrado no gráfico A e geotaxia negativa (GN) ($p < 0,01$), agarramento das patas dianteiras (APD) ($p < 0,05$), reflexo de *rooting* (RR) ($p < 0,001$) e resposta auditiva (RA) ($p < 0,05$) como demonstrados no gráfico B.

Os parâmetros de desenvolvimento físico de separação dos dígitos traseiros (SDT) ($p = 0,5175$), erupção dos incisivos superiores (EIS) ($p = 0,0530$) e o parâmetro de desenvolvimento reflexo de endireitamento de superfície (ES) ($p = 0,5898$) não apresentaram diferenças significativas quando comparados aos controles.

Figura 10 – Avaliação do desenvolvimento físico (DO: Desdobramento da orelha, SDD: Separação dos Dígitos Dianteiros, SDT: Separação dos Dígitos Traseiros, RP: Revestimento Primário, EIS: Erupção dos Incisivos Superiores, EII: Erupção dos Incisivos Inferiores e AO: Abertura dos Olhos - Gráfico A), e de reflexo (ES: Endireitamento de Superfície, GN: Geotaxia Negativa, APD: Agarramento das Patas Dianteiras, RR: Reflexo de *Rooting* e RA: Resposta Auditiva - Gráfico B) dos filhotes machos de mães controles (Controle $n=18$) e dos filhotes machos de mães dipirona de 500mg/kg/dia (Dipi 500 $n=19$) do segundo dia de lactação até o vigésimo dia de lactação.



Fonte: Da autora

Nota: Valores expressos como média \pm SEM (teste t). * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ quando comparados com o respectivo controle.

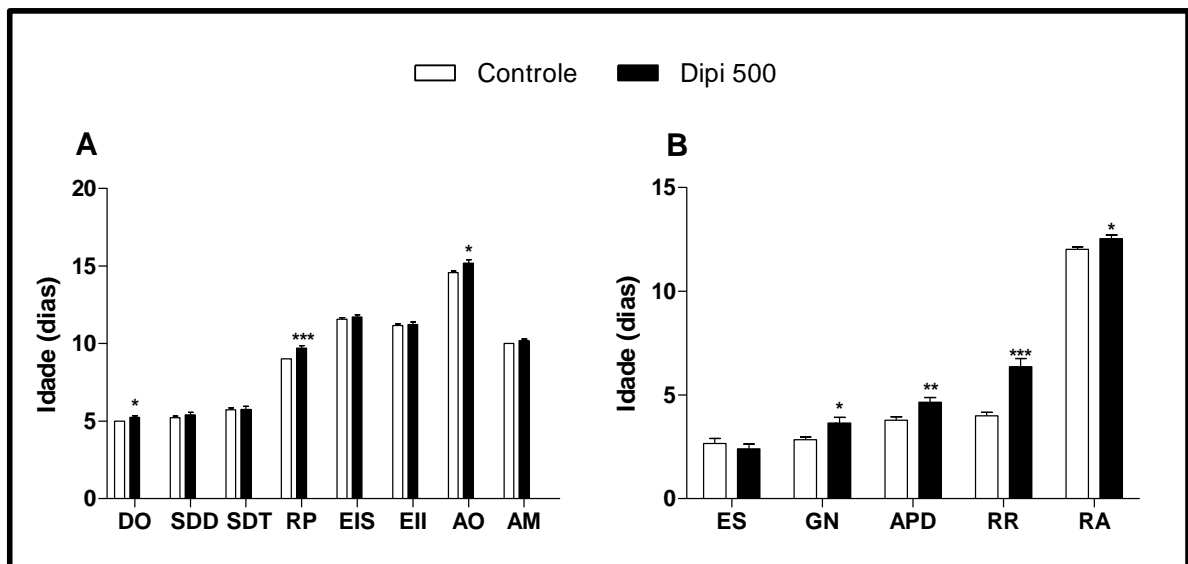
7.5.2 Avaliação do desenvolvimento físico e reflexo dos filhotes fêmeas

A figura 11 demonstra o desenvolvimento físico dos filhotes fêmeas de mães que fizeram uso Dipirona 500mg/kg durante oito dias na lactação em comparação com os filhotes fêmeas de mães controles.

Pode-se observar que os filhotes fêmeas de mães que fizeram uso de dipirona apresentaram um retardo no desenvolvimento físico e de reflexo quando comparados ao seu controle, apresentando diferenças significativas no aumento do dia observado dos parâmetros de desdobramento das orelhas (DO) ($p < 0,05$), revestimento primário (RP) ($p < 0,001$) e abertura dos olhos (AO) ($p < 0,05$) como demonstrado no gráfico A e geotaxia negativa (GN) ($p < 0,05$), agarramento das patas dianteiras (APD) ($p < 0,01$), reflexo de *rooting* (RR) ($p < 0,001$) e resposta auditiva (RA) ($p < 0,05$) como demonstrados no gráfico B.

Os parâmetros de desenvolvimento físico de separação das patas dianteiras (SPD) ($p = 0,2969$), traseiras (SPT) ($p = 0,8517$), erupção dos incisivos superiores (EIS) ($p = 0,4246$), inferiores (EII) ($p = 0,6743$) e aparecimento dos mamilos (AM) ($p = 0,0518$) e o parâmetro de desenvolvimento reflexo de endireitamento de superfície (ES) ($p = 0,4358$) não apresentaram diferenças significativas quando comparados aos controles.

Figura 11 – Avaliação do desenvolvimento físico (DO: Desdobramento da orelha, SDD: Separação dos Dígitos Dianteiros, SDT: Separação dos Dígitos Traseiros, RP: Revestimento Primário, EIS: Erupção dos Incisivos Superiores, EII: Erupção dos Incisivos Inferiores e AO: Abertura dos Olhos - Gráfico A), e de reflexo (ES: Endireitamento de Superfície, GN: Geotaxia Negativa, APD: Agarramento das Patas Dianteiras, RR: Reflexo de *Rooting* e RA: Resposta Auditiva - Gráfico B) e dos filhotes fêmeas de mães controle (Controle n=18) e dos filhotes fêmeas de mães que receberam dipirona de 500mg/kg/dia (Dipi 500 n=17) do segundo dia de lactação até o vigésimo dia de lactação.



Fonte: Da autora

Nota: Valores expressos como média \pm SEM (teste t). * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ quando comparado com o respectivo controle.

7.5.3 Avaliação do desenvolvimento de crescimento dos filhotes machos e fêmeas

Se encontra abaixo, os resultados da avaliação do desenvolvimento de crescimento do comprimento nasoanal, anogenital e o índice crescimento dos filhotes machos e fêmeas.

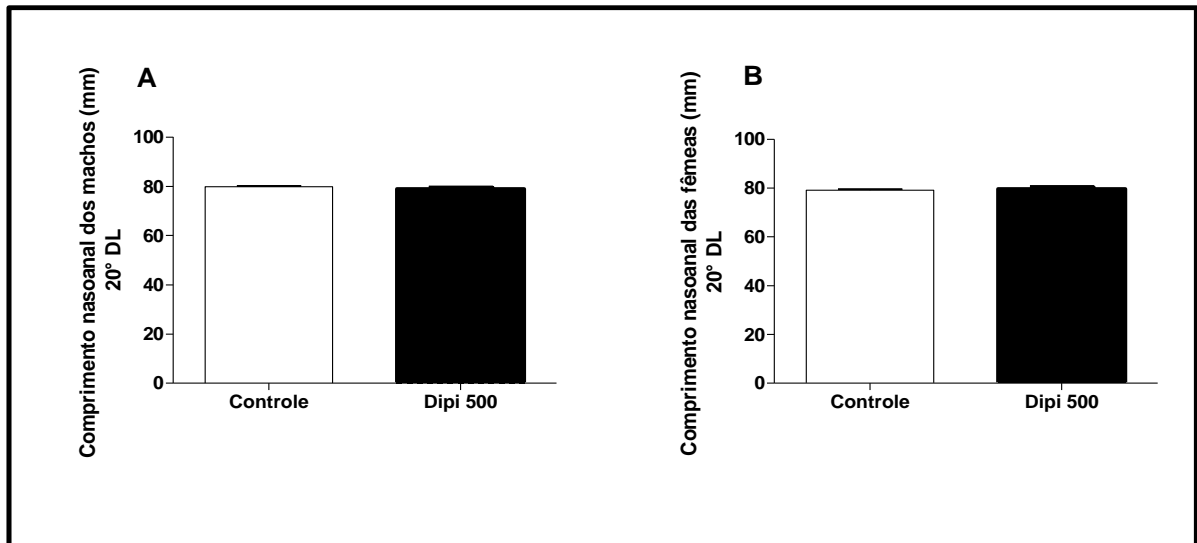
7.5.3.1 Comprimento Nasoanal

A figura 12 mostra as medidas do comprimento nasoanal dos filhotes machos (gráfico A) e fêmeas (gráfico B) no vigésimo dia de lactação.

A análise através do teste “t” de *Student* demonstrou que não houve diferenças significativas do comprimento nasoanal dos filhotes machos, como

demonstrado no gráfico A ($p = 0,1202$) e nem das fêmeas, gráfico B ($p = 0,7784$) provindos de mães Dipi 500 quando comparadas aos respectivos controles.

Figura 12 – Avaliação do desenvolvimento do crescimento nasoanal dos filhotes machos controles (Controle n=18) e dos filhotes provindos de mães dipirona na dose de 500mg/kg/dia (Dipi 500 n=19) no gráfico A e a avaliação do desenvolvimento do crescimento nasoanal dos filhotes fêmeas controles (Controle n=18) e dos filhotes fêmeas provindos de mães dipirona na dose de 500mg/kg/dia (Dipi 500 n=17) no gráfico B, no vigésimo dia de lactação.



Fonte: Da autora

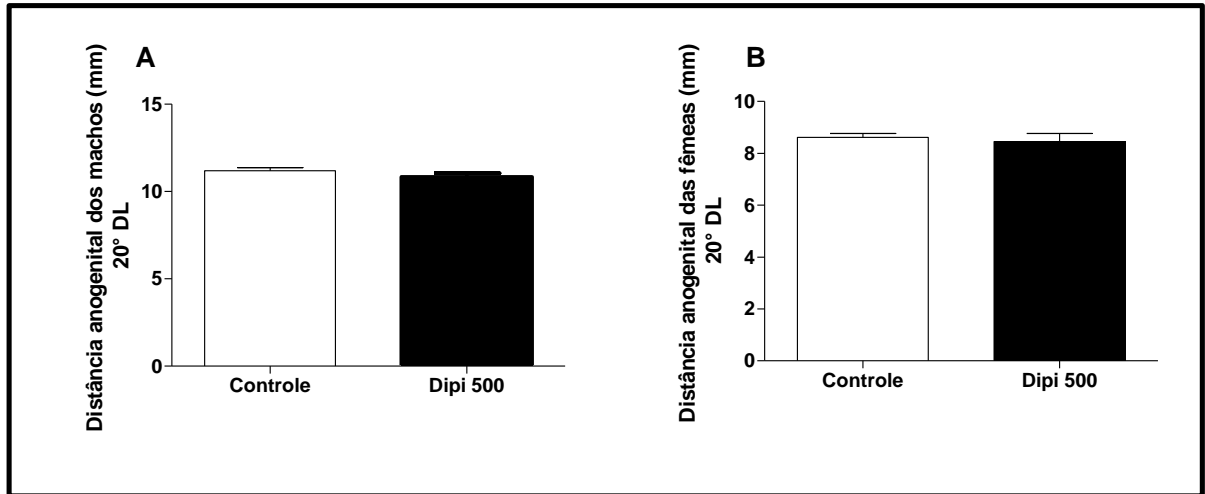
Nota: Valores expressos como média \pm SEM (teste t).

7.5.3.2 Distância Anogenital

A figura 13 mostra as medidas da distância anogenital dos filhotes machos, gráfico A, e fêmeas, gráfico B no vigésimo dia de lactação.

A análise através do teste “t” de *Student* demonstrou que não houve diferenças significativas na distância anogenital dos filhotes machos ($p = 0,1144$) e nem das fêmeas ($p = 0,5323$) provindos de mães Dipi 500 quando comparadas aos respectivos controles.

Figura 13 – Avaliação do desenvolvimento da distância anogenital dos filhotes machos controles (Controle n=18) e dos filhotes provindos de mães dipirona na dose de 500mg/kg/dia (Dipi 500 n=19) no gráfico A e a avaliação do desenvolvimento do crescimento anogenital do filhotes fêmeas controles (Controle n=18) e dos filhotes fêmeas provindos de mães dipirona na dose de 500mg/kg/dia (Dipi 500 n=17) no gráfico B, no vigésimo dia de lactação.



Fonte: Da autora

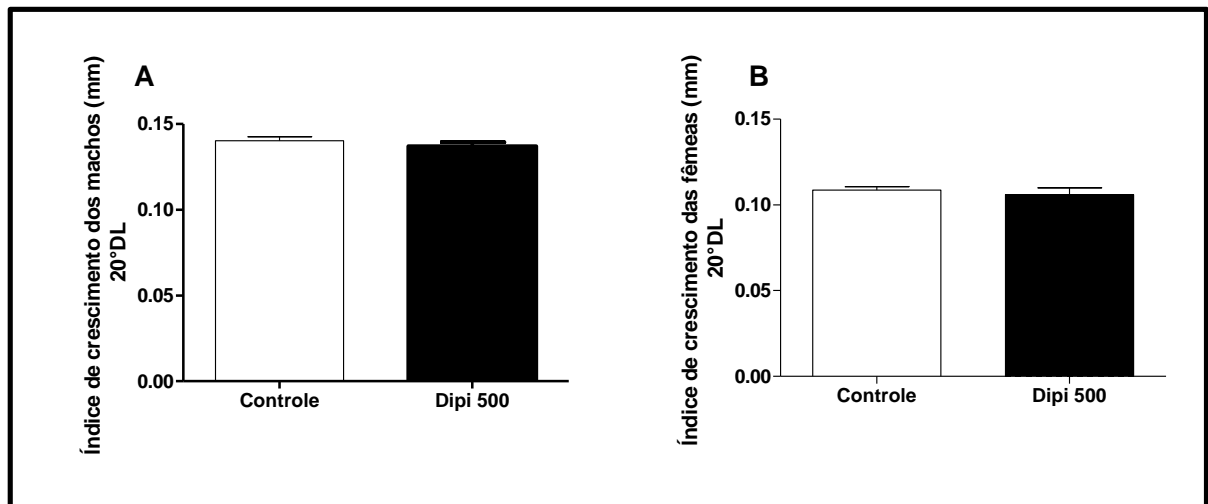
Nota: Valores expressos como média \pm SEM (teste t).

7.5.3.3 Índice de crescimento

A figura 14 mostra as medidas do índice de crescimento dos filhotes machos (gráfico A) e fêmeas (gráfico B) no vigésimo dia de lactação. Este índice são as medidas da distância anogenital de cada filhote dividida pelo comprimento nasoanal de cada filhote.

A análise estatística através do teste “t” de *Student* demonstrou que não houve diferenças significativas do índice de crescimento dos filhotes machos ($p = 0,2308$) e nem das fêmeas ($p = 0,4909$) provindos de mães Dipi 500 quando comparadas aos respectivos controles.

Figura 14 – Avaliação do desenvolvimento do índice de crescimento dos filhotes machos controles (Controle n=18) e dos filhotes provindos de mães dipirona na dose de 500mg/kg/dia (Dipi 500 n=19) no gráfico A e a avaliação do desenvolvimento do índice de crescimento dos filhotes fêmeas controles (Controle n=18) e dos filhotes fêmeas provindos de mães dipirona na dose de 500mg/kg/dia (Dipi 500 n=17) gráfico B, no vigésimo dia de lactação.



Fonte: Da autora

Nota: Valores expressos como média \pm SEM (teste t).

7.6 AVALIAÇÃO DO NÚMERO DE VOCALIZAÇÕES DOS FILHOTES MACHOS E FÊMEAS

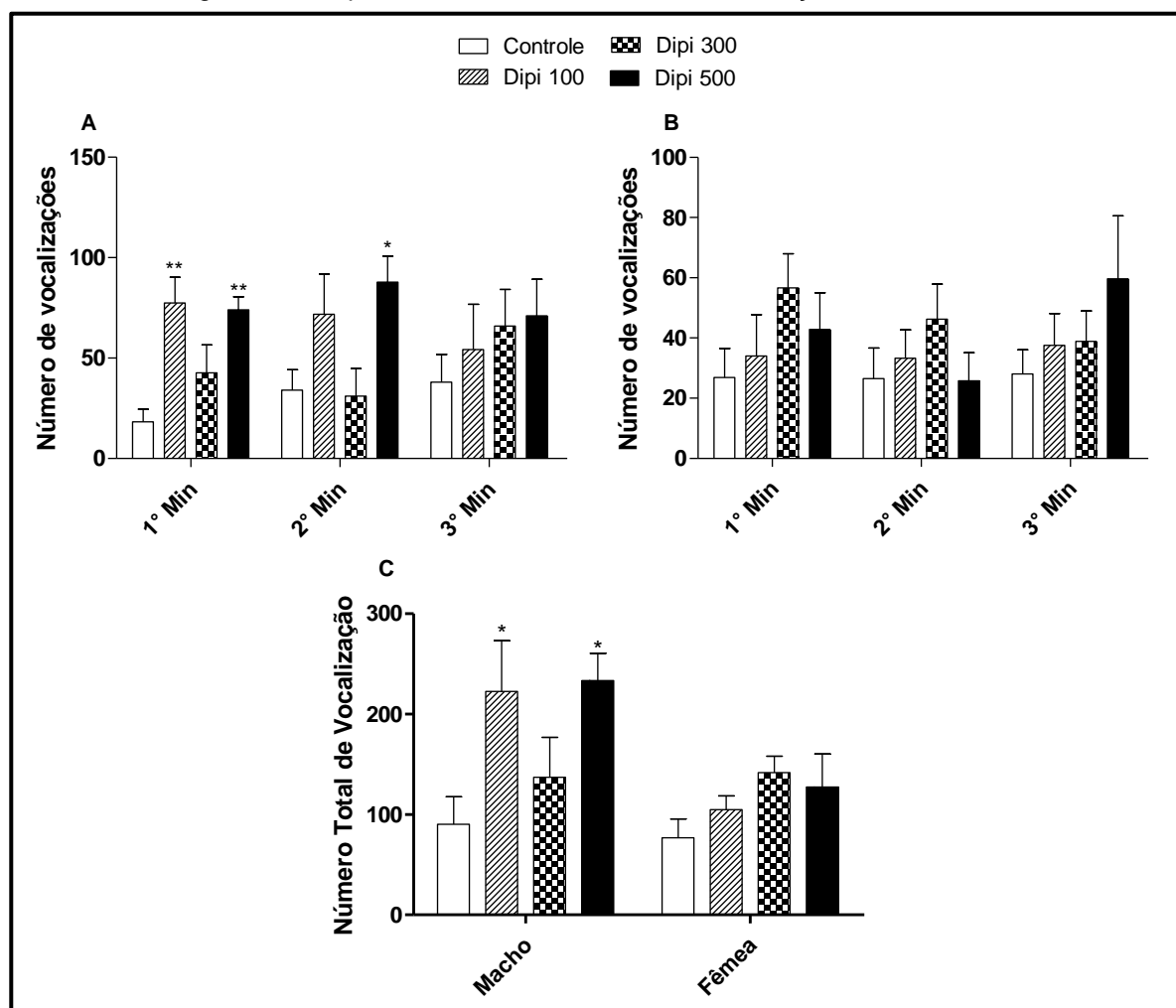
A figura 15 demonstra a avaliação do número de vocalizações dos filhotes machos (gráfico A) e fêmeas (gráfico B) realizada no sétimo ou oitavo dia de lactação.

A análise estatística foi realizada através da ANOVA *one-way*, seguida pelo pós-teste de *Dunnet* e demonstrou que os filhotes machos advindos de mães que receberam dipirona nas doses de 100mg/kg/dia e 500mg/kg/dia vocalizaram mais que os filhotes de mães controle, no 1º min ($F_{3,28} = 7,111$ e $p < 0,001$) e no Total de minutos ($F_{3,28} = 0,0331$ e $p < 0,05$). No 2º min ($F_{3,28} = 3,650$ e $p < 0,05$) apenas os filhotes de mães Dipi 500 vocalizaram mais quando comparado ao controle. No 3º min ($F_{3,28} = 0,6279$ e $p = 0,6031$) não houve diferença significativa do número de vocalizações emitidos pelos filhotes machos de mães que receberam diferentes doses de dipirona quando comparado aos filhotes machos advindos de mães controle, como demonstrado no gráfico A.

Já no gráfico B, que representa os filhotes fêmeas, pôde-se observar que não houve diferença significativa no número de vocalizações emitidos pelos filhotes

fêmeas advindos de mães que receberam diferentes doses de dipirona no 1º min ($F_{3,28} = 1,179$ e $p = 0,3353$), 2º min ($F_{3,28} = 0,8643$ e $p = 0,4711$), 3ºmin ($F_{3,28} = 0,9870$ e $p = 0,4131$) e no total de minutos ($F_{3,28} = 1,681$ e $p = 0,1936$) quando comparados aos filhotes de mães controle.

Figura 15 – Avaliação do número de vocalização dos filhotes machos e fêmeas. No gráfico A é a avaliação das vocalizações dos filhotes machos Controles (Controle n=8) e filhotes machos advindos de mães dipirona 100mg/kg/dia (n=8), 300 mg/kg/dia (n=8) e 500 mg/kg/dia (n=8), já no gráfico B é a avaliação das vocalizações dos filhotes fêmea Controles (Controle n=8) e filhotes machos advindos de mães dipirona 100mg/kg/dia (n=8), 300 mg/kg/dia (n=8) e 500 mg/kg/dia (n=8) no sétimo ou oitavo dia de lactação, e no gráfico C é apresentado o número total de vocalização de machos e fêmeas.



Fonte: Da autora

Nota: Valores foram expressos como média \pm SEM (ANOVA *one-way*, seguido de *Dunnet*). * $p < 0,05$; ** $p < 0,001$ quando comparados aos controles.

7.7 DESEMPENHO DOS FILHOTES MACHOS ADOLESCENTES NO CAMPO ABERTO E LABIRINTO EM CRUZ ELEVADO

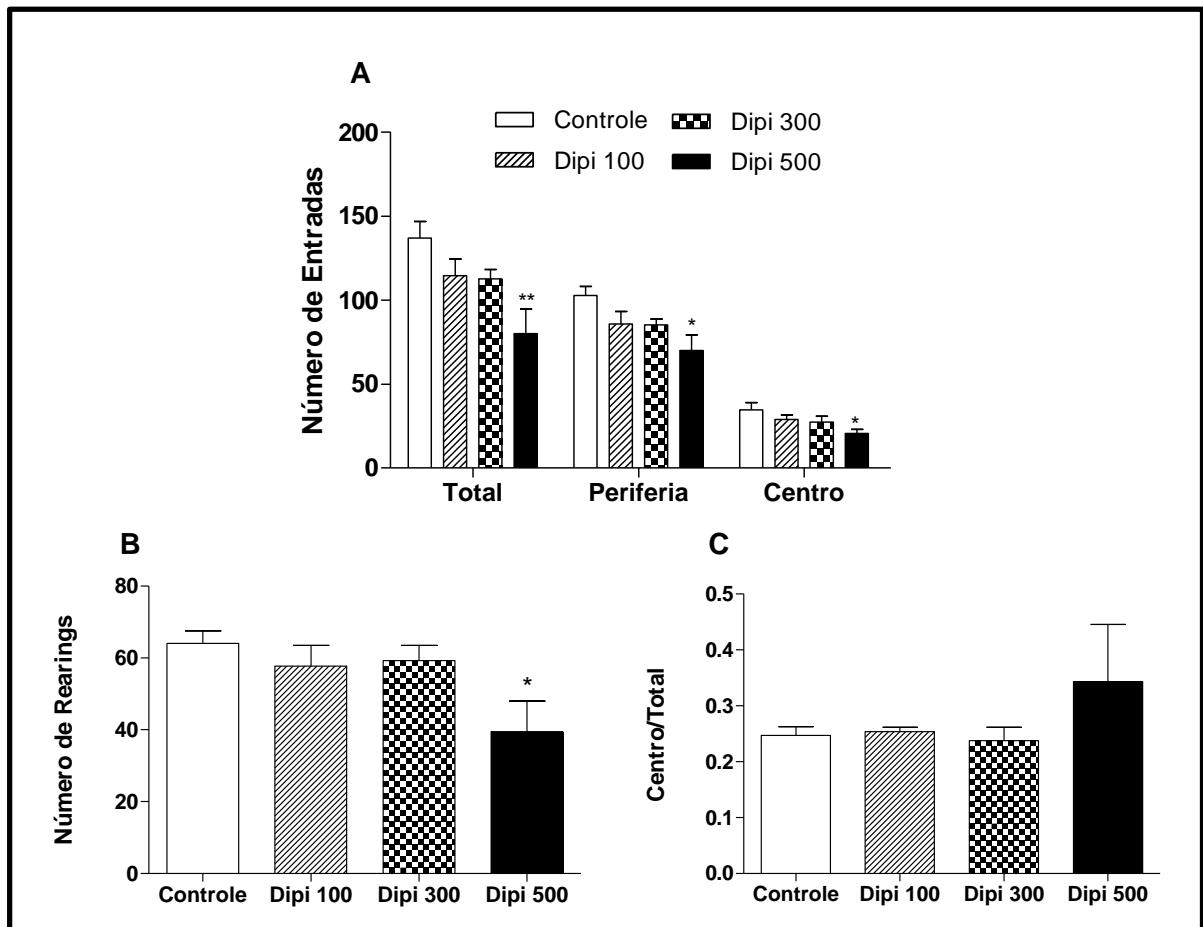
Abaixo estão os resultados da avaliação do desempenho comportamental dos filhotes machos adolescentes nos testes de campo aberto e labirinto em cruz elevado.

7.7.1 Campo aberto dos filhotes machos adolescentes

A figura 16, avaliação do desempenho comportamental dos filhotes machos adolescentes no aparato de campo aberto, demonstrou que filhotes machos de mães que receberam dipirona 500mg/kg/dia tiveram diferenças significativas na redução do número de entradas no centro ($F_{3,28} = 2,989$ e $p < 0,05$), entradas na periferia ($F_{3,28} = 3,271$ e $p < 0,05$), número de *rearings* ($F_{3,28} = 3,004$ e $p < 0,05$) e no número de entradas totais ($F_{3,28} = 4,604$ e $p < 0,001$) quando comparados aos filhotes de mães controles, como demonstrado no gráfico A, B, C.

Os valores do centro/total ($F_{3,28} = 0,8483$ e $p = 0,4792$) não apresentaram diferenças significativas quando comparados ao controle.

Figura 16 – Avaliação do desempenho comportamental dos filhotes machos adolescentes de mães controles (Controle n=6) e de mães que receberam doses de 100mg/kg/dia (Dipi 100 n=9), 300mg/kg/dia (Dipi 300 n=9) e 500mg/kg/dia (Dipi 500 n=8). (A) Número de entradas Total, Periferia e Centro, (B) Número de *rearings* e (C) Centro/total.



Fonte: Da autora

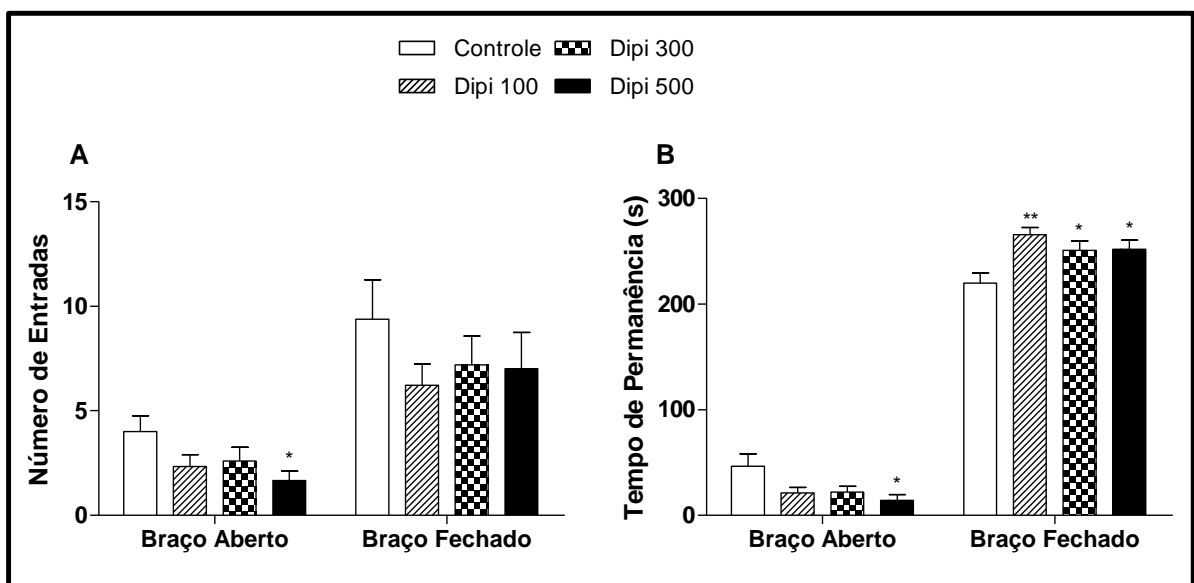
Nota: Valores expressos como média \pm SEM (ANOVA *one-way*, seguido de *Dunnett*). * $p < 0,05$; ** $p < 0,001$ quando comparados aos controles.

7.7.2 Labirinto em cruz elevado dos filhotes machos adolescentes

A figura 17 mostra a avaliação do desempenho comportamental dos filhotes machos adolescentes no aparato de labirinto em cruz elevado, demonstrando que filhotes machos de mães que receberam dipirone 500mg/kg/dia tiveram alterações significativas na redução do número de entradas nos braços abertos ($F_{3,31} = 2,859$ e $p < 0,05$) e no tempo de permanência ($F_{3,31} = 3,863$ e $p < 0,05$) nos braços abertos quando comparados aos filhotes de mães controles, como demonstrado no gráfico A e B, respectivamente.

Já o número de entradas nos braços fechados ($F_{3,31} = 0,6908$ e $p = 0,5646$) não foram observadas alterações significativas, porém o tempo de permanência nos braços fechados ($F_{3,31} = 4,622$ e $p < 0,001$) foi superior nos três grupos experimentais, Dipi 100 ($p < 0,001$), Dipi 300 ($p < 0,05$) e Dipi 500 ($p < 0,05$), quando comparados aos controles, gráfico B.

Figura 17 – Avaliação do desempenho comportamental de filhotes machos adolescentes de mães controles (Controle n=8) e de mães que receberam dipirona nas doses de 100mg/kg/dia (Dipi 100 n=9), 300mg/kg/dia (Dipi 300 n=10) e 500mg/kg/dia (Dipi 500 n=9) no aparato de labirinto em cruz elevado. (A) Número de entradas nos braços abertos e fechados, (B) Tempo de permanência nos braços abertos e fechados.



Fonte: Da autora

Nota: Valores expressos como média \pm SEM em ANOVA *one-way*, seguido de *Dunnet*. * $p < 0,05$; ** $p < 0,001$ quando comparado com o grupo controle.

7.8 DESEMPENHO DOS FILHOTES FÊMEAS ADOLESCENTES NO CAMPO ABERTO E LABIRINTO EM CRUZ ELEVADO

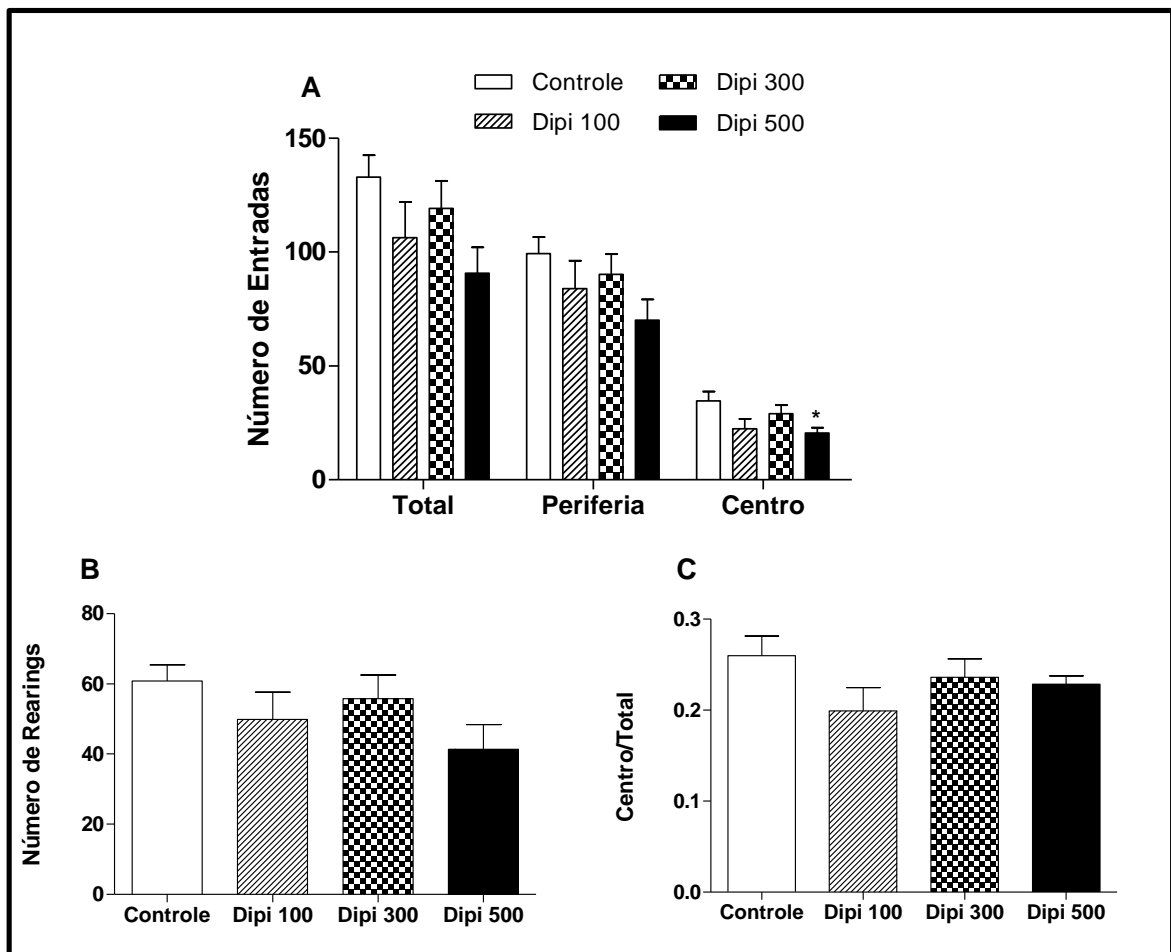
Abaixo estão os resultados da avaliação do desempenho comportamental dos filhotes fêmeas adolescentes nos testes de campo aberto e labirinto em cruz elevado.

7.8.1 Campo aberto dos filhotes fêmeas adolescentes

A figura 18, avaliação do desempenho comportamental dos filhotes fêmeas adolescentes no aparato de campo aberto demonstrou que filhotes fêmeas de mães que receberam dipirona 500mg/kg/dia entraram menos no centro ($F_{3,32} = 2,760$ e $p < 0,05$) quando comparados aos filhotes de mães controles, como demonstrado no gráfico A.

O número de entradas na periferia ($F_{3,32} = 1,481$ e $p = 0,2384$), número de *rearings* ($F_{3,32} = 1,452$ e $p < 0,2461$), número total de entradas (centro + periferia) ($F_{3,32} = 1,920$ e $p = 0,1462$) e centro/total ($F_{3,32} = 0,2250$ e $p = 0,8783$) não foram observados diferenças significativas quando comparados ao controle.

Figura 18 – Avaliação do desempenho comportamental dos filhotes fêmeas adolescentes de mães controles (Controle n=9) e de mães que receberam doses de 100mg/kg/dia (Dipi 100 n=10), 300mg/kg/dia (Dipi 300 n=9) e 500mg/kg/dia (Dipi 500 n=8) no aparato de campo aberto. (A) Número de entradas Total, Periferia e Centro, (B) Número de *rearings* e (C) Centro/total.



Fonte: Da autora

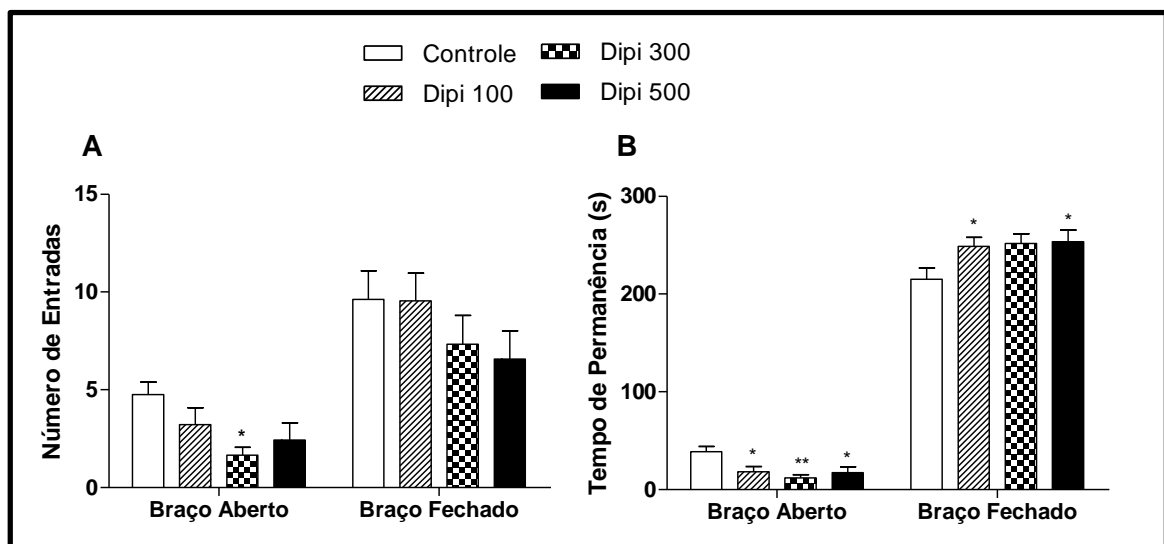
Nota: Valores expressos como média \pm SEM (ANOVA *one-way*, seguido de *Dunnet*). * $p < 0,05$ quando comparado com controle.

7.8.2 Labirinto em cruz elevado dos filhotes fêmeas adolescentes

A figura 19, avaliação do desempenho comportamental dos filhotes fêmeas adolescentes no aparato de labirinto em cruz elevado demonstrou que, filhotes fêmeas de mães que receberam dipirona 300mg/kg/dia entraram menos nos braços abertos ($F_{3,29} = 3,404$ e $p < 0,05$), quando comparados aos filhotes de mães controles, como demonstrado no gráfico A. O tempo de permanência nos braços abertos ($F_{3,29} = 5,695$ e $p < 0,001$) apresentou alterações significativas, podendo ser observados que os três grupos experimentais Dipi 100 ($p < 0,05$), Dipi 300 ($p < 0,001$) e Dipi 500 ($p < 0,05$), apresentaram um tempo de permanência menor quando comparados com o controle (gráfico B)

Já o número de entradas nos braços fechados ($F_{3,29} = 1,099$ e $p = 0,3653$) não apresentaram diferenças significativas quando comparados ao controle (gráfico A), porém o tempo de permanência nos braços fechados dos filhotes fêmeas provindos de mães que receberam dipirona de 100mg/kg/dia ($p < 0,05$) e de 500mg/kg/dia ($p < 0,05$) apresentam um tempo maior quando comparados ao controle.

Figura 19 – Avaliação do desempenho comportamental dos filhotes fêmeas adolescentes de mães controles (Controle n=8) e de mães que receberam doses de 100mg/kg (Dipi 100 n=9), 300mg/kg (Dipi 300 n=9) e 500mg/kg (Dipi 500 n=8) no aparato de labirinto em cruz elevado. (A) Número de entradas nos braços abertos e fechados, (B) Tempo de permanência nos braços abertos e fechados.



Fonte: Da autora

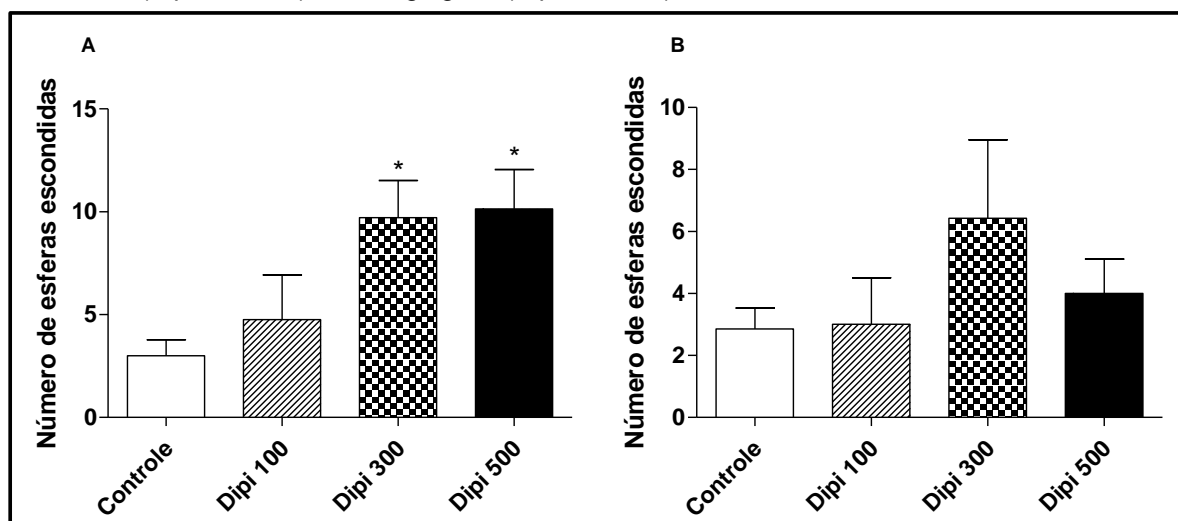
Nota: Valores expressos como média \pm SEM (ANOVA *one-way*, seguido de *Dunnett*). * $p < 0,05$; ** $p < 0,001$ quando comparado com o controle.

7.9 AVALIAÇÃO DO DESEMPENHO COMPORTAMENTAL DOS FILHOTES MACHOS E FÊMEAS ADOLESCENTES NO TESTE DE ESCONDER ESFERAS

Na figura 20, avaliação do desempenho comportamental dos filhotes machos e fêmeas adolescentes no teste de esconder esferas demonstrou que, filhotes machos adolescentes advindos de mães que receberam dipirona nas doses de 300mg/kg/dia e 500mg/kg/dia esconderam número superior de esferas ($F_{3,25} = 3,888$ e $p < 0,05$, em ambos) quando comparado aos filhotes machos adolescente de mães controle como pode ser visto no gráfico A, já os filhotes machos adolescentes advindos de mães Dipi 100, não apresentaram diferença significativa quando comparados aos filhotes de mães controle.

Os filhotes fêmeas advindos de mães que receberam dipirona na dose de 100mg/kg/dia, 300mg/kg/dia e 500mg/kg/dia, não apresentaram diferença significativa ($F_{3,25} = 1,047$ e $p = 0,3889$) quando comparados aos filhotes que vieram de mães controle.

Figura 20 - Avaliação do desempenho comportamental dos filhotes machos (gráfico A) adolescentes advindos de mães controles (Controle n=7) e de mães que receberam dipirona nas doses de 100mg/kg/dia (Dipi 100 n=8), 300mg/kg/dia (Dipi 300 n=7) e 500mg/kg/dia (Dipi 500 n=7) e filhotes fêmeas (gráfico B) advindos de mães controles (Controle n=7) e de mães que receberam dipirona nas doses de 100mg/kg/dia (Dipi 100 n=8), 300mg/kg/dia (Dipi 300 n=7) e 500mg/kg/dia (Dipi 500 n=7) no teste de esconder as esferas.



Fonte: Da autora

Nota: Valores expressos como média ± SEM (ANOVA *one-way*, seguido de *Dunnet*). * $p < 0,05$ quando comparado com o controle.

8 DISCUSSÃO

O uso da dipirona sódica, pelos camundongos fêmeas lactantes, durante oito dias na lactação, não alterou a variação do peso das mães, nem o peso das ninhadas quando comparadas aos controles.

Não foi encontrado na literatura estudos que utilizaram dipirona, ou medicamentos da mesma classe, em camundongos lactantes via oral, porém foi encontrado um trabalho de Malella et al. (2014), que tratou camundongos fêmeas durante o período gestacional com altas doses de drogas antireoidianas, PTU (propiltiouracil) ou MMI (metimazol) por via oral, e não foi observado alterações no peso das mães e no peso fetal dos filhotes, demonstrando que é possível administrar fármacos durante a gestação e não haver alterações no peso das mães e dos filhotes.

Dessa maneira, sugerimos que o resultado do nosso trabalho é positivo, pois as alterações posteriores, que serão descritas mais detalhadamente ao longo de toda a discussão, não tem relação com a avaliação dos pesos das mães e das ninhadas durante a lactação.

Com relação a ingestão líquida diária das mães durante o período lactação não apresentou diferenças significativas quando comparou as diferentes doses de dipirona com as mães consideradas controle (que ingeriram apenas água).

Não encontramos relatos na literatura sobre a ingestão de dipirona sódica por roedores no período lactacional, nem de drogas da mesma classe. Porém foi encontrado estudo que avaliou as alterações comportamentais produzidas pela administração da droga valproato de sódio (anticonvulsivante), durante a gestação e lactação. Os autores observaram que o consumo médio diário do líquido de beber dos camundongos tratados, não apresentou diferença significativa quando comparado ao respectivo controle, mesmo havendo posteriores alterações no comportamento materno (CHAPMAN; CUTLER, 1987). Dessa maneira, como este estudo e o nosso trabalho, pode-se observar que várias drogas administradas na água de beber pode não alterar a ingesta dos animais.

No nosso trabalho pode-se sugerir que o resultado encontrado, não influencia nas alterações posteriormente obtidas, se tornando um aspecto positivo, pois a aceitação dos camundongos fêmeas lactantes em beber a dipirona incorporada a

água com diferentes doses, não se modifica quando se compara aos camundongos que recebiam água pura.

Em relação a avaliação do comportamento materno de camundongos fêmeas lactantes no terceiro, sexto, nono e décimo segundo dias de lactação (DL) mostraram que, o tratamento com dipirona sódica em camundongos fêmeas lactantes diminuíram os parâmetros de sobre os filhotes – *More* no décimo segundo DL nas mães Dipi 300, *self-grooming* no terceiro DL nas mães Dipi 500 e de *pup-grooming* no terceiro e décimo segundo DLs nas mães de Dipi 100, Dipi 300 e Dipi 500.

Até o presente momento, não há na literatura trabalhos que avaliaram o uso da dipirona sódica no CM. Porém é descrito, por autores, que outras drogas anti-inflamatórias e analgésicas são capazes de alterar, de forma relevante, o cuidado materno. Como o trabalho de Vilela e Giusti-Paiva (2011), o qual demonstrou que, a administração de dexametasona 1mg/kg via intraperitoneal em ratas lactantes, reduziu significativamente o CM, com prejuízo nos parâmetros de construção do ninho, latência no tempo de recuperação do primeiro filhote, diminuição no tempo de *licking-pups*, além do tempo de cifo e da porcentagem do comportamento materno total. Neste mesmo trabalho, foi administrado o antagonista de receptores canabinóides, AM251, revertendo assim os efeitos provocados pela dexametazona no cuidado da mãe com a prole.

Complementando tais achados, outro estudo aponta que a administração central de agonistas de receptores canabinóides em ratas lactantes nas doses de 10nm e 100nm, acarretou uma redução do comportamento materno, nos parâmetros de construção do ninho, *licking-pups* e cifo quando comparado ao respectivo controle (COSTA; VILELA; GIUSTI-PAIVA, 2013). Estes estudos sugerem que o sistema endocanabinóides podem modular as vias do comportamento materno.

Sabendo que o sistema endocanabinóide está envolvido nos efeitos da dipirona (hipolocomoção, analgesia e catalepsia) (CRUFLIN; VILELA; GIUSTI-PAIVA, 2015), sugerimos que as alterações do comportamento materno, encontradas no nosso trabalho, também podem estar relacionadas com tal sistema.

As mães que participaram da análise de materno também foram expostas aos testes de campo aberto e de labirinto em cruz elevado.

O teste de campo aberto tornou-se um procedimento amplamente utilizado para analisar a psicologia de várias espécies de animais (BELZUNG, 1999). Se

tratando de roedores, alguns parâmetros são observados para determinar alterações de locomoção e comportamentos preditivos de aumento ou redução de ansiedade. Normalmente estes animais preferem andar perto das paredes do campo aberto sendo denominado de comportamento tigmotático, o inverso deste comportamento é conhecido como efeito antigmotático. Quando há aumento no tempo ou no número de entradas centrais, bem como a relação Centro/Total ou ainda a diminuição do tempo gasto para entrar no centro, pode-se sugerir comportamento preditivos de redução de ansiedade (PRUT; BELZUNG, 2003).

No nosso trabalho, a avaliação do desempenho comportamental dos camundongos fêmeas lactantes no campo aberto demonstrou que, mães Dipi 500 tiveram redução do número de entradas na periferia e no total (periferia+centro), quando comparados ao controle.

Nossos resultados demonstram assim uma perda de locomoção nas mães que foram tratadas com a maior dose de dipirona (500mg/kg/dia).

Nossos dados corroboram com o trabalho de Crunfli, Vilela e Giusti-Paiva (2015), no qual apresentaram diminuição da atividade locomotora em camundongos machos que receberam tratamento com dipirona sódica (500mg/kg, via intraperitoneal). Neste mesmo estudo, os resultados obtidos pela dipirona foram revertidos quando realizaram um pré-tratamento com o antagonista de receptores CB1, o AM251.

Já o teste de labirinto em cruz elevado é um teste amplamente aceito para testar comportamentos preditivos de aumento e redução de ansiedade (PELLOW et al., 1985). Os roedores normalmente evitam espaços abertos e altos. Assim, quando é observado aumento do tempo gasto e das entradas nos braços abertos sugere-se um comportamento preditivo de redução de ansiedade. O teste também consegue avaliar a atividade motora espontânea, com análises nos números totais de entradas nos braços (WALF; FRYE, 2007).

No nosso trabalho, a avaliação do desempenho comportamental dos camundongos fêmeas lactantes no labirinto em cruz elevado demonstrou que, mães Dipi 500 tiveram redução do número de entradas nos braços abertos quando comparados ao controle.

Embora o aparato de labirinto em cruz elevado não seja específico para verificar alterações de locomoção, estes dados podem indicar que houve perda de

locomoção, podendo ser confirmado com o teste de campo aberto mencionado anteriormente.

Os testes de campo aberto e labirinto em cruz elevado foram realizados para verificar a influência da dipirona sódica sobre a ansiólise maternal (comportamento preditivo de ansiedade diminuída em roedores fêmeas no período lactacional), isto porque algumas drogas administradas durante a gestação e/ou lactação são capazes de alterar tal comportamento que é natural neste período. Como é demonstrado no estudo de Vilela, Melo e Giusti-Paiva (2012) mostra que a atenuação das respostas de ratas lactantes quando expostas aos aparatos de campo aberto e labirinto em T elevado são prejudicados por uma única dose de dexametasona.

Já em relação aos filhotes machos e fêmeas provenientes de mães controle e das que receberam dipirona, eles foram avaliados quanto ao desenvolvimento físico e de reflexos durante os vinte dias de vida.

Os resultados obtidos deste trabalho permitiram observar, um retardo no desenvolvimento físico e de reflexo dos filhotes machos e fêmeas, de mães Dipi 500, quando comparados aos respectivos controles.

A avaliação do desenvolvimento físico dos filhotes machos, de mães que receberam dipirona, apresentaram cinco parâmetros prejudicados (DO, SDD, RP, EII, AO), enquanto das fêmeas foram apenas três (DO, RP e AO). O prejuízo do desenvolvimento de reflexo foram os mesmos para ambos, apresentando retardo nos reflexos de GN, APD, RR e RA.

Até o presente momento, não encontramos relatos na literatura sobre, as alterações causadas no desenvolvimento físico e de reflexo dos filhotes, provenientes de mães que receberam dipirona sódica durante o período lactacional, ou de drogas da mesma classe.

Uma explicação para os resultados encontrados seria que, a diminuição no tempo de lambida, encontrado na análise de comportamento materno nas mães Dipi 500, afeta mais os machos que as fêmeas, uma vez que, elas recebem naturalmente menos lambidas que os machos (CHAMPAGNE et al., 2003; MOORE, 1995; MOORE; MORELLI, 1979; MOORE e POWER, 1986).

Estudos sugerem que, intercorrências sofridas pelos filhotes, no período inicial da vida, tais como, as lambidas realizadas pela mãe, podem gerar problemas neuroendócrinos, alteração da função cognitiva e aumento da vulnerabilidade para o

desenvolvimento de psicopatologias, além de prejuízos no comportamento emocional da prole (AGID et al., 1999; BREIER et al., 1988; KAFFMAN; MEANEY, 2007; PECHTEL; PIZZAGALLI, 2011).

Dessa maneira, observou-se que os machos tiveram maior prejuízo no desenvolvimento que as fêmeas, provavelmente por necessitarem de maior cuidado da mãe. E que, as alterações no desenvolvimento físico e de reflexo de ambos podem ser resultantes das alterações no comportamento materno, porém, deve ser levado em consideração a possível influência dos metabólitos da dipirona, excretados no leite durante a lactação.

Quanto a avaliação do crescimento nasoanal, distância anogenital e índice de crescimento dos filhotes machos e fêmeas no vigésimo dia de lactação, não apresentaram diferenças significativas quando comparados aos controles.

Como apresentado anteriormente, o peso da ninhada não foi alterado e assim também, o tamanho dos filhotes machos e fêmeas não se alteraram.

Tal resultado é positivo em nosso estudo, pois assim sugere-se que as alterações no comportamento materno não foram capazes de influenciar os parâmetros biométricos dos filhotes.

Em buscas realizadas recentemente, não foi encontrado estudos que apresentassem a influência da dipirona sobre o crescimento dos filhotes. Porém, um estudo de Kiss e colaboradores (2012), apresentaram um modelo de diabetes desenvolvidos em ratos durante a gestação com o uso de estreptozotocina (substância que destrói as células beta das ilhotas pancreáticas) via subcutâneo, foi capaz de alterar o comprimento nasoanal, distância anogenital e o índice de crescimento dos filhotes advindos de mães com modelo de diabetes, ao longo dos dias. Dessa maneira, observamos drogas e até modelos que podem ser capazes de alterar o crescimento dos filhotes. Porém a dipirona em nosso trabalho não teve este efeito.

Os filhotes machos e fêmeas também foram expostos a análise do número de vocalizações e foi possível observar que os filhotes machos provenientes de mães que receberam dipirona sódica nas doses de 100 e 500 mg/kg/dia tiveram um aumento do número de vocalização quando comparado ao controle.

A USV normalmente ocorre em diversas situações, como em mudanças de temperatura e em estímulos olfatórios e táteis, mas principalmente quando os filhotes são isolados da mãe e dos irmãos (OKON, 1970; ALLIN e BANKS, 1971;

BRANCHI, SANTUCCI e ALLEVA, 2001). No entanto, as vocalizações ultrassônicas são capazes de estimular comportamento materno, pois as chamadas geram na mãe respostas de cuidado e orientação para a recuperação do filhote (FARREL e ALBERTS, 2002).

Quando se tem o aumento do número de vocalizações, normalmente tende-se a pensar em um comportamento preditivo de ansiedade dos filhotes, pois pesquisas demonstraram que o número de USV pode ser diminuído pelo uso de ansiolíticos compostos, mas também podem ser aumentados com substâncias ansiogênicas (GARDNER, 1985; INSEL; HILL; MAYOR, 1986).

O estudo de Trezza e colaboradores (2008), confirma o comportamento preditivo de ansiedade nos filhotes que vocalizaram mais, pois neste trabalho foi verificado que, a administração de doses baixas e moderadas de THC em ratas durante a gestação (a partir do décimo quinto dia de gestação) e na lactação (até o nono dia de lactação) teve a capacidade de aumentar o número de vocalizações ultrassônicas emitidas durante a fase da infância dos filhotes, havendo também uma inibição da interação social e do comportamento de brincar na prole adolescente, além da indução no comportamento preditivo de ansiedade na descendência adulta.

Assim, podemos sugerir com o resultado encontrado no nosso trabalho, que os filhotes provenientes de mães que receberam dipirona, principalmente na dose de 500 mg/kg/dia, apresentaram um comportamento tipo ansioso. Este comportamento também foi observado em outros testes realizados no período de adolescência, como o teste de labirinto em cruz elevado e de esconder as esferas que serão descritos com mais detalhes posteriormente.

Em referência a fase de adolescência dos filhotes machos e fêmeas, eles foram expostos aos testes de campo aberto, labirinto em cruz elevado e de esconder as esferas.

A avaliação comportamental dos filhotes machos adolescentes, no campo aberto, demonstrou que filhotes de mães Dipi 500 apresentaram diminuição no número de entradas no centro, caracterizando um comportamento preditivo de ansiedade, porém houve também uma redução de *rearings*, do número de entradas na periferia e no total, o que sugere uma redução de locomoção.

Para explicar os resultados obtidos, tem sido demonstrado que as variações no número de lambidas, dadas pelas mães nos filhotes, são capazes de modificar

circuitos neurais, que regulam respostas endócrinas e comportamentais na vida futura da prole (RUTHSCHILLING et al., 2012).

Assim podemos sugerir que, o comportamento materno alterado, principalmente pelo parâmetro de lambidas, pode ter ocasionado disfunções comportamentais nos filhotes machos.

Já a avaliação comportamental dos filhotes machos adolescentes no labirinto em cruz elevado demonstrou que, houve diminuição no número de entradas e do tempo de permanência nos braços abertos pelos filhotes provindos de mães Dipi 500, podendo caracterizar como comportamento tipo ansioso, porém houve também, aumento do tempo de permanência nos braços fechados dos filhotes de mães Dipi 100, 300 e 500.

Embora o aparato de labirinto em cruz elevado não seja específico para verificar locomoção, estes dados podem indicar que todos os filhotes, advindos de mães que receberam dipirona, apresentaram perda de locomoção, que foi confirmado com o teste de campo aberto mencionado anteriormente.

Desse modo, os resultados obtidos podem estar associados com as alterações do comportamento materno.

Até o momento, não foi encontrado na literatura, estudos que reportem sobre os efeitos da dipirona sódica nos filhotes adolescentes. Porém, existe estudo de Manduca e colaboradores (2014) que investigou o papel dos endocanabinóides anandamida (AEA) e 2-araquidonoilglicerol (2-AG) em processos sócio-emocionais em ratos adolescentes e adultos. Os autores administraram a droga JZL195, que inibe AEA e 2-AG em ratos e observaram o comportamento preditivo de ansiedade destes na fase adolescente, quando expostos ao aparato de labirinto em cruz elevado, além de obterem uma reversão dos resultados após a administração do antagonista de receptores canabinóides nos mesmos.

Dessa maneira, podemos observar que diferentes drogas aplicadas na gestação e/ou lactação tem a capacidade de alterar, de diversas formas, o comportamento dos filhotes.

Quanto a avaliação comportamental dos filhotes fêmeas adolescentes, no campo aberto, demonstrou que filhotes de mães Dipi 500 apresentaram diminuição no número de entradas no centro, caracterizando um comportamento preditivo de ansiedade.

Como foi sugerido para os filhotes machos, tal resultado pode estar associado as alterações do comportamento materno.

Até o presente momento, não foi encontrado na literatura, estudos que apresentem os efeitos, especificamente, da dipirona sódica sobre o comportamento de roedores adolescentes, porém já existe estudo com outras drogas. Como é demonstrado no trabalho de Sass e Wörtwein (2012), que identificou comportamento mais elevado de ansiedade no campo aberto quando ratos adolescentes foram tratados com fluoxetina subcrônica.

Dessa forma observamos que diferentes drogas tem a capacidade de alterar o comportamento dos animais adolescentes quando submetidos a aparatos aversores.

Já na avaliação do comportamento dos filhotes fêmeas adolescentes no labirinto em cruz elevado demonstrou que, houve diminuição no número de entradas nos braços abertos pelos filhotes provindos de mães Dipi 300 e do tempo de permanência nos braços abertos dos filhotes de mães Dipi 100, 300 e 500, além do aumento do tempo de permanência nos braços fechados dos filhotes de mães Dipi 100 e 300.

Nossos resultados mostram que filhotes vindos de mães Dipi 100 e 300, apresentam comportamento tipo ansioso, como também, os filhotes de mães Dipi 500, podendo ser confirmado no teste de campo aberto, descrito anteriormente.

Como já sugerido em outros tópicos, tais resultados podem estar associados com as alterações do comportamento materno.

Estudo com outra droga, como a pesquisa de Fergunso e colaboradores (2015), demonstrou que filhotes fêmeas adultos, provenientes de mães que receberam tratamento com metilfenitado durante a gravidez, exibiram comportamento preditivo de ansiedade reduzida no teste de labirinto em cruz elevado.

Dessa maneira, pode-se observar que além dos diversos fatores que alteram o comportamento dos filhotes (droga utilizada e o período administrado), a fase da vida que os filhotes foram expostos aos testes é muito relevante, pois filhotes adolescentes respondem de forma diferente de filhotes adultos.

No estudo de Lynn e Brown (2010), o comportamento preditivo de ansiedade em roedores foi analisado nas fases da adolescência e adulta, sem administração de drogas ou exposição a estresse anterior. Os resultados obtidos foram que, ratos

adolescentes exibiram comportamento preditivo de ansiedade aumentada quando comparado aos adultos. Assim, tais autores, suportam a hipótese de que ratos adolescentes tem uma resposta mais pronunciada a aparatos estressores do que ratos adultos.

Na avaliação do desempenho comportamental dos filhotes machos e fêmeas adolescentes no teste de esconder as esferas, foi verificado que os filhotes machos provenientes de mães que receberam dipirona na dose de 300 e 500mg/kg/dia esconderam mais esferas quando comparados aos controles, enquanto os filhotes fêmeas não apresentaram diferenças significativas quando foram comparados ao respectivo controle.

O teste de esconder as esferas é uma resposta defensiva gerada naturalmente pelos roedores (DE BOER; KOOLHAAS, 2003), porém estudos iniciais demonstraram a efetividade de tal teste quando usado para detectar agentes ansiolíticos como, inibidores da recaptação de serotonina e benzodiazepínicos, sendo um efetivo modelo para a investigação do comportamento preditivo de ansiedade (NJUNG'E; HANDLEY, 1991). Porém, há trabalhos que sugerem evidências associando na ativação de circuitos neurais responsáveis pelo comportamento compulsivo quando o animal é exposto ao teste (THOMAS et al., 2009). Assim, atualmente tal teste é proposto para o estudo de modelos animais na investigação de respostas consecutivas envolvendo TOC (transtorno compulsivo obsessivo) (KORFF; HARVEY, 2006 e THOMAS et al., 2009).

É importante salientarmos que em nosso trabalho, o teste de esconder esferas foi focado para testar um quadro preditivo de ansiedade, e foi escolhido por poder ser um “modelo híbrido”, ou seja, é sensível a vários fármacos para tratar ansiedade, depressão e TOC (KALUEFF; WHEATON; MURPHY, 2007; KEDIA; CHATTARJI, 2014).

Até o momento, não foi encontrado estudos que correlacionem os efeitos comportamentais da prole adolescente após a administração da dipirona em suas progenitoras no período lactacional utilizando o teste de esconder as esferas.

Porém, estudo de Umathe, Manna e Jain (2011) demonstrou que os análogos de endocanabinóides: agonista do receptor CB1 (anandamida), inibidor do transporte de anandamida (AM404) e o inibidor de ácido graxo de amida-hidrolase foram capazes de diminuir, em baixas doses, o comportamento de esconder as esferas quando comparado a fluoxetina utilizada clinicamente. Porém, em doses

elevadas, os análogos de endocanabinóides aumentaram o número de esferas escondidas, demonstrando assim a capacidade dos endocanabinóides serem ansiolíticos ou ansiogênicos dependendo da dose.

Em outro estudo, de Kedia e Chattarji (2014), os ratos foram expostos a um estresse agudo de contenção por um único episódio de duas horas e após 10 dias foram submetidos ao teste de esconder esferas. Os ratos que foram estressados esconderam mais esferas que os ratos não estressados, demonstrando a efetividade do teste em estresse pós-traumático.

Dessa maneira, podemos sugerir em nosso trabalho que o prejuízo gerado pela falta de cuidado materno nos primeiros dias de vida, não descartando o efeito adicional dos metabólitos da dipirona sódica excretados no leite materno, foram capazes de alterar significativamente o comportamento dos filhotes no período de adolescência, podendo ser reafirmados em vários testes como, no de campo aberto, labirinto em cruz elevado e de esconder esferas.

Além disso, mais estudos são necessários para verificar o mecanismo de ação da dipirona sobre as respostas comportamentais da mãe e da prole.

9 CONCLUSÃO

Diante dos resultados obtidos até aqui, podemos concluir que, a dipirona sódica utilizada durante a lactação reduziu parâmetros do CM, e que pode haver relação com um comportamento tipo ansioso apresentado pelos filhotes, principalmente os machos, além de um retardo no desenvolvimento da prole.

REFERÊNCIAS

AGID, O. et al. Environment and vulnerability to major psychiatric illness: a case control study of early parental loss in major depression, bipolar disorder and schizophrenia. **Journal of Molecular Psychiatry**. v. 4, p. 163-172, 1999.

ALLASTAR, J. J.; WOOD, M. D. Drug therapy for breastfeeding women. **The new England Journal of Medicine**. v. 343, p.118-126, 2000.

ALLIN, J. T. e BANKS, E. M. Effects of temperature on ultrasound production by infant albino rats. **Developmental Psychobiology**. v. 4, p. 149-156, 1971.

ANDRADE, M. P. Aspectos atuais do uso da dipirona no tratamento da dor. *Prática Hosp.* v. 7, p. 111-118, 2005.

ANGOÁ-PÉREZ, M. et al. Brain serotonin determines maternal behavior and offspring survival. **Revista Genes, Brain and Behavior**. v. 13, p. 579-591, 2014.

BELZUNG C. Measuring the exploratory behavior. **Manual de técnicas de genética molecular para o cérebro e o comportamento de investigação (Técnicas do Ciências Comportamentais e Neurais)**. p. 739-749, 1999.

BENSEÑOR, I. M. To use or not use dipyrone? Or maybe central station versus ER? That is the question. **São Paulo Medical Journal**. v. 119, p.190-191, 2001.

BISON, S. et al. Differential behavioral, physiological, and hormonal sensitivity to LPS challenge in rats. **International Journal of Interferon, Cytokine and Mediator Research**. p. 1-13. 2009.

BOSCH, O. J. et al. Prenatal stress increases HPA axis activity and impairs maternal care in lactating female offspring: implications for postpartum mood disorder. **Psychoneuroendocrinology**, v.32, p.267-278, 2007.

BOSCH, O. J. et al., Brain oxytocin correlates with maternal aggression: link to anxiety. **Journal of Neuroscience**. v. 20, p. 6807-6815, 2005.

BRANCHI, I. et al. Neonatal behaviors associates with ultrasonic vocalizations in mice (*mus musculus*): A slow-motion analysis. **Developmental Psychobiology**. v. 44, p. 37-44, 2004.

BRANCHI, I.; SANTUCCI D.; ALLEVA, E. Analysis of ultrasonic vocalizations emitted by infant rodents. **Current Protocols in Toxicology**. v. 13, p. 310-330, 2006.

BRANCHI, I.; SANTUCCI, D.; ALLEVA, E. Ultrasonic vocalisation emitted by infant rodents: a tool for assessment of neurobehavioural development. **Behavioral Brain Research**. v. 125, p. 49-56, 2001.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Painel Internacional de Avaliação de Segurança da Dipirona**. 2001.

BREIER, A. et al. Early parental loss and development of adult psychopathology. **Archives of General Psychiatry**. v.45, p.987–993, 1988.

BURDAN, F. et al. Developmental outcome after exposure to cyclooxygenase inhibitors during pregnancy and lactation. **Reproductive Toxicology**, v.32, p. 407-417, 2011.

CALDJ, C. et al. Maternal care during infancy regulates the development of neural systems mediating the expression of fearfulness in the rat. **Proceedings National Academy of Science USA**. v.95, p.5335-5340, 1998.

CHAMPAGNE, F.A. et al. Variations in maternal care in the rat as a mediating influence for the effects of environment on development. **Physiology Behavioral**. v.79, p.359-371, 2003.

CHAMPMAN, J.B.; CUTLER, M. G. Sodium valproate: effects on maternal behaviour in the mouse. **Neuropharmacology**. v. 26, p. 607-612, 1987.

CHAVES, R. G. **Situação do aleitamento materno e do uso de medicamentos pela nutriz no primeiro ano de vida da criança em Itaúna, MG**. Dissertação de mestrado. Belo Horizonte: Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais; 2004.

CHAVES, R. G., et al. Amamentação e uso de antiinflamatórios não esteróides pela nutriz: informações científicas *versus* conteúdo em bulas de medicamentos comercializados no Brasil. **Revista Brasileira de Saúde Materno Infantil**. v. 6, p. 269-276, 2006.

CIRULLI, F.; BERRY A.; ALLEVA E., Early disruption of the mother-infant relationship: Effects on brain plasticity and implications for psychopathology. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**. v. 27, p. 73-82, 2003.

COOK J. C. et al. Analysis of the nonsteroidal anti-inflammatory drug literature for potential developmental toxicity in rats and rabbits. **Birth Defects Research Part B: Developmental and Reproductive Toxicology**. v. 68, p. 5-26, 2003.

COSTA, H. H., VILELA F. C., GIUSTI-PAIVA, A. Continuous central infusion of cannabinoid receptor agonist WIN 55,212-2 decreases maternal care in lactating rats: Consequences for fear conditioning in adulthood males. **Behavioral Brain Research**. v. 15, p.31-38, 2013.

CRUNFLI, F.; VILELA, F. C.; GIUSTI-PAIVA, A. Cannabinoid CB1 receptors mediate the effects of dypirone. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**. v. 42, p. 246–255, 2015.

CUOMO, V. et al. Ultrasonic calling in rodents: a new experimental approach in behavioural toxicology. **Neurotoxicology and Teratology Journal**. v.9, p. 157-160, 1987.

CURY, A. **Seja Líder de Si Mesmo**. Rio de Janeiro: Editora Sextante, 2010.

DE BOER, S.F; KOOLHAAS, J. M. Defensive burying in rodents: ethology, neurobiology and psychopharmacology. **European Journal of Pharmacology**. v. 28, p. 145-161, 2003.

ERGÜN, H.; FRATARELLI, D. A. C.; ARANDA, J. V. Characterization of the role of physicochemical factors on the hydrolysis of dypirone. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**.v. 35, p. 479-487, 2004.

FARRELL, W. J.; ALBERTS, J. R. Stimulus control of maternal responsiveness to Norway rat (*Rattus norvegicus*) pup ultrasonic vocalizations. **Journal of Comparative Psychology**. v. 116, p. 297-307, 2002.

FERGUNSON, S. A. Effects of perinatal methylphenidate (MPH) treatment on postweaning behaviors of male and female Sprague–Dawley rats. **Neurotoxicology and Teratology**. v. 47 p.125-136, 2015.

FERREIRA, A. et al., Role of maternal behavior on aggression, fear and anxiety. **Physiology Behavioral**. v. 77, p. 197-204. 2002.

FLEMING, A. S.; ROSENBLATT, J. S. Olfactory regulation of maternal behavior in rats: I. Effects of olfactory bulb removal in experienced and inexperienced lactating and cycling females. **Journal of Comparative. Physiological. Psychology**. v.86, p.221-232. 1974.

FLEMING, A.S.; LUEBKE, C. Timidity prevents the nulliparous female from being a good mother. **Physiology and Behavior** v. 27, p. 863–868. 1981.

GARDNER, C. R. Distress vocalization in rat pups. A simple screening method for anxiolytic drugs. **Journal of Pharmacology Methods**, v. 14, p. 181–187, 1985.

GROTA, L. J.; ADER, R. Continuous recording of maternal behavior in *Rattus norvegicus*. **Animal Behavior**. v.17, p.722-729. 1969.

GUBERNICK, D. J.; KLOPFER, R. S. (Eds). **Parental Care in Mammals**. 1° ed. Nova Iorque: Plenum Press, 1981.

HAHN, M. E.; LAVOY, M. J. A review of the methods of studies on infant ultrasound production and maternal retrieval in small rodents. **Behavior Genetics**. v. 35, p. 31-52, 2005.

HALE, T. W. **Medications and mothers' milk**. Amarillo: Pharmasoft, 11° Ed, 2004.

HALE, T. W. Medications in breastfeeding mothers of preterm infants. **Pediatr Ann**. v.32, p. 337-47. 2003.

HINZ B., et al. Dipyronne elicits substantial inhibition of peripheral cyclooxygenases in humans: new insights into the pharmacology of an old analgesic. **The FASEB Journal**. v. 21, p. 2343-2351, 2007.

HUTCHISON, H. E.; CONWAY, H. Fatal case of agranulocytosis due to novalgin. **British Medical Journal**. v. 22, p. 207, 1955.

INSEL, T. R.; HILL, J. L.; MAYOR, R. B. Rat pup ultrasonic isolation calls: possible mediation by the benzodiazepine receptor complex. **Pharmacology Biochemistry and Behavior Journal**. v. 24, p. 1263-1267, 1986.

INSIGHT, 199-?. Disponível em: <<http://insightltda.com.br/insight-equipamento-cientifico-263-Labirinto-em-Cruz-Elevado---Madeira.>> Acesso em: 7 ago. 2015.

KAFFMAN, A.; MEANEY, M.J. Neurodevelopmental sequelae of postnatal maternal care in rodents: clinical and research implications of molecular insights. **J Child Psychol Psychiatry**. v. 48, p. 224-44, 2007.

KALUEFF, A. V.; WHEATON, M.; MURPHY, D. L. What's wrong with my mouse model? Advances and strategies in animal modeling of anxiety and depression. **Behavioural Brain Research**. v. 179, p. 1-18, 2007.

KEDIA, S.; CHATTARJI, S. Marble burying as a test of the delayed anxiogenic effects of acute immobilisation stress in mice. **Journal of Neuroscience Methods**. v. 15, p. 150-154, 2014.

KISS, A. C. I. et al. Impact of maternal mild hyperglycemia on maternal care and offspring development and behavior of Wistar rats. **Physiology & Behavior**. v. 107, p. 292 – 300. 2012.

KORFF, S.; HARVEY, B. H. Animal models of obsessive-compulsive disorder: rationale to understanding psychobiology and pharmacology. **Psychiatric Clinics of North America**. v. 29, p. 371–390, 2006.

LAMOUNIER, J. A., et al. O uso de medicamentos em puérrupras interfere nas recomendações quanto ao aleitamento materno? **Jornal de Pediatria**. v. 77, p. 57-61, 2002.

LEVINE, S. Influence of psychological variables on the activity of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis. **European Journal of Pharmacology**. v. 405, p. 149-160, 2000.

LEVY M., et al. Plasma kinetics of dypirone metabolites in rapid and slow acetylators. **Eur. J. Clin. Pharmacol.**, Heidelberg v. 27, p. 453-458, 1984.

LILES, B. D., et al. Perceived behavior problems, parenting stress, and maternal depressive symptoms among prenatal methamphetamine users. **Psiquiatria Infantil Hum Dev.** v. 43, p. 943-957, 2012.

LORENZETTI, B. B.; FERREIRA, S. H. Activation of the arginine-nitric oxid pathway in primary sensory neurons contributes to dipyrone-induced spinal and peripheral analgesia. **Inflammation Res.**, v. 45, p. 308-311, 1996.

LYNN, D.A; BROWN, G. R. The ontogeny of anxiety-like behavior in rats from adolescence to adulthood. **Dev Psychobiol.** v. 52, p. 731-739, 2010.

MALLELA, M. K. et al. Evaluation of Developmental Toxicity of Propylthiouracil and Methimazole. **Defeitos de Nascimento Res B Dev Reprod Toxicol.** v. 101, p. 300-307, 2014.

MANDUCA, A. et al. Distinct roles of the endocannabinoids anandamide and 2-arachidonoylglycerol in social behavior and emotionality at different developmental ages in rats, **European Neuropsychopharmacology.** v. 25 p. 1362-1374, 2014.

MATTSON, B. J. et al., Comparison of two positive reinforcing stimuli: pups and cocaine throughout the postpartum period. **Behavioral Neuroscience.** v. 115, p. 683-694, 2001.

MELO D. O.; RIBEIRO E. E; STORPIRTIS, S. A importância e a história dos estudos de utilização de medicamentos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 42, p. 1-11. 2006.

MENARD, *et al.*, Variations of maternal care differentially influence 'fear' reactivity and regional patterns of cFos immunoreactivity in response to the shock-probe burying test. **Neuroscience.** v. 129, p. 297-308, 2004.

MOORE, C.L. Maternal contributions to mammalian reproductive development and the divergence of males and females. **Advances in the Study of Behavior.** v. 24, p. 47-118, 1995.

MOORE, C.L.; MORELLI, G.A. Mother rats interact differently with male and female offspring. **Journal of Comparative and Physiological Psychology.** v. 93, p. 677-684, 1979.

MOORE, C.L.; POWER, K.L. Prenatal stress affects mother-infant interaction in Norway rats. **Developmental Psychobiology**. v. 19, p. 235-245, 1986.

MOURA L. M. et al., A morfina por infusão na substância cinzenta periaquedutal rostralateral afetar comportamentos maternos. **Brazilian Journal Of Medical and Biological Research**. v. 43, p. 899-905, 2010.

NASCIMENTO, A. P. **Desenvolvimento e validação de metodologias para medicamentos contendo dipirona sódica e cloridrato de papaverina isolados e em associação**. São Paulo, 2005. 155 f. Tese de Doutorado pela em Ciências Farmacêuticas pela Universidade de São Paulo.

NASCIMENTO, M.C. **A Centralidade do medicamento na terapêutica contemporânea**. Rio de Janeiro, 2002. 138 f. Tese de Doutorado em Saúde Coletiva. Instituto de Medicina Social - Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

NJUNG'E K.; HANDLEY S. L. Effects of 5-HT uptake inhibitors, agonists and antagonists on the burying of harmless objects by mice; a putative test for anxiolytic agents. **British Journal of Pharmacology**. v. 104, p. 105-112, 1991.

NUMAM M.; INSEL T. R. The neurobiology of parietal behavior. **New York Springer**; 2003.

NUMAN, M. A neural circuitry analysis of maternal behavior in the rat. **Acta Paediatrica Supplement**. v. 397, p. 19-28, 1994.

NUMAN, M. Maternal behavior: In: Knobil, E.; Neill, J. D., eds. **The physiology of reproduction**, 2 ed. New York: Raven Press. Cap 37, pag. 221-302, 1994.

OKON E. E. The effect of environmental temperature on the production of ultrasounds by isolated non-handled albino mouse pups. **Journal of Zoology**. v. 162, p. 71-83, 1970.

OLAZÁBAL D. E., et al. New theoretical and experimental approaches on maternal motivation in mammals. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**. v. 37, p. 1860-1874, 2013.

OTTANI A., et al. The analgesic activity of paracetamol is prevented by the blockade of cannabinoid CB1 receptors. **European Journal of Pharmacology**. v. 531, p. 280–281. 2006.

PAMPLONA, F., et al. Anti-inflammatory lipoxin A4 is an endogenous allosteric enhancer of CB1 cannabinoid receptor. **Proceedings of the National Academy of Sciences**. vol. 110, p. 21134-21139, 2013.

PATUCK D. Two Cases of “Novalgin” Agranulocytosis. **British Medical Journal**. v. 17, p. 919, 1954.

PECHTEL, P.; PIZZAGALLI, D.A. Effects of early life stress on cognitive and affective function: an integrated review of human literature. **Psychopharmacology (Berl)**, v. 214, p. 55–70, 2011.

PELLOW, S. et al, Validation of open:closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. **Journal of Neuroscience Methods**. v. 14, p. 149-167, 1985.

PIRES, G. et al, Comportamento materno em ciências básica pesquisa translacional e aplicabilidade clínica. **Eisten**. v. 11, p. 256-260, 2013.

PIZZOL, T. S. D. et al., Dipyrone use during pregnancy and adverse perinatal events. **Archives of Gynecology and Obstetrics**. v. 279, p. 293-297, 2009.

PRUT, L.; BELZUNG, C. The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behaviors: a review. **European Journal of Pharmacology**. v. 463, p. 3-33. 2003.

ROHDEWALD, P. et al., Relationship between saliva levels of metamizol metabolites, bioavailability and analgesic efficacy. **Arzneimittel Forschung - Drug Research**. v. 33, p.985-988, 1983.

RUTHSCHILLING, C. A. et al. Analysis of transcriptional levels of the oxytocin receptor in different areas of the central nervous system and behaviors in high and low licking rats. **Behavioural Brain Research**. v.228, p. 176-184, 2012.

SACHS, D.; CUNHA, F. Q.; FERREIRA, S. H. Peripheral analgesic blockade of hypernociception: activation of arginine/NO/cGMP/protein kinase G/ATP-sensitive K⁺

channel pathway. **Proceedings of the National Academy of Sciences**. v. 101, p. 3680-3685, 2004.

SASS, A.; WÖRTWEIN, G. The effect of subchronic fluoxetine treatment on learning and memory in adolescent rats. **Behavioural Brain Research**. v. 228, p.169-175, 2012.

SCHLOSBERG, J. E., et al. Evaluation of the endogenous cannabinoid system in mediating the behavioral effects of dipyrone (metamizol) in mice. **Behavioural Pharmacology**. v. 23, p. 722-726, 2012.

SCHUG, S. A.; ZECH, D.; DÖRR, U. Cancer pain management according to WHO analgesic guidelines. **Journal Pain Symptom Manage.**, New York, v. 5, p. 27-32, 1990.

SCIENLABOR, 199-?. Disponível em:

<<http://www.sciencelabor.com.br/produtos/detalhes/452/open-field---campo-aberto-de-acrilico-para-camundongo.html>> Acesso em: 7 ago. 2015.

SHAPIRO. Risks of agranulocytosis and aplastic anemia: a first report of their relation to drug use with special reference to analgesics. **Journal of the American Medical Association**. v. 256, p. 1749-1757, 1986.

SHEEHAN, T. et al. Evidence that the medial amygdala projects to the anterior/ventromedial nuclei to inhibit maternal behavior in rats. **Neuroscience**, v.106, p. 341-356, 2001.

THOMAS, A. et al, Marble burying reflects a repetitive and perseverative behavior more than novelty-induced anxiety. **Psychopharmacology (Berl)**. v. 204, p. 361-373, 2009.

TREZZA, V. Effects of perinatal exposure to delta-9-tetrahydrocannabinol on the emotional reactivity of the offspring: a longitudinal behavioral study in Wistar rats. **Psychopharmacology**. v. 198, p. 529-537, 2008.

UMATHE, S. N.; MANNA, S. S. S.; JAIN, N. S. Involvement of endocannabinoids in antidepressant and anti-compulsive effect of fluoxetine in mice. **Behavioural Brain Research**. v. 223, p. 125-134, 2011.

URIARTE, N. et al., Effects of Maternal Care on the Development, Emotionality, and Reproductive Functions in Male and Female Rats. **Developmental Psychobiology**. v. 49, p.451-62. 2007.

VALLE, F. P. Effects of strain, sex, and illumination on open-field behavior of rats. **The American Journal of Psychology**. v. 83, p. 103-111. 1970.

VELZEN, A. V.; TOTH, M. Role of maternal 5-HT_{1A} receptor in programming offspring emotional and physical development. **Genes Brain Behavior**. v. 9, p. 877-885, 2010.

VIEIRA, M. L. et al. Lactational exposure to sulpiride: assessment of maternal care and reproductive and behavioral parameters of male rat pups. **Physiology & Behavior - Journal**. v. 122, p. 76-83, 2013.

VILELA, F. C.; GIUSTI-PAIVA, A. Cannabinoid receptor agonist disrupts behavioral and neuroendocrine responses during lactation. **Behavioural Brain Research**. v. 263 p. 190–197, 2014.

VILELA, F. C. **Endocannabinóides modulam os efeitos inibitórios dos glicocorticóides sobre as respostas neuroendócrinas e comportamentais durante a lactação**. Minas Gerais, 2011. 133 f. Tese de Doutorado título de Doutora em Fisiologia pelo Programa Multicentrico de Pos-Graduacao em Ciências Fisiológicas pela Universidade Federal de Alfenas-MG.

VILELA, F.C.; GIUSTI-PAIVA, A. Glucocorticoids disrupt neuroendocrine and behavioral responses during lactation. **Endocrinology**. v. 152, p. 4838-4845, 2011.

VILELA; MELO; GIUSTI-PAIVA. Glucocorticoids impair maternal anxiety during lactation. **Neuroscience Letters**. v.509, p.121-124, 2012.

WALF A.A; FRYE C. A. Use of the elevated plus-maze as a performance test related to anxiety rodents. **Nature Protocols**. v. 2, p. 322-328, 2007.